

Федеральное государственное бюджетное образовательное  
учреждение высшего образования  
КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

**В.Н. Городин, С.В. Зотов, Д.Л. Мойсова,  
Е.Е. Яковчук, Т.А. Книжник, Е.В. Журавлева,  
О.В. Чернявская, В.И. Баклай, Д.В. Носиков**

# **ОСНОВЫ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

**Учебное пособие для врачей,  
клинических ординаторов и аспирантов**

Краснодар  
«Новация»  
2022

УДК 616.9-07 (075)

ББК 55.14

О 75

*Организация-разработчик:*

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

*Рецензенты:*

– Заведующая кафедрой инфекционных болезней федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, д.м.н., профессор Л.И. Ткаченко.

– Заведующая кафедрой инфекционных болезней федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, д.м.н., профессор М.Ю. Маржохова.

*Авторы:*

В.Н. Городин, С.В. Зотов, Д.Л. Мойсова, Е.Е. Яковчук, Т.А. Книжник, Е.В. Журавлева, О.В. Чернявская, В.И. Баклай, Д.В. Носиков

О 75

**Основы** специфической лабораторной диагностики инфекционных заболеваний : учебное пособие / В. Н. Городин, С.В. Зотов, Д.Л. Мойсова [и. др.] – Краснодар: Новация, 2022. – 152 с.

ISBN 978-5-00179-166-9

Инфекционные болезни по-прежнему являются важной и социально значимой частью клинической медицины. Согласно существующим регламентирующим документам, диагноз инфекционного заболевания должен быть лабораторно подтверждён, а возбудитель верифицирован. Существующие методы специфической лабораторной диагностики и тест-системы, применяемые на территории РФ разнообразны, что нередко затрудняет их правильную клиническую интерпретацию.

Учебное пособие освещает основы специфической лабораторной диагностики важнейших и распространённых инфекционных болезней с интерпретацией полученных результатов исследования. **Предназначено для клинических ординаторов, аспирантов, врачей различных клинических специальностей.**

Печатается по решению Центральной проблемной комиссии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, протокол № 2 от 09.06.2021 г.

**УДК 616.9-07 (075)  
ББК 55.14**

ISBN 978-5-00179-166-9

© Коллектив авторов, 2022

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ .....</b>	<b>5</b>
<b>ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ .....</b>	<b>9</b>
1.1. Микробиологические (бактериологические) методы исследования.....	9
1.2. Микроскопические (цитологические) методы диагностики инфекций.....	17
1.3. Серологическая диагностика. Иммуноферментный анализ.....	18
1.4. Полимеразная цепная реакция (ПЦР).....	31
1.5. Перспективные методы лабораторной диагностики инфекционных заболеваний .....	37
1.6. Проблемы антибиотикорезистентности в диагностике инфекционных болезней.....	49
<b>ГЛАВА 2. ПОРЯДОК ПРОВЕДЕНИЯ ОБСЛЕДОВАНИЯ И ГОСПИТАЛИЗАЦИИ ЛИЦ ПРИ ПОДОЗРЕНИИ НА ИНФЕКЦИОННОЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ В СООТВЕТСТВИИ С ВЕДУЩИМ СИНДРОМОМ.....</b>	<b>54</b>
2.1. Эпидемиологические риски заноса опасных инфекционных болезней .....	54
2.2. Порядок обследования лиц с подозрением на инфекционные болезни .....	58
<b>ГЛАВА 3. ПОРЯДОК ПРОВЕДЕНИЯ ЛАБОРАТОРНОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА.....</b>	<b>63</b>
3.1. Правила ведения преаналитического этапа клинических лабораторных исследований.....	63

3.2. Порядок организации и проведения работ по забору,  
транспортированию и хранению проб клинического материала . . . . . 80

3.3. Принципы проведения лабораторной диагностики клинического  
материала . . . . . 86

**ГЛАВА 4. КЛИНИЧЕСКАЯ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ СПЕЦИФИЧЕСКИХ  
МЕТОДОВ (БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИХ, ИММУНОФЕРМЕНТНЫХ,  
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ) В ДИАГНОСТИКЕ  
ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ . . . . . 99**

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ . . . . . 140**

## ВВЕДЕНИЕ

Пандемия новой коронавирусной инфекции наглядно продемонстрировала роль и значение современной инфектологии в борьбе за сохранение жизни и здоровья человека, а также поставила новые сложные задачи перед медицинской наукой и практикой. Успехи современной медицины в улучшении качества жизни и ее продлении во многом достигнуты благодаря учению об инфекционных болезнях. В свою очередь, многие прорывные достижения инфектологии стали возможными благодаря появлению новых методов лабораторной диагностики и внедрению их в повседневную практику работы медицинских лабораторий. Такое тесное междисциплинарное «симбиотическое» взаимодействие обеспечивает обоюдное развитие теории и методологии диагностики и лечения инфекционных болезней.

При этом сегодня клиническая практика ставит перед лабораторной диагностикой новые вопросы и ожидает новых осмысленных стратегий и технологических решений. Далеко в прошлом оставлены примитивные подходы к инфекционному процессу, как исключительно следствие воздействия этиологического экзогенного фактора. Современный специалист рассматривает инфекционный агент в неразрывной связи взаимоотношений с организмом человека, гено- и фенотипическими особенностями всех его органов и систем. Благодаря такому подходу совершенствуется целостное представление об инфекционном процессе и разнообразии его проявлений, отсроченных и параинфекционных последствиях.

Характерными чертами современной лабораторной диагностики являются разработка новых и совершенствование известных методов исследования, что обусловлено непрерывным изменением особенностей патогенеза и клинической картины инфекционных заболеваний:

- повсеместное и прогрессирующее ухудшение иммунитета привело к более тяжелому течению инфекций;
- повышение частоты формирования атипичных и хронических, персистирующих форм заболеваний, резистентных к стандартной противовирусной и противобактериальной терапии связано с изменением антигенной структуры возбудителей и их трансформацией в некультивируемые формы;
- усиление роли микст-инфекций в формировании патологий;
- формирование стертых клинических форм болезней при инфицировании опасными возбудителями, и клинически тяжелых форм заболеваний, вызываемых условно-патогенными или ранее считавшимися непатогенными микроорганизмами;
- появление новых форм инфекционных процессов, связанное с изменением тропности патогенных микроорганизмов (поражение нетипичных органов и тканей).

К перспективным направлениям лабораторной медицины, призванным обеспечить инфекционную службу ценной диагностической информацией, можно отнести развитие технологий, обеспечивающих наиболее быстрое и детальное обследование биоценоза пациент-патогены. Комплексный подход предполагает конфигурацию тестов, объединенных в диагностические панели, позволяющих осуществлять одновременное выявление широкого спектра патогенов, характерного для определенного симптомокомплекса одновременно с определением генов резистентности.

Необходимы соответствующие способы приборно-реагентных решений. В одних случаях — это комплексы высокоточных и высокопроизводительных систем, ориентированных на потоки большой интенсивности для крупных централизованных лабораторий, в других — миниатюрные и относительно простые в эксплуатации отдельные приборы произвольного доступа для единичных исследований.

Еще одной задачей, от успешности решения которой зависит исход заболевания, является получение информации об устойчивости патогена к индивидуальным антимикробным препаратам или их группам. Мы видим, как в последние годы, в ряде случаев безосновательно, теряются эффективные

фармакологические средства борьбы с инфекционными агентами. Поэтому назначение эффективных лекарственных средств с учетом предоставленной лабораторией информации способствует не только эффективности терапии, но и ответственному сохранению препаратов резерва.

Расширение международных контактов и бурный рост зарубежного туризма в страны Африки, Азии, Южной Америки и другие регионы с неблагополучной эпидемической ситуацией, а также резкое ускорение коммуникативных связей привело к существенному увеличению заболеваемости «завозными» инфекциями, ранее не регистрировавшимися в нашей стране или регистрировавшимися в виде спорадических случаев.

Все это предъявляет возрастающие требования к работе противоэпидемической, микробиологической и инфекционной служб Российской Федерации на всех уровнях государственной системы здравоохранения. Особая роль в решении стоящих перед инфекционной службой проблем отводится врачам амбулаторного звена, которые первыми сталкиваются с инфекционными больными при первичном обследовании, а также врачам медицинских лабораторий, работающих с биологическим материалом пациентов. Последние должны иметь грамотные представления обо всем спектре инфекционных возбудителей, которые могут встретиться в исследуемом материале, а также о различных методах их диагностики, в первую очередь современных, таких как иммуноферментный анализ и молекулярно-генетическая диагностика.

Характерной чертой современного этапа развития клинической медицины является возрастание роли ранней (быстрой) лабораторной диагностики, что прежде всего касается диагностики инфекционных болезней. При этом, результаты лабораторных исследований при обретают действительную ценность только при целенаправленном назначении и корректной их оценке совместно с данными клинической картины заболевания. Диагностическая информация, предоставляемая лабораториями, рассматривается в качестве важнейшей интегральной составляющей лечебно-диагностического процесса, оказания пациенту качественной медицинской помощи.

Диагностика инфекционных заболеваний является одной из самых сложных проблем в клинической медицине. Лабораторные методы исследования

при ряде инфекционных заболеваний играют ведущую, а в ряде клинических ситуаций решающую роль. В настоящее время для диагностики инфекционных заболеваний применяются различные методы и их сочетания.

Принимая во внимание все вышесказанное, авторы разработали учебное пособие, предназначенное для студентов медицинских образовательных учреждений, специалистов (бакалавров), врачей различных клинических специальностей, клинических ординаторов, аспирантов.

## Глава 1.

# ▶ **СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

Развитие и совершенствование методов специфической диагностики инфекций стало возможным благодаря достижениям современной науки и техники (химии, иммунологии, молекулярной биологии, инженерии), что позволяет сегодня определять этиологию инфекционного заболевания пациента при исследовании самых разных типов образцов биоматериалов, включая кровь, мочу, ткани, мазки со слизистой оболочки, спинномозговую жидкость, респираторные выделения и образцы стула.

Специфические методы лабораторной диагностики отличаются по чувствительности (использование минимального количества материала, позволяющее получить диагностически значимые результаты) и специфичности (выявление в образце биоматериала только того объекта, для выявления которого была разработана данная тест-система) (табл.1).

Лабораторные методы исследования могут быть направлены на непосредственное обнаружение возбудителя или его генетического материала (микроорганизмы, их антигены, РНК/ДНК) в организме, либо на косвенное определение специфических маркеров иммунного ответа (антител): прямые и непрямые методы соответственно.

### **1.1. Микробиологические (бактериологические) методы исследования**

Микробиологические (бактериологические) методы исследования проводят с целью диагностики инфекционных болезней, для изучения эти-

**Таблица 1**

**Сравнительная оценка чувствительности и  
 специфичности основных лабораторных методов,  
 применяемых для диагностики инфекций**

Методы	Принцип	Специфичность	Чувствительность
Микробиологический (культуральный)	Выделение чистой культуры возбудителя	100% «золотой стандарт» лабораторной диагностики	1000–10000 кл/мл
Микроскопический (цитологический)	Микроскопия окрашенных мазков	20–80%	1000–100000 кл/мл
Серологический/ Иммунологический	Выявление комплексов антиген-антитело (ИФА, РИФ и др.)	70–90%	1000–100000 кл/мл
Молекулярно-биологический	Определение специфического участка ДНК\РНК в геноме возбудителя	99–100% приравнивается к «золотому стандарту»	200 кл/мл

ологической структуры заболевания, определения чувствительности возбудителей к антимикробным препаратам, выявления носителей в очаге инфекции и установления хронического бактерионосительства. Результатом бактериологических исследований является выбор наиболее эффективного препарата для антимикробной терапии и своевременное проведение мероприятий по профилактике внутрибольничных инфекций.

Для идентификации вида возбудителя и определения чувствительности к антибактериальным препаратам применяется комплекс методов:

- микроскопическое исследование окрашенного мазка (бактериоскопия);

- выращивание чистой культуры микроорганизмов (культивирование);
- идентификация возбудителей (определение микроорганизма до вида)
- определение чувствительности выделенной культуры к антимикробным препаратам;
- оценка результатов исследования и выдача заключения;

*Микроскопическое исследование мазка (бактериоскопия)*, окрашенного по Граму или другими методами, проводят при исследовании мокроты, гноя, отделяемого из ран, слизистых оболочек (мазок из цервикального канала, зева, носа, глаза и т.д.). Результаты микроскопии позволяют ориентировочно судить о характере микрофлоры, ее количественном содержании и соотношении различных видов микроорганизмов в биологическом материале, а также дают предварительную информацию об обнаружении этиологически значимого инфекционного агента в данном биоматериале, что позволяет врачу сразу начать лечение (эмпирическое). Иногда микроскопия позволяет выявить микроорганизмы, плохо растущие на питательных средах.

*Культивирование микроорганизмов.* Посев исследуемого биоматериала на питательные среды производят с целью выделения чистых культур микроорганизмов, установления их вида и определения чувствительности к антибактериальным препаратам. Для этих целей используют различные по составу питательные среды, позволяющие выделить наибольшее количество видов микроорганизмов.

*Идентификация* — это изучение комплекса биологических свойств микроорганизма: морфологических, тинкториальных, культуральных, биохимических, антигенных, биологических, токсигенных, физико-химических (масс-спектрометрия). Получение чистой культуры бактерий позволяет определить вид микроорганизма, который указывается на бланке результата исследования, например: *Staphylococcus aureus* (золотистый стафилококк), *Streptococcus pneumoniae* (пневмококк) или *Escherichia coli* (кишечная палочка).

Один из революционных методов идентификации микроорганизмов — это масс-спектрометрия (MS). Метод позволяет определять концентрацию различных составляющих вещества (например, химический состав). Осно-

вой для измерения служит ионизация компонентов, позволяющая различать их физически на основе отношения массы к заряду и, измеряя интенсивность ионного тока, производить отдельный подсчет доли каждого из них, т.е. получить масс-спектр вещества. В микробиологии идентификация микроорганизмов проводится с использованием времяпролетной МАЛДИ масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS), которая позволяет идентифицировать микроорганизмы по их уникальному белковому составу. С помощью биоинформационного программного обеспечения проводится видовая идентификация микроорганизмов путём сопоставления получаемых масс-спектров бактерий с обширной базой данных (библиотекой). Суть метода: на мишень наносится выращенная культура микроорганизма, образец перемешивается с матрицей (органическим растворителем 3-гидроксипиколиновой кислотой). Смесь помещают в прибор и облучают короткими лазерными импульсами, вещество матрицы испаряется и захватывает с собой молекулы исходного вещества, которые частично ионизируются и направляются в масс-анализатор, где ионы разделяются по массе. Разделенные пучки ионов попадают в детектор, там ионный ток преобразуется в электрический сигнал, который усиливается и регистрируется. Определение структуры органических соединений основано на изучении пиков осколочных ионов. Метод позволяет сократить время идентификации микроорганизмов с 4–72 часов до получаса, соответственно общее время проведения бактериологического анализа до одних суток.

Определение чувствительности к антибактериальным препаратам. Чувствительность к антимикробным препаратам изучают у выделенных чистых культур микроорганизмов, имеющих этиологическое значение для данного заболевания. Поэтому в бланке направления на бактериологическое исследование необходимо указывать предполагаемый диагноз заболевания. Определение чувствительности бактерий к спектру антибиотиков помогает лечащему врачу выбрать эффективный препарат для лечения больного.

Определение чувствительности проводится как ручным, классическим диско-диффузионным методом (ДДМ) постановки антибиотикограммы, так и на автоматических анализаторах типа «Vitek2 Compact» (Биомерье) и «Adagio» (Био-Рад).

Бактериологический анализатор «Vitek-2 Compact» предназначен для идентификации микроорганизмов и определения чувствительности к антимикробным препаратам. Он способен определять вид микроорганизма за 5–6 часов, чувствительность за 7–8 часов, что позволяет получить окончательный результат (вместе с антибиотикограммой) в течение одного рабочего дня после получения чистой культуры. Идентификация и определение чувствительности проводится к широкому спектру современных антибактериальных препаратов (от 6 до 32 препаратов, в зависимости от выделенного микроорганизма), определять механизмы и фенотипы резистентности по каждой группе антимикробных препаратов, сравнивать их с базой данных, интерпретировать и выдавать результат по МПК (минимальной подавляющей концентрации).

Автоматический анализатор «Adagio» позволяет определить чувствительность микроорганизмов к различным антимикробным химиопрепаратам диско-дифузионным методом (ДДМ) с применением визуализационной системы для измерения и анализа размера зоны ингибирования вокруг дисков с антимикробными препаратами, а также для интерпретации результатов анализа на чувствительность. Прибор имеет встроенную экспертную систему, которая обеспечивает определение резистентных фенотипов и корректировку полученных результатов. Программное обеспечение позволяет проводить мониторинг тенденций резистентности и признаков внутрибольничных инфекций.

На бланке результатов определения чувствительности к антибактериальным препаратам обозначение R указывает на резистентность, т.е. на нечувствительность исследуемого микроорганизма к данному антимикробному препарату, I — чувствительность при увеличенной экспозиции, S — чувствительность микроорганизма к определенному препарату (данные интерпретированы согласно Европейскому комитету по определению чувствительности к антимикробным препаратам (EUCAST) Версия 10.0, действует с 01.01.2020).

*Оценка результатов исследования.* Принадлежность условно-патогенных микроорганизмов к естественной микрофлоре организма человека создает ряд трудностей при оценке их этиологической роли.

Условно-патогенные микроорганизмы могут представлять нормальную микрофлору исследуемых жидкостей и тканей или контаминировать их из окружающей среды. Поэтому для правильной оценки результатов бактериологических исследований необходимо знать состав естественной микрофлоры изучаемого образца. В тех случаях, когда исследуемый биоматериал в норме стерилен (спинномозговая жидкость, экссудаты, кровь и т.п.) все выделенные из него микроорганизмы могут считаться возбудителями заболевания. В тех случаях, когда исследуемый материал имеет собственную микрофлору (отделяемое влагалища, кал, мокрота и т.п.) нужно учитывать изменения ее качественного и количественного состава, появление несвойственных ему видов бактерий, а также количественную обсемененность биоматериала. Так, при бактериологическом исследовании мочи степень бактериурии (число бактерий в 1 мл мочи), равная и выше  $10^5$ , свидетельствует об инфекции мочевых путей. Более низкая степень бактериурии встречается у здоровых людей и является следствием загрязнения мочи естественной микрофлорой мочевых путей.

Установить этиологическую роль условно-патогенной микрофлоры помогают также нарастание степени обсемененности и повторность выделения бактерий одного вида от больного в процессе заболевания.

Врач-клиницист должен знать, что положительный результат бактериологического исследования в отношении биологического материала, полученного из стерильного в норме очага (кровь, плевральная жидкость, спинномозговая жидкость, пунктат органа или ткани), всегда тревожный результат, требующий немедленных действий по оказанию медицинской помощи.

В направительной документации обязательно нужно указать информацию, необходимую врачу-бактериологу для интерпретации результата проведенного исследования: диагноз пациента, сроки заболевания, данные о проводимой антимикробной химиотерапии при лечении пациента в других стационарах, выделенных микроорганизмах и их чувствительности к антимикробным химиопрепаратам.

**Таблица 2**

**Исследования, выполняемые микробиологической  
 (бактериологической) лабораторией**

Наименование исследований	Материал	Срок исполнения раб./дни	Лабораторная посуда
Бактериологические:			
Посев на стерильность	стерильные биологические жидкости (кровь, ликвор, плевральная жидкость)	5	флаконы со средой для выделения микроорганизмов из крови и стерильных биологических жидкостей
Посев мочи на тифо-паратифозную группу	моча	4	одноразовый стерильный контейнер
Посев желчи на тифо-паратифозную группу	желчь	4	стерильная пробирка
Посев на иерсиниоз	кал, моча	5	стерильная пробирка с буферным раствором
Посев на дизгруппу и тифо-паратифозную группу	кал	4	одноразовый тупфер со средой
Посев на энтеропатогенную кишечную палочку	кал	4	одноразовый тупфер со средой
Посев на дисбактериоз кишечника с определением чувствительности к фагам	кал	10	одноразовый стерильный контейнер со встроенной ложкой
Посев на энтеропатогенную и кокковую флору (при пищевой токсикоинфекции)	кровь, моча, желчь, испражнения, рвотные массы, промывные воды	5	одноразовый тупфер со средой, стерильный контейнер со встроенной ложкой

Наименование исследований	Материал	Срок исполнения раб./дни	Лабораторная посуда
Посев на менингококк	ликвор, кровь, носоглоточная слизь	5	стерильная пробирка
Посев на микрофлору с определением чувствительности к антибиотикам	моча,	4	одноразовый тупфер со средой или без среды, одноразовый стерильный контейнер
	мокрота,	5	
	мазки из зева, носа,	5	
	ушей,	5	
	раны,	3	
отд. из глаз	3	отд.полов. органов	3
Посев на дифтерию	Мазки из носа, зева	3	одноразовый тупфер без среды
Посев на холеру	Испражнения, рвотные массы, желчь	3	пробирка с 1% пептонной водой с телуритом, одноразовый стерильный контейнер
Посев на коклюш и паракоклюш	Мазки с задней стенки глотки	5	Пробирка с тампоном, изогнутым под углом
Посев трупного материала	Секционный материал	3	одноразовый стерильный контейнер со встроенной ложкой

К недостаткам бактериологических методов можно отнести длительность исследования (для большинства минимальный срок составляет 3–4 дня), а для медленно растущих микроорганизмов (возбудители туберкулеза, бруцеллеза) до нескольких недель. Рост культуры может ограничиваться приемом антибиотиков до забора материала на исследование, низким содержанием возбудителя в биологическом материале, переходом бактерий в некультивируемое состояние (L-формы).

## 1.2. Микроскопические (цитологические) методы диагностики инфекций

Микроскопические (цитологические) методы диагностики инфекций можно разделить на бактериоскопические, микоскопические, паразитологические в зависимости от видовой принадлежности возбудителя.

Препараты готовятся из биоматериалов, взятых от больного, или из колоний микроорганизмов, выросших на специальных питательных средах. Просматриваются окрашенные и неокрашенные (нативные) препараты. При различных видах микроскопии возможно не только обнаружение возбудителя, но и определение его морфологических признаков (форма, величина, наличие спор, капсул, включений и т.д.).

На основании применения различных свойств оптических систем, микроскопию можно разделить на **светлополюсную** и **темнополюсную**. Примером последней является идентификация возбудителей лептоспироза, кампилобактериоза, ряда гельминтозов и др. Микроскопия нативных препаратов в темном поле позволяет наблюдать живые бактерии в препарате, приготовленном по методу «раздавленной капли» (на 1-й неделе болезни при лептоспирозе используют микроскопию цитратной крови, при малярии — микроскопию толстой капли).

В практической диагностике инфекций используется **люминесцентная микроскопия**. Метод основан на способности некоторых веществ светиться при воздействии коротковолнового излучения. Исследуемые микроорганизмы окрашивают с помощью антител, меченных флюорохромами, что необходимо для визуализации результатов иммунохимических реакций, основанных на специфическом взаимодействии меченных флюоресцирующими красителями антител с антигенами изучаемого объекта при ОРВИ, гриппе, боррелиозе и др.

О видовой принадлежности микроорганизмов позволяет судить их форма, определенное расположение в препарате (стафилококки, стрептококки, коринебактерии), а своеобразная окраска возбудителя используется для идентификации возбудителей (дифтерии, менингококковой инфекции, эпидемического паротита (табл.3).

**Таблица 3**

**Основные способы окраски препаратов для световой микроскопии**

Способ окраски	Цель окраски	Результат
По Граму	Окраска мазков из клинического клинического материала, дифференциация бактерий	Г (-) бактерии окрашены в красный цвет, а Г (+) – в фиолетовый цвет
По Цилю—Нильсену	Выявление кислотоустойчивых бактерий	Кислотоустойчивые бактерии окрашены в красный цвет, остальные – в синий
По Романовско-му—Гимзе	Окраска мазков клинического материала и простейших	Ядра эукариот окрашены в фиолетово-красный цвет, а цитоплазма – в голубовато-синий.

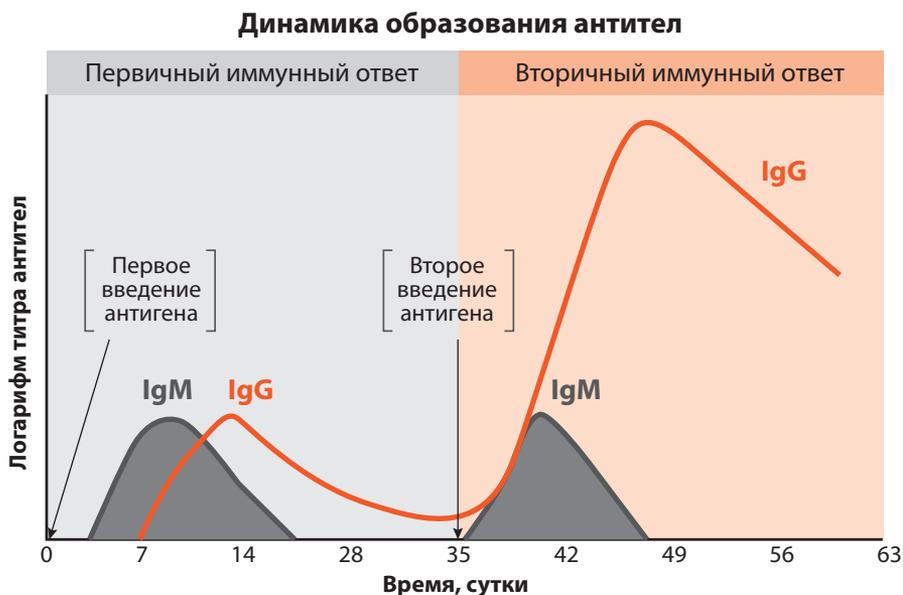
Паразитологические методы (метод Като, методы обогащения) позволяют обнаружить гельминтов и их фрагменты (головки, членики, обрывки, яйца, личинки).

К недостаткам метода можно отнести следующие: не всегда по внешнему виду можно определить принадлежность микроорганизма; из-за недостаточного количества материала в препарате может не оказаться возбудителя.

### **1.3. Серологическая диагностика. Иммуноферментный анализ**

В тех случаях, когда выявление возбудителя инфекционного заболевания не представляется возможным, применяют непрямые методы, наибольшее значение среди которых имеют серологические. В основе всех серологических реакций лежит обнаружение взаимодействия специфических антигенов (АГ) и антител (АТ) возбудителей в различных видах биологического материала (кровь, СМЖ, моча, кал и др.).

При инфицировании и развитии инфекционного процесса в ответ на внедрение антигенов начинается постепенная выработка специфических антител. Их определение становится возможным с конца 1-ой недели, начала 2-ой (в зависимости от возбудителя, состояния иммунной системы человека), со временем идет нарастание их количества (рис.1).



**Рис. 1. Динамика образования антител в процессе иммунного ответа**

Период с момента внедрения инфекционного агента до появления антител называется серонегативным (фаза серологического окна). В некоторых случаях (вирусные гепатиты, хламидиозы и др.) специфические антитела образуются в более поздние сроки (до 50-и суток). Диагностическое значение имеет исследование «парных» сывороток крови больного, взятых в начале заболевания (3–7-й день) и через 10–12 дней. В этом случае удастся выявить динамику нарастания титра антител. Так, при вирусных инфекциях, в большинстве случаев, только четырехкратное и выше нарастание титра антител во второй сыворотке расценивается как диагностическое.

Серологические методы применяют в двух направлениях: обнаружение специфических антител и антигенов. Их широко используют для лабораторной диагностики инфекционных и паразитарных болезней, выявления ранее перенесенной инфекции, определения напряженности иммунитета, групп крови, опухолевых антигенов, распознавания аллергических и аутоиммунных болезней, диагностики гормональных нарушений и др.

В зависимости от условий протекания, серологические реакции бывают разных типов: реакция агглютинации (РА), реакция пассивной (непрямой) гемагглютинации (РПГА), реакция связывания комплемента (РСК), реакция микроагглютинации (РМА), реакции иммунофлуоресценции (РИФ и РНИФ), реакции нейтрализации биологической активности возбудителя или его токсинов (РН), различные виды иммуноферментных (ИФА)/иммунофлюоресцентных (ИХЛ) реакций и др. Результат исследования выдается в диагностических титрах.

**Таблица 4**

**Классические серологические методы лабораторной  
 диагностики (бесприборные)**

Наименование исследований	Материал	Срок исполнения (раб/дни)	Лабораторная посуда
РА Реакция Райта—Хеддельсона	кровь	2	одноразовая пробирка с активатором свертывания
РПГА с сальмонеллезным диагностикумом	кровь	2	одноразовая пробирка с активатором свертывания
РПГА с дизентерийным диагностикумом	кровь	2	одноразовая пробирка с активатором свертывания
РПГА с иерсиниозным ОЗ, О9 диагностикумом	кровь	2	одноразовая пробирка с активатором свертывания
РПГА с псевдотуберкулезным диагностикумом	кровь	2	одноразовая пробирка с активатором свертывания
РПГА с сальмонеллезным Vi антигенным диагностикумом	кровь	2	одноразовая пробирка с активатором свертывания
РПГА с дифтерийным диагностикумом	кровь	2	одноразовая пробирка с активатором свертывания
РПГА со столбнячным диагностикумом	кровь	2	одноразовая пробирка с активатором свертывания
РПГА с менингококковым А, С, В диагностикумом	кровь	2	одноразовая пробирка с активатором свертывания

Наименование исследований	Материал	Срок исполнения (раб/дни)	Лабораторная посуда
Реакция агглютинации с коклюшным и паракоклюшным диагностикумом	кровь	2	одноразовая пробирка с активатором свертывания
РПГА с туляремийным диагностикумом	кровь	2	одноразовая пробирка с активатором свертывания
РСК с антигеном Провачека	кровь	3	одноразовая пробирка с активатором свертывания
РПГА с бруцеллезным диагностикумом	кровь	3	одноразовая пробирка с активатором свертывания

Традиционно выполняются в микробиологических лабораториях ручным способом.

**Таблица 5**

**Диагностические титры\***

Столбнячный РПГА	1:20 +++++
Дифтерийный РПГА	1:40 +++++
Vi (брюшнотифозный) РПГА	1:40 +++
Менингококковый РПГА	1:40 +++++
Туляремия РПГА	1:100 +++
Туляремия РА	1:25
РСК с антигеном Провачека	1:160 +++++
Коклюш, паракоклюш РА	1:160 +++
Сальмонеллезный РПГА	1:200 +++
Дизентерийный РПГА	1:200 +++
Псевдотуберкулезный РПГА	1:200 +++
Иерсиниозный РПГА	1:200 +++
Бруцеллезный РПГА	1:200 +++
Райта РА	1:100

\* в соответствии с инструкцией к диагностикумам

**Реакция агглютинации (РА)** — простая по постановке реакция, при которой происходит связывание антителами корпускулярных антигенов (бактерий, эритроцитов или других клеток, нерастворимых частиц с адсорбированными на них антигенами, а также макромолекулярных агрегатов). Она протекает при наличии электролитов, например, при добавлении изотонического раствора натрия хлорида. Проявляется образованием хлопьев или осадка (клетки, «склеенные» антителами, имеющими два или более антигенсвязывающих центра).

РА используют для: определения антител в сыворотке крови больных, при бруцеллезе (реакция Райта, Хеддельсона), туляремии, коклюше, паракклюше и других инфекционных заболеваниях;

**Реакция пассивной (непрямой) гемагглютинации (РПГА).** Основана на способности эритроцитов адсорбировать на своей поверхности специфические микробные антигены или антитела к ним. Сенсибилизированные таким образом эритроциты агглютинируются в присутствии гомологичных антител или антигенов. Применяется при диагностике дифтерии, сальмонеллеза, менингококковой инфекции, туляремии и др.

Реакция связывания комплемента (РСК). Комплемент является одним из важных факторов гуморального иммунитета, играющим роль в защите организма от антигенов. Представляет собой сложный комплекс белков сыворотки крови, находящийся обычно в неактивном состоянии и активирующийся при соединении антигена с антителом или при агрегации антигена. Специфическое взаимодействие АГ и АТ сопровождается адсорбцией (связыванием) комплемента. В качестве индикатора реакции используют гемолитическую систему (эритроциты барана + гемолитическая сыворотка), которая показывает, фиксирован ли комплемент комплексом АГ-АТ. Если АГ и АТ соответствуют друг другу, т. е. образовался иммунный комплекс, то комплемент связывается этим комплексом и гемолиза не происходит. Если АТ не соответствует АГ, то комплекс не образуется и комплемент, оставаясь свободным, соединяется со второй системой и вызывает гемолиз. РСК применяют для диагностики многих инфекционных болезней, в частности сифилиса (реакция Вассермана).

**Реакция микроагглютинации лептоспир (РМАЛ).** «Золотым стандартом» в диагностике лептоспироза является реакция микроагглютинации лептоспир (РМАЛ), отличающаяся высокой чувствительностью и специфичностью. РМАЛ позволяет определить серогруппу возбудителя, что важно для последующего проведения эпидобследования. Набор эталонных штаммов серогрупп лептоспир для РМАЛ (рекомендуемый для диагностических исследований на лептоспироз в РФ): *Icterohaemorrhagiae*, *Canicola*, *Australis*, *Pomona*, *Grippotyphosa*, *Sejroe mus 24*, *Tarassovi*, *Autumnalis*, *Bataviae*, *Javanica*, *Sejroe 3705*. При серологическом исследовании используют нативную сыворотку. В случае положительной реакции определяют конечный титр сыворотки.

**Прямой иммунофлуоресцентный метод — реакция иммунофлуоресценции (РИФ).** Из исследуемой культуры бактерий делают на предметном стекле тонкий мазок (в густом мазке не удастся отметить свечение отдельных клеток), фиксируют этиловым спиртом, наносят на мазок специфическую люминесцирующую сыворотку. Микроскопия выполняется на люминесцентном микроскопе в темном помещении.

При наличии в исследуемом материале бактерий, по отношению к которым люминесцирующая сыворотка содержит антитела, на темном фоне препарата обнаруживается специфическое яркое желто-зеленое свечение по периферии бактериальных клеток. Посторонние бактерии не светятся.

Для оценки интенсивности специфического свечения используют систему четырех крестов: ++++ сверкающая флуоресценция желтовато-зеленого цвета с четко выраженной формой клеток; +++ яркая флуоресценция желто-зеленого цвета; ++ и + заметная, но слабо выраженная флуоресценция. Положительным результатом считается флуоресценция, оцениваемая на 4+ и 3+.

Иммунофлуоресцентный метод является методом ускоренной ориентировочной диагностики и должен сопровождаться полным бактериологическим исследованием.

**Непрямой иммунофлуоресцентный метод (РНИФ)** предусматривает использование единой флуоресцирующей сыворотки — антиглобулиновой, содержащей антитела против кроличьих глобулинов. Как правило,



диагностические специфические сыворотки являются кроличьими, поэтому флуоресцирующая антиглобулиновая сыворотка реагирует с любыми специфическими антителами (кроличьими глобулинами), которые при этом играют роль антигенов. Кроличьи глобулины (специфические антитела) связываются с гомологичными антигенами. На образовавшихся комплексах фиксируются флуоресцирующие антиглобулиновые антитела и вызывают их свечение в люминесцентном микроскопе.

**Реакция нейтрализации (РН).** В основе этой реакции лежит способность специфической антитоксической сыворотки нейтрализовать экзотоксин. Антитела иммунной сыворотки способны нейтрализовать повреждающее действие микробов или их токсинов на чувствительные клетки и ткани, что связано с блокадой микробных антигенов антителами, т.е. их нейтрализацией.

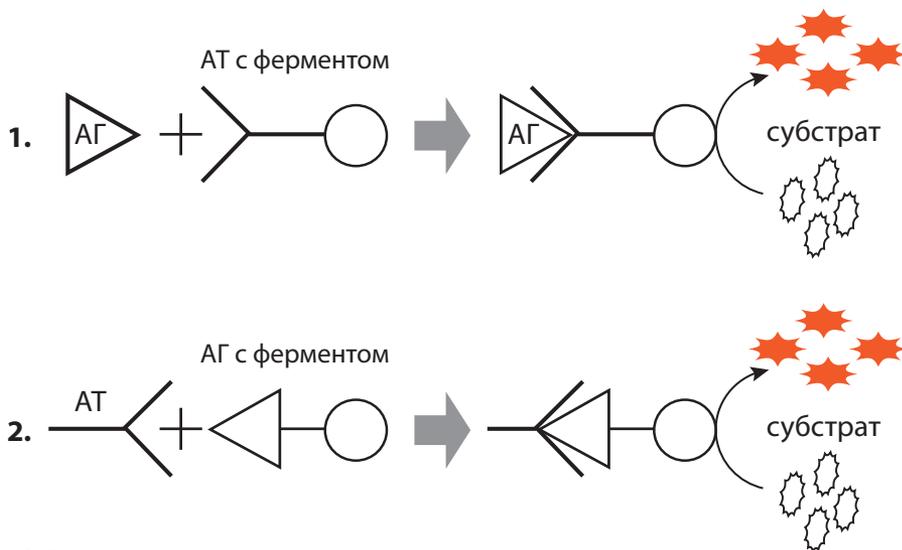
РН проводят путем введения смеси антиген–антитело животным или в чувствительные тест-объекты (культуру клеток, эмбрионы). При отсутствии у животных и тест-объектов повреждающего действия микроорганизмов или их антигенов, токсинов говорят о нейтрализующем действии иммунной сыворотки и, следовательно, о специфичности взаимодействия комплекса антиген–антитело.

Для проведения реакции исследуемый материал, в котором предполагается наличие экзотоксина, смешивают с антитоксической сывороткой, выдерживают в термостате и вводят животным (морским свинкам, мышам). Контрольным животным вводят фильтрат исследуемого материала, не обработанный сывороткой. В том случае, если произойдет нейтра-

лизация экзотоксина антитоксической сывороткой, животные опытной группы останутся живыми. Контрольные животные погибнут в результате действия экзотоксина. Данная реакция специфична для исследования на ботулизм.

Серологические исследования не обладают 100% чувствительностью и специфичностью в отношении диагностики инфекционных заболеваний, могут давать перекрестные реакции с антителами, направленными к антигенам других возбудителей. При использовании серологических (иммунологических) методов практически во всех случаях ложно (+) результаты связаны с неспецифическим связыванием антител с антигенами или перекрестным реагированием антигенов с антителами, а ложно (-) результаты возникают из-за недостаточного количества специфических антител или антигенов в пробе и недостаточной чувствительности методов определения. В связи с этим оценивать результаты серологических исследований необходимо с большой осторожностью, с учетом клинической картины заболевания. Наиболее целесообразно применять комплекс различных методов для диагностики одной инфекции.

**Метод иммуноферментного анализа ИФА** (от англ. enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) — лабораторный иммунологический метод выявления антигенов и антител, основанный на выявлении комплекса «антиген-антитело». Основой проведения любого варианта ИФА служит определение продуктов ферментативных реакций при исследовании тестируемых образцов в сравнении с негативными и позитивными контролями. Для оценки результата иммунной реакции АГ-АТ к комплексу добавляется конъюгат (АТ меченные ферментом), затем вводится специальный хромогенный субстрат. Фермент, взаимодействуя с субстратом, изменяет его окраску. Учет результатов проводится фотометрически, с помощью иммуноферментного анализатора, который измеряет интенсивность окрашивания и оценивает ее в единицах оптической плотности (рис 2). В ИФА реализовано уникальное сочетание специфичности иммунохимической реакции (антитела связываются исключительно с определёнными антигенами и ни с какими другими) с высокой чувствительностью детекции ферментативной метки.



- 1) Для выявления антигенов
- 2) Для выявления антител

**Рис. 2. Основной принцип ИФА**

Преимущество метода перед другими серологическими реакциями: высокая чувствительность и специфичность, возможность одновременной оценки большого количества проб; широкий спектр наборов отечественного и импортного производства, дешевизна.

К недостаткам метода относится необходимость проведения исследований группе пациентов (оптимально 96 человек, по количеству лунок в планшете; у большинства производителей разработаны «стрипованные» форматы с отламывающейся лункой для лабораторий, имеющих небольшой поток анализов).

Достоинства метода сделали его одним из наиболее востребованных и активно развивающихся направлений в практической деятельности медицинских лабораторий. ИФА широко используется в этиологической диагностике инфекционных заболеваний, паразитарных инвазий, в эпидемиологических исследованиях (диагностических и скрининговых). Применяется для оценки специфического иммунитета при вирусных инфекциях.

Оценка результатов проводится в нескольких форматах: качественном, полуколичественном и количественном. При качественном формате результат выдается либо положительный, либо отрицательный. Полуколичественный позволяет определить титр антител, либо вычислить коэффициент позитивности. Количественный используется для определения концентрации антител или антигенов (например, определение IgG при краснухе, кори, токсоплазмозе, а также анти-HBsAg, HBsAg при вирусном гепатите В).

С помощью ИФА возможно обнаружить в крови больных антигены возбудителей или антитела к ним, относящиеся к различным классам иммуноглобулинов (IgM, IgA, IgG IgE).

**Иммуноглобулины класса М** являются первичным ответом на внедрение инфекционного агента в организм человека является секреция IgM В-лимфоцитами. При первичной (острой) инфекции IgM определяются, как правило, с 5-го дня заболевания и достигают пика в промежутке от 1 до 4 недель. Для подтверждения специфичности IgM необходимо исследование парных сывороток, при этом отмечается нарастание титра IgM. Затем их уровень снижается вплоть до полного исчезновения. В отдельных случаях возможна длительная циркуляция IgM (до 11 месяцев). Однако необходимо помнить, что выявленные IgM могут быть «ложнопозитивными», в связи с низкой дифференциацией IgM, но при этом нарастания титра не происходит.

**Иммуноглобулины класс А** это секреторные иммуноглобулины, вырабатываются при иммунном ответе внутри слизистого слоя В-лимфоцитами. Они содержатся в продуктах внешней секреции (слезная жидкость, слюна, пот, секрет бронхиального и кишечного эпителия, грудное молоко) и участвуют в местном иммунитете, предупреждая адгезию бактерий к слизистой оболочке. IgA начинают определяться в период наибольшего титра IgM или несколько позже, в зависимости от природы возбудителя (обычно через 10–14 дней от начала заболевания). В результате успешного лечения уровень IgA снижается ко 2–4 месяцу, а при реинфекциях вновь возрастает. Если уровень IgA не падает, это может указывать на хроническую или персистирующую форму инфекции.

**Иммуноглобулины класса G.** После трансформации В-лимфоцита в плазматическую клетку следующие стимуляции тем же самым антигеном вызывают выраженный «вторичный ответ», теперь уже с секрецией IgG плазматическими клетками, через 15–20 дней от начала заболевания. Уровень специфических IgG нарастает при иммунном ответе медленнее, чем IgM и продолжает увеличиваться после того, как содержание IgM в сыворотке крови снижается. Для некоторых инфекций рост концентрации IgG в парных сыворотках, взятых с интервалом 14 дней, даже при отсутствии IgM, может являться важным диагностическим признаком острой фазы заболевания (например, при токсоплазмозе, цитомегаловирусной инфекции). После завершения периода острой текущей инфекции у реконвалесцентов наблюдается постепенное снижение концентрации IgG вплоть до их полного исчезновения. Постоянная циркуляция IgG отмечается при полном выздоровлении и формировании пожизненного иммунитета (например, при вирусном гепатите А), при персистирующих инфекциях (герпес-вирусные инфекции), при хроническом течении инфекции (хронические вирусные гепатиты).

Традиционный путь определения острой инфекции состоит в выявлении в сыворотке крови IgM, тогда как современные диагностические тест-системы позволяют выявлять кроме IgM другие ранние антитела, такие как IgG к предранним белкам вирусов и низкоавидные IgG.

Причем IgG к предранним белкам вирусов являются маркерами как первичной острой инфекции, так и обострения хронической инфекции и реинфекции, т.е. всех вариантов острой инфекции, в отличие от IgM, вырабатывающихся, как правило, только при первичной инфекции.

**Авидность IgG.** Результаты определения иммуноглобулинов классов M, A, G не всегда могут позволить установить точный момент инфицирования и помочь разграничить первичную инфекцию, реинфекцию, реактивацию инфекционного процесса, хроническую инфекцию. В таких случаях помогают тесты определения авидности IgG (вирусный гепатит С, краснуха, токсоплазмоз, цитомегаловирусная инфекция и др.). В основу метода положены такие свойства IgG как аффинность (степень специфического сродства активного центра IgG к антигенной детерминанте) и авидность (степень прочности связывания молекулы IgG с антигеном).

В начале острого периода заболевания IgG обладают низкой степенью специфичности и, как следствие, низкой степенью avidности (определяются низкоавидные IgG). Затем постепенно (в течение нескольких месяцев) возрастает степень специфичности IgG и прочность их связи с антигеном (определяются высокоавидные IgG).

**Иммуноглобулины класса Е.** Основное значение IgE имеют в развитии аллергических реакций, а также в антипаразитарном иммунитете.

Варианты метода ИФА. К настоящему времени разработано большое число различных вариантов проведения иммуноферментного анализа. Единой классификации не существует. В практической работе лабораторий наиболее часто применяются следующие варианты:

- **твердофазный** (гетерогенный) ИФА в микропланшетном формате, когда определяемые антитела (антигены) фиксируются на поверхности лунки полистеролового планшета сорбированными в лунках антигенами или антителами (иммуносорбенты). Варианты: «непрямой» ИФА и «конкурентный».

В случае поиска антигена комплекс выглядит так: антитела + искомым АГ + антитела. В последних этапах в реакцию вводится субстратная смесь, содержащая перекись водорода и хромоген. В результате образуется окрашенный продукт. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации искомого агента, такой метод называется «непрямым» иммуноферментным анализом.

При «конкурентном» методе одновременно с пробой в лунки вносят меченые антитела, конкурирующие с антителами проб за участки связывания на твердой фазе. При этом, чем выше концентрация меченых антител, тем ниже оптическая плотность образца в лунке. Таким образом, интенсивность окрашивания обратно пропорциональна количеству исследуемого вещества.

- **Автоматизированный формат ИФА.** Большинство средних и крупных лабораторий на современном этапе используют автоматизированные варианты иммуноферментного анализа на полуавтоматических и полностью автоматических анализаторах различных производителей (Abbott, Roche, BioMerieux и др.).

Например, **иммуноферментный флуоресцентный анализ ИФФА** (ELFA) на анализаторе mini VIDAS (BioMérieux, Франция). В основе этого аналитического метода лежит сочетание 2-ступенчатого иммуноферментного анализа типа «сэндвич» с финальным флуоресцентным детектированием. Все этапы анализа выполняются автоматически. Реагенты собраны в один стрип (кювету), что позволяет выполнить один анализ для одного пациента в течение 40 минут. Данная технология характеризуется высоким уровнем чувствительности и специфичности (96–99%). ELFA является значительно более чувствительным методом, чем ИФА, позволяет обнаруживать развивающиеся антитела в течение более короткого времени по сравнению со временем, затрачиваемым на обнаружение антител методом ИФА. Разница в чувствительности достигается за счет измерения непосредственно сигнала флуоресценции, в отличие от измерения сигнала интенсивности окраски в ИФА.

Из линейки приборов, использующих иммунофлуоресцентный метод, у анализатора производства BioMérieux наиболее широкая инфекционная панель: ВИЧ, гепатиты В, С и А, ВЭБ, TORCH-панель. Кроме того, есть возможность проводить исследования маркеров неотложных состояний (прокальцитонина, D-димера, кардиомаркеров), гормонов (тиреоидных, половых и др.), онкомаркеров, маркеров гемостаза; осуществлять лекарственный мониторинг и выявлять нарушения иммунитета или метаболизма.

- **Иммунохроматографический анализ (ИХА)** можно отнести к экспресс-диагностике. Современный метод позволяет получить результат в течение 15–30 мин. Применяется для выявления инфекций (ВИЧ, гепатиты, респираторные инфекции), кардиомаркеров, наркотических веществ. Материал: кровь, соскобы, кал, моча, и др. Выполняется с помощью тест-полосок, панелей или тест-кассет. Разработаны как бесприборные так и приборные варианты тест-систем для диагностики методом ИХА.

В основе метода лежит технология тонкослойной хроматографии. Биоматериал наносится на тест-полоску, белки-маркеры биоматериала вступают в реакцию с моноклональными антителами, образуя комплекс антиген-антитело. Далее под действием капиллярных сил эти комплексы двигаются по хроматографической мембране и вступают в реакцию с иммобилизо-

ванными антителами в соответствующих зонах к тем же белкам. При этом, если определяемый белок-маркер присутствует в достаточном количестве, окрашенный конъюгат, связанный с белком, накапливается в зоне иммобилизации антител против этого белка. Свободный конъюгат продвигается по хроматографической мембране и захватывается в контрольной полосе иммобилизованными вторичными антителами. Если в зонах захвата накопится достаточное количество иммунных комплексов, то полосы, благодаря частицам коллоидного золота, приобретают характерный бордовый оттенок. Контрольная зона окрашивается всегда. Отсутствие в контрольной зоне четкой цветной полосы указывает на ошибку.

Выдаваемый результат может быть как качественный, так и полуколичественный. При использовании специального оборудования, возможно получение количественного результата.

В диагностике инфекций метод оценивается как предварительный, требующий подтверждения более чувствительными и специфичными методиками.

## **1.4. Полимеразная цепная реакция (ПЦР)**

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) Считается одной из фундаментальных научных технологий XX века (Нобелевская премия по химии 1993 г. К. Муллис). Относится к молекулярно-биологическим методам, мишенью которых являются нуклеиновые кислоты — молекулы ДНК/РНК (дезоксирибонуклеиновая/рибонуклеиновая кислоты). ДНК — это двухцепочечная полимерная молекула, последовательность нуклеотидов в которой определяет все свойства организма. При делении клеток ДНК удваивается и в каждую из двух дочерних клеток попадает точная копия генетического материала родительской клетки. Удвоение молекулы ДНК называется репликацией. В природе реплицируется вся ДНК, находящаяся в клетке, и продуктом этого процесса являются две идентичные копии исходной ДНК (этот принцип лежит в основе ПЦР).

Суть метода заключается в идентификации специфического участка молекулы ДНК с последующим копированием (амплификацией) этого участка с целью получения достаточного для идентификации количества копий (рис. 3).

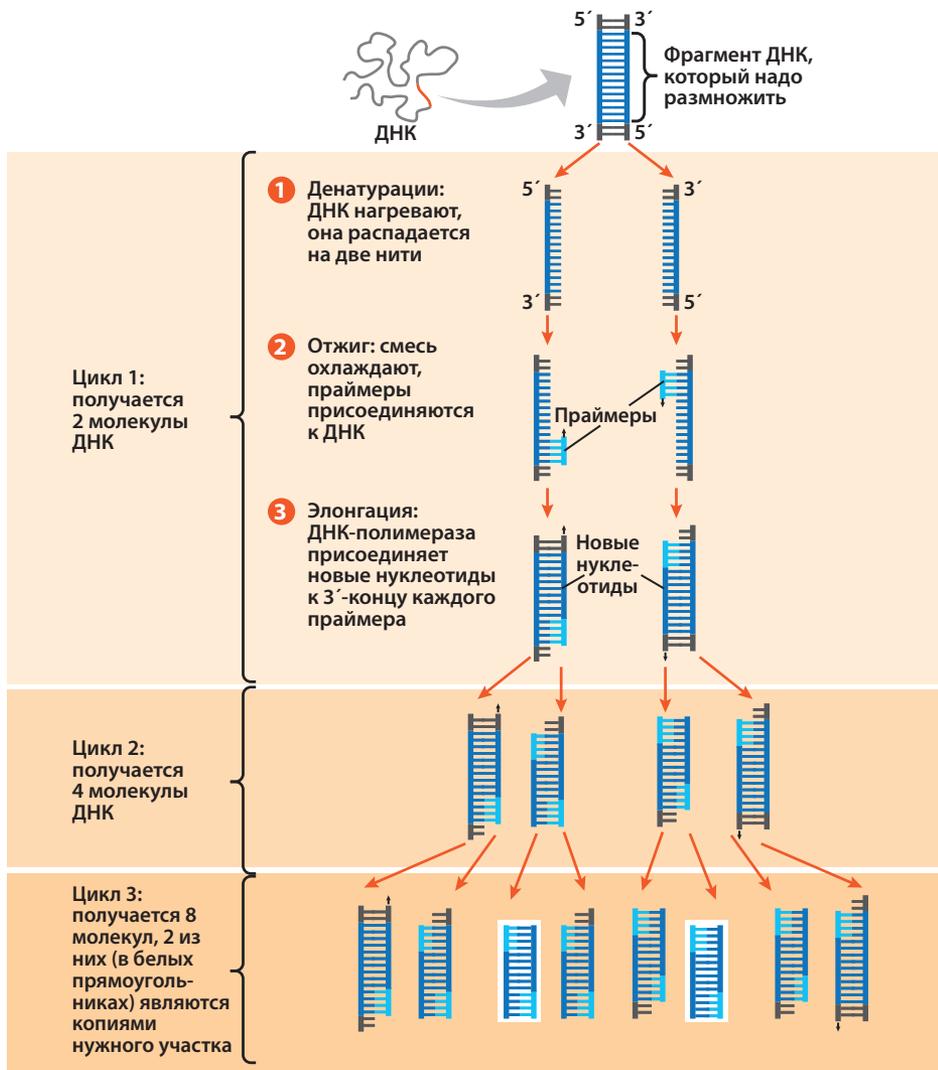


Рис. 3.

Технически проведение ПЦР-анализа происходит в три этапа: выделение ДНК, амплификация ДНК-фрагментов и детекция продуктов амплификации. В процессе амплификации сначала происходит денатурация т.е. раскручивание ДНК — разделение связанных между собой двух цепей ДНК, затем

праймер присоединяется к участку нити ДНК (отжиг), в заключении «фермент-строитель» достраивает нити, восстанавливая ДНК (этап элонгации). В настоящее время весь этот сложный процесс протекает в одной пробирке и состоит из повторяющихся циклов размножения (амплификаций) определяемой ДНК с целью получения большого количества копий, которые могут быть, затем выявлены. То есть из одной нити ДНК мы получаем сотни тысяч или миллионы копий ДНК-мишени.

Полимеразная цепная реакция получила широкое применение в различных областях медицины: пренатальная диагностика генетических заболеваний, ранняя диагностика онкологических заболеваний. Наибольшее значение метод приобрел в диагностике инфекционных заболеваний: вирусных (COVID-19, грипп, ВИЧ, гепатиты, TORCH-инфекции, ВЭБ, парвовирусной В19 и др.), туберкулеза (особенно внелегочного), урогенитальных инфекций (хламидиоза, микоплазмоза, уреаплазмоза, папилломавирусной инфекции), заболеваний, вызванных трудно культивируемыми микроорганизмами, в определении устойчивости микрофлоры к антибиотикам.

Идентификация специфического продукта ПЦР в настоящее время чаще всего проводится в формате «реального времени» (Real-Time PCR). В её основе лежит принцип флуоресцентной детекции продуктов ПЦР непосредственно в ходе амплификации (прямо в реакционной среде через стенки или крышку закрытой пробирки, что позволяет избежать контаминации). Реакция проводится в специальных автоматических термостатах — амплификаторах, где изменение температуры происходит по заданной программе. Прибор не только управляет циклами амплификации и поддерживает необходимые температуры, но и делает количественные замеры после каждого цикла. Автоматические термоциклеры позволяют проводить множественный ПЦР анализ — до 5 мишеней (цветных флуоресцентных красителей) в 96 пробирках одновременно.

ПЦР может проводиться в двух вариантах: качественном и количественном.

**Качественный** метод ПЦР позволяет определить наличие ДНК/РНК возбудителя, при некоторых инфекциях определить генотип возбудителя (гепатиты В и С). Ответ выдается с формулировкой: обнаружено/не обнаружено.

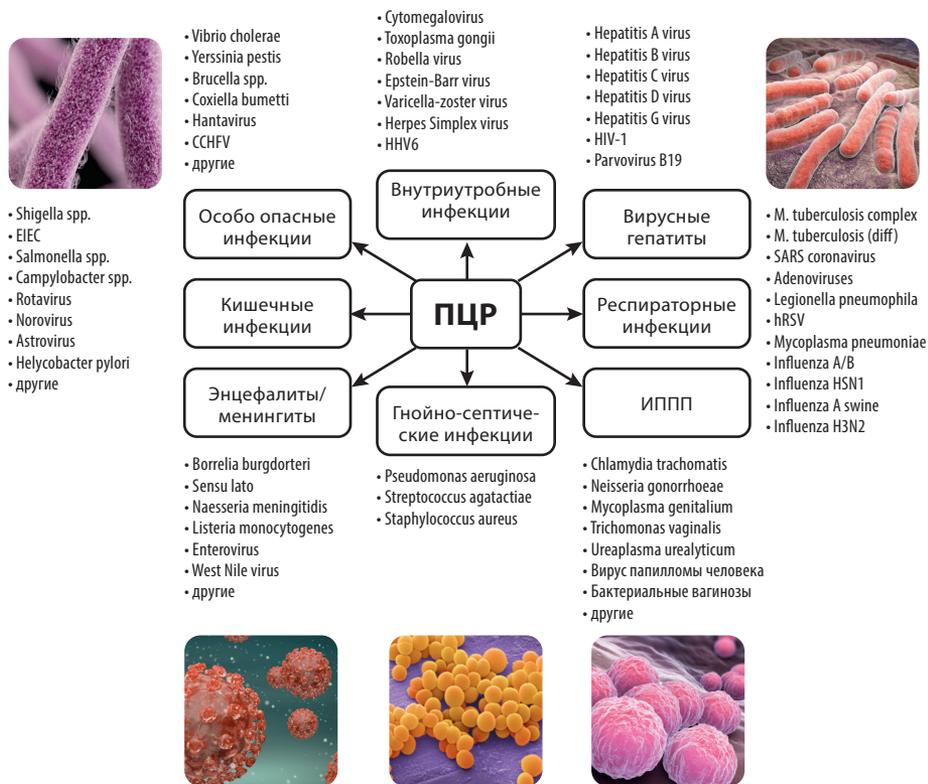


Рис. 4.

**Количественный** метод ПЦР позволяет определить стадии активности заболевания, прогнозировать прогрессирование заболевания, проводить контроль эффективности терапии. Ответ выдается в количестве копий от 5 МЕ/мл до  $10^8$  МЕ/мл.

Преимущества ПЦР перед другими методами клинической лабораторной диагностики:

- Универсальность. Метод позволяет обнаружить любую ДНК и РНК, даже в тех случаях, когда другими способами это сделать невозможно.
- Специфичность. Высокая специфичность метода обусловлена тем, что в исследуемом материале определяется уникальный фрагмент НК (нуклеотидная последовательность), характерный только для данного возбудителя или гена.

- Чувствительность. В настоящее время реальный порог чувствительности тест-систем позволяет определять несколько сот копий в исследуемом образце.
- Быстрота получения результата.
- Возможность доклинической и ретроспективной диагностики. ПЦР позволяет осуществить определение патогена или дефектного гена в организме еще до развития заболевания. Например, при инфекциях в инкубационном периоде, т. е. в серонегативной фазе или при латентном характере заболевания.
- Проведение анализа возможно в минимальном объеме пробы (до нескольких микролитров).
- Возможность одновременной диагностики нескольких возбудителей заболеваний или аномальных генов в одной пробе без ущерба для чувствительности или специфичности результата.

### **Особенности и недостатки метода ПЦР**

ПЦР — высокотехнологичный метод, требующий соблюдения строжайших правил устройства, оснащения лаборатории и высокой квалификации специалистов.

Особенность применения метода зависит от объекта поиска, то есть ПЦР обнаруживает не весь микроорганизм, а только определенную часть генома. В связи с этим даже остатки «мертвого» возбудителя будут давать положительный ПЦР.

Другой вариант — это «отрицательный» результат ПЦР при наличии клинической картины. Одна из наиболее возможных причин — материал для исследования был взят «не оттуда». Врач должен четко определиться в выборе **вида биоматериала** (плазма крови, соскоб из уретры, биоптат, плевральная, спинномозговая жидкость и др.) направляемого на исследование и **места нахождения** определенного возбудителя в организме человека. Отбор образцов должен производиться квалифицированным медицинским персоналом, строго следуя инструкции, которую разрабатывает лаборатория на основании инструкций по применению тест-систем производителей.

При создании праймеров используют специфичный для данного микроорганизма фрагмент ДНК, наименее подверженный изменениям. Он выбирается из так называемой «высоко консервативной» области ДНК. Но изменчивость микроорганизмов может приводить к тому, что некоторые генотипы или штаммы исследуемого возбудителя могут приобретать и накапливать мутации в амплифицируемом (клонированном) участке генома и становиться неуловимыми для данного праймера и тест-системы в целом. Таким образом, исследования, выполненные на различных тест-системах — одна из причин, почему анализы, сделанные в разных лабораториях и в разных клиниках «одним и тем же» методом ПЦР могут показывать разные результаты. Чтобы максимально избежать ошибок по вине мутаций, современные стандарты качества, регламентируют объем испытаний тест-системы, прежде чем она попадет на рынок и будет использована для диагностики. Эти испытания включают проверку на перекрестные реакции, а также тестирование всех известных штаммов определяемого возбудителя.

При этом ни один лабораторный метод идентификации микроорганизмов на практике не гарантирует сочетания 100% чувствительности и специфичности, то есть не позволяет получить 100% верный ответ. Поэтому для постановки диагноза нередко приходится использовать как минимум два различных метода, либо каждое исследование проводить в двух- или трехкратном повторении.

При этом дифференцировать различные формы инфекции помогает комплексный подход к диагностике, основанный на принципе разумности и экономической целесообразности.

Для эффективного использования лабораторных тестов необходима разработка дифференциально-диагностических программ, принцип построения которых заключается в целенаправленном и поэтапном обследовании различных групп риска с учетом эпидемиологической ситуации, клинических форм и критериев тяжести течения заболевания. Такое рациональное использование тест-систем на основе предложенных принципов на отдельных этапах обследования пациента позволяет избежать ненужных многократных исследований, поскольку использование комплексного подхода к диагностике и выбор высокочувствительных и специфичных тестов позволяют оперативно установить диагноз и активность процесса.

## 1.5. Перспективные методы лабораторной диагностики инфекционных заболеваний

Наше столетие называют веком генетики, молекулярной медицины, веком, когда геномные технологии создадут основу для развития персонализированной медицины будущего и генетической паспортизации человека. Их внедрение в практику здравоохранения повышает эффективность мероприятий по диагностике, профилактике и лечению социально значимых инфекций, позволяет своевременно идентифицировать новые инфекционные угрозы и принять необходимые меры в борьбе с ними, дает возможность успешно прогнозировать развитие эпидемиологической ситуации и проводить мониторинг инфекционных заболеваний, оказывая существенную роль в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия населения, биологической и микробиологической безопасности среды обитания человека.

В научных и клинических лабораториях уже сейчас применяется широкий спектр диагностических наборов для определения возбудителей инфекционных заболеваний различными вариантами полимеразной цепной реакции: ПЦР с обратной транскрипцией, LAMP (LOOP-mediated amplification — амплификация, опосредованная формированием петли), NASBA (Nucleic acid sequence based amplification — амплификация, опосредованная транскрипцией), ПЦР-масс-спектрометрия и др. Развитие и совершенствование платформ на основе ПЦР обеспечивает более высокую чувствительность тестов из меньшего объема клинического образца, снижет время проведения анализа.

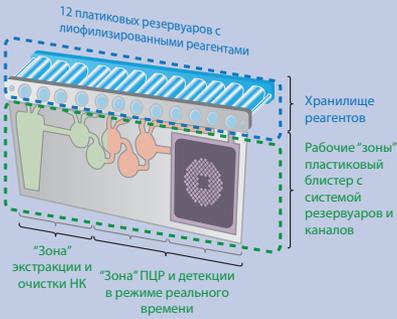
Основной тенденцией в данном направлении стало развитие технологий, использующих многопараметрический (мультиплексный) анализ, миниатюризация и автоматизация процесса. Формируется целая отрасль — «лаборатория на чипе» (Lab-on-a-Chip, LOC), в которой применяется принцип микрогидродинамики — возможность организации автоматически контролируемых потоков жидкости (биологического образца, необходимого раствора, доставка образца к регистрирующему устройству), что, в свою очередь, привело к созданию микрофлюидных (микрочиповых) технологий,

позволило миниатюризировать выполнение основных этапов ПЦР (изотермических методов амплификации), объединить их на одном микрочипе. Такие ПЦР-платформы выполняют все этапы ПЦР-анализа, в т.ч. выделение и очистку нуклеиновых кислот, подготовку и проведение ПЦР с обратной транскрипцией, подготовку и проведение мультиплексной ПЦР, детекцию и интерпретацию результатов в полностью автоматическом режиме. Расходными материалами для таких платформ служат картриджи/кассеты, содержащие все необходимые реагенты. Единственной ручной операцией при этом остается ввод пробы биоматериала в реагентный картридж и установка его на борт прибора.

Примером реализации такого подхода является синдромальная мультиплексная ПЦР-платформа по технологии BioFire FilmArray (производства BIOMERIEUX — мирового лидера в области диагностики инфекций) (рис.5). Под синдромным подходом понимается одновременное выявление широкого спектра патогенов-мишеней, ассоциированных с группой клинически и/или морфологически подобных инфекционных заболеваний. Под мультиплексным исполнением понимается одновременная амплификация двух и более ДНК-мишеней.

Синдромные панели для диагностики инфекций центральной нервной системы. Инфекции центральной нервной системы, включая менингит и энцефалит, зачастую вызывают угрожающие жизни заболевания и этиологически разнородны. Сохраняется необходимость в применении усовершенствованных диагностических подходов к расшифровке менингита/энцефалита, которые бы позволили устранить недостатки традиционных микробиологических подходов, таких как окрашивание по Граму и культивирование.

Панель BioFire FilmArray Meningitis/Encephalitis (ME) Panel зарегистрирована в России, позволяет определять из 200 мкл ликвора 14 патогенов-мишеней, включая бактерии, вирусы и грибы, в течение одного часа (табл. 6).

 <p>Анализатор BioFilm 2.0 для проведения мультиплексной ПЦР</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• полная автоматизация и быстрота выполнения тестов: все этапы ПЦР от выделения ДНК/РНК до получения результатов проводятся автоматически, без участия оператора и занимают около 1 часа*;</li> <li>• минимальные требования к инфраструктуре помещений для ПЦР и дополнительному оснащению;</li> <li>• возможность развертывания ПЦР-диагностики в условиях КДЛ, экспресс-лабораторий, службы СМП, в приемных и палатных отделениях, в отделениях реанимации и неотложной терапии (ОРИТ) и т.п.;</li> <li>• автоматическая интерпретация результатов исследования;</li> </ul>
<p>Реагентный картридж для синдромной ПЦР по технологии BioFire FilmArray (микрочиповая ПЦР)</p>  <p>12 пластиковых резервуаров с лиофилизированными реагентами</p> <p>Хранилище реагентов</p> <p>Рабочие "зоны": пластиковый блистер с системой резервуаров и каналов</p> <p>"Зона" экстракции и очистки НК</p> <p>"Зона" ПЦР и детекции в режиме реального времени</p>	<p>В картриджах FilmArray® воплощена идея «lab-on-chip» – воспроизводство всех этапов ПЦР в полностью автоматическом формате.</p> <p>Эволюция «пробирочной ПЦР» в микрофлюидику: выполнение ПЦР в малых объемах с использованием принципов микрогидродинамики.</p>

**Рис. 5.** Виды синдромных панелей (Адаптировано из публикации Dien Bard J. Et al. Panels and Syndromic Testing in Clinical Microbiology, Clin Lab Med 40 (2020) 393–420, <https://doi.org/10.1016/j.cll.2020.08.001>)

**Таблица 6**

**Синдромные ПЦР-панели для диагностики менингоинфекций,  
 одобренные FDA\*, для работы с пробами ликвора**

Тест-система (производитель)	Количество мишеней в одном тесте	Время анализа	Бактерии	Вирусы	Грибы
BioFire FilmArray Meningitis/Encephalitis (ME) (BioFire)	14	60 минут	<i>Escherichia coli</i> K1 <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Neisseria meningitidis</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i>	Цитомегаловирус Энтеровирус Вирус простого герпеса 1-го типа Вирус простого герпеса 2-го типа Вирус герпеса человека 6-го типа Парэховирус Вирус Варицелла-Зостер	<i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>

FDA\* - Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (Food and Drug Administration) Министерства здравоохранения и социальных служб США.

Ранняя диагностика асептического менингита за счет выявления энтеровируса или парэховируса позволяет клиницистам избежать назначения антибиотиков. Ускоренное выявление бактериальных и грибковых возбудителей в максимально сжатые сроки позволяет скорректировать эмпирическую терапию и избежать серьёзных осложнений (повреждение головного мозга, потеря слуха, слепота и др.) или смерти пациента.

Синдромные панели для диагностики инфекций кровотока обеспечивают быструю идентификацию большинства бактериальных патогенов и распространенных контаминантов, которые не требуют лечения. Кроме того, ряд синдромных панелей обнаруживает гены устойчивости к противомикробным препаратам. Один анализ совмещает в себе идентификацию

с определением чувствительности (табл. 7), обеспечивает идентификацию бактериального патогена на 18–24 часов раньше, чем традиционные микробиологические методы. Информация о наличии/отсутствии антибиотикорезистентности может быть получена на 48 часов раньше, чем результаты традиционных методов. Тем не менее, синдромные панели, не заменяют классические культуральные методы, а дополняют их, позволяя клиницистам принимать информированные решения о проводимой терапии на несколько суток раньше.

Синдромные панели для диагностики респираторных инфекций. Часть панелей предназначена для работы с назофарингеальными мазками и сосредоточена на выявлении и дифференциации многочисленных вирусных агентов, атипичных бактерий, таких как *Mycoplasma pneumoniae* и *Chlamydia pneumoniae*, возбудителей коклюша и паракоклюша (табл. 8). Такие панели наиболее востребованы для дифференциальной диагностики инфекций верхних дыхательных путей и вирусной внебольничной пневмонии у детей и взрослых. В разгар пандемии новой коронавирусной инфекции, благодаря включению в ряд панелей мишени для определения РНК SARS-CoV-2, стало возможным применять панели для быстрой этиологической диагностики ОРВИ, что позволяет эффективно управлять потоком пациентов, включая изоляцию и сортировку, маршрутизацию в пределах медицинского учреждения или эвакуацию в специализированные «ковидные» госпитали.

Другая часть респираторных панелей предназначена для работы с пробами мокроты и БАЛ (табл. 9) и сосредоточена на выявлении вирусных и бактериальных патогенов, ассоциированных с развитием внебольничной и нозокомиальной, в т.ч. ИВЛ-ассоциированной, пневмонии. Ряд панелей разных производителей включают не только мишени патогенов, но и широкий спектр генов антибиотикорезистентности. Такой подход позволяет одновременно проводить этиологическую диагностику пневмонии и оценку чувствительности выявленных патогенов к антимикробным препаратам в пределах 1–2 часов, обеспечивая максимальную скорость диагностики в т.ч. для пациентов отделений реанимации и неотложной терапии.

**Таблица 7**

**Синдромные ПЦР-панели для диагностики инфекций  
 кровотока, одобренные FDA и предназначенные для работы  
 с положительными гемокультурами**

Тест-система (производитель)	Количество мишеней в одном тесте	Время анализа	Бактерии	Грибы	Гены антибиотико-резистентности
BioFire FilmArray BCID2 Panel (BioFire)	43	1 час	<i>Acinetobacter calcoaceticus-bau-mannii</i> комплекс <i>Bacteroides fragilis</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Neisseria meningitidis</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> Enterobacterales <i>Enterobacter cloacae</i> комплекс <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella aerogenes</i> <i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>группа</i> <i>Proteus spp.</i> <i>Salmonella spp.</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Enterococcus faecium</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Staphylococcus spp.</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Staphylococcus lugdunensis</i> <i>Streptococcus spp.</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Candida albicans</i> <i>Candida auris</i> <i>Candida glabrata</i> <i>Candida krusei</i> <i>Candida parapsilosis</i> <i>Candida tropicalis</i> <i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>	MP KPC OXA-48-like NDM VIM mcr-1 CTX-M mecA/C mecA/C u MREJ (MRSA) vanA/B
Синдромные ПЦР-панели других производителей: GenMark ePlex BCID-GP Panel (GenMark), Luminex Verigene Gram-Negative Blood Culture Test (Luminex), T2 Biosystems T2Candida Panel (T2Biosystems)					

**Таблица 8**

**Синдромные ПЦР-панели для диагностики респираторных инфекций, одобренные FDA и предназначенные для работы с пробами назофарингеальных мазков**

Тест-система (производитель)	Количество мишеней в одном тесте	Время анализа	Мишени
BioFire FilmArray (РУ в РФ)			
BioFire FilmArray Respiratory Panel 2plus и Respiratory Panel 2.1plus (BioFire)	22 (23*)	45 минут	Вирусы гриппа А, А/Н1, А/Н3, А/Н1-2009; Вирус гриппа В; Респираторно-синцитиальный вирус; Вирусы парагриппа 1, 2, 3 и 4 типов; Метапневмовирус человека; Риновирус/Энтеровирус; Аденовирус; Коронавирусы НКУ1, NL63, 229Е, ОС43, MERS, SARS-CoV-2*; Bordetella pertussis; Bordetella parapertussis; Chlamydia pneumoniae; Mycoplasma pneumoniae
Панели других производителей (в РФ не зарегистрированы): Applied BioCode Respiratory Pathogen Panel (Applied BioCode), GenMark ePlex Respiratory Pathogen Panel RP и RP2 (GenMark), Luminex NxTAG Respiratory Pathogen Panel (Luminex)			

**Таблица 9**

**Синдромные ПЦР-панели для диагностики респираторных инфекций, одобренные FDA и предназначенные для работы с пробами мокроты и БАЛ  
 (в РФ не зарегистрированы на август 2021 г.)**

Тест-система (производитель)	Количество мишеней в одном тесте	Время анализа	Бактерии	Вирусы/ Грибы	Гены анти-био-тико-резис-тентности
BioFire FilmArray					
BioFire FilmArray Pneumonia plus Panel (BioFire)	35	75 минут	<i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Proteus spp.</i> <i>Klebsiella pneumoniae gr.</i> <i>Enterobacter aerogenes</i>	Вирус группы А Вирус группы В Аденовирус Коронавирус Вирус парагруппа	<i>mecA/mecC u</i> <i>MREJ</i> <i>CTX-M</i> <i>KPC</i> <i>NDM</i>

Тест-система (производитель)	Количество мишеней в одном тесте	Время анализа	Бактерии	Вирусы/ Грибы	Гены антибиотикорезистентности
			<i>Enterobacter cloacae</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Moraxella catarrhalis</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Legionella pneumophila</i> <i>Mycoplasma pneumoniae</i> <i>Chlamydia pneumoniae</i>	Риновирус/ Энтеровирус Метапневмовирус Вирус RSV MERS-CoV SARS-CoV-2	<i>Oxa48-like</i> VIM IMP
<i>Другой производитель</i>					
BioFire FilmArray					
Curetis Unyvero Lower Respiratory Tract Panel (Curetis)	37	4–5 часов	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Citrobacter freundii</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Enterobacter cloacae complex</i> <i>Klebsiella aerogenes</i> <i>Proteus spp.</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Klebsiella variicola</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Morganella morganii</i> <i>Moraxella catarrhalis</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Acinetobacter baumannii complex</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> <i>Legionella pneumophila</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Mycoplasma pneumoniae</i> <i>Chlamydia pneumoniae</i>	<i>Pneumocystis jirovecii</i>	<i>ermB</i> <i>mecA</i> <i>mecC</i> <i>tem</i> <i>shv</i> <i>ctx-M</i> <i>kpc</i> <i>imp</i> <i>ndm</i> <i>oxa-23</i> <i>oxa-24/40</i> <i>oxa-48</i> <i>oxa-58</i> <i>vim</i> <i>sul1</i> <i>gyrA83</i> <i>gyrA87</i>

Возможность одновременной детекции широкого спектра респираторных мишеней позволяет расширить понимание клиницистов о вкладе тех или иных возбудителей в этиологическую структуру респираторных инфекций, их распространенности и клинической значимости у разных категорий пациентов, а также обеспечивает быстрое и информированное принятие решения об изоляции пациента, необходимости его перевода в/из ОРИТ, максимально быструю корректировку эмпирической терапии, учет и профилактику внутрибольничных инфекций.

Синдромные панели для диагностики инфекций желудочно-кишечного тракта (табл.10) обеспечивают обнаружение широкого спектра кишечных патогенов, включая бактерии, вирусы и паразитов в пробах кала/аноректальных мазков. Развернутая диагностика позволяет выявлять возбудителей кишечных инфекций в т.ч. при отсутствии настороженности в отношении тех или иных патогенов. Синдромные панели выявили высокую распространенность такого патогена, как норовирус, который ранее редко попадал в фокус врачей, несмотря на выраженный вклад этого патогена в этиологическую структуру гастроэнтеритов во многих регионах мира.

**Таблица 10**

**Синдромные ПЦР-панели для диагностики инфекций, одобренные FDA и предназначенные для работы с пробами кала**

Тест-система (производитель)	Количество мишеней в одном тесте	Время анализа	Бактерии	Вирусы	Паразиты
BioFire FilmArray GI Panel (BioFire)	22	1 час	<i>Campylobacter (jejuni, coli, upsaliensis)</i> <i>Clostridium difficile (токсин A и B)</i> <i>Plesiomonas shigelloides</i> <i>Salmonella</i> <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Vibrio cholera</i>	Аденовирус F40/41 Астровирус Норовирус GI/GII Потавирус A	<i>Cryptosporidium</i> <i>Cyclospora cayentanensis</i> <i>Entamoeba histolytica</i>

Тест-система (производитель)	Количество мишеней в одном тесте	Время анализа	Бактерии	Вирусы	Паразиты
			<i>Vibrio (parahaemolyticus, vulnificus, cholerae)</i> <i>E. coli (EAEC)</i> <i>E. coli (EPEC)</i> <i>E. coli (ETEC lt/st)</i> <i>E. coli (STEC stx1/stx2)</i> <i>E. coli O157</i> <i>E. coli (EIEC)</i>	Сановирус (I, II, IV u V)	<i>Giardia lamblia</i>
Другой производитель: Applied BioCode GI Pathogen Panel (Applied BioCode), BDMax Enteric Bacterial Panel (Becton Dickinson), BDMax Extended Enteric Bacterial Panel (Becton Dickinson), Hologic Prodesse ProGastro SSCS Assay (Hologic), Luminex Verigene Enteric Pathogens Test (Luminex)					

**Таблица 11**

**Преимущества использования мультиплексной синдромной ПЦР-диагностики**

Категория	Преимущества
Клинические	Своевременное назначение/интенсификация поддерживающей и симптоматической терапии
	Сокращение необоснованного использования противомикробных и противовирусных препаратов, использование антибиотиков узкого спектра, предотвращение развития антибиотикорезистентности и негативных последствий приема антибиотиков, включая отдаленные (аллергия, ожирение, диабет, воспалительные процессы в ЖКТ и др.)
	Сокращение неблагоприятных клинических исходов (заболеваемость, смертность, тяжелое течение, инвалидизация и т.п.)
Эпидемиологические	Повышение выявляемости патогенов и этиологической расшифровки инфекционных заболеваний
	Повышение эффективности эпидемиологического мониторинга и своевременное принятие противоэпидемических мер
	Профилактика внутрибольничных инфекций

Категория	Преимущества
Лабораторные	Повышение выявляемости патогенов и этиологической расшифровки инфекционных заболеваний
	Сокращение времени этиологической диагностики и выдачи результатов анализа
	Возможность проведения ПЦР-исследований в режиме 24/7 при минимальных затратах на инфраструктуру
Экономические	Сокращение объемов исследований назначаемых дополнительно (лабораторные тесты, рентгенологические исследования и др.)
	Сокращение длительности госпитализации
	Сокращение длительности пребывания пациентов в ОРИТ
	Сокращение объемов необоснованных госпитализаций

К факторам, сдерживающим массовое применения мультиплексных ПЦР-платформ в практическом здравоохранении можно отнести дороговизну тестов зарубежных производителей, отсутствие отечественных, отсутствие регистрации на территории РФ.

Особое место среди перспективных геномных технологий занимают методы, основанные на секвенировании нуклеиновых кислот (мультилокусное секвенирование (MLST), полногеномное секвенирование NGS (Next Generation Sequencing) NGS или высокопроизводительное параллельное секвенирование является новым этапом в совершенствовании технологий определения нуклеотидных последовательностей, объединяет ряд методов, позволяющих проводить одновременное определение последовательностей нуклеиновых кислот для большого количества коротких молекул ДНК от 400 до 600 пар (секвенирование второго поколения) или небольшого количества очень длинных молекул от 10 000 до 200 000 пар нуклеотидов (секвенирование третьего поколения). Наиболее распространенной целью анализа является прочтение последовательностей целевого участка или целого генома организма с поиском известных или новых изменений в структуре ДНК, нахождение в исследуемой ДНК генетических вариантов, которые могут быть связаны с развитием определенных заболеваний. В настоящее время большинство применяемых диагностических технологий предна-

значены для обнаружения одного или нескольких биомаркеров т.е. ограниченного числа predetermined аналитов, которые используются для диагностически ограниченного набора заболеваний или состояний. Применение технологии NGS позволяет идентифицировать тысячи или миллионы различных генетических вариантов (аналитов) за один анализ, связанных с многочисленными заболеваниями или состояниями. Ограничением метода является сложная специализированная обработка полученных данных методами биоинформатики, что представляет значительные трудности для медицинских лабораторий, поэтому наиболее широкое применение находит в научных целях.

В зарубежной литературе широко обсуждаются возможности использования различных платформ Next Generation Sequencing (NGS) не только в научных исследованиях, но и в повседневной практике лечебных учреждений для решения проблем диагностики инфекционных заболеваний с использованием метагеномного подхода, мониторинга мутаций, приводящих к лекарственной устойчивости вирусов и бактерий.

Метагеномика — это один из разделов геномики, посвященный изучению всего генетического материала (метагенома) сообществ микроорганизмов, присутствующих в исследуемом образце. Объектами изучения метагеномики могут являться любые популяции микроорганизмов.

### **Перспективы полногеномного секвенирования в клинической микробиологии и эпидемиологии**

- Идентификация микроорганизма/ сообществ микроорганизмов
- Определение полного спектра устойчивости к антибиотикам
- Определение факторов вирулентности и патогенности
- Установление происхождения и путей заноса штамма
- Установление его связи с родственными клонами

Как следствие:

- Персонализированный подход к диагностике и лечению
- Профилактические меры для предотвращения распространения эпидемически значимых ситуаций.

Молекулярные (геномные) технологии составляют основу персонализированной (предикативной) медицины будущего, интегрирующей персональные данные человека с результатами лабораторной и инструментальной диагностики, включающей в себя разработку индивидуализированных технологий профилактики и лечения, создание генетического паспорта человека на основе достижений геномики, протеомики, биоинформатики и генетики.

## **1.6. Проблемы антибиотикорезистентности в диагностике инфекционных болезней**

Одним из важных направлений применения лабораторных исследований является мониторинг за лекарственной устойчивостью возбудителей инфекционных болезней. Антибиотикорезистентность — это феномен устойчивости штамма возбудителей инфекции к действию одного или нескольких антибактериальных препаратов. Эффективная борьба с инфекционными заболеваниями осложняется глобальным ростом резистентности. Формирование и распространение устойчивых бактерий — это естественный и неизбежный процесс, однако его скорость напрямую зависит от селективного прессинга антибиотиков, выраженность которого в свою очередь определяется объемом потребления этих препаратов как в медицине, так и в сельском хозяйстве (животноводстве и в ветеринарии). К сожалению в последние время рост потребления приобрел неконтролируемый характер. В наибольшей степени эта проблема актуальна в лечебно-профилактических учреждениях (устойчивость возбудителей нозокомиальных инфекций к антибактериальным средствам). Такие возбудители, как метициллинрезистентные стафилококки, ванкомицинрезистентные энтерококки, энтеробактерии устойчивые к цефалоспорином, карбапенемрезистентная синегнойная палочка широко распространены в отделениях интенсивной терапии стационаров и обычно характеризуются также устойчивостью ко многим другим группам антимикробных средств. В последние годы особую тревогу вызывает появление и распространение в ЛПУ энтеробактерий и ацинетобактеров продуцирующих карбапенемазы разных групп

(KPC, OXA, NDM-1, VIM) и характеризующихся устойчивостью не только к карбапенемам, но и к большинству, если не ко всем, доступным антибиотикам. К сожалению, широко распространена практика назначения антибиотиков при респираторных инфекциях вирусной этиологии, антимикотиков для профилактики кандидоза при проведении антибиотикотерапии. Разумное отношение к имеющимся антимикробным средствам одна из важнейших задач современной антимикробной химиотерапии, а лабораторные исследования служат для выявления и мониторинга данной проблемы.

С микробиологической точки зрения в пределах популяций отдельных видов бактерий выделяют следующие типы:

Дикий тип (wild type — WT), к которому относятся штаммы микроорганизмов не имеющие мутационных или других приобретенных механизмов устойчивости к конкретному антибиотику.

Недикий тип (non-wild type — NWT), к которому относятся штаммы микроорганизмов обладающих мутационными или другими приобретенными механизмами устойчивости к конкретному антибиотику.

Существуют понятия природная и приобретенная резистентность :

Природная — постоянный видовой признак (характерен для большинства штаммов вида или группы микроорганизмов), клиническая неэффективность антимикробных препаратов легко прогнозируется на основании данных идентификации микроорганизма. Примеры природной резистентности:

*Enterococcus faecium* природноустойчив к  $\beta$ -лактамам

*Klebsiella* spp. к пенициллинам

*Pseudomonas aeruginosa* к тайгециклину

*Stenotrophomonas maltophilia* к карбапенемам

Приобретенная резистентность — свойство отдельных штаммов сохранять жизнеспособность при тех концентрациях антимикробных препаратов, которые подавляют основную часть популяции (обусловлена мутациями собственных генов или приобретением новой генетической информации).

Количественным показателем характеризующим выраженность антибактериального эффекта, является величина минимальной концентрации препарата (МПК), вызывающая подавление роста бактериальной культуры.

Существуют биохимические механизмы устойчивости к антимикробным препаратам:

1. Модификация мишени действия
2. Инактивация антибиотика
3. Активное выведение антибиотика из микробной клетки (эффлюкс)
4. Нарушение проницаемости внешних структур микробной клетки
5. Защита мишени

В приоритете угроза резистентности нозокомиальных и внебольничных патогенов:

Максимальная угроза: Clostridium difficile, Enterobacteriaceae (карбапенемрезистентные), Neisseriae gonorrhoeae (множественноустойчивые)

Серьезная угроза: Enterobacteriaceae (ESBL-бета-лактамазы расширенного спектра), Acinetobacter (MBL-металло-бета-лактамазы), Pseudomonas aeruginosa (карбапенем-резистентные), Enterococcus (VRE-ванкомицин-резистентные энтерококки), Staphylococcus aureus (MRSA-метициллин-резистентные стафилококки), Candida-флуконазол-R, Campylobacter (множественноустойчивые), Salmonella (множественноустойчивые), Shigella (множественноустойчивые), Tuberculosis (множественноустойчивые)

Существует множество видов устойчивости к антимикробным препаратам.

Ускоренными методами выявления устойчивости служит ПЦР — диагностика. Имеются различные ПЦР-панели для определения возбудителя и его генов устойчивости. Но наиболее распространенным является фенотипический метод определения устойчивости.

Значительную угрозу представляет устойчивость грамотрицательных бактерий к карбапенемам, поскольку выбор применяемых препаратов крайне ограничен. Количество карбапенемаз нарастает, однако широкое распространение в настоящее время получили металло-бета-лактамазы класса В (МБЛ) — это IMP-тип, VIM-тип и NDM-тип, а так же класса А-KPS-тип и класса D-OXA-тип.

Вторыми по важности и наиболее ранними широко распространенными механизмами резистентности, как на глобальном уровне, так и в России являются бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС). Основным свойством данных ферментов является способность разрушать все цефалоспориновые

антимикробные препараты, но с сохранением чувствительности к карбапенемам. Крайне негативной тенденцией можно считать выход продуцентов БЛРС за пределы стационаров. Наибольшее практическое значение имеет появление БЛРС среди возбудителей внебольничных осложненных инфекциями заболеваний мочевыводящих путей, интраабдоминальных и других инфекций, что в свою очередь требует пересмотра устоявшихся подходов к эмпирической терапии, то есть перехода от цефалоспоринов III–IV поколений к карбапенемам.

Среди грамположительных бактерий наиболее распространенным и важным механизмом устойчивости является метициллин-резистентность стафилококков.

Устойчивость *Enterococcus* spp. к гликопептидам (ванкомицину) и их распространение составляет реальную угрозу для ряда учреждений: онкологических, гематологических и других специализированных стационаров.

Важную роль играет распространение резистентности к основным бактериальным возбудителям внебольничных пневмоний, выявление которых является прямым показанием для назначения антимикробных препаратов, к ним относится ограниченная группа микроорганизмов: *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pyogenes*.

Актуальна роль фторхинолонов в возникновении антибиотикоассоциированной диареи, а так же, снижения чувствительности данных антимикробных препаратов к сальмонеллам и шигеллам.

Ассоциацией МАКМАХ (Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии) разработана и внедрена в практику карта резистентности, которая показывает распространение различных видов резистентности по регионам Российской Федерации.

База данных AMRmap регулярно пополняется и обновляется в рамках проспективных многоцентровых эпидемиологических исследований антибиотикорезистентности, проводимых НИИ антимикробной химиотерапии (НИИАХ, г. Смоленск) и МАКМАХ.

В настоящее время база данных содержит информацию об антибиотикочувствительности более чем 40 тыс. клинических изолятов микроорганиз-

мов, выделенных в 52 городах РФ за 1997–2018 г., тестирование которых проводилось в центральной лаборатории НИИАХ. Категории чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам определяются в соответствии с действующими рекомендациями EUCAST и российскими клиническими рекомендациями. (Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам. EUCAST Версия 2021-01).

Актуальность проблемы нашла отражение в документе, принятом правительством РФ в 2017 г. «Стратегия предупреждения распространения антимикробной резистентности в РФ на период до 2030 года», предложенной министерством здравоохранения России. Стратегия определяет государственную политику по предупреждению и ограничению распространения устойчивости микроорганизмов к противомикробным препаратам, химическим и биологическим средствам.

### **Вопросы для самоподготовки:**

1. Назовите основные лабораторные методы диагностики инфекционных заболеваний.
2. Какой из методов является «золотым стандартом» при диагностике лептоспироза?
3. В чем суть реакции нейтрализации?
4. На чем основан иммуноферментный метод?
5. О чем свидетельствует выработка иммуноглобулинов G при диагностике инфекционных заболеваний?
6. Суть метода ПЦР.
7. Что такое секвенирование?
8. Перспективы секвенирования.
9. Актуальность антибиотикорезистентности в современном мире.
10. Что означает понятие приобретенная резистентность?
11. Бета-лактамазы расширенного спектра — актуальность проблемы.
12. Понятие нозокомиальные инфекции.
13. Что такое МПК?

Глава II.

## **▶ ПОРЯДОК ПРОВЕДЕНИЯ ОБСЛЕДОВАНИЯ И ГОСПИТАЛИЗАЦИИ ЛИЦ ПРИ ПОДОЗРЕНИИ НА ИНФЕКЦИОННОЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ В СООТВЕТСТВИИ С ВЕДУЩИМ СИНДРОМОМ**

### **2.1. Эпидемиологические риски заноса опасных инфекционных болезней**

Лабораторная диагностика инфекционных заболеваний обеспечивает подтверждение инфекционного заболевания для своевременного проведения противоэпидемических мероприятий.

При сборе эпидемиологического анамнеза особое внимание необходимо обращать на ряд моментов, повышающих эпидемиологическую опасность: прибытие больного из страны неблагополучной по инфекционному заболеванию; нахождение больного на эндемичной территории (территория риска) во время сезонного подъёма заболеваемости (время риска) — в пределах инкубационного периода заболевания; на наличие контакта с больным, страдающим аналогичным заболеванием, или контакта с заразным материалом; на имевшиеся укусы больного комарами, вшами, блохами, клещами (факторы риска), а также на другие возможные риски инфицирования, в том числе — принадлежность больного к контингентам риска. Наиболее вероятные эпидемиологические риски заноса инфекционных заболеваний из различных регионов мира представлены в таблице 1.

**Таблица 1**

**Эпидемиологические риски заноса опасных инфекционных болезней из других стран и регионов**

Регионы	Эндемичные инфекции
СЕВЕРНАЯ АФРИКА (Алжир, Египет, Ливия, Марокко и Тунис)	Филяриоз (с очагами в дельте Нила), лейшманиоз, малярия, возвратная лихорадка, лихорадка Рифт-Валли, флеботомная лихорадка, тиф, лихорадка Западного Нила, гепатит А, гепатит Е, брюшной тиф, алиментарные гельминтные инфекции, бруцеллёз, лямблиоз, эхинококкоз (гидатидная болезнь), холера, коронавирусная инфекция
ЦЕНТРАЛЬНАЯ АФРИКА (Ангола, Бенин, Буркина-Фасо, Бурунди, Камерун, Кабо-Верде, Центральная Африканская Республика, Чад, Коморские острова, Республика Кот-Д'Ивуар, Демократическая Республика Конго, Джибути, Экваториальная Гвинея, Эритрея, Эфиопия, Габон, Гамбия, Гана, Гвинея-Бисау, Кения, Либерия, Мадагаскар, Малави, Мали, Мавритания, Маврикий, Мозамбик, Нигер, Нигерия, о-в Реюньон, Руанда, Сан-Томе и Принсипи, Сенегал, Сейшельские острова, Сьерра Леоне, Сомали, Судан, Того, Уганда, Объединённая Республика Танзания, Замбия и Зимбабве)	Малярия, филяриоз, онхоцеркоз, кожный и висцеральный лейшманиоз, трипаносомоз (сонная болезнь), возвратная лихорадка, тиф, естественные очаги распространения чумы, туниоз, жёлтая лихорадка, алиментарные гельминтные инфекции, дизентерии, диареи, включая лямблиоз, брюшной тиф и гепатиты А и Е, холера, дракункулёз, парагонимоз, эхинококкоз, гепатит В, полиомиелит, шистосомоз (бильгарциоз), трахома, геморрагическая лихорадка ареновирусная, лихорадки Ласса, Эбола и Марбург, менингококковый менингит, коронавирусная инфекция
ЮЖНАЯ АФРИКА (Ботсвана, Лесото, Намибия, о-в Святой Елены, Южная Африка и Свазиленд)	Крымская геморрагическая лихорадка, малярия, чума, возвратная лихорадка, лихорадка Рифт-Валли, клещевая лихорадка, трипаносомоз (сонная болезнь), амёбиаз, брюшной тиф, гепатит А, коронавирусная инфекция

Регионы	Эндемичные инфекции
<p>ЦЕНТРАЛЬНАЯ АЗИЯ (Бахрейн, Кипр, Ирак, Израиль, Иордания, Кувейт, Ливан, Оман, Катар, Саудовская Аравия, Сирийская Арабская Республика, Турция, Объединённые Арабские Эмираты и Йемен)</p>	<p>Кожный лейшманиоз, висцеральный лейшманиоз, эндемический блошиный и клещевой тиф, клещевая возвратная лихорадка, КГЛ, онхоцеркоз, брюшной тиф, гепатит А, дракункулез, тениоз (ленточный червь), бруцеллёз, энхококкоз, коронавирусная инфекция</p>
<p>ВОСТОЧНАЯ АЗИЯ (Китай (включая Административный Регион Гонконг), Демократическая Народная Республика Корея, Япония, Макао, Монголия и Республика Корея)</p>	<p>Малярия, филяриоз, висцеральный лейшманиоз, кожная форма лейшманиоза, чума, геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, корейская геморрагическая лихорадка, лихорадка денге, японский энцефалит, клещевой и кустарниковый тиф, гепатит А, гепатит Е, клонорхоз (восточный печёночный червь) и парагонимоз (восточный лёгочный червь), фасциолепсидоз (гигантский кишечный червь), бруцеллёз, холера, коронавирусная инфекция</p>
<p>ЮГО-ВОСТОЧНАЯ АЗИЯ (Бруней-Даруссалам, Камбоджа, Индонезия, Лаосская Народная Демократическая Республика, Малайзия, Мьянма, Филиппины, Сингапур, Таиланд и Вьетнам)</p>	<p>Малярия, филяриоз, чума, японский энцефалит, лихорадка денге, клещевой тиф, холера, амёбная и бациллярная дизентерия, брюшной тиф, гепатит А, фасциолепсидоз (гигантский кишечный червь), клонорхоз (восточный печёночный червь), описторхоз (кошачий печёночный червь), парагонимоз (восточный лёгочный червь), мелиоидоз, коронавирусная инфекция</p>
<p>ОКЕАНИЯ (Самоа, о-ва Кука, о-в Пасхи, Фиджи, Французская Полинезия, Гуам, Кирибати, о-ва Маршалла, Микронезия (Федеративные Штаты), Науру, Новая Каледония, Ниуэ, Палау, Папуа-Новая Гвинея, Самоа, Соломоновы о-ва, Токелау, Вануату, о-ва Уоллис, о-ва Футуна)</p>	<p>Малярия, филяриоз, клещевой тиф, лихорадка денге, брюшной тиф, гельминтные инфекции, гепатит А, коронавирусная инфекция</p>
<p>АВСТРАЛИЯ</p>	<p>Эпидемический полиартрит, вирусный энцефалит, лихорадка денге, коронавирусная инфекция</p>

Регионы	Эндемичные инфекции
<p><b>ЗАПАДНАЯ ЕВРОПА</b> (Беларусь, Бельгия, Чешская Республика, Дания (включая Фарерские острова), Эстония, Финляндия, Германия, Исландия, Ирландия, Латвия, Литва, Люксембург, Нидерланды, Норвегия, Польша, Молдова, Российская Федерация, Словакия, Швеция, Украина и Великобритания)</p>	<p>Клещевой тиф, клещевой энцефалит, болезнь Лайма, ГЛПС, тениоз (ленточный червь) и трихинеллёз, дифиллоботриоз (рыбий ленточный червь), фасциолёз, гепатит А, сальмонеллёз и кампилобактериоз, коронавирусная инфекция</p>
<p><b>ЮЖНАЯ ЕВРОПА:</b> (Албания, Андорра, Австрия, Босния и Герцеговина, Болгария, Хорватия, Франция, Гибралтар, Греция, Венгрия, Италия, Лихтенштейн, Мальта, Монако, Португалия, (с Азорскими о-вами и о. Мадейра), Румыния, Сан-Марино, Словения, Испания (с Канарскими островами), Швейцария, Республика Северная Македония и Югославия)</p>	<p>Брюшной тиф, бруцеллёз, эхинококкоз (гидатид), фасциолёз, гепатит А, сальмонеллёз, кампилобактериоз, коронавирусная инфекция</p>
<p><b>ЦЕНТРАЛЬНАЯ АМЕРИКА:</b> (Белиз, Коста-Рика, Република Эль-Сальвадор, Гватемала, Гондурас, Мексика, Никарагуа, Панама)</p>	<p>Амёбная и бациллярная дизентерия, брюшной тиф, холера, гепатит А, гепатит Е, гельминтные инфекции, паразитоз, бруцеллёз, коронавирусная инфекция</p>
<p><b>ТРОПИЧЕСКАЯ АМЕРИКА:</b> (Боливия, Бразилия, Колумбия, Эквадор, Французская Гвиана, Гайана, Парагвай, Перу, Суринам и Венесуэла)</p>	<p>Малярия, американский трипаносомоз (болезнь Шагаса), кожный, кожно-слизистый и висцеральный лейшманиоз, онхоцеркоз, бенкрофтозный филяриоз, чума, жёлтая лихорадка, вирусный энцефалит, лихорадка денге, бартонеллёз или лихорадка Ороя, сыпной тиф, амёбиоз, гельминтные инфекции, гепатит А, паразитоз (восточный лёгочный червь), бруцеллёз, эхинококкоз (гидатидная болезнь), холера, Бразильская, Венесуэльская и Боливийская геморрагические лихорадки, коронавирусная инфекция</p>

Регионы	Эндемичные инфекции
<p>УМЕРЕННАЯ АМЕРИКА: (Аргентина (Буэнос-Айрес, Кордова, Санта-Фе и Ла-Пампа), Чили, Фолклендские острова (Мальвинские) и Уругвай)</p>	<p>Американский трипаносомоз (болезнь Шагаса), малярия, кожный лейшманиоз, гастроэнтерит (главным образом сальмонеллёз), холера, гепатит А, кишечный паразитоз, тениоз (ленточный червь), брюшной тиф, вирусный гепатит, эхинококкоз (гидатидная болезнь), Аргентинская геморрагическая лихорадка, коронавирусная инфекция</p>
<p>СЕВЕРНАЯ АМЕРИКА: (Бермуды, Канада, Гренландия, Сен-Пьер и Микелон и Соединённые Штаты Америки (включая Гавайи))</p>	<p>Чума, бешенство, пятнистая лихорадка Скалистых гор, туляремия, клещевой энцефалит, хантавирусная инфекция, болезнь Лайма, сальмонеллёз, коронавирусная инфекция</p>
<p>КАРИБСКИЙ БАССЕЙН: (Антигуа и Барбуда, Аруба, Багамские о-ва, Барбадос, Британские Виргинские острова, Каймановы острова, Куба, Доминика, Доминиканская Республика, Гренада, Гваделупа, Гаити, Ямайка, о-в Мартиника, Монсеррат, Голландские Антильские о-ва, Пуэрто-Рико, Сент-Китс и Невис, Сент-Люсия, Сент-Винсент и Гренадины, Тринидад и Тобаго, Туркс и Каикские острова, Вирджинские острова (США))</p>	<p>Малярия, диффузный кожный лейшманиоз, бенкрофтозный филяриоз, фасциолёз, лихорадка денге, туляремия, бациллярные и амёбные дизентерии, гепатит А, коронавирусная инфекция</p>

## 2.2. Порядок обследования лиц с подозрением на инфекционные болезни

При определении ведущего клинического синдрома и характеризующегося этим синдромом перечня инфекционных болезней (ИБ) используют подход, предложенный ВОЗ (Руководство по сбору клинических образцов во время полевых исследований вспышек. WHO/CDS/CSR/EDC/2000.4).

Основные клинические синдромы, их описания и характерные для каждого синдрома инфекционные болезни представлены в таблице 2.

Таблица 2

**Основные клинические синдромы**

№	Синдром	Описание синдрома	Болезни/патогены
1.	Синдром острой диареи	Острое начало диареи с рвотой или без, лихорадка, тяжёлое течение болезни	Шигеллёзы, сальмонеллёзы, вирусный гастроэнтерит (норовирусный и ротавирусный), ОКИ, обусловленные кампилобактериями, энтеропатогенными <i>E. coli</i> (в т.ч. энтеротоксигенными и энтерогеморрагическими), астровирусами, а также амёбная дизентерия, холера, лямблиоз, листериоз, криптоспоридиоз, клостридиоз, вирусные геморрагические лихорадки, кишечные формы особо опасных инфекций (ООИ) (сибирская язва, чума и др.), пищевые токсикоинфекции, энтеровирусы
2.	Острый респираторный синдром	Острое начало, одышка, затруднённое дыхание, кашель, лихорадка или тяжёлое течение болезни	Грипп, острая пневмония, тяжёлый острый респираторный синдром (ТОРС), БВРС-КоВ и др. коронавирусные инфекции, зоонозный грипп, хантавирусный лёгочный синдром, микоплазмоз, легионеллёз, коклюш, лёгочная чума, скарлатина, дифтерия, лептоспирозы, орнитоз, туляремия, сибирская язва и др.
3.	Острый дерматологический синдром	Острое лихорадочное заболевание с сыпью или другие кожные проявления	Ветряная оспа, корь, краснуха, сыпной тиф, др. риккетсиозы, брюшной тиф, оспа обезьян, кожная форма сибирской язвы, парвовирус В19, лептоспирозы, энтеровирусная инфекция, Болезнь Лайма

**ГЛАВА 2. ПОРЯДОК ПРОВЕДЕНИЯ ОБСЛЕДОВАНИЯ И ГОСПИТАЛИЗАЦИИ ЛИЦ ПРИ ПОДОЗРЕНИИ НА ИНФЕКЦИОННОЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ В СООТВЕТСТВИИ С ВЕДУЩИМ СИНДРОМОМ**

№	Синдром	Описание синдрома	Болезни/патогены
4.	Синдром острой геморрагической лихорадки	Острое начало лихорадки продолжительностью менее 3 недель, наличие нижеперечисленных симптомов: – геморрагическая или пурпурная сыпь; – кровотечение (носовое, лёгочное, желудочно-кишечное, маточное, кровоизлияния в головной мозг, мозговые оболочки и т.д.).	Крымская геморрагическая лихорадка, ГЛПС, лихорадки денге, Эбола, Ласса, Марбург, долины Рифт, южноамериканские лихорадки (Боливийская, Аргентинская, Бразильская, Венесуэльская), жёлтая лихорадка, болезнь Киасанурского леса, хантавирусный лёгочный синдром, менингококкцемия
5.	Острый желтушный синдром	Острое начало желтухи, тяжёлое течение болезни	Гепатиты А, В, Е, лептоспирозы, жёлтая лихорадка
6.	Острый неврологический синдром	Острая неврологическая дисфункция с одним или более из нижеперечисленных симптомов: – ухудшение ментальной функции; – острый паралич; – судороги; – патологические неврологические симптомы; – признаки раздражения менингеальных оболочек. Тяжёлое течение болезни	Энтеровирусный менингит, японский энцефалит, лихорадка Западного Нила, ботулизм, лептоспирозы, менингококковый менингит, полиомиелит, бешенство, клещевой энцефалит, малярия, трипаносомоз, сибиреязвенный менингит

№	Синдром	Описание синдрома	Болезни/патогены
7.	Острый «системный» синдром	<p>Острое лихорадочное заболевание, характеризующееся тремя или более симптомами из нижеперечисленных, касающихся различных систем организма:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– лихорадка;</li> <li>– симптомы интоксикации (слабость, потливость, головная боль, суставные, мышечные боли);</li> <li>– симптомы полиорганной недостаточности (сердечно-сосудистой, дыхательной, почечной, печёночной);</li> <li>– нарушения сознания, потеря аппетита и веса;</li> <li>– тошнота и рвота;</li> <li>– головная боль;</li> <li>– боль в мышцах, суставах, спине;</li> <li>– сыпь.</li> </ul>	<p>Лихорадки денге, Чикунгунья, геморрагическая лихорадка Ласса, хантавирусная инфекция, лептоспирозы, чума, бруцеллёз, брюшной тиф, возвратный тиф, лихорадка долины Рифт, малярия, сибирская язва, ВИЧ инфекция</p>
8.	Острый офтальмологический синдром	<p>Острое начало конъюнктивита с субконъюнктивальными кровоизлияниями или без таковых</p>	<p>Эпидемический аденовирусный кератоконъюнктивит, геморрагический энтеровирусный кератоконъюнктивит, лихорадка Паппатачи</p>

Выявление больных с симптомами подозрительными на болезнь, осуществляют на транспортных средствах, в пунктах пропуска через государственную границу (СКП, ПСКП, СКО), а также на всех этапах оказания медицинской помощи местному населению, лицам, прибывшим из зарубежных стран и из других субъектов Российской Федерации.

Необходимо дифференцировать острые синдромы и симптоматические проявления инфекционных болезней, когда госпитализации больного не требуется.

### Вопросы для контроля знаний

- Что включает в себя понятие эндемичные инфекции?
- Для каких регионов характерна лихорадка Западного Нила? (широкий ареал: Африка, Центральная и Южная Азия, Южные регионы Европы. В России — это Волгоградская и Астраханская область).
- Для каких регионов характерна ГЛПС? ( Восточная Азия, Западная Европа).
- Для каких регионов характерен клещевой энцефалит? (Северная Америка).
- Что включает в себя понятие «острой геморрагической лихорадки»? (Острое начало лихорадки, геморрагическая или пурпурная сыпь, кровотечение).
- Для каких заболеваний характерно острое начало желтухи? (Гепатиты А, В, Е, лептоспирозы, жёлтая лихорадка).
- Ухудшение ментальной функции и острый паралич являются симптомами какого синдрома? ( Острый неврологический синдром).
- Характерный синдром при ветрянной оспе? (Острый дерматологический синдром).
- Какие синдромы характерны при желтой лихорадке? (Острый желтушный синдром, синдром острой геморрагической лихорадки).
- Какие ведущий синдром характерен для короновирусной инфекции? (Острый респираторный синдром).

Глава 3.

## **▶ ПОРЯДОК ПРОВЕДЕНИЯ ЛАБОРАТОРНОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА**

### **3.1. Правила ведения преаналитического этапа клинических лабораторных исследований**

#### **3.1.1 Общие положения**

Правила составлены на основании ГОСТ Р 53079.4-2008

Достоверность отражения в результатах лабораторных исследований состояния внутренней среды пациента, содержания искомым компонентов биологических материалов в значительной степени зависит от условий, в которых пациент находился в период, предшествовавший взятию у него образца биоматериала, от условий и процедур взятия образца, его первичной обработки и транспортирования в лабораторию, то есть от факторов преаналитического этапа клинического лабораторного исследования.

С целью исключения или ограничения влияния внелабораторных факторов преаналитического этапа на результаты лабораторных исследований настоящие правила регламентируют:

- а) условия периода, предшествующего взятию у пациента образца биологического материала;
- б) условия и процедуры взятия образца биологического материала у пациента;
- в) условия хранения и транспортирования образцов биоматериалов в клиничко-диагностические лаборатории.

Требования правил основаны на:

- а) научных данных о постоянных и переменных факторах физического, химического и биологического характера, способных оказать влияние на содержание веществ и клеток в биологических материалах пациентов;
- б) обобщенных данных о стабильности компонентов в образцах биологических материалов после их взятия при различных условиях хранения;
- в) обобщенных данных о влиянии принимаемых пациентом лекарственных средств на результаты лабораторных исследований;
- г) требованиях ГОСТ Р ИСО 15189 (раздел 5.4).

Правила предназначены для обеспечения такого качества ведения преаналитического этапа клинических лабораторных исследований, которое необходимо для получения их результатов, достоверно отражающих состояние внутренней среды обследуемых пациентов в момент обследования, путем:

- правильной подготовки пациентов к проведению лабораторных тестов;
- информирования пациентов о требуемых ограничениях в диете, физической активности, курении, о правилах сбора биологических материалов, которые обычно собирает сам пациент (моча, кал);
- инструктирования персонала, участвующего во взятии образцов биологических материалов у пациентов, об особенностях процедур взятия различных видов этих материалов;
- рациональной организации процесса взятия образцов биоматериалов;
- полноценного обеспечения процедур взятия образцов биоматериалов необходимыми инструментами, посудой, средствами первичной обработки и транспортировки.

Принимая во внимание потенциальную биоопасность образцов биологического материала, получаемого от пациентов, персонал, выполняющий эти функции, должен быть информирован и обучен правилам безопасного взятия образцов и должен располагать средствами защиты (перчатки,

устройства для безопасного сбора использованных игл и т.п.) в соответствии с требованиями ГОСТ Р ИСО 15190.

Настоящие правила содержат общие положения, которые по отношению к отдельным биологическим материалам и отдельным изучаемым в них анализам могут требовать особых условий и процедур, что должно быть отражено в нормативных документах по технологиям оказания соответствующих простых или комплексных медицинских услуг, применительно к функциям различных категорий клинического персонала.

На основании этих общих правил в каждой медицинской организации следует разрабатывать и вводить для обязательного исполнения внутренние правила ведения преаналитического этапа применительно к каждому виду исследований, выполняемых в лаборатории, учитывающие особенности медицинского профиля и организационной формы учреждения. В случае выполнения исследований в лаборатории другого учреждения правила ведения преаналитического этапа, включая условия транспортирования образцов, применительно к этим исследованиям следует согласовывать с руководителем лаборатории, выполняющей эти исследования. Наличие и исполнение персоналом правил ведения преаналитического этапа лабораторных исследований является одним из обязательных условий при сертификации процессов выполнения исследований в клинико-диагностической лаборатории.

### **3.1.2. Требования к условиям и процедурам взятия образца биологического материала**

Взятие образца или пробы — это процесс изъятия или образования проб, охарактеризованный процедурой их взятия, то есть оперативными требованиями и/или инструкциями для отбора, изъятия и подготовки одной или нескольких проб пациента.

#### **3.1.2.1. Биологический материал — кровь**

Большая часть клинических лабораторных исследований проводится в образцах крови: венозной, артериальной или капиллярной. Венозная кровь лучший материал для определения гематологических, биохимических, гормональных, серологических и иммунологических показателей.

Для исследования аналитов в цельной крови, сыворотке или плазме образец крови берут чаще всего из локтевой вены. Показания для взятия крови из пальца на клиническое исследование крови:

- при ожогах занимающих большую площадь поверхности тела пациента;
- при наличии у пациента очень мелких вен или когда они труднодоступны;
- при выраженном ожирении пациента;
- при установленной склонности к венозному тромбозу;
- у новорожденных.

При взятии образца крови из венозного или артериального катетера, через который проводилось вливание инфузионного раствора, катетер следует предварительно промыть изотоническим солевым раствором в объеме, соответствующем объему катетера, и отбросить первые 5 мл (миллилитров) взятой из катетера крови. Недостаточное промывание катетера может привести к загрязнению образца крови препаратами, вводимымися через катетер. Из катетеров, обработанных гепарином, нельзя брать образцы крови для исследований системы свертывания крови. В зависимости от назначенного вида исследования образец крови должен собираться при наличии строго определенных добавок. Для получения плазмы кровь собирают с добавлением антикоагулянтов. В большинстве гематологических исследований используют венозную кровь с солями этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА, K2 или K3-ЭДТА).

Для получения из образцов крови вариантов проб для различных видов исследований рекомендуется следующая последовательность наполнения пробирок:

- кровь без добавок для получения гемокультуры, используемой в микробиологических исследованиях;
- кровь без антикоагулянтов для получения сыворотки, используемой при клинико-химических и серологических исследованиях;
- кровь с цитратом для получения плазмы, используемой при коагулологических исследованиях;
- кровь с гепарином для получения плазмы, используемой при биохимических исследованиях;

- кровь с ЭДТА для получения цельной крови, используемой для гематологических исследований, и плазмы, используемой для некоторых клинико-химических исследований и ПЦР.

С целью сохранения в образце крови эритроцитов применяют смесь антикоагулянтов с добавками, например, АЦД (антикоагулянт цитрат-декстроза или кислота-цитрат-декстроза).

Во избежание ятрогенной анемизации пациентов объем забираемой для исследований крови должен быть рационально рассчитан, исходя из того, что в конечном итоге непосредственно для анализа расходуется лишь половина от первоначально взятого объема (с учетом использования сыворотки или плазмы при гематокрите 0,5). При использовании современных анализаторов достаточны следующие объемы образцов:

- для биохимических исследований: 20–45 мкл (на одно исследование);
- при использовании гепаринизированной плазмы: 25–35 мкл (на одно исследование);
- для гематологических исследований: 25–35 мкл крови с ЭДТА;
- для исследований свертывающей системы: 20–25 мкл цитратной крови (на одно исследование);
- для иммунологических анализов, включая исследования белков и др.:
- 1 мл цельной крови для 34 исследований;
- для исследования скорости оседания эритроцитов: 20–40 мкл цитратной крови на проведение одного исследования;
- для исследования газов крови: капиллярная кровь 50 мкл;

Рационально применение пробирок для взятия крови небольшого объема (4,5 мл) при соотношении диаметра и высоты пробирки 13x75 мм. Использование плазмы вместо сыворотки дает увеличение на 15–20% выхода анализируемого материала при одном и том же объеме взятой у пациента крови.

Взятие венозной крови облегчается применением вакуумных пробирок. Под влиянием вакуума кровь из вены быстро поступает в пробирку, что упрощает процедуру взятия и сокращает время наложения жгута.

Для обозначения содержимого пробирок с различными добавочными компонентами применяют цветное кодирование закрывающих их пробок

**Таблица 1**

**Добавки в пробирках с цветным кодом**

Содержимое пробирки	Применение	Цвет кода
Пробирка без добавок (или с активаторами свертывания)	Биохимия, серология (в том числе ИФА)	Красный / белый
Гепарин (12–30 Ед/мл)	Плазма для биохимии	Зеленый /оранжевый
K <sub>2</sub> или K <sub>3</sub> -ЭДТА (1,2–2,0 мг/мл)	Гематология и отдельные биохимические анализы в плазме, ПЦР	Лиловый / красный
Цитрат натрия (0,105–0,129 моль/л)	Коагулологические тесты	Голубой / зеленый
Фторид натрия (24 мг/мл) / оксалат калия (13 мг/мл)	Глюкоза, лактат	Серый
K-ЭДТА и аprotинин	Нестабильные гормоны	Розовый

Примечание: пробирки, содержащие кислоту-цитрат-декстрозу (АЦД, формула А и В) используют для сохранения клеток и кодируют желтым цветом.

(табл. 1). Так, для пробирок с антикоагулянтами лиловый цвет пробки означает наличие ЭДТА, зеленый цвет гепарина, голубой цитрата.

Необходимо помнить, что разные производители могут использовать разную цветовую кодировку пробирок. При выборе пробирки обращать внимание на информацию на этикетке пробирки и ориентироваться на антикоагулянт или активатор свертывания, который указан на пробирке.

**3.1.2.2. Биологический материал — спинномозговая жидкость**

Взятие образца спинномозговой жидкости производят в строгом соответствии с утвержденной в установленном порядке процедурой, и по возможности вскоре после взятия крови для исследований в сыворотке, с результатами которых данные в спинномозговой жидкости сопоставляют. Первые 0,5 мл и всю спинномозговую жидкость (далее СМЖ) с примесью крови следует удалить. Рекомендуемые объемы проб СМЖ в соответствии с таблицей 2.

**Таблица 2**

**Рекомендуемые объемы проб СМЖ**

Фракции пробы	Взрослые	Дети
Микробиология	≈2 мл	≈1 мл
Цитология (клетки опухоли) Супернатант, используемый для клинической химии	> 10 мл (клетки опухоли)	>1 мл (клетки опухоли)
ПЦР	≈2 мл	≈1 мл
Общее количество	14 мл	3 мл

Пробу помещают с соблюдением правил асептики в пробирки с пробками (для микробиологических исследований в стерильные, для цитологических и клинико-химических исследований в свободные от частиц пыли, без ЭДТА и фторида, для ПЦР — в стерильные одноразовые пластиковые пробирки типа Эппендорф).

**3.1.2.3. Биологический материал — моча**

В зависимости от цели исследования, образцы мочи собирают либо в виде отдельных порций, либо за определенный промежуток времени. Первая утренняя порция мочи (натощак, сразу после сна) используется для общего анализа, вторая утренняя порция мочи для количественных исследований в соотношении с выделением креатинина и для бактериологического исследования, случайная порция для качественных или количественных клинико-химических исследований, суточная моча для количественного определения экскреции аналитов. Желательно использовать сосуд с широкой горловиной и крышкой, по возможности надо собирать мочу сразу в посуду, в которой она будет доставлена в лабораторию. Мочу из судна, утки, горшка брать нельзя, так как даже после полоскания этих сосудов может сохраняться осадок фосфатов, способствующих разложению свежей мочи. Если в лабораторию доставляется не вся собранная моча, то перед сливанием ее части необходимо тщательное взбалтывание, чтобы осадок, содержащий форменные элементы и кристаллы, не был утрачен.

### **3.1.2.4. Биологический материал — испражнения**

Кал для исследования должен быть собран в чистую сухую одноразовую посуду с широкой горловиной (не следует собирать кал в баночки и флаконы с узким горлом, а также в коробочки, спичечные коробки, бумагу и т. д.). Следует избегать примеси к испражнениям мочи, выделений из половых органов и других веществ, в том числе лекарств. Если для какого-либо химического определения (например, уробилиногена) нужно точно знать количество выделенного кала, то посуду, в которую собирают испражнения, нужно предварительно взвесить.

### **3.1.3. Особенности условий взятия образцов биоматериалов для специальных видов исследований**

При взятии образцов для бактериологических исследований особое внимание должно быть уделено предотвращению загрязнения.

Содержимое абсцесса следует набирать через кожу, если это возможно, поскольку ее легче дезинфицировать, чем слизистые оболочки. Жидкий материал предпочтительнее образцов на тампонах. Секрет, содержащий интерферирующие вторичные микроорганизмы, должен быть удален с поверхности открытой раны, затем образец собирают бактериологическим тампоном круговыми вращательными движениями от центра к периферии раны. Объем пробы должен быть насколько возможно большим. Образцы для культуры крови, если возможно, следует собирать в период повышения температуры тела. При подозрении на инфекционный эндокардит следует брать не менее десяти культур крови.

Образцы для выделения и идентификации вирусов обычно собирают немедленно после появления симптомов (если возможно, в первые три дня). Для анализа используют образцы на тампонах (из носа, гортани, глаз), смывы из глотки, жидкость из пузырьков при кожных поражениях, кал, мочу и спинномозговую жидкость.

При взятии кожных образцов для микологических исследований соскобы с зон активного поражения берут с помощью скальпеля после тщательной дезинфекции участка кожи. При отложениях на волосах их образцы берут с помощью эпиляционной пипетки или остригают. При поражении

ногтей берут их срезы и соскобы с нижней части ногтей. Для обнаружения дрожжей в моче используют случайный образец мочи, для детекции дрожжей или грибков в мокроте предпочтительнее использовать ее утренний образец.

ПЦР-анализ может быть проведен в образцах: крови с ЭДТА, костного мозга, мокроты, жидкости из полости рта, бронхиальной лаважной жидкости, спинномозговой жидкости, мочи, кала и т. д. Важным условием получения достоверных результатов является предотвращение загрязнения образцов экзогенной дезоксирибонуклеиновой кислотой (ДНК), обычными источниками которой являются волосы и кожа людей, дверные ручки, лабораторная мебель, порошки, реагенты, термоциклер и наконечники пипеток.

Идеальным средством создания чистой беспылевой среды служат настольные шкафы с ламинарным потоком профильтрованного воздуха.

### **3.1.4. Процедуры первичной (долабораторной) обработки образцов биологических материалов**

#### ***3.1.4.1. Правила оформления направления на лабораторные исследования***

Заявки на анализы должны быть согласованы со всеми врачами-специалистами, участвующими в лечении больного, чтобы при венепункции взять материал для всех необходимых исследований и не повторять процедуру. Медицинская сестра должна собрать все заявки данного пациента и дать суммарную заявку на анализы (применительно только к стационару). Если пациент будет переведен в другое отделение, то она также должна предупредить лабораторию об этом, чтобы результаты исследований были направлены в нужное отделение и не утеряны.

В направлении на лабораторные исследования (заявке) должны быть отображены следующие данные:

- наименование медицинской организации в соответствии с уставом медицинской организации, направляющей пациента на микробиологическое исследование, адрес ее местонахождения;
- фамилию, имя, отчество (при наличии) пациента, дату его рождения;

- номер медицинской карты пациента, получающего медицинскую помощь в амбулаторных условиях;
- дополнительные клинические сведения (основные симптомы, результаты проведенных лабораторных, инструментальных и иных видов исследований, описание медицинских вмешательств (манипуляций, операций, данные о принимаемых пациентом противомикробных препаратах), которые влияют на результат микробиологического исследования;
- цель микробиологического исследования;
- наименование биоматериала для микробиологического исследования;
- локус взятия биоматериала;
- дату и время взятия биоматериала;
- фамилию, имя, отчество (при наличии) и должность лечащего врача (фельдшера, акушерки).

#### **3.1.4.2. Правила первичной обработки образца биоматериала**

Важнейшей процедурой первичной обработки образцов биоматериалов после взятия их у пациентов является их кодирование с целью последующей надежной их идентификации. Кодирование видов образцов по характеру внесенных в них добавок закреплено с помощью разного цвета крышек пробирок, содержащих соответствующие добавки.

Идентификацию образцов от определенных пациентов наиболее рационально проводить с помощью штрих-кодов, в которых отражены идентификационные признаки пациентов: фамилия, клиническое отделение, фамилия лечащего врача и т. п. Штрих-коды изготавливают в месте взятия образца (при доставке проб из другой лаборатории маркировку допускается проводить в лаборатории, выполняющей анализ) и считывают с помощью специального сканирующего устройства в клинической лаборатории. В небольших учреждениях возможно ручное кодирование пробирок нанесением на них карандашом по стеклу или фломастером условных знаков, цифр. Другие процедуры первичной обработки образцов биоматериалов по месту их взятия зависят от общей организации лабораторного обеспечения в данном

учреждении. Если процедурные кабинеты расположены в том же здании, что и лаборатория, то контейнеры с образцами следует как можно скорее доставлять в лабораторию, где и будут осуществляться все дальнейшие действия. Пробы, содержащие инфекционные агенты, следует обрабатывать иначе, чем пробы с относительно небольшим риском инфицирования (подобно большинству проб крови, сыворотки, мочи, кала, тампонам, мазкам и фильтровальным бумажкам).

### **3.1.4.3. Требования к условиям хранения и транспортировки образцов биоматериалов в клиническую лабораторию**

Условия хранения образцов биоматериалов, взятых у пациентов, определяются стабильностью в этих условиях искомым анализом. Максимально допустимая нестабильность, выраженная в процентном отклонении результата после хранения от исходного уровня, не должна превышать половины размера общей ошибки определения, рассчитываемой из суммы биологической и аналитической вариации данного анализа. Максимально допустимое время хранения измеряется периодом времени, в течение которого в 95% образцов содержание анализа сохраняется на исходном уровне.

Стабильность анализов в различных видах образцов (крови, мочи, спинномозговой жидкости) и проб (сыворотке, плазме, осадке, мазке крови) неодинакова. Данные о стабильности проб следует учитывать и при их хранении после поступления в лабораторию. В отношении анализов, нестабильных на свету, должны быть соблюдены соответствующие предосторожности (сбор материала в темную посуду, защита образца от прямого света).

#### *3.1.4.3.1. Биологический материал — кровь*

Содержание электролитов, субстратов, некоторых ферментов может не изменяться при хранении образцов сыворотки крови при температуре холодильника 4 °С в течение до четырех дней. Гемоглобин, эритроциты стабильны в течение одного дня при хранении в закрытой пробирке. Хранение образцов плазмы крови, предназначенной для исследований свертывающей системы, в условиях комнатной температуры более 4 ч не рекомендуется.

При транспортировании в лабораторию контейнеры с образцами крови следует предохранять от тряски во избежание развития гемолиза. Температура ниже 4 °С и выше 30 °С может существенно изменить содержание в образце многих анализов. Образцы цельной крови пересылке не подлежат.

#### 3.1.4.3.2. Биологический материал — спинномозговая жидкость

При исследовании в пределах 1 ч пробу не охлаждают. Для транспортирования проб СМЖ используют закрытые пробирки. При исследовании в пределах трех часов хранить на льду, не замораживать, не фиксировать, не добавлять консерванты. Транспортирование следует осуществлять как можно скорее в связи с нестабильностью клеток. Для длительного хранения после отделения клеток с помощью центрифугирования пробу следует быстро заморозить до минус 70 °С в тщательно закупоренном полипропиленовом сосуде.

#### 3.1.4.3.3. Доставка в лабораторию биоматериалов для микробиологического исследования

Доставка в лабораторию любого образца биоматериала, предназначенного для микробиологического исследования, должна длиться не более двух часов после взятия материала. Требования к транспортированию и хранению бактериологических проб приведены в табл. 3.

**Таблица 3**

### **Условия транспортирования и хранения образцов различных биоматериалов для бактериологических исследований**

<b>Образец</b>	<b>Транспортирование</b>	<b>Температура хранения</b>
Кровь	Флакон для гемокультуры	Комнатная температура или 37 °С
Материал из абсцесса. Плевральная, перикардиальная, перитонеальная, синовиальная жидкость	Быстрое транспортирование: оставить образец в шприце (закупоренном) в анаэробных условиях	Комнатная температура, не инкубировать, защищать от охлаждения
Секреты носовых пазух. Спинномозговая жидкость (при исследовании на <i>N. meningitidis</i> )	Отсроченное транспортирование (использовать транспортную среду)	37 °С в термостате или термосе

Образец	Транспортирование	Температура хранения
Бронхоальвеолярная лаважная (БАЛ) жидкость	Быстрое транспортирование (2 ч). Отсроченное транспортирование (до 24 ч)	Комнатная температура. Охлаждать
Мокрота	Быстрое транспортирование (2 ч). Отсроченное транспортирование (до 24 ч)	Комнатная температура. Охлаждать
Моча	Погружные слайды. Быстрое транспортирование (2 ч). Отсроченное транспортирование.	Комнатная температура или 37 °С. Комнатная температура. Охлаждать. Добавлять консервант.
Кал	Быстрое транспортирование (1 ч) Отсроченное транспортирование (использовать транспортную среду)	Комнатная температура. Охлаждать
Тампон с образцом: из глаз, ушей, рта, гортани, носа, уретры, шейки матки, прямой кишки, ран.	Тампон в транспортной среде (время транспортирования более 4 ч)	Комнатная температура.
Биопсийный материал	Быстрое транспортирование в стерильном изотоническом физиологическом растворе. Отсроченное транспортирование (использовать транспортную среду).	Охлаждать. Температура от 4 до 30 °С в зависимости от предполагаемого вида микроорганизма

Образцы для обнаружения и идентификации вирусов должны быть доставлены в лабораторию быстро при температуре 4 °С в отдельном контейнере. В этих условиях вирусы обычно остаются стабильными в течение 2–3 дней.

Образцы кожи, волосы и срезы ногтей для микологических исследований отсылают в лабораторию сухими в стерильных контейнерах. Случайный образец мочи для обнаружения дрожжей немедленно отсылают в лабораторию в стерильном контейнере. Так же поступают с утренним образцом

мокроты для обнаружения в ней дрожжеподобных и плесневых грибов. Образцы тканей для микологических исследований, помещенные в изотонический раствор, немедленно пересылают в лабораторию. Образцы материала из влагилица, верхних дыхательных путей или кала для микологических исследований (по два тампона с каждым образцом) рекомендуется пересылать в стерильных контейнерах. При коротком сроке транспортирования образцов для микологических исследований комнатная температура не влияет отрицательно на результаты. При транспортировании на значительные расстояния рекомендуется охлаждение образцов (для образцов на тампонах это не обязательно), чтобы предотвратить подавление бактериями медленно растущих грибов. При подозрении на заражение фикомицетами (например, *Mucor*) необходимо быстрое транспортирование образца без охлаждения.

При пересылке образцов должна быть обеспечена их целостность для того, чтобы результат анализа был правильным и соблюдены требования биологической безопасности — не должно возникнуть риска ни для людей, ни для окружающей среды. Не разрешается использовать стекло в качестве упаковочного материала при транспортировании проб во избежание поломки и возможного вреда для лиц, участвующих в транспортировании.

**Таблица 4**

**Оптимальные сроки доставки проб в лабораторию**

<b>Вид анализа</b>	<b>Время, мин</b>
Микроскопия мочи	90
Коагулограмма	45
Микробиология	90
Одноразовый тупфер со средой	48–72 ч
Одноразовый тупфер без среды	120
Клиническое исследование крови	60
Биохимия:	
глюкоза	20
ферменты	30
K, Na, Cl, HCO	30

Несколько контейнеров с образцами объемом до 500 мл могут быть упакованы в один ящик из картона, дерева, подходящего пластика или металла. Диагностические образцы, если они не испаряются через упаковку, могут пересылаться в бандеролях. Упаковки с инфекционными материалами должны быть помечены надписью: ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ПРОБА/ ИНФЕКЦИОННАЯ ОПАСНОСТЬ.

Упаковка, транспортировка, сопроводительные документы должны строго соответствовать требованиям действующих нормативных документов по биологической безопасности (санитарные правила, методические указания службы Роспотребнадзора). Ответственность за пересылку по почте инфекционных материалов несет отправитель.

Оптимальные сроки доставки проб биоматериала в лабораторию приведены в таблице 4.

#### **3.1.4.4. Критерии для отказа в принятии лабораторией биоматериала на исследования:**

- расхождение между данными заявки и этикетки (инициалы, дата, время и т. д.);
- отсутствие этикетки на емкости для взятия пробы (контейнере или пробирке);
- невозможность прочесть на заявке и/или этикетке паспортные данные пациента;
- отсутствие названия отделения, номер истории болезни, фамилии лечащего врача, подписи процедурной сестры, четкого перечня необходимых исследований;
- гемолиз (за исключением исследований, на которые наличие гемолиза не влияет);
- взятый материал находится в несоответствующей емкости (то есть материал взят не с тем антикоагулянтом, консервантом и др.);
- наличие сгустков в пробах с антикоагулянтом;
- материал взят в вакуумные емкости с просроченным сроком годности.

### **3.1.5. Требования к условиям периода, предшествующего взятию у пациента образца(ов) биологического материала(ов)**

Требования к условиям периода, предшествующего взятию у пациента образцов биологического материала для проведения лабораторного исследования, преимущественно относятся к действиям клинического персонала (врачей, медицинских сестер), представители которого непосредственно обслуживают и курируют пациентов. Однако вследствие существенного влияния несоблюдения данных требований на результаты лабораторных исследований приведенные ниже требования включены в настоящий стандарт.

#### *3.1.5.1. Требования к учету влияния ятрогенных факторов на результаты лабораторных исследований*

Условия периода, предшествующего взятию у пациента образца биологического материала для проведения лабораторного теста, способны оказать существенное влияние на результаты лабораторного исследования.

К числу факторов, влияние которых следует учитывать, относятся проводимые в отношении пациента лечебные и диагностические меры:

- принимаемые пациентом лекарственные средства;
- оперативные вмешательства;
- инъекции, вливания, переливания;
- пункции, биопсии;
- массаж;
- эргометрия;
- диализ;
- введение рентгеноконтрастных средств, иммуносцинтиграфия;
- ионизирующее излучение;
- эндоскопическое исследование;
- специальные диеты.

Взятие материала для выполнения лабораторного теста должно быть проведено до осуществления лечебного или диагностического мероприятия или отложено на тот или иной период времени, зависящий от длительности последствий лечебной или диагностической меры.

**Примечание.** После оперативного вмешательства, в зависимости от его объема и характера, изменения различных показателей могут продолжаться от нескольких дней до трех недель. После вливания растворов взятие образца крови должно быть отсрочено не менее чем на 1 ч, а после инфузии жировой эмульсии не менее чем на 8 ч. После проведения цистоскопии анализ мочи можно назначать не ранее, чем через 5–7 дней, после рентгенологического исследования желудка и кишечника исследование кала проводят не ранее чем через 2 дня.

Лекарственные средства, способные повлиять на результаты назначенного теста *in vivo* или *in vitro*, должны быть отменены за 2–3 дня до проведения теста, если это возможно по состоянию пациента. Если отмена лекарств нежелательна, следует их возможное влияние учитывать при интерпретации результатов исследования. В бланке назначения должны быть указаны принимаемые пациентом лекарства, если они могут влиять на лабораторные результаты. При наличии в распоряжении лаборатории близкого по информативности теста, на результаты которого принимаемые пациентом лекарства не оказывают влияния, следует назначить такой тест.

При необходимости лабораторного исследования на фоне лекарственной терапии взятие образца крови должно быть произведено до приема очередной дозы лекарства. При проведении терапевтического лекарственного мониторинга время взятия образца биоматериала выбирается в зависимости от характера проводимого лечения. При длительном лечении образец крови следует брать при достижении равновесия концентрации лекарства, примерно после пяти полупериодов жизни препарата. После внутривенного введения следует выждать до завершения фазы распределения примерно 12 ч. В случае введения дигоксина и дигитоксина нужно выждать 6–8 ч. Время после приема последней дозы этого лекарства должно быть обязательно указано в бланке назначения теста.

При проведении исследования на фоне специальной диеты ее характер должен быть указан при назначении анализа.

### 3.1.5.2. Информирование пациентов об условиях подготовки к проведению лабораторных исследований

Подготовка пациента к исследованиям должна включать:

- устное инструктирование пациента и выдача ему памятки об особенностях назначенного исследования (примеры памяток см. ниже);
- соблюдение пациентом предписанного режима и правил сбора материала (мочи, мокроты) (особенно, во внебольничных условиях).

Пример — Памятка для пациента (при назначении общеклинического исследования мочи).

Общеклиническое исследование мочи назначено Вашим врачом. Цель исследования объективно оценить Ваше состояние.

Для получения достоверных результатов Вам необходимо подготовить себя к этому исследованию: воздержаться от физических нагрузок, приема алкоголя, лечь спать накануне в обычное для Вас время. Вы должны собрать первую утреннюю порцию мочи. Поэтому утром после подъема Вы должны получить у медицинской сестры отделения емкость для сбора мочи. Убедитесь, что на емкости для мочи указаны Ваши данные: фамилия, инициалы, отделение, палата. Перед сбором мочи Вам необходимо провести тщательный туалет наружных половых органов, промыв их под душем с мылом, чтобы в мочу не попали выделения из них. После этой подготовки Вы идете в туалет и полностью собираете всю мочу в емкость. Завинчиваете емкость крышкой и ставите мочу на место, указанное медицинской сестрой отделения. Очень важно, чтобы Вы точно следовали указанным рекомендациям, так как только в этом случае будут получены достоверные результаты.

## **3.2. Порядок организации и проведения работ по забору, транспортированию и хранению проб клинического материала**

### **3.2.1. Правила забора, транспортирования и хранения проб клинического материала**

3.2.1.1 Забор материала от больных людей должен проводиться до начала антибактериальной (противовирусной) терапии.

3.2.1.2. Все материалы (пробы) должны быть пронумерованы и последовательно дважды упакованы:

- в транспортную ёмкость (плотно закрывающиеся пробирки, флаконы с завинчивающимися пробками и другие ёмкости). Плотно закрытый верхний конец транспортной ёмкости вместе с крышкой для надёжности заклеивают, например, парафинизированным полиэтиленом (парафильм). Транспортную ёмкость обрабатывают снаружи дезраствором;
- в пластиковый пакет подходящего размера с небольшим количеством любого адсорбирующего материала, например, ваты. Пластиковый пакет следует заклеить или запаять.

Не допускается упаковка образцов материалов от разных людей в один и тот же пакет.

Заклеенные пакеты с образцами помещают внутрь дополнительного пластикового контейнера с завинчивающейся крышкой. Строго дважды упакованные образцы материалов от разных пациентов могут быть транспортированы в одном дополнительном контейнере. В дополнительный контейнер следует также положить некоторое количество адсорбирующего влагу материала.

При транспортировании проб на значительные расстояния их помещают в специальный переносной термоизолирующий контейнер, укомплектованный охлаждающими элементами или льдом. Контейнер или термokonтейнер печатают и транспортируют в лабораторию. Пробы отправляют в лабораторию специальным транспортом, в сопровождении двух человек, один из которых – медицинский работник. Каждую пробу материала сопровождают бланком направления.

3.2.1.3. *Сопроводительные документы составляют в двух экземплярах: один отправляют вместе с пробами в лабораторию, второй (копия) остаётся у лица, направляющего пробы на исследование. В сопроводительном доку-*

*менте указывают фамилию, имя, отчество, возраст больного, адрес (страна проживания и адрес фактического пребывания), предварительный клинический диагноз, дату и время начала заболевания и взятия материала, характер материала для исследования, применённые антибиотики (дата и доза), фамилию и должность медицинского работника, забравшего материал.*

Правила забора, необходимый объем, условия транспортировки и хранения клинического материала для проведения лабораторных исследований представлены в табл. 5.

### **3.2.3. Порядок проведения лабораторного обследования на коронавирусную инфекцию COVID-19**

Лабораторная диагностика коронавирусной инфекции проводится на базе медицинских лабораторий, имеющих санитарно-эпидемиологическое заключение на работу с возбудителями III-IV группы патогенности с использованием методов, не предполагающих накопление возбудителя (п. 2.6 СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)»).

Лабораторная диагностика COVID-19 методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) для пациентов медицинских учреждений выполняется лабораториями, уполномоченными службой Роспотребнадзора.

Контингент обследуемых: пациенты медицинских учреждений, прикрепленных территорий (контактные лица с больными COVID-19, прибывшие из-за рубежа, лица с «внебольничными пневмониями», медицинские работники, имеющие риск инфицирования, лица, старше 65-ти лет при появлении респираторных симптомов, лица, находящиеся в закрытых коллективах при появлении респираторных симптомов).

Кратность назначения исследования на COVID-19 определяется лечащим врачом и требованиями регламентирующих документов.

Материал для исследования:

Основной: мазок из носоглотки и ротоглотки.

Дополнительный: мокрота (при наличии), бронхоальвеолярный лаваж, (эндо) трахеальный аспират. Для посмертной диагностики используют аутопаты легких, трахеи, селезенки.

При работе с биоматериалом должны соблюдаться требования СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I — II групп патогенности (опасности)».

Медицинские работники, которые собирают клинические образцы, должны строго соблюдать меры предосторожности и использовать средства индивидуальной защиты (СИЗ).

**Таблица 5**

**Образцы материала, подлежащие сбору для лабораторной  
диагностики COVID-19**

Тип образца	Требования к отбору	Количество проб	Условия транспортировки	Условия хранения до тестирования	Комментарии
Основной					
Мазок из носоглотки/ ротоглотки (зев)	Пластиковая одноразовая пробирка с 0,5 мл транспортной среды для хранения и транспортировки респираторных мазков	1	+ 4 °С	≤ 5 дней: + 4 °С;	Оба мазка помещаются в одну пробирку с транспортной средой
Дополнительный					
Мокрота	Стерильный контейнер	1 контейнер	+ 4 °С	≤ 48 часов: + 4 °С	Убедитесь, что материал собран из нижних дыхательных путей
Бронхоальвеолярный лаваж	Стерильный контейнер	1 контейнер	+ 4 °С	≤ 48 часов: + 4 °С	При возможности получения
Эндотрахеальный аспират, аспират носоглотки	Стерильный контейнер	контейнер	+ 4 °С	≤ 48 часов: + 4 °С	При возможности получения

Тип образца	Требования к отбору	Количество проб	Условия транспортировки	Условия хранения до тестирования	Комментарии
Аутопсия					
Ткани легких, трахеи, селезенки	Стерильный контейнер	отдельный контейнер на каждый вид биоматериала	+ 4 °С	≤ 24 часов: + 4 °С	Каждый материал в отдельный контейнер

### **Техника взятия мазка со слизистой оболочки носоглотки**

Если полость носа заполнена слизью, перед процедурой провести высмаркивание.

Легким движением по наружной стенке носа вводят сухой зонд с ватным тампоном на глубину 2–3 см до нижней раковины, слегка опускают книзу, вводят в нижний носовой ход под нижнюю носовую раковину, делают вращательное движение и удаляют вдоль наружной стенки носа. Общая глубина погружения зонда должна составлять не менее половины расстояния от ноздри до ушного отверстия.

### **Техника взятия мазка из ротоглотки**

Мазок берут сухим стерильным зондом с ватным тампоном вращательным движением с поверхности миндалин, небных дужек и задней стенки ротоглотки (обязательно!), аккуратно прижимая язык пациента шпателем.

Рабочие концы зондов после взятия мазков помещают в одну пробирку с транспортной средой (или стерильным физ. раствором), отламывают концы, плотно закрывают крышку.

Каждую пробирку/контейнер маркируют, затем оклеивают (во избежание протечки).

Оформляются сопроводительные документы: направление (установленного образца, с указанием ФИО больного, возраст, место жительства, предварительный диагноз, эпидемиологический анамнез, сопутствующие

заболевания (при наличии), вид и количество материала, дата и время отбора проб, источник финансирования), акты приема-передачи биоматериала и т.д. Упаковка и транспортировка образцов осуществляется с соблюдением требований СП 1.2.036-95 «Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I–IV групп патогенности».

Биоматериал для исследования доставляется в лабораторию, к которой прикреплена медицинская организация согласно маршрутизации, утвержденной региональным нормативным документом (приказом министерства здравоохранения).

Лаборатория обязана выполнить исследование в течение 48 часов и проинформировать медицинскую организацию (пациента), направившую биоматериал о результатах (для лабораторий, уполномоченных службой Роспотребнадзора выдавать полученный результат как окончательный). Для лабораторий, не имеющих таких полномочий, положительный результат по обнаружению SARS-CoV2 расценивается как предварительный и требует подтверждения в лабораториях Роспотребнадзора.

Результаты лабораторных исследований коронавирусной инфекции, выполненные любым методом (ПЦР, ИФА, ИХЛ, определение АГ методом иммунохроматографии (экспресс)) в обязательном порядке ежедневно в полном объеме передаются через службу Роспотребнадзора (уполномоченную Постановлением правительства), которая размещает результаты на портале Госуслуг в целях оперативного информирования граждан о результатах обследования на COVID-19 и своевременного принятия эпидемиологических и клинических решений по полученным результатам.

Основание:

Постановление главного государственного санитарного врача РФ от 30.03.2020 № 6 «О дополнительных мерах по снижению рисков распространения COVID-19»;

Методические рекомендации МР 3.1.0165-20 «Лабораторная диагностика COVID-19»;

Методические рекомендации МР 3.1.0166-20 «Изменения № 1 в МР 3.1.0165-20 «Лабораторная диагностика COVID-19»;

Методические указания 1.3 2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности»;

Инструкция об организации работы по диагностике новой коронавирусной инфекции (COVID-19) Роспотребнадзора от 18.03.2020;

СП 1.2.036-95 «Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I–IV групп патогенности»;

СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)»;

Временные методические рекомендации Министерства здравоохранения Российской Федерации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (2019-nCoV)» раздел 4;

СП 3.1.3597-20 «Профилактика новой коронавирусной инфекции»;

Постановление Правительства РФ 27.03.2021 N452 «Об обеспечении уведомления физических лиц о результатах исследований на наличие возбудителей новой коронавирусной инфекции (COVID-19) с использованием Федеральной государственной информационной системы «Единый портал Государственных и муниципальных услуг (функций)» и обмена информацией о результатах таких исследований».

### **3.3. Принципы проведения лабораторной диагностики клинического материала**

**3.3.1. При проведении лабораторных диагностических исследований приоритетными являются методы специфической индикации, позволяющие проводить детекцию возбудителей инфекционных болезней в клиническом материале.**

**3.3.2. При возможности использования нескольких методов индикации для получения достоверных результатов используют принципы комплексной лабораторной диагностики (например, ПЦР+МФА или ПЦР+ИФА и др.) с ориентацией на наиболее чувствительный тест.**

**3.3.3. В качестве дополнительного метода возможно использование иммунохроматографических тестов.**

**3.3.4. При подозрении на бактериальную инфекцию используют бактериологический метод, при подозрении на менингококковый менингит в качестве метода ускоренной диагностики – реакцию латекс-агглютинации, при подозрении на паразитарные болезни – микроскопию «толстой капли».**

**3.3.5. Выбор метода зависит от вида исследуемого материала, длительности заболевания, наличия сертифицированных диагностических препаратов действующих на предполагаемые нозологические формы инфекционных болезней.**

**3.3.6. При проведении лабораторной диагностики инфекционных болезней положительный ответ по данным методов специфической индикации (ускоренной диагностики) является основанием для оперативного принятия управленческих решений, проведения необходимых противоэпидемических и профилактических мероприятий с учётом анализа эпидемиологической ситуации.**

**3.3.7. Положительный ответ по результатам специфической индикации может быть выдан как в случае положительных результатов по всем используемым методам, так и при получении положительных результатов с помощью одного метода, с учётом его диагностической точности (ПЦР, например).**

**3.3.8. При получении сомнительных результатов анализа положительный ответ не выдают, проводят повторное исследование исходного (нативного) материала для исключения ошибок на всех этапах исследования, включая подготовку проб.**

**3.3.9. В случае получения несовпадающих результатов при использовании разных методов специфической индикации вопрос о выдаче положительного ответа решается индивидуально с учётом чувствительности, специфичности методов и анализа эпидемиологической ситуации.**

**3.3.10. В случае отрицательного ответа методов индикации выдаётся «отрицательный ответ по результатам специфической индикации», при продолжении исследований с применением культурального метода указывается: «анализ продолжается».**

**Таблица 6**  
**Правила забора, условия транспортирования и хранения клинического материала для проведения лабораторных исследований**

Вид материала*	Объем пробы	Правила забора материала	Условия транспортирования и хранения материала**
Кровь	10 мл	<p>Забор крови для исследований проводят с соблюдением правил асептики и мер индивидуальной защиты. Кровь забирают из локтевой вены, в общем количестве 10 мл, одноразовым шприцем.</p> <p><b>Для бактериологического исследования</b> — в отдельную стерильную пробирку (или в транспортную среду для возбудителей предполагаемой инфекции) в количестве 4–6 мл. Забор крови проводят до начала антимикробной терапии, либо перед очередной инъекцией АБ, в момент подъема температуры, не дожидаясь пиковых значений. Забор в 2 флакона (аэробный, анаэробный) с интервалом в 30 мин.</p> <p>При заборе из внутрисосудистого катетера необходимо выпустить несколько капель крови, стерильным шприцем отобрать необходимый объем крови.</p> <p><b>Для серологических реакций</b> — в пробирку типа Vacuette с активатором образования сгустка (4–6 мл) для получения сыворотки.</p> <p><b>Для ПЦР</b> — в пробирку типа Vacuette с ЭДТА (4–6 мл)</p>	<p>- при комнатной температуре — в течение 2 ч; - при температуре 2–8 °С — в течение 6 ч.</p> <p><b>Недопустимо замораживание образцов цельной крови!</b></p> <p><i>При транспортировке пробирки с образцами должны находиться строго в вертикальном положении.</i></p>

Вид материала*	Объём пробы	Правила забора материала	Условия транспортирования и хранения материала**
Моча	10 мл	<p>Для анализа отбирают первую порцию утренней мочи в специальный сухой стерильный флакон или контейнер на 50–60 мл.</p> <p>Сбор мочи проводится после тщательного туалета наружных половых органов.</p>	<p>- при температуре 2–8 °С — в течение 6 ч;</p> <p>- при температуре минус 20 °С — в течение 1 недели;</p> <p>- при температуре минус 70 °С — длительно.</p> <p>Допускается лишь однократное замораживание — оттаивание материала.</p> <p><b>Для бакпосева:</b></p> <p>- при комнатной температуре — в течение 1–2 ч;</p> <p>- при комнатной температуре — в течение 2 ч;</p> <p>- при температуре 2–8 °С — в течение 6 ч;</p> <p>- при температуре минус 20 °С — в течение 1 месяца.</p> <p>Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.</p> <p><b>Для бакпосева:</b></p> <p>- при комнатной температуре — в течение 1–2 ч.</p>
Мазки из ротоглотки	На тампоне	<p>Мазки берут натошак или через 3–4 ч после еды, сухими стерильными ватными тампонами на пластиковой основе. Аккуратно прижимая язык шпателем, вводят тампон между дужками миндалин и язычком (нельзя касаться тампоном губ, щёк, языка) и собирают материал с задней поверхности глотки, с миндалин и участков воспаления или изъязвления слизистой.</p> <p>После взятия материала тампон (рабочую часть зонда с ватным тампоном) помещают в стерильную одноразовую пробирку с 0,3–0,5 мл стерильного физиологического раствора и аккуратно обламывают пластиковый стержень на расстоянии не более 0,5 см от рабочей части, оставляя рабочую часть зонда с материалом.</p> <p><b>Для ПЦР</b> — вместо физиологического раствора можно использовать «Транспортную среду для хранения и транспортировки респираторных мазков» («Интерлабсервис»), транспортную среду ESP (пробирки выдаются в лаборатории).</p>	<p>Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.</p> <p><b>Для бакпосева:</b></p> <p>- при комнатной температуре — в течение 1–2 ч.</p>

Вид материала*	Объём пробы	Правила забора материала	Условия транспортирования и хранения материала**
Смыв из ротоглотки	10 мл	<p>Перед забором смывов из ротоглотки провести предварительное полоскание полости рта водой.</p> <p>Проводят тщательное полоскание ротоглотки, в течение 10–15 сек 25–40 мл изотонического раствора натрия хлорида. Жидкость собирают через стерильную воронку в стерильный флакон объёмом 50–60 мл.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- при комнатной температуре — в течение 2 ч;</li> <li>- при температуре 2–8 °С — в течение 6 ч;</li> <li>- при температуре минус 20 °С — в течение 1 месяца;</li> <li>- при температуре минус 70 °С — длительно.</li> </ul> <p>Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.</p> <p><b>Для бакпосева:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- при комнатной температуре — в течение 1–2 ч;</li> <li>- при комнатной температуре — в течение 2 ч;</li> <li>- при температуре 2–8 °С — в течение 6 ч;</li> <li>- при температуре минус 20 °С — в течение 1 месяца;</li> <li>- при температуре минус 70 °С — длительно.</li> </ul> <p>Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.</p> <p><b>Для бакпосева:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- при комнатной температуре — в течение 1–2 ч.</li> </ul>
Мазок из носовой полости	На тампоне	<p>Мазки (слизь) берут сухими стерильными ватными тампонами на пластиковой основе. Тампон вводят лёгким движением по наружной стенке носа, на глубину 2–3 см, до нижней раковины. Затем тампон слегка опускают книзу, вводят в нижней носовой ход, под нижнюю носовую раковину, делают вращательное движение и удаляют вдоль наружной стенки носа.</p> <p>После взятия материала тампон (рабочую часть зонда с ватным тампоном) помещают в стерильную одноразовую пробирку с защёлкивающейся крышкой, содержащую 0,3–0,5 мл стерильного физиологического раствора, и аккуратно обламывают пластиковый стержень на расстоянии не более 0,5 см от рабочей части, оставляя рабочую часть зонда с материалом в транспортной среде. Пробирку плотно закрывают крышкой.</p> <p><b>Для ПЦР</b> — вместо физиологического раствора можно использовать «Транспортную среду для хранения и транспортировки респираторных мазков» («Интерлабсервис»), транспортную среду ESP.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- при комнатной температуре — в течение 1–2 ч;</li> <li>- при температуре 2–8 °С — в течение 6 ч;</li> <li>- при температуре минус 20 °С — в течение 1 месяца;</li> <li>- при температуре минус 70 °С — длительно.</li> </ul> <p>Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.</p> <p><b>Для бакпосева:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- при комнатной температуре — в течение 1–2 ч.</li> </ul>

Вид материала*	Объём пробы	Правила забора материала	Условия транспортирования и хранения материала**
Смыв из полости носа	5 мл	<p>Взятие материала проводят в положении больного сидя, с отклонённой назад головой, путём введения с помощью одноразового шприца (зонда) тёплого стерильного изотонического раствора натрия хлорида (3–5 мл) поочерёдно в каждый из носовых ходов.</p> <p>Промывную жидкость собирают через стерильную воронку в одну стерильную пробирку.</p> <p>Не допускается повторного использования воронки без предварительного обеззараживания паром под давлением.</p>	<p>- при комнатной температуре — в течение 2 ч;</p> <p>- при температуре 2–8 °С — в течение 6 ч;</p> <p>- при температуре минус 20 °С — в течение 1 месяца;</p> <p>- при температуре минус 70 °С — длительно.</p> <p>Допускается лишь однократное замораживание–оттаивание материала.</p> <p><b>Для бакпосева:</b></p> <p>- при комнатной температуре — в течение 1–2 ч.</p>
Мокрота	2–5 мл	<p>Мокрота собирается в стерильный одноразовый пластиковый контейнер с широким горлом с закручивающейся крышкой.</p> <p>Перед взятием материала необходимо провести полоскание ротовой полости тёплой водой или изотоническим раствором натрия хлорида. Желательно проводить взятие материала утром, до проведения гигиенических процедур ротовой полости.</p>	<p>- при комнатной температуре — в течение 2 ч;</p> <p>- при температуре 2–8 °С — в течение 6 ч;</p> <p>- при температуре минус 20 °С — в течение 1 недели;</p> <p>- при температуре минус 70 °С — длительно.</p> <p>Допускается лишь однократное замораживание–оттаивание материала.</p> <p><b>Для бакпосева:</b></p> <p>- при комнатной температуре — в течение 1–2 ч.</p>

Вид материала*	Объём пробы	Правила забора материала	Условия транспортирования и хранения материала**
Промывные воды бронхов	5 мл	<p>Гортанным шприцем в трахею вводят не более 5 мл стерильного физиологического раствора, с последующим его отсасыванием в стерильную пробирку</p> <p>Бронхиальные смывы, в том числе вблизи очага воспаления, могут быть сделаны с помощью бронхоскопа.</p> <p>Смывную жидкость помещают в стерильный контейнер с крышкой. Крышку плотно закрывают.</p>	<p>- при температуре 2–8 °С — в течение 6 ч;</p> <p>- при температуре минус 20 °С — в течение 1 недели;</p> <p>- при температуре минус 70 °С — длительно.</p> <p>Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.</p>
Бронхо-альвеолярный лаваж	5 мл	<p>Шприцом через биопсийный канал бронхоскопа вводят отдельными порциями от 2–5 до 100 мл стерильного физиологического раствора.</p> <p>Перед введением каждой следующей порции отсасывают шприцом жидкость и переносят в стерильный контейнер.</p>	<p><b>Для бакпосева:</b></p> <p>- при комнатной температуре — в течение 1–2 ч;</p> <p>- при температуре 2–8 °С — в течение 6 ч;</p> <p>- при температуре минус 20 °С — в течение 1 недели;</p> <p>- при температуре минус 70 °С — длительно.</p> <p>Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.</p>
Слёзная жидкость	0,5 мл	<p>Слёзную жидкость в количестве не менее 0,5 мл собирают, используя одноразовые пластиковые пипетки, в одноразовые стерильные пластиковые пробирки объёмом 1,5 или 2,0 мл.</p> <p>Для усиления слезоотделения проводят провокацию слезоточивым веществом (обычно используют нашатырный спирт).</p>	<p><b>Для бакпосева:</b></p> <p>- при комнатной температуре — в течение 1–2 ч;</p> <p>- при температуре 2–8 °С — в течение 6 ч;</p> <p>- при температуре минус 20 °С — в течение 1 недели;</p> <p>- при температуре минус 70 °С — длительно.</p> <p>Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.</p>

Вид материала*	Объём пробы	Правила забора материала	Условия транспортирования и хранения материала**
Плевральная жидкость	5 мл	<p>Кожу перед пункцией обрабатывают 2%-м раствором йода, а затем — 70%-м этиловым спиртом.</p> <p>Делают прокол и собирают жидкость в стерильную пробирку с соблюдением правил асептики.</p> <p>В получении материала участвуют двое, один пунктирует, другой открывает крышку пробирки в нужный момент, стараясь не прикасаться руками к верхнему краю пробирки и внутренней поверхности крышки.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- при температуре 2–8 °С — в течение 6 ч;</li> <li>- при температуре минус 20 °С — в течение 1 недели;</li> <li>- при температуре минус 70 °С — длительно.</li> </ul> <p>Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.</p> <p><b>Для бакпосева:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- при комнатной температуре — в течение 1–2 ч.</li> <li>- при комнатной температуре — в течение 2 ч;</li> <li>- при температуре 2–8 °С — в течение 6 ч;</li> <li>- при температуре минус 20 °С — в течение 1 месяца;</li> <li>- при температуре минус 70 °С — длительно.</li> </ul> <p>Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.</p> <p><b>Для бакпосева:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- при комнатной температуре — в течение 1–2 ч.</li> </ul>
Отделёное язвы, везикулы, пустулы, карбункула или отторгнутого струпа	На тампоне	<p>Прединфекционной дезинфицирующей салфеткой осторожно очищают кожу вокруг поражённого места, при необходимости — стерильной марлевой салфеткой удаляют некротические массы, гной.</p> <p>Прокатывая тампон, смоченным 0,9%-м физиологическим раствором, по раневой поверхности от центра к периферии в течение 5–10 с, абсорбируют материал на тампон. Тампон помещают в стерильную пробирку, содержащую 0,3–0,5 мл стерильного физиологического раствора.</p> <p>При использовании шприца иглу вводят у края везикулы (пустулы) и затем продвигают к середине, набирая небольшое количество опалесцирующей желтоватой жидкости. Содержимое шприца переносят в стерильную пробирку, содержащую 0,3–0,5 мл стерильного физиологического раствора.</p> <p>У карбункулов и язв пунктируют плотный край.</p> <p><b>Для ПЦР</b> — вместо физиологического раствора возможно использовать транспортную среду ESP.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- при температуре 2–8 °С — в течение 6 ч;</li> <li>- при температуре минус 20 °С — в течение 1 месяца;</li> <li>- при температуре минус 70 °С — длительно.</li> </ul> <p>Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.</p> <p><b>Для бакпосева:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- при комнатной температуре — в течение 1–2 ч.</li> </ul>

Вид материала*	Объём пробы	Правила забора материала	Условия транспортирования и хранения материала**
Рвотные массы	10–20 мл	Собирают в стерильную посуду стерильными ложками из индивидуального судна, на дно которого помещают меньший по размеру сосуд (лоток), удобный для обеззараживания кипячением.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- при комнатной температуре — в течение 2 ч;</li> <li>- при температуре 2–8 °С — в течение 6 ч;</li> <li>- при температуре минус 20 °С — в течение 1 месяца;</li> <li>- при температуре минус 70 °С — длительно.</li> </ul> <p>Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.</p> <p>Для бакпосева:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- при комнатной температуре — в течение 1–2 ч;</li> <li>- при комнатной температуре — в течение 2 ч;</li> <li>- при температуре 2–8 °С — в течение 6 ч.</li> </ul>
Фекалии	2–4 мл / 2–4 г	Образцы нативных фекалий собирают в стерильную посуду стерильными ложками из индивидуального судна, на дно которого помещают меньший по размеру сосуд (лоток), удобный для обеззараживания кипячением.	<p><b>Для бакпосева:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- при комнатной температуре — в течение 1–2 ч.</li> </ul> <p><b>Недопустимо замораживание материала!</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- при комнатной температуре — в течение 6 ч.</li> </ul> <p><b>Недопустимо замораживание материала!</b></p>
Ректальные мазки	1–2 мл / 1–2 г на 5–6 мл транс- портной среды	Образцы фекалий собирают стерильными ложками или стеклянными трубочками с резиновой грушей и помещают во флакон или пробирку с транспортной средой (5–10 мл 1%-й пептонной воды).	<ul style="list-style-type: none"> <li>- при комнатной температуре — в течение 6 ч.</li> </ul> <p><b>Недопустимо замораживание материала!</b></p>
Ректальные мазки	1–2 мл / 1–2 г на 5–6 мл транс- портной среды	Стерильный ректальный ватный тампон из гигроскопической ваты вводят в прямую кишку на глубину 5–6 см, собирают им содержимое со стенок кишечника и опускают во флакон или пробирку с транспортной средой (5–6 мл 1%-й пептонной воды). Взятый материал переносят во флакон или пробирку с транспортной средой (5–10 мл 1%-й пептонной воды).	<ul style="list-style-type: none"> <li>- при комнатной температуре — в течение 6 ч.</li> </ul> <p><b>Недопустимо замораживание материала!</b></p>

Вид материала*	Объём пробы	Правила забора материала	Условия транспортирования и хранения материала**
Желчь	10–12 мл	<p>Берут при дуоденальном зондировании. В отдельные пробирки собирают две порции: из желчного пузыря и желчных протоков (В и С).</p> <p>При подозрении на холеру содержимое желчного пузыря переносят в ёмкость с 1%-й пептонной водой.</p>	<p>- при комнатной температуре — в течение 1–2 ч.</p> <p><b>Недопустимо замораживание материала!</b></p> <p>- при комнатной температуре — в течение 6 ч.</p> <p><b>Недопустимо замораживание материала!</b></p>
Отделяемое конъюнктивы глаза		<p>Материал забирают сухим стерильным ватным тампоном на пластиковой основе под местной анестезией (2 капли раствора дикаина).</p> <p>Оттянув нижнее веко, вращающими движениями проводят зонд 4–5 раз по конъюнктиве, захватывая внешний и внутренний углы глаза.</p> <p>После взятия материала тампон (рабочую часть зонда с ватным тампоном) помещают в одноразовую стерильную пробирку с защёлкивающейся крышкой объёмом 2 мл с 0,3–0,5 мл стерильного физиологического раствора.</p> <p>Погрузив рабочую часть зонда в пробирку, аккуратно обламывают пластиковый стержень на расстоянии не более 0,5 см от рабочей части и оставляют рабочую часть зонда с материалом в физиологическом растворе. Пробирку плотно закрывают крышкой.</p> <p><b>Недопустимо использование ножниц для обрезания рабочей части зонда!</b></p> <p><b>Для ПЦР</b> — вместо физиологического раствора можно использовать транспортную среду ESP.</p>	<p>- при комнатной температуре — в течение 2 ч;</p> <p>- при температуре 2–8 °С — в течение 6 ч;</p> <p>- при температуре минус 20 °С — в течение 1 недели;</p> <p>- при температуре минус 70 °С — длительно.</p> <p>Допускается только однократное замораживание-оттаивание материала.</p> <p><b>Для бакпосева:</b></p> <p>- при комнатной температуре — в течение 1–2 часов.</p>

Вид материала*	Объём пробы	Правила забора материала	Условия транспортирования и хранения материала**
Ликвор	<p>Не менее 1 мл</p> <p>При подозрении на менингококковую инфекцию и гнойные бактериальные менингиты — 5 мл</p>	<p>Пункция и взятие материала проводятся с соблюдением всех правил асептики, персонал работает в масках.</p> <p>Большой укладывается в положение на бок, головной конец кровати максимально опущен, голова прижата к груди, ноги — к животу, спина максимально согнута.</p> <p>Определяются необходимые для выбора места пункции анатомические ориентиры. Пункцию проводят между поясничными позвонками L3–L4, L4–L5 или пояснично-крестцовыми L5–S1.</p> <p>Обрабатывают область пункции сначала раствором антисептика, а затем 70%-м спиртом.</p> <p>Пальпируют рукой в стерильных перчатках точку пункции и вводят раствор анестетика.</p> <p>Проводят пункцию иглой со вставленным мандреном до ощущения «провала».</p> <p>Извлекают мандрен.</p> <p>Ликвор собирают в стерильную центрифужную пробирку с завинчивающейся крышкой (для ПЦР)</p>	<p>- при температуре 2–8 °С — в течение 6 ч;</p> <p>- при температуре минус 20 °С — в течение 1 недели;</p> <p>- при температуре минус 70 °С — длительно.</p> <p>Допускается только однократное замораживание-оттаивание материала.</p> <p><b>Для бакпосева:</b></p> <p>- при комнатной температуре — в течение 1–2 ч.</p>

Вид материала*	Объём пробы	Правила забора материала	Условия транспортирования и хранения материала**
Биопсийный материал	Кусочки ткани диаметром не более 5 мм	<p>Материал забирают из зоны предполагаемого местонахождения возбудителя инфекции, из повреждённой ткани или из пограничного с повреждённым местом участка.</p> <p>Кусочки ткани диаметром не более 5 мм помещают в одноразовые стерильные пробирки объёмом 2 мл с 0,3–0,5 мл стерильного физиологического раствора.</p> <p><b>Для ПЦР</b> — вместо физиологического раствора возможно использовать транспортную среду ESP.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- при температуре 2–8 °С — в течение 6 ч;</li> <li>- при температуре минус 20 °С — в течение 1 недели;</li> <li>- при температуре минус 70 °С — длительно.</li> </ul> <p>Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.</p> <p><b>Для бакпосева:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- при комнатной температуре — в течение 1–2 ч;</li> </ul>

\* При подозрении на ООИ или инфекцию, требующую проведения мероприятий по санитарной охране территории Российской Федерации, у больного отбирают не менее трёх видов материала и двух проб каждого вида материала

\*\* Для транспортирования и хранения материала можно использовать транспортные среды в соответствии с инструкциями по их применению

\*\*\* При контактных вирусных геморагических лихорадках вскрытие умерших, а также забор материала от трупа для лабораторного исследования не проводится

Глава 4.

**▶ КЛИНИЧЕСКАЯ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ  
СПЕЦИФИЧЕСКИХ МЕТОДОВ  
(БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИХ,  
ИММУНОФЕРМЕНТНЫХ, МОЛЕКУЛЯРНО-  
ГЕНЕТИЧЕСКИХ) В ДИАГНОСТИКЕ  
ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

**Таблица 1**  
**Интерпретация результатов, выполняемых в микробиологической лаборатории ГБУЗ «СКИБ»**

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	HBs Ag	3-6 мес. от начала заболевания ОБГВ	*ОПпробы>ОПкрит	Положительный результат	Острый вирусный гепатит В (ОБГВ). Возможны ложноположительные результаты: в связи с низкой концентрацией HBsAg в крови в начале острого периода; заболевание вызвано мутантным по HBsAg штаммом вируса гепатита В; скрытая форма гепатита В («occult» hepatitis В) при наличии ДНК HBV в крови или ткани печени, при тяжелом (фульминантном) течении ОБГВ.
				ОПпробы>ОПкрит	Положительный результат	Прогрессирующее течение HBV-инфекции при наличии ДНК HBV
				ОПпробы<ОПкрит	Отрицательный результат	Фаза серологического окна, показатель выздоровления.
				ОПпробы>ОПкрит	Положительный результат	Показатель хронизации заболевания.
			> 6 мес. с момента заболевания ОБГВ	ОПпробы<ОПкрит	Отрицательный результат (1)	Иногда при хроническом вирусном гепатите В HBsAg не обнаруживается: - при низкой концентрации HBsAg в крови, -при микстинфекции (ВГС и ВГС; ВГС и В(1)с); -связывание HBsAg с ЦИК;

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	Количественное определение HBS Ag	До начала противовирусной терапии и в ходе лечения на 12, 24, 48 неделях.	МЕ/мл и log 10	Количество (2)	Снижение концентрации HBSAg на 0,5 log на 12 неделе и на 1,0 log на 24 неделе свидетельствует об эффективности проведенного лечения и позволяет прогнозировать достижение длительного устойчивого вирусологического ответа (УВО).
				ОПпробы < ОПКрит (непрямой метод ИФА).		
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	АТ HBSог суммар.	В инкубационный период и на протяжении всего заболевания.	**КП > 1,5	Положительный результат	Обязательный маркер острого вирусного гепатита В
				1,0 < КП < 1,5		
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	АТ HBSог IgM	ХВГВ	КП > 1,5	Положительный результат (4)	Показатель активности хронического вирусного гепатита В.
				КП > 1,5		
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	АТ HBSог IgG	В инкубационном периоде (появляются одновременно с АТ HBSог IgM) и выявляются на протяжении заболевания.	КП > 1,5	Положительный результат (5)	Пастинфекция (при отсутствии HBSAg и АТ HBSог IgM). Хронический гепатит В (обнаруживаются в высоких концентрациях, при этом HBSAg +).
				КП > 1,5		

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	HBeAg	В инкубационном периоде и при первых проявлениях заболевания	1,0 < КП < 1,5	Сомнительный результат	Анализ повторить в динамике
				КП > 1,	Положительный результат	Острый вирусный гепатит В (показатель активной репликации вируса).
				КП > 1,5	Положительный результат (6)	Показатель развития хронического процесса с высокой репликативной активностью. В дальнейшем - репликативная фаза HBeAg позитивного хронического гепатита В
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	АТ HBeAg IgG	На 2-3 неделе острого периода	КП > 1,5	Положительный результат	Наступление сероконверсии по HBeAg и появление АТ HBeAg IgG – показатель резкого снижения активности инфекционного процесса при ОВГВ.
				1 < КП < 1,5	Сомнительный результат	Рекомендуется исследование повторить в динамике.
				КП > 1,5	Положительный результат	Паст-инфекция (при отсутствии HbsAg, Hbcor IgM и ДНК HBV)
				КП > 1,5	Положительный результат (7)	Хронический вирусный гепатит В (HBeAg негативный) с невысокой репликативной активностью или перенесенный ВГВ.

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	АТ HBsAg	На 3-6 мес. заболевания, иногда через год	Концентрация > 10 мМЕ/мл	Положительный результат	При остром вирусном гепатите появляются после фазы «серологического окна», это признак выздоровления от ОВГВ. Раннее появление АТНВs в острую стадию вирусного гепатита В, сразу после исчезновения HBs Ag, прогностически неблагоприятный признак - возможно развитие фульминантного гепатита.
				Концентрация менее 10 мМЕ/мл	Отрицательный результат	При наличии HBsAg - ОВГВ или ХВГВ. Иногда, при хроническом гепатите В, одновременно с HBs Ag обнаруживаются невысокие концентрации АТНВs в диапазоне 10 мМЕ/мл — 50 мМЕ/мл.
				Концентрация > 10 мМЕ/мл	Положительный результат (защитный титр) (8)	После вакцинации против гепатита В. Концентрацию АТ HBsAg необходимо контролировать через 1-2мес. после полного курса вакцинации.
<b>пЦР</b>	Кровь (плазма)	ДНК HBV	Со 2-й недели заболевания.  Более 1,5 месяцев  Более 6 месяцев от начала заболевания	ДНК HBV обнаружена	Положительный результат	Острый гепатит В. Репликация вируса.
				ДНК HBV обнаружена	Положительный результат	Прогредентное течение
				ДНК HBV обнаружена	Положительный результат	Хронический ВГВ, репликативная фаза.
				ДНК HBV не обнаружена	Отрицательный результат (9)	Хронический ВГВ, интегративная фаза (при наличии маркеров ХГВ)

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий
<b>ПЦР</b>	Кровь (плазма)	Количественное определение ДНК HBV	До начала и в ходе противовирусной терапии	Диапазон определений от 100 МЕ/мл до 10 <sup>8</sup> МЕ/мл (1 МЕ/мл = 4,5 копий) (10)	Определение вирусной нагрузки HBV для показаний к ПВТ и оценки эффективности противовирусной терапии	
<b>ПЦР</b>	Кровь (плазма)	Генотип HBV	По показаниям (при наличии ДНК HBV в крови)	Варианты генотипов: А, В, С, D (11)	Наиболее встречаемый генотип на территории России – D (важен для выбора тактики ПВТ). При низкой вирусной нагрузке генотип HBV не определяется. Около 20% штаммов не поддаются типированию.	
<b>Вирусный гепатит С</b>						
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	АТ HCV суммарные (lg M/G)	С 8-10 недели от момента инфицирования	ОПроба>ОПкрит	Положительный результат	Острый вирусный гепатит С (ОВГС). Выявляются в течение всего острого периода. Концентрация нарастает в динамике. (30)
			> 6 месяцев	ОПроба>ОПкрит	Положительный результат (12)	Хронический вирусный гепатит С (ХВГС).
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	АТ HCV сoг IgM	Ранние сроки заболевания (с 6–8 недели).	КП > 1,5	Положительный результат	При остром вирусном гепатите С обнаруживаются первыми. Характерно нарастание титров при динамическом наблюдении. Выявляются в течение всего острого периода.
				1,0<КП<1,5	Сомнительный результат	Рекомендуется исследование повторить в динамике.
				КП > 1,5	Положительный результат	При активном ХВГС
			С 6 месяцев от начала заболевания	КП < 1,0	Отрицательный результат (13)	При минимальной активности хронического гепатита С или паст-инфекция.



Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий
<b>ПЦР</b>	Кровь (плазма), соскоб букального эпителия	РНК HCV генотип	При наличии РНК HCV в крови.	Выявляемые генотипы: 1, 2, 3 (18)		Наиболее распространен генотип 1 HCV (худший ответ на противовирусную терапию) Генотип 2 распространен значительно меньше Генотип 3 занимает второе место по распространенности
		Полиморфизм генов интерлейкина - 28В: rs 8099917	Перед началом противовирусной терапии	Генотип T/T (гомозиготная форма) Генотип T/G (гетерозиготная форма) Генотип G/G (гомозиготная форма)		Около 80% пациентов с HCV отвечают на лечение. Сниженный ответ на терапию интерфероном и рибавирином Низкий ответ на терапию интерфероном и рибавирином
<b>ПЦР</b>	Кровь (плазма)	rs 12979860	Перед началом противовирусной терапии	Генотип C/C (гомозиготная форма) Генотип C/T (гетерозиготная форма) Генотип T/T (гомозиготная форма) (19)		Около 80% пациентов с HCV отвечают на лечение. Характерна высокая вирусная нагрузка. 20-40% пациентов с ХГВС отвечают на лечение 20-25% пациентов с ХГВС отвечают на лечение
		<b>Вирусный гепатит D</b>				
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	АТ HDV (суммарные АТ)	В течение всего острого периода (до 3-х месяцев) и в период выздоровления (3-6 мес).	ОПробы < ОПкрит (непрямой метод ИФА).	Положительный результат	Коинфекция (острый гепатит В и острый гепатит D) - характерно одновременное выявление маркеров острого гепатита D (АТ HDV IgM) и острого вирусного гепатита В ( HBeAg, HBeAb, АТ HBeAb IgM). Могут персистировать не более 1-2-х лет после завершения острой инфекции. Для ВД-суперинфекции у больных ХВГВ характерно выявление маркеров острого гепатита D и маркеров ХВГВ.
			Постоянно (после завершения острого периода)	ОПробы < ОПкрит (непрямой метод ИФА) (20)	Положительный результат	Хронический гепатит D.

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	АТ HDV IgM	Со 2-й недели заболевания	КП > 1,5	Положительный результат	Выявляется при ВГВ и ВГД – коинфекции или суперинфекции. Обнаруживается при остром вирусном гепатите одно- временно или несколько раньше АТ HDV сум., циркулируют в течение всего острого периода.
<b>ПЦР</b>	Кровь (плазма)	РНК HDV	С 1–2 недели инкубационного периода	РНК HDV обнаружена (22)	Положительный результат	Репликация вируса (встречается только у лиц, инфицированных HBV).
<b>Вирусный гепатит G</b>						
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	АТ HGV		КП > 1,5	Положительный результат	Паст-инфекция (методом ИФА маркеры текущего гепатита G не определяются).
<b>ПЦР</b>	Кровь (плазма)	РНК HGV	С 1–3 недели после инфицирования	РНК HGV обнаружена (23)	Положительный результат	Острый или хронический гепатит G.
<b>Вирусный гепатит А</b>						
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	АТ HAV IgM	Могут обнаруживаться в инкубационном периоде за 3–5 дней до появления первых симптомов, циркулируют 3–4 мес., иногда до 6–12 мес.	КП > 1,5	Положительный результат	Обязательный маркер острой инфекции
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	АТ HAV IgG	Обнаруживаются в период клинических проявлений в конце первой, начале второй недели заболевания. Сохраняются пожизненно	КП > 1,5	Положительный результат	Острая инфекция, вызванная вирусом гепатита А (при наличии IgM)
				1,0 < КП < 1,5	Сомнительный результат	Анализ повторить в динамике.
				КП > 1,5	Положительный результат	Паст-инфекция. Обеспечивают протективный иммунитет.
			После вакцинации	КП > 1,5	Положительный результат (25)	Поставка вакцинального иммунитета.

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий
<b>ПЦР</b>	Кровь (плазма)	РНК HAV	С конца инкубационного периода и 1-2 недели заболевания.	РНК HAV обнаружена	Положительный результат (26)	Репликация вируса. Обнаруживается у 25-50% больных ВГА. (35)
<b>Вирусный гепатит E</b>						
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	AT HEV IgM	С конца инкубационного периода, продолжают циркулировать до 3 мес.	КП > 1,5	Положительный результат	Острый гепатит, вызванный вирусом гепатита E
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	AT HEV IgG	В конце 1-й, начале 2-й недели заболевания. Длительно (12 и более лет).	0,9 < КП < 1,5 КП > 1,5 КП > 1,5	Сомнительный результат (27) Положительный результат Положительный результат (28)	Анализ повторить в динамике. Острый гепатит E Перенесенное заболевание. (35)
<b>Токсоплазмоз</b>						
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	TOXO-IgM	На 1-2 неделе от начала заболевания. Пик в 1-2 мес.	КП > 1,5 0,9 < КП < 1,5	Положительный результат Сомнительный результат (31)	Острая инфекция или обострение хронического токсоплазмоза. Могут циркулировать до 12 мес Анализ повторить в динамике через 10-14 дней
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	TOXO-IgG	Появляются на 2-3 неделе от начала заболевания.	10-40 МЕ/мл 40 и более МЕ/мл	Положительный результат Положительный результат (32)	До 40 МЕ/мл не обеспечивает защиты от реинфекции Увеличение количества IgG в 2 и более раз в динамике через 3-4 недели указывает на активно протекающую инфекцию. При первичной инфекции происходит нарастание количества IgG в течение 2-3 мес. С 6 по 12 месяцев концентрация остается стабильной, а затем несколько снижается. Целесообразно параллельное определение IgG в крови и СМЖ при прогрессирующих поражениях ЦНС. При отсутствии динамики высокоavidных IgG – давнее инфицирование.

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	ТОХО IgG-авидность	По показаниям. Целесообразно определять при концентрации IgG 40 МЕ/мл и более. При меньших концентрациях результат не достоверен	ИА < 30%	Низкоавидные	Маркер первичного инфицирования. Острый токсоплазмоз (от момента инфицирования прошло 3-6 мес.)
				ИА 30-40%	«Серая зона»	Завершение острой стадии первичной инфекции (от момента инфицирования прошло 6-8 месяцев).
				ИА > 40	Высокоавидные (33)	Показатель давнего инфицирования (от момента инфицирования прошло более 8 мес.).
<b>ПЦР</b>	Кровь (плазма)	ДНК T. gondii	Строго по показаниям	ДНК T. gondii обнаружена	Положительный результат	Активный процесс (наиболее информативно у ВИЧ инфицированных и новорожденных при подозрении на врожденный токсоплазмоз).
				ДНК T. gondii обнаружена	Положительный результат (34)	Активный процесс в ЦНС (наиболее информативно у ВИЧ инфицированных)
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	Корь-IgM	Антитела выявляются в крови с момента появления сыпи на 4-5 день болезни (В.И.Покровский и др., 2014)	<b>Корь</b> КП > 1,5	Положительный результат	При наличии клиники достаточно для окончательного диагноза «корь». Сохраняются 4 недели и более. При выявлении IgM к вирусу кори у лиц с сыпью, обследуемых в рамках эпиднадзора за корью, дополнительно проводится одновременное исследование двух сывороток на IgG: на 4-5 день с момента появления сыпи (1-я сыворотка) и не ранее, чем через 10-14 дней после взятия первой пробы (2-я сыворотка). Нарастание титра IgG в 4 и более раз является основанием для постановки диагноза «корь» (СП 3.1.2952-11) (36)

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	Корь IgG	Антитела выявляются в крови с момента появления сыпи на 4-5 день болезни (В.И.Покровский и др.,2014)	0,9<КП<1,5	Сомнительный результат	Анализ на наличие IgM и IgG повторить в динамике через 10-15 дней, для выявления сероконверсии и подтверждения факта первичного инфицирования вирусом кори (Инструкция ЗАО «Вектор-Бест»,2014)
			На 7 –10 день после появления сыпи	КП < 0,9	Отрицательный результат (37)	При подозрении на наличие инфекции (контакт , клинические проявления: лихорадка и сыпь), анализ повторить через 10-14 дней (Инструкция ЗАО «Вектор-Бест» ,2014)
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	Корь IgG	На 7 –10 день после появления сыпи	>0,18 МЕ/мл	Положительный результат	Обнаружение IgG без IgM – паст-инфекция или результат успешной вакцинации (СП 3.1.2952-11) (39)
				0,12–0,18 МЕ/мл	Сомнительный результат (38)	Анализ повторить в динамике.
				<b>Краснуха</b>		
				КП>1,5	Положительный результат	Острый период инфекции. Могут сохраняться до 12 мес. Выявление IgM из пуповинной крови у новорожденных и нарастание IgG в возрасте до 6 мес. указывает на высокую вероятность врожденной инфекции.
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	Rubella-IgM	На 4– 5 день после высыпаний.	0,9<КП<1,5	Сомнительный результат (40)	Анализ повторить в динамике (через 4–6 дней)
				>10 МЕ/мл	Положительный результат	Появляются при острой инфекции, в ходе заболевания концентрация быстро увеличивается. При нетипичной клинике необходимо 4-х кратное нарастание титра АТ (в динамике)
		Rubella-IgG	На 3-8 день после высыпаний.	10–25 МЕ/мл	Положительный результат	Не обеспечивает защиты от реинфекции.
				> 25 МЕ/мл	Положительный результат (41)	Паст-инфекция или после вакцинации (обеспечивает защиту от реинфекции). (СП 3.1.2952-11) (39)

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	Rubella-IgG авидность	При положительном значении IgG с КП > 2.	ИА < 40%	Низкоавидные	Первичная инфекция (2-3 мес. от момента инфицирования).
			При меньших концентрациях результатов не достоверен.	ИА 40-60%	«Серая зона»	3-5 мес. от момента инфицирования.
				А > 60%	Высокоавидные (42)	олее 5 мес. от момента инфицирования.
<b>Герпетическая инфекция</b>						
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	HSV 1,2 -IgM	4-7 сутки от начала заболевания.	КП > 1,5	Положительный результат	Первичная инфекция или реактивация. Могут циркулировать до 12 месяцев.
			14-16 сутки от начала заболевания	1,0 < КП < 1,5	Сомнительный результат (43)	Анализ повторить в динамике.
				КП > 1,5	Положительный результат (44)	Диагностически значимым результатом является более чем 4-кратное увеличение уровня антигел первичной инфекции. Присутствуют в крови у 95% взрослого населения.
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	HSV 1,2 IgG авидность	По показаниям. Для диагностики первичной инфекции	ИА < 50%	Низкоавидные	Первичная инфекция. От момента инфицирования прошло не более 2-3 мес.
				ИА 50-60%	«Серая» зона	Поздняя стадия первичной инфекции. От момента инфицирования прошло более 3-х мес.
				ИА > 60%	Высокоавидные (45)	Латентная инфекция или рецидив (в зависимости от наличия или отсутствия клиники), от момента инфицирования прошло более 6 месяцев.
<b>пЦР</b>	Кровь (плазма)	ДНК HSV 1,2	По показаниям		Положительный результат	Активная стадия герпетической инфекции. Вирус в крови находится кратковременно (при первичном инфицировании в течение 4-6 недель, при рецидивах - не более 10 дней).
			По показаниям		Положительный результат	Поражение ЦНС герпетической этиологии.

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий
<b>ПЦР</b>	Содержимое везикул, афт. Отделяемое глаз, уретры, цервикального канала.	ДНК HSV 1,2	До начала местного лечения	ДНК HSV 1, 2 обнаружена	Положительный результат (46)	Подтверждает герпетическую этиологию имеющихся поражений
<b>ПЦР</b>	Кровь (плазма, лейкоцитарная фракция)	ДНК HHV 6 типа	По показаниям	ДНК HHV6 обнаружена	Положительный результат	Обнаружение ДНК вируса в плазме крови подтверждает наличие активного процесса.
	Слюна	По показаниям	ДНК HHV6 обнаружена	Положительный результат (47)	Факт инфицирования. Диагностическая значимость оценивается в совокупности результатов комплекса лабораторных исследований и клинических проявлений.	
<b>Цитомегаловирусная инфекция</b>						
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	CMV- IgM	На 5–7 день при первичном заражении.	KП > 1,5	Положительный результат	Острая инфекция. Реактивация ЦМВИ (при высокоavidных IgG)
				1,0 < KП < 1,5	Сомнительный результат (48)	Анализ повторить в динамике через 10 дней.
		CMV- IgG	На 14–16 день от начала заболевания	KП > 1,5	Положительный результат (49)	При первичной инфекции диагностически значимым результатом является более чем 4-кратное увеличение уровня антител в интервале 7–10 дней. Маркер латентной инфекции.

**ГЛАВА 4. КЛИНИЧЕСКАЯ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ СПЕЦИФИЧЕСКИХ МЕТОДОВ (БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИХ, ИММУНОФЕРМЕНТНЫХ, МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ) В ДИАГНОСТИКЕ...**

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	СМV- IgG авидность	По показаниям, для диагностики первичной инфекции. Целесообразно определять при концентрации IgG, соответствующей КР > 2. При меньших концентрациях результаты не достоверны.	ИА < 30%	Низкоавидные	Острая первичная инфекция (от момента инфицирования прошло около 3-х месяцев).
			В ранние сроки заболевания	ИА = 30-50% ИА > 50%	«Серая зона» Высокоавидные (50)	От момента инфицирования прошло 3-5 месяцев. От момента инфицирования прошло более 5 месяцев.
		СМV-ЕА- IgM и IgG		КР > 1,5 1,0 < КР < 1,5	Положительный результат Сомнительный результат (51)	Маркеры острой ЦМВИ. Наблюдаются в субклинический период первичной инфекции, реактивации и реинфекции другими штаммами ЦМВИ. Повторять в динамике нецелесообразно в связи с коротким периодом их циркуляции.
<b>ПЦР</b>	Кровь (плазма)		По показаниям	ДНК СМV обнаружена	Положительный результат	Активный процесс. У иммунодефицитных больных требуется количественное определение (в плазме > 10000 коп./мл – клинически значимая концентрация)
			По показаниям	ДНК СМV обнаружена	Положительный результат	Активный процесс в ЦНС при наличии соответствующей патологии.
	Моча	ДНК СМV	По показаниям	ДНК СМV обнаружена	Положительный результат	Информативно у детей первого года жизни для диагностики активной ЦМВИ.
			По показаниям	ДНК СМV обнаружена	Положительный результат	Выявление только в слюне чаще всего не свидетельствует об активной инфекции.
	Слюна		По показаниям	ДНК СМV обнаружена	Положительный результат	Диагностическая значимость оценивается по совокупности результатов лабораторных исследований и клинических проявлений
			По показаниям	ДНК СМV обнаружена	Положительный результат (52)	

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	ВЭБ-VCA IgM	С 1-2 недели до 3 мес.	КП>1,5 0,8<КП<1,5	Положительный результат.	См. табл. интерпретации серологических маркеров.
					Сомнительный результат (53)	
		ВЭБ-EA IgG	С 1 нед. заболевания (максимум к 2-4 нед.)	КП>1,5	Положительный результат (54)	
					Положительный результат (55)	
ВЭБ-NA-IgG	С 1-6мес от начала заболевания	КП>1,5	Положительный результат (55)			
			Положительный результат (55)			
<b>Инфекционный мононуклеоз</b>						
<b>Интерпретация серологических маркеров. (55)</b>						
<b>Стадия инфекции</b>		<b>EA-IgG</b>	<b>VCA-IgM</b>	<b>EBNA-IgG</b>		
Инкубационный период или отсутствие инфицирования		-	-	-		
Ранняя первичная инфекция		-/+	+	-		
Поздняя первичная инфекция		-/+	+/-	+/-		
Пост-инфекция (латентная инфекция у клинически здоровых лиц)		-	-	+		
Реактивация		+	+/-	+		
Атипичная реактивация или ранняя пост-инфекция (онконастороженность)		+	-	+		

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий	
<b>ПЦР</b>	Кровь (плазма, лейкоцитарная фракция)	ДНК ВЭБ	По показаниям. При наличии клинических и серологических маркеров острого процесса.	ДНК ВЭБ обнаружена	Положительный результат	Острая стадия инфекции или реактивация. В латентную фазу и у клинически здоровых людей может обнаруживаться в минимальных концентрациях.	
			По показаниям	ДНК ВЭБ обнаружена	Положительный результат		
	СМЖ		По показаниям	ДНК ВЭБ обнаружена	Положительный результат	Поражение ЦНС (чаще при иммунодефицитных состояниях).	
	Моча		По показаниям	ДНК ВЭБ обнаружена	Положительный результат	Вирусовыделение у здоровых лиц (при низкой концентрации вируса).	
	Мазки со слизистой ротоглотки		В ранний период заболевания	ДНК ВЭБ обнаружена	Положительный результат	Острая ВЭБ инфекция.	
<b>ИФА</b>	Слюна	ДНК ВЭБ	В продромальном периоде, в разгаре заболевания и при выздоровлении в период до 18 месяцев	ДНК ВЭБ обнаружена	Положительный результат (56)	Самостоятельного диагностического значения не имеет и оценивается в совокупности результатов комплекса лабораторных исследований и клинических проявлений (30% взрослых и детей являются здоровыми вирусносителями). Может использоваться для выявления первичной инфекции у детей раннего возраста, а так же у лиц с иммунодефицитными состояниями, когда серодиагностика малоэффективна.	
	Кровь (сыворотка)	VZV-Ig M	VZV-IgG (гликопротеин E)	На 4-7 день (редко через 2 недели) после появления симптомов заболевания  На 3-4 день (реже 7-10 день) заболевания	КП > 1,5	Положительный результат	Первичная инфекция – у 50-70% больных или реактивация инфекции.  Анализ повторить в динамике через 7-14 дней.
					0,8 < КП < 1,5	Сомнительный результат (57)	
				КП > 1,5	Положительный результат	Острая фаза заболевания (ветряная оспа или опоясывающий герпес). Маркер активной репликации вируса. (Инструкция к тест-системе Вектор-Бест, 2014)	
				0,8 < КП < 1,5	Сомнительный результат (58)	Анализ повторить в динамике через 7-14 дней.	

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий	
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	VZV-Ig G	С 10–14 дня заболевания	КП>1,5	Положительный результат	С нарастанием количества в динамике -первичная инфекция.	
				0,8<КП<1,5	Сомнительный результат	Анализ повторить в динамике через 7-14 дней.	
				КП>1,5	Положительный результат (59)	Факт инфицирования (В.И.Покровский и др.,2014)	
<b>ПЦР</b>	Кровь	ДНК VZV	По показаниям	КП>1,5	Положительный результат	Результат успешной вакцинации.	
				ДНК VZV обнаружена	Положительный результат	Активная стадия инфекции.	
	СМЖ		По показаниям	ДНК VZV обнаружена	Положительный результат	Поражение ЦНС, вызванное VZV .	
			Отделяемое везикул	До 10–12 дней от начала высыпаний (до начала местного лечения)	ДНК VZV обнаружена	Положительный результат (60)	Подтверждение этиологии VZV инфекции (61)
<b>Эпидемический паротит</b>							
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	Паротит-IgM	С 5–7 дня заболевания	КП>1,5	Положительный результат	Текущая инфекция.	
				0,8<КП<1,5	Сомнительный результат (62)	Анализ повторить в динамике через 5-10 дней.	
		Паротит-IgG	С 7–10 дня заболевания	КП>1,5	Положительный результат	Положительный результат	Текущая инфекция (при наличии IgM) или нарастании титра IgG в 4 раза при исследовании парных сывороток.
							Результат не наблюдается.
<b>ПЦР</b>	Мазок со слизистой носо- и ротоглотки	ДНК Bordetella pertussis	По показаниям (до 3-й недели заболевания)	<b>Коклюш</b>		Текущая инфекция.	
				ДНК Bordetella pertussis обнаружена	Положительный результат (65)		
					Положительный результат (63)	Результат успешной вакцинации (64)	

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий
<b>БАК</b>	Мазок со слизистой носо- и ротоглотки	Bordetella pertussis	По показаниям первая неделя заболевания	Bordetella pertussis обнаружена	Положительный результат	СанПиН 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней", стр.66
<b>Парвовирусная инфекция (В 19)</b>						
<b>ПЦР</b>	Кровь (плазма), СМЖ	ДНК Parvovirus B19	С первых дней заболевания.	ДНК Parvovirus B19 обнаружена (67)	Положительный результат	Активное течение парвовирусной инфекции (В.И.Покровский и др.,2014)(68)
<b>Хламидиоз</b>						
(ИФА при УГХ больше подходит для ретроспективного анализа инфицирования. (В.И.Покровский и др.,2014)(68) )						
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	C. trachomatis-IgA	На 10–14 день заболевания	Титр 1:5	Слабоположительный результат	Динамическое наблюдение. Все клинические и лабораторные данные должны быть рассмотрены в совокупности.
				1:10	Положительный результат	Острая фаза заболевания. Постоянное обнаружение IgA в низких титрах свидетельствует о хронической персистирующей инфекции.
				1:20 и выше	Сильно положительный результат (69)	При реактивации титр IgA повышается. Острая инфекция
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	C. trachomatis-IgG	На 2–3 неделе от начала заболевания	Титр 1:5	Слабоположительный результат	Анализ повторить.
				1:10	Положительный результат	Инфицирование C. trachomatis. Обнаруживаются до нескольких месяцев от начала инфицирования (В.И.Покровский и др.,2014)(68)
				1:20 и выше	Сильноположительный результат	Реактивация хронической инфекции характеризуется 2–4-х кратным увеличением титра антител при исследовании парных сывороток
<b>ИФА</b>			В течение многих лет. Практически всю жизнь	Низкие титры	(70) положительный результат с низкими титрами	Перенесенная инфекция (68)

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий		
<b>ПЦР</b>	Урогенитальный мазок. Соскоб с конъюнктивы глаза, прямой кишки. Моча у мужчин	ДНК <i>C. trachomatis</i>	По показаниям	ДНК <i>C. trachomatis</i> обнаружена	Положительный результат	Активный процесс. Основной метод лабораторной диагностики урогенитального хламидиоза		
	Кровь (плазма)	ДНК <i>C. trachomatis</i>	У новорожденных	ДНК <i>C. trachomatis</i> обнаружена	Положительный результат (72)	Генерализация инфекции. (ИМП) Хламидийная инфекция у новорожденных детей, Вектор-Бест, 2001) (71)		
<b>Респираторные заболевания, вызванные <i>Chlamydia pneumoniae</i> и <i>Mycoplasma pneumoniae</i></b>								
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	<i>C. pneumoniae</i> IgM	На 7–14 день заболевания. Рекомендуется исследование парных сывороток, взятых с интервалом 3 недели.	Титр 1:100	Отрицательный	Не исключает наличия инфекции (ВИ.Покровский и др., 2014) (68)		
				1:200	Сомнительный результат	Анализ повторить в динамике через 10–14 дней.		
				1:400	Слабоположительный результат	Динамическое наблюдение. Все клинические и лабораторные данные должны быть рассмотрены в совокупности.		
				1:800 и более	Положительный результат	Острая инфекция или обострение хронического заболевания.		
				Титр 1:5	Сильноположительный результат (73)	Острая инфекция		
<i>C. pneumoniae</i> IgG	На 4–6 неделе заболевания. Рекомендуется исследование парных сывороток взятых с интервалом 3 недели	1:10	Сомнительный результат	Титр 1:5	Сомнительный результат	Анализ повторить в динамике через 10–14 дней. Увеличение титра в 4 раза свидетельствует об острой инфекции.		
						1:20	Слабоположительный результат	Динамическое наблюдение При острой инфекции наблюдается резкое нарастание титра.
						1:40 и более	Положительный результат	Острая или хроническая инфекция. Острая инфекция. (Инструкция к тест-системе, Вектор-Бест, 2012)

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий		
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	M. pneumoniae IgA	На 4 неделе заболевания	КП>1,5 1,0<КП<1,5	Положительный результат. Сомнительный результат (75)	Текущая или хроническая инфекция. При текущей инфекции их уровень увеличивается в 4 раза при исследовании парных сывороток.		
		M. pneumoniae IgM	На 7–14 день заболевания	КП>1,5 1,0<КП<1,5	Положительный результат Сомнительный результат (76)	Острая инфекция. Анализ повторить в динамике через 10–14 дней.		
		M. pneumoniae IgG	На 3–4 неделе заболевания	КП>1,5	Положительный результат (77)	Перенесенная, текущая или хроническая инфекция. При текущей инфекции их уровень увеличивается в 4 раза при исследовании парных сывороток.		
<b>Острые респираторные заболевания</b>								
<b>ПЦР</b>	Мазки из носа и зева	РНК вируса гриппа А	Первые 5 дней от начала заболевания	РНК вируса гриппа А обнаружена	Положительный результат (78)	Грипп, вызванный вирусом гриппа А (имеет несколько генотипов, в том числе АН1N1).		
		РНК вируса гриппа АН1N1 (swine)					Положительный результат (79)	Грипп А, вызванный генотипом АН1N1
		РНК вируса гриппа В					Положительный результат (78)	Грипп, вызванный вирусом гриппа В
<b>ПЦР</b>	Мазки из носа и зева, отделяемое конъюнктивы	РНК респираторно-синциального вируса (RSV)		РНК респираторно-синциального вируса (RSV) обнаружена	Положительный результат (80)	Респираторно-синциальная инфекция.		
		ДНК аденовируса					Положительный результат (80)	Аденовирусная инфекция. (81)

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий
<b>Новая коронавирусная инфекция COVID-19</b>						
<b>ПЦР</b>	Мазок из носа и зева	РНК SARS-CoV-2	С 1-го по 7-й день от начала появления симптомов	РНК SARS-CoV-2 обнаружена	Положительный результат (82)	Положительный результат ПЦР отражает только обнаружение вирусной РНК и не коррелирует с выраженностью симптоматики. (МР №89, 2020)
	Мокрота, кал, и др. биоматериал(кроме мочи)		От начала появления симптомов до 3-х недель			
<b>ИФА</b>	Кровь(Сыворотка)	Ig M SARS-Cov-2	На 7-е сутки от начала заражения	КП>1.1	Положительный результат	Сохраняются в течении 2 мес. и более
				0.8<КП>1.1	Сомнительный результат (83)	
	Кровь(Сыворотка)	Ig G SARS-Cov-2	С 3-й недели или ранее (Временные МР версия 8.1)	КП>1.1	Положительный результат	Особенностью антительного ответа является небольшой временной промежуток между появлением антител Ig M и Ig G. Продолжительность обнаружения зависит от уровня первоначального антительного ответа.
0.8<КП>1.1				Сомнительный результат (84)	Повторно исследовать эти образцы параллельно с образцами данных пациентов, взятыми через 2-5 дней	
<b>ИФА (количест.)</b>	Кровь(Сыворотка)	Ig G SARS-Cov-2	8 – 13 день заболевания (85)	<10 ВАУ/ мл **** (единицы связывающих антител/мл)	Отрицательный результат	Определяет иммуноглобулины класса G к полноразмерному тримеризованному поверхностному гликопротеину S (включая RBD).

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий
<b>ИФА (колич.)</b>	Кровь(сы-воротка)	Ig G SARS-Cov-2	8–13 день заболевания (85)	> 10 ВАУ/мл *** (единицы связывающих антител/мл)	<p>Положительный результат</p> <p>Ориентировочная градация по уровню вируснейтрализующих антител при результатах:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● 11-79 ВАУ/мл = вируснейтрализующий эффект низкий (принятие решения по вакцинации);</li> <li>● 80-149,9 ВАУ/мл = вируснейтрализующий эффект 50% случаев (контроль в динамике);</li> <li>● &gt; 150ВАУ/мл = вируснейтрализующая активность выражена в 100% случаев (достаточный уровень для защиты, вакцинация не требуется);</li> <li>● &gt; 500 ВАУ/мл = выработан максимальный уровень антител (вакцинация не требуется). (86)</li> </ul>	<p>По уровню антител можно оценить гуморальный ответ на текущую и перенесенную инфекцию, а также выработку поствакцинального иммунитета( вакцины Гам-Ковид, КовиВак). Протективный уровень антител к SARS-Cov-2 находится в процессе изучения.</p> <p>Ориентировочная градация основана на соответствии между вируснейтрализующей активностью (титром 1/160 в реакции нейтрализации S-псевдотипированного вируса) и титром IgG к SARS -Cov-2 в ИФА. Согласно Временным методическим рекомендациям «Профилактика, диагностика и лечение COVID-19» версии 11 (07.05.2021) в числе требований к донорам антиковидной плазмы указана вируснейтрализующая активность плазмы в разведении 1:160. (87)</p>

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий
<b>Гнойные менингиты</b>						
<b>БАК</b>	СМЖ, кровь	N. meningitidis; H. influenzae; S. pneumoniae	По показаниям.	возбудитель обнаружен	Положительный результат	Гнойный менингит, вызванный обнаруженным возбудителем (157)
<b>ПЦР</b>	СМЖ	ДНК N. meningitidis; ДНК H. influenzae; ДНК S. pneumoniae (89)	По показаниям.	ДНК одного из возбудителей обнаружена	Положительный результат	Гнойный менингит данной этиологии.
	Кровь (плазма)		По показаниям.	ДНК одного из возбудителей обнаружена	Положительный результат	Генерализованная инфекция. (88)
<b>Энтеровирусная инфекция</b>						
<b>ПЦР</b>	СМЖ, Кровь (стерильный клинический материал)	РНК энтеровирусов	По показаниям	РНК энтеровирусов обнаружена	Положительный результат (90)	Подтверждение этиологии заболевания. У пациентов с менингеальной симптоматикой должны учитываться только результаты исследования СМЖ.
	Мазок из носоглотки, кал (нестерильный клинический материал)		По показаниям	РНК энтеровирусов обнаружена	Положительный результат (92)	Выявление РНК энтеровирусов в образцах фекалий и материале из носоглотки у пациентов со спорадической заболеваемостью <b>не может служить</b> основанием для подтверждения этиологии. При спорадической заболеваемости только выявление РНК энтеровирусов <b>в двух пробах нестерильных клинических материалов</b> может являться лабораторным подтверждением энтеровирусной инфекции. Однократное выявление РНК энтеровирусов в нестерильных типах клинического материала может служить подтверждением энтеровирусной инфекции только в ходе расследования <b>вспышки</b> и при наличии у пациентов характерной клинической картины заболевания (СП.3.1.2950-11)(91)

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий
<b>Лихорадка Западного Нила</b>						
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка), СМЖ	ЛЗН IgM (WZN)	С 3–4 дня от начала заболевания.	КП=0,8–1,5  КП>1,5	Сомнительный результат  Положительный результат (93)	Анализ повторить в динамике через 10–14 дней.  Подтверждение острой инфекции. У 50% больных, перенесших острую инфекцию, могут циркулировать более 8 мес, а у около 40% – до года. (97)
		ЛЗН IgG (WZN)	С 7–10-днев от начала заболевания.	КП=0,8–1,5  КП>1,5	Сомнительный результат  Положительный результат (94)	Анализ повторить в динамике через 10–14 дней.  Диагностическим критерием является нарастание титра IgG к 3 неделе заболевания. АТ могут нарастать очень быстро (в течение первых суток), а потом стабилизироваться, что затрудняет постановку диагноза по IgG. Могут давать перекрестные реакции с другими флавивирусами.
	Кровь (сыворотка), СМЖ	Авидность IgG к ЛЗН (WZN)	Целесообразно определять при концентрации IgG, соответствующей КП >2. При меньших концентрациях результат не достоверен	ИА<50%	Низкоавидные	Определение индекса авидности (ИА) IgG к ВЗН позволяет дифференцировать первичную инфекцию от ранее перенесенной ЛЗН.  2–3 месяца после инфицирования IgG остаются низкоавидными.
				50–70%  ИА>70%	«Серая» зона  Высокоавидные (95)	3–5 месяцев от начала заболевания  Срок инфицирования более 5 месяцев, указывают на пост-инфекцию 50-70%.
<b>ПЦР</b>	СМЖ	РНК ЛЗН (WZN)	В течение 5 суток от начала заболевания	РНК WZN обнаружена	Положительный результат	Поражение ЦНС, вызванное ВЗН Из СМЖ выявляется только у 25% – 50% больных с поражением ЦНС.
	Кровь (плазма)	РНК ЛЗН (WZN)	В первые дни заболевания	РНК WZN обнаружена	Положительный результат (96)	Из крови выявляется у 14% больных, т. к. вирусемия при ЛЗН кратковременна и продолжается всего 3-5 дней от момента инфицирования.

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий
<b>Малярия</b>						
<p>Малярия — острое инфекционное заболевание, вызываемое малярийным плазмодием. Переносчиками служат комары рода <i>Anopheles</i>. Известны 5 видов плазмодиев — <i>Plasmodium vivax</i>- трехдневная малярия, <i>Plasmodium falciparum</i> — тропическая малярия, <i>Plasmodium malariae</i> — четырехдневная малярия, <i>Plasmodium ovale</i> — трехдневного типа, <i>P. knowlesi</i> — малярия обезьян.</p> <p>Диагностика малярии основана на обнаружении кровяных форм паразитов (трофозоиты, шизонты и гаметоциты) при микроскопическом исследовании крови. (1) Для обнаружения эритроцитарных форм плазмодиев и определения их вида используют препараты крови, приготовленные методом тонкого мазка и толстой капли, окрашенные по методу Романовского–Гимзы. Основной метод — толстая капля. В тонком мазке сохраняются морфологические особенности, присущие данному виду паразита, и характерные изменения пораженного эритроцита. Тонкий мазок крови делают в дополнение к толстой капле. Обязательно ежедневное определение уровня паразитемии до полного исчезновения клинических симптомов и паразитов в крови у больного.(2)</p> <p>Для диагностики малярии также используются иммунологические методы (экспресс-тесты) и метод ПЦР. Недостатком экспресс-метода является невозможность установить уровень паразитемии.</p>						
<b>Микроскопия</b>	кровь	Малярийный плазмодий	В первые дни заболевания	Обнаружен	Обнаружен малярийный плазмодий. Устанавливается вид малярийного плазмодия.	Основной метод- микроскопия толстой капли
<b>Иммунологические методы</b>	кровь	Антиген малярийного плазмодия	В первые дни заболевания	Обнаружен	положительный результат.	
<b>ПЦР</b>	кровь	ДНК малярии	В первые дни заболевания	ДНК малярии обнаружен	Положительный результат	Позволяет выявлять смешанную инфекцию
<b>Леггионеллез</b>						
<b>ПЦР</b>	Бронхоальвеолярный лаваж. Плевральная жидкость, Мокрота, Кровь, СМЖ, мазок из зева	ДНК <i>Legionella pneumophila</i>	С первых дней заболевания	ДНК <i>Legionella pneumophila</i> обнаружена	Положительный результат (98)	Оценивается как вспомогательный метод. Основным методом диагностики, в настоящее время, является определение легионеллезного антигена в моче иммунохроматографическим методом. Для диагностики внутрибольничного легионеллеза основной метод – бактериологический (99)

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий
<b>ИХГ</b>	моча	Антиген Legionella pneumophila серогруппы 1	В течение 3 суток после появления признаков заболевания	Антиген Legionella pneumophila серогруппы 1 обнаружен	Положительный результат	Основным методом для своевременной диагностики и мониторинга легионеллезной инфекции является определение легионеллезного антигена в моче иммунохроматографическим или иммуноферментным методом. (152) Для диагностики внутрибольничного легионеллеза основной метод – бактериологический (Тест предназначен для помощи в предполагаемом диагнозе легионеллезной инфекции, вызванной L.pneumophila серогруппа 1 в сочетании с культуральными и другими методами.
<b>Боррелиоз</b>						
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	Иммуноглобулины классаМ (IgM) к боррелиям	Появляются на 2–4 неделе от начала заболевания	КП>1,5	Положительный результат	Наличие IgM к антигенам боррелий в сыворотке крови больных Лайм-боррелиозом, как правило, указывает на раннюю стадию заболевания. Однако в некоторых случаях IgM могут выявляться в течение 1–2 лет (100). У некоторых больных синтез IgM может задерживаться или отсутствовать вообще.
	СМЖ			1,0<КП<1,5	Сомнительный результат (101)	Анализ повторить в динамике через 10–14 дней
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	Иммуноглобулины класса G (IgG) к боррелиям	Появляются на 3–6 неделе от начала заболевания	КП>1,5	Положительный результат	Выявление IgG при раннем боррелиозе, при отсутствии IgM и наличии клинической симптоматики заболевания, требует оценки в динамике. При нарастании концентрации в 4 раза в парных сыворотках с интервалом в 1–3 мес. может говорить о текущей инфекции. Одновременное выявление IgM и IgG чаще свидетельствует об активной боррелиозной инфекции.
	СМЖ					

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	Иммуноглобулины класса G (IgG) к боррелиям	Появляются на 3–6 неделе от начала заболевания	КП > 1,5	Положительный результат	При наличии признаков острого поражения ЦНС необходимо проводить анализ СМЖ на наличие IgM и IgG к боррелиям для расчета ликвор-сывороточного индекса (ЛСИ). Значение ЛСИ > 2 (ЛСИ = КП IgG смж : КП IgG сыворотки) расценивается как положительное и является лабораторным подтверждением нейроборрелиоза (68). Для позднего клинического боррелиоза характерна высокая концентрация IgG, при паст-инфекции их концентрация снижается. Могут выявляться длительно (более 10 лет)
	СМЖ					
<b>ПЦР</b>	Кровь (плазма) СМЖ	РНК боррелий	Первые дни после укуса клеща	РНК Боррелий обнаружена	Положительный результат	Основание для предварительного диагноза боррелиоз (68)
				РНК Боррелий не обнаружена	Отрицательный результат (103)	Не исключает заболевания, так как чувствительность ПЦР-диагностики составляет при раннем боррелиозе 25–30%, а при хроническом нейроборрелиозе – 10%. Главной проблемой молекулярной диагностики боррелиоза является большое количество ложноотрицательных результатов т.к. клинический материал содержит ничтожно малое количество боррелий. Концентрация боррелий в клиническом материале, как правило, не превышает 50 клеток/мл, что ниже порога чувствительности ПЦР тест-систем.

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий
<b>Кишечные инфекции</b>						
<b>ИФА</b>	Кал	АГ ротавируса в кале	Максимальная концентрация возбудителя в фекалиях в первые 3–5 дней заболевания. Длительность выделения после исчезновения клинических признаков заболевания может продолжаться до 30–40 дней (МУ 3.1.1.2957-11)	ОПоб>=ОПкрит.	Положительный результат	Лабораторным подтверждением диагноза является обнаружение АГ или РНК ротавирусов в образцах фекалий (153)
		Shigella spp. E. coli (эшерихиозы) Salmonella spp.	В первые 72 часа от начала заболевания	Shigella/ E. coli Salmonella spp. обнаружена	Положительный результат	Сальмонеллез; эшерихиоз, шигеллез (в зависимости от выявленного возбудителя) (148).
<b>БАК</b>	Кал или ректальный мазок	ДНК Shigella/ E. coli	В первые 72 часа от начала заболевания	ДНК Shigella/ E. coli обнаружена	Положительный результат	Возможно шигеллез или эшерихиоз.
		ДНК Salmonella spp.	В первые 72 часа от начала заболевания.	ДНК Salmonella обнаружена	Положительный результат	Возможно сальмонеллез.
		ДНК Campylobacter spp.	В первые 72 часа от начала заболевания.	ДНК Campylobacter обнаружена	Положительный результат (104)	Является подтверждением этиологии заболевания
<b>ПЦР</b>	Кал или ректальный мазок	РНК Rotavirus	В первые 72 часа от начала заболевания.	РНК Rotavirus обнаружена	Положительный результат	Ротавирусная инфекция (в основном у детей до 5 лет) или здоровое носительство. Возможно выделение вируса 30–40 дней после перенесенной инфекции. Об этиологии данной ОКИ у взрослых может говорить отрицательный результат в ПЦР в период реконвалесценции.
		РНК Norovirus	В первые 72 часа от начала заболевания.	РНК Norovirus обнаружена	Положительный результат	Норовирусная инфекция у пациентов с симптоматикой ОКИ. У пациентов без симптомов ОКИ – реконвалесценция или бессимптомное носительство вируса
		РНК Astrovirus	В первые 72 часа от начала заболевания.	РНК Astrovirus обнаружена	Положительный результат (105)	Астровирусная инфекция, возможно здоровое носительство. (106)

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий
<b>ИФА</b>	Кровь (сыворотка)	Иерсиния Ig M (к двум возбудителям суммарно)	На 7–10 день заболевания.	КП>1,5	Положительный результат (107)	Острая инфекция. Характерно значительное нарастание количества антител на 2-3 неделе и снижение после 5 недели. Могут циркулировать до 6 месяцев.
		Иерсиния Ig A (к 2-м возбудителям суммарно)	В первые недели заболевания.	1,0<КП<1,5	Сомнительный результат	Анализ повторить в динамике через 7–10 дней
		Иерсиния Ig G (к 2-м возбудителям суммарно)	В первые недели заболевания.	КП>1,5	Положительный результат (108)	Острая стадия заболевания. При выявлении более 6 месяцев с дальнейшим ростом концентрации свидетельствует о поздних осложнениях заболевания и персистенции возбудителя в организме.
<b>ПЦР</b>	Кал	ДНК иерсиний Y. enterocolitica и Y. pseudotuberculosis	В первые дни заболевания.	1,0<КП<1,5	Сомнительный результат	Анализ повторить в динамике через 7–10 дней.
		Увеличение концентрации антител в 4 раза при исследовании парных сывороток свидетельствует об острой инфекции. После перенесенного заболевания могут присутствовать в крови до нескольких лет.	КП>1,5	Положительный результат (109)	Иерсиниоз или псевдотуберкулез. (110)	
<b>БАК</b>	Кал	Y. enterocolitica и Y. pseudotuberculosis	В первые дни заболевания.	ДНК иерсиний обнаружена	Положительный результат (111)	Иерсиниоз или псевдотуберкулез (в зависимости от выделенного возбудителя) (149)

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий
<b>Кандидоз</b>						
<b>ПЦР</b>	Кровь (плазма)		По показаниям	ДНК <i>Candida</i> обнаружена	Положительный результат	Генерализованный кандидоз.
	СМЖ		По показаниям	ДНК <i>Candida</i> обнаружена	Положительный результат	Поражение ЦНС (чаще у лиц с иммунодефицитом)
	Моча, уро-гени-тальный мазок	ДНК <i>Candida albicans</i>	По показаниям	ДНК <i>Candida</i> обнаружена	Положительный результат	Диагностическое значение имеет количественное определение ДНК. Наличие ДНК <i>Candida</i> без клинических и лабораторных признаков инфекционно-воспалительного процесса не является основанием постановки диагноза кандидоз (68)
			По показаниям	ДНК <i>Candida</i> не обнаружена	Отрицательный результат (112)	Не означает отсутствия других видов <i>Candida</i>
<b>ИФА</b>		Ig M <i>Candida albicans</i>	По показаниям	КП > 1.0	Положительный результат (113)	Свидетельствует об активной инфекции.
				0.85 < КП < 1.0	Сомнительный результат	Анализ повторить в динамике через 1–2 недели.
		Ig G <i>Candida albicans</i>	По показаниям	КП > 1.0	Положительный результат (114)	Увеличение концентрации антител в 4 раза при исследовании парных сывороток свидетельствует об острой инфекции. После перенесенного заболевания могут присутствовать в крови до 5 лет. Имеет диагностическое значение при висцеральных формах кандидоза. (116)
				0.85 < КП < 1.0	Сомнительный результат	Анализ повторить в динамике через 2–4 недели.
		Ig A <i>Candida albicans</i>	По показаниям	КП > 1.0	Положительный результат (115)	Активная инфекция. Имеют диагностическое и прогностическое значение при глубоком кандидозе. (117)
				0.85 < КП < 1.0	Сомнительный результат	Анализ повторить в динамике через 2–4 недели.

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий
<b>БАК</b>	Кровь, соскоб, бронхиальный секрет, СМЖ, моча	Грибы рода <i>Candida</i>	По показаниям	возбудитель обнаружен	Положительный результат	Кандидоз
<b>Другие виды грибов рода <i>Candida</i></b>						
<b>ПЦР</b>	Сыворотка, плазма крови, соскоб, бронхальный секрет	ДНК <i>Candida krusei</i>	При наличии клинической симптоматики микоза у больных с иммунодефицитным состоянием	ДНК <i>Candida krusei</i> , <i>Candida glabrata</i> обнаружена	Положительный результат (118)	Клинические симптомы не указывают на определенные виды <i>Candida</i> , поэтому ПЦР-диагностика имеет важное значение для постановки диагноза и выбора лечения в зависимости от вида <i>Candida</i>
		ДНК <i>Candida glabrata</i>				
<b>Пневмоцистоз</b>						
<b>ПЦР</b>	Мокрота, БАЛ, биоптаты и аспираты трахеи, мазки из ротоглотки.	ДНК <i>Pneumocystis carinii</i>	При наличии клинических маркеров процесса	ДНК <i>Pneumocystis carinii</i> обнаружена	Положительный результат (119)	Диагностическая значимость оценивается по совокупности результатов лабораторных исследований и клинических проявлений, т.к. наличие ДНК возбудителя может свидетельствовать о носительстве.
<b>Криптококкоз</b>						
<b>ПЦР</b>	СМЖ мокрота, БАЛ кровь	ДНК <i>Streptococcus neoformans</i>	При наличии клинических маркеров процесса	ДНК <i>Streptococcus neoformans</i> обнаружена	Положительный результат (120)	Криптококковый менингит
<b>БАК</b>	мокрота, БАЛ, СМЖ, кровь	ДНК <i>Streptococcus neoformans</i>	При наличии клинических маркеров процесса	ДНК <i>Streptococcus neoformans</i> обнаружена	Положительный результат	Криптококковый менингит
<b>Лихорадка Денге</b>						
<b>ПЦР</b>	Плазма/сыворотка крови, моча.	РНК вируса Денге 1-4 серотипов	На 1-й неделе - плазма крови, на 2-й неделе - моча	РНК вируса денге 1-4 обнаружена	Положительный результат (121)	Диагностика эффективна в конце инкубационного периода и на начальных стадиях заболевания. Чувствительность достигает 70 % и более. Все 4 серотипа способны вызвать заболевание. (122, 154)

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий
<b>Листерия</b>						
<b>ПЦР</b>	СМЖ, моча, меконий, фекалии, амниотическая жидкость	ДНК <i>Listeria monocytogenes</i>	При наличии клинических маркеров процесса (по показаниям)	ДНК <i>Listeria monocytogenes</i> обнаружена	Положительный результат	«Золотым стандартом» диагностики листериоза является бактериологический метод. Выбор биоматериала зависит от формы заболевания. Возможно бессимптомное носительство.
	<b>БАК</b>	СМЖ, моча, меконий, фекалии, амниотическая жидкость	При наличии клинических маркеров процесса (по показаниям)	<i>Listeria monocytogenes</i> обнаружена	Положительный результат	«Золотым стандартом» диагностики листериоза является бактериологический метод. Выбор биоматериала зависит от формы заболевания. Возможно бессимптомное носительство. (150)
<b>Коксимелез (Лихорадка Ку)</b>						
<b>ПЦР</b>	Кровь, моча, мокрота, СМЖ	ДНК <i>Coxiella burnetii</i>	На 1-й неделе заболевания	ДНК <i>Coxiella burnetii</i> обнаружена	Положительный результат (125)	ПЦР информативен на первой неделе заболевания. Позже малая вероятность обнаружения. Рекомендуется соскоб ПЦР на риккетсиоз. (Лекция «Природно-очаговые инфекции», Карань Л.С.) (126)
<b>Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС)</b>						
<b>МФА (РНИФ)</b>	Кровь/сыворотка	Антитела к хантавирусам	На 2–4 день от начала заболевания.	Титр 1:25 и выше	Положительный результат	Острая текущая инфекция (ГЛПС). Диагностически значимым является 4-х кратное увеличение уровня антител в парных сыворотках. Является обязательным методом исследования для постановки диагноза (129)
<b>ИФА</b>	Кровь/сыворотка	Ханта-вирусы IgM	На 1–7 день от начала заболевания (циркулируют до 3-х месяцев).	КП > 1,5 0,8 < КП < 1,5	Положительный результат Сомнительный результат	Острая текущая инфекция. Анализ повторить в динамике через 3–5 дней.
<b>ИФА</b>	Кровь/сыворотка	Ханта-вирусы IgG	На 2–9 день от начала заболевания	КП > 1,5 0,8 < КП < 1,5	Положительный результат Сомнительный результат	Текущая или перенесенная инфекция. Диагностически значимым является 4-х кратное увеличение уровня IgG. У переболевших могут обнаруживаться в течение многих лет. Анализ повторить в динамике через 7–14 дней. (129)

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий
<b>РМАЛ</b>	Кровь/ сыворотка	Антитела к сероварам лептоспир	С 7–10 дня заболевания	<b>Лептоспироз</b>	Положительный результат	Острая текущая инфекция (лептоспироз) при наличии титра 1:100 и четырехкратном увеличении титра в парных сыворотках (СП 3.1.7.2835–11) В случаях спорадических заболеваний сыворотку больных необходимо исследовать в динамике не менее 2-х раз: первый – при поступлении больного в стационар (даже если это первый день болезни), второй через 5–7 дней. Нарастание титров АТ даже в невысоких разведениях (1-е отр. и 2-е 1:20) является абсолютным доказательством наличия заболевания Агглютинины в сыворотке крови переболевших могут выявляться в течение 3–5 и более лет (130,131, 151)
				Наличие агглютинации с одним из сероваров лептоспир.		
<b>ИФА</b>	Кровь/ сыворотка	Ig M к АГ описторхозов  Ig G к АГ описторхозов	Появляются спустя 1 нед. после инфицирования, максимальных значений достигает через 1,5–2 нед., а через 1–2 мес. быстро снижаются  Начинают вырабатываться на 2–3 нед. позже IgM. Максимальных значений достигают на 2–3-й мес. после заражения и держатся на таком уровне до года и более (Кишкун А.А., 2006)	<b>Описторхоз</b>	Положительный результат  Положительный результат  Сомнительный результат	Единственный лабораторный маркер острой стадии. Поскольку инкубационный период длится от 2 до 6 нед., то к моменту клиники острой фазы, специфические IgM могут не определяться (132,133)  В хронической стадии положительный результат в ИФА следует подтверждать прямыми методами обнаружения яиц в фекалиях и дуоденальном содержимом. Возможен перекрест иммунологических реакций при заболеваниях токсокарозом, трихинеллезом и эхинококкозом (134)
				ОПобр >= ОПд  ОПобр >= ОПд  от 0,85хОПд до ОПд		

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий	
<b>ИФА</b>	Кровь/ Сыворотка	Ig M к АГ трихинелл	Специфические антитела появляются через 14–15 дней после заражения и достигают максимума на 4–12 неделе (Памятка врачу, Вектор-Бест, 2014).	<b>Трихинеллез</b>			Обнаружение АТ класса М к АГ трихинелл в сочетании с характерным эпидемиологическим показателем острого трихинеллеза, а при наличии ярко выраженных клинических признаков достаточным для проведения специфической терапии (136). При заражении диким штаммом АТ выявляются спустя 4–7 нед. В течении 2–4 мес. АТ могут нарастать, через 4–5 мес. после заражения показатели снижаются, однако остаются на диагностическом уровне не менее 1,5 лет, а при интенсивном заражении до 2–2,5 лет и более (137)
				ОПобр >= ОПд	Положительный результат	Анализ повторить	
				от 0,85хОПд до ОПд	Сомнительный результат	Отрицательный результат не исключает раннюю стадию инфицирования Trichinella. У лиц с подозрением на трихинеллез при слабо положительном или отрицательном результате рекомендуется повторить исследование через 2–3 недели. (138)	
				ОПобр <= 0,85хОПд	Отрицательный результат	Возможен перекрест иммунологических реакций при заболеваниях описторхозом, токсокарозом, эхинококкозом (139) у переболевших трихинеллезом людей антитела сохраняются более двух лет (138)	
				от 0,85хОПд до ОПд	Сомнительный результат	Анализ повторить через 2–4 недели (139)	
<b>Токсокароз</b>							

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий
<b>ИФА</b>	Кровь/ сыворотка	IgG к АГ токсокар		ОПобр >= ОПд	Положительный результат	<p>Диагноз может быть поставлен у больных с титром АТ к АГ токсокар 1:800, с эозинофилией более 10% и при наличии характерных клинических признаков (140).</p> <p>Титры 1:800 и выше указывают на наличие инвазии как болезни, требующей специфического лечения. Титры антител к антигенам токсокар 1:200 — 1:400 свидетельствуют об инвазированной форме. У больных с хронической формой инвазии с выраженным в различной степени легочным синдромом уровень специфических АТ Ig G, как правило, повышен умеренно (1:800; 1:1600) (141).</p> <p>При титрах АТ 1:100–1:400 и уровне эозинофилии до 10% можно предположить глазной токсокароз или токсокароносительство (140).</p>
<b>Аскаридоз</b>						
<b>ИФА</b>	Кровь/ сыворотка	Ig G к АГ Ascaris Lumbricoides (аскарида)	пецифические антитела появляются через 5-10 дней.	ОПобр >= ОПд	Положительный результат	<p>Не является надежным маркером текущей инвазии.</p> <p>Выявление IgG к АГ Ascaris Lumbricoides может быть использовано при диагностике аскаридоза с <b>дальнейшим подтверждением копроовоскопическим методом</b> (142).</p> <p>Результаты серологического анализа в комплексе с данными анамнеза, клинической симптоматики позволяют диагностировать аскаридоз на ранних стадиях (143).</p> <p>Через три месяца после начала инвазии антитела могут не выявляться.</p> <p>Не используется как критерий эффективности дегельминтизации.</p> <p>Анализ повторить через 2–4 недели (201)</p>
				ОПобр <= 0,85хОПд	Неопределенный	Анализ повторить через 2–4 недели (201)
				Отриц.	Отриц.	Не исключает аскаридоз

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий
<b>Эхинококкоз</b>						
<b>ИФА</b>	Кровь/сыворотка	Ig G к АГ эхинококка однокламерного	Антитела класса IgG к эхинококку - серологический маркер эхинококкоза	ОПобр $\geq$ ОПд	Положит.	ИФА используют для первичной диагностики, оценки результатов лечения, раннего выявления рецидивов. Актуальна серологическая диагностика (выявление специфических АТ к АГ возбудителя) поскольку при эхинококкозе поражаются глубоко лежащие органы, что затрудняет получение материала для микроскопии. Высокие титры АТ могут быть выявлены у больных с активным процессом, множественными поражениями, чаще локализованными в печени. В случае легочной локализации титры АТ могут быть низкими (137,155)
				0,85 x ОПд < ОПобр < ОПд ОПобр $\leq$ 0,85xОПд	Неопределенный  Отриц.	Анализ повторить через 2-4 недели  У части носителей эхинококковых кист иммунный ответ может не развиваться и антитела в крови отсутствовать.
<b>Лямблиоз</b>						
<b>ИФА</b>	Кровь/сыворотка	АТ к АГ лямбдий (суммарные)	АТ к АГ лямбдий суммарные (IgA, IgM, IgG). Появляются на 10-14 день после начала инвазии и присутствуют в крови и секретах человека практически на всех ее стадиях. Через 1-2 мес. после полной элиминации паразитов концентрация специфичных IgB в крови человека резко снижается (МУ 3.2.1882-04). АТ полностью исчезают в течение 2-6 мес. (Кишкун А.А., 2006).	ОПобр $\geq$ ОПд***	Положительный результат	Свидетельствуют о предшествующей или текущей инвазии. Выявление АТ к АГ лямбдий может свидетельствовать о наличии патологического процесса. Серологические методы диагностики являются косвенными, поэтому могут использоваться как дополнительные (144). Необходимо комплексное обследование пациента с применением методов визуального обнаружения лямбдий в желчи, фекалиях.
				0,85xОПд < ОПобр < ОПд ОПобр $\leq$ 0,85xОПд	Неопределенный  Отрицательный результат	Анализ повторить  Не является ранним критерием элиминации лямбдий

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий
<b>ИФА</b>	Кровь/ сыворотка	Ig M к АГ лямблий	Антитела класса IgM обнаруживают в крови на 10–14 сут. после инвазии (Инструкция к тест-системе, Вектор-Бест, 2014)	ОПобр>=ОПд	Положительный результат	Выявление IgM к АГ лямблий может свидетельствовать о наличии острого лямблиоза (145) Окончательный диагноз устанавливают при паразитологическом подтверждении.
				от 0,85хОПд до ОПд	Неопределенный	Анализ повторить
	кал	АГ лям- бий	является дополнительным методом диагностики	ОПобр>=0,3	Положительный	Отрицательный результат при клинических проявлениях требует повторного проведения исследования через определенные промежутки времени. Положительный результат при отсутствии клинических признаков заболевания может указывать на бессимптомное носительство (146).
<b>Хеликобактерная инфекция</b>						
<b>ИФА</b>	Кровь/ сыворотка	АТ к АГ СаgА Н <sub>1</sub> рy/lori (суммарные)	Антитела класса IgG к Helicobacter рy/lori начинают вырабатываться через 3–4 недели после инфицирования	ОПобр>=ОПкрит +0,05	Положительный	Выявление в сыворотке крови специфических АТ к цитотоксин-ассоциированному белку (АТ). Свидетельствует об инфицированности возбудителем и может указывать на хронический гастрит, язвенную болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки. Обнаружение АТ выявляет факт инфицирования при манифестных, субклинических формах, а также в стадиях ремиссии заболевания. Терапия не назначается на основании выявления АТ, для уточнения рекомендуется проведение эндоскопического исследования (147)
				ОПкрит=0,05 <ОПобр< ОПкрит+0,05	Сомнительный	Повторить через 10–15 дней

Метод	Материал	Маркер	Срок обнаружения	Оценка	Интерпретация	Комментарий
				ОПобр<=ОПкрит -0,05	Отрицательный	Ложноотрицательный результат может быть обусловлен особенностями иммунной системы пациента, не вырабатывающей АТ к АГ H.pylori, при взятии материала на ранней стадии инфицирования, недостаточной чувствительностью метода (147)

\* ОП — оптическая плотность

\*\* КП — коэффициент позитивности (КП = ОПпробы/ОПкритическое)

\*\*\*ОПд — диагностическое значение оптической плотности

\*\*\*\*ВАУ/мл — единицы связывающих антител (международный стандарт принятый ВОЗ)

В таблице представлена информация, основанная на многолетнем опыте практической работы специалистов микробиологической лаборатории и врачей-инфекционистов ГБУЗ «Специализированная клиническая инфекционная больница» министерства здравоохранения Краснодарского края (г.Краснодар) по проведению комплексной диагностики инфекционных заболеваний методами иммуноферментного анализа (ИФА) и молекулярной диагностики (ПЦР).

### **Вопросы для контроля знаний**

- Перечислить маркеры определяющие антигены вирусного гепатита В методом ИФА.  
(HBsAg; HBe Ag)
- Концентрация защитного титра Ат HBsAg  
(>10 мМЕ/ мл)
- Период обнаружения РНК HAV в крови.  
(С конца инкубационного периода и 1-2 неделя заболевания)
- Значение защитного титра IgG — корь?  
(Таких данных нет. Защитный титр не определен)
- Процент обнаружения IgG-HSV1-2 типов среди взрослого населения?  
(95%)
- Маркеры острого процесса при CMV инфекции?  
(положительные результаты CMV-IgM , CMV-IEA-IgM и -IgG, низкоavid-ные CMV-IgG)
- Имеет ли самостоятельное диагностическое значение выявление ДНК ВЭБ в слюне?  
(Нет. Возможно «здоровое» вирусоносительство)
- Имеет ли самостоятельное диагностическое значение выявление ДНК VZV в любом биоматериале?  
(Да. Обнаружение ДНК VZV является маркером острого процесса)
- Целесообразен ли поиск ДНК *C. trachomatis* в крови?  
(Только у новорожденных детей при подозрении на генерализованную инфекцию)

- Существует ли корреляция выявления РНК SARS-CoV-2 с выраженностью симптоматики заболевания?  
(Нет)
- Значение протективного титра IgG SARS-CoV-2?  
(Протективный уровень антител к SARS-CoV-2 находится в процессе изучения).
- Какой метод является основным при диагностике легионеллеза?  
(Определение легионеллезного Ag в моче методом иммунохроматографии)
- Исключает ли заболевание нейроборрелиоз отсутствие РНК боррелий в СМЖ?  
(Не исключает)
- Что является абсолютным лабораторным подтверждением лептоспирозной инфекции?  
(Нарастание титров антител в РМАЛ).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Инструкция по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления HBsAg «Вектоген В — HBs -антиген (комплект 2)» 2015 г.
2. Инструкция по применению набора реагентов для иммуноферментного количественного определения HBs — антигена вируса гепатита В в сыворотке (плазме) крови «HbsAg — ИФА — БЕСТ — количественный» 2012 г.
3. Инструкция по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления суммарных антител к core-антигену вируса гепатита В. «Векто HBcAg — антитела» 2016 г.
4. Инструкция по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса М к core-антигену вируса гепатита В. «Векто HBcAg -IgM» 2014 г.
5. Инструкция по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса G к core-антигену вируса гепатита В. «Гепа Бест анти — HBc- IgG» 2008 г.
6. Инструкция по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления E-антигена вируса гепатита В в сыворотке (плазме) крови «Векто HBe — антиген» 2012 г.
7. Инструкция по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса G к HBe -антигену вируса гепатита В. «Векто HBe — IgG» 2017 г.
8. Инструкция по применению набора реагентов для иммуноферментного качественного и количественного определения антител к HBs-антигену вируса гепатита В. «Векто HBsAg — антитела» 2012 г.
9. Инструкция по применению набора реагентов для выявления ДНК вируса гепатита В методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. «РеалБест ДНК ВГВ» 2012 г.
10. Инструкция по применению набора реагентов для выявления и количественного определения ДНК вируса гепатита В методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. «РеалБест ДНК ВГВ ПЦР (количественный)» 2016 г.
11. Инструкция по применению набора реагентов для выявления и дифференциации генотипов А, В, С и D вируса гепатита В (HBV) в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс HBV -генотип -FL» 2013 г.
12. Инструкция по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов классов М и G к вирусу гепатита С «Бест анти-ВГС» 2014 г.
13. Инструкция по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса М к вирусу гепатита С «Рекомбибест анти — ВГС — IgM. 2007 г.
14. Инструкция по применению набора реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса М и G к индивидуальным белкам вируса гепатита С (cor, NS3, NS4, NS5) «Бест анти — ВГС — спектр» 2012 г.

15. Инструкция по применению набора реагентов «ДС-ИФА-Анти-НСV-АВИДНОСТЬ», НПО Диагностические системы, 2012 г.
16. Инструкция по применению набора реагентов для выявления РНК вируса гепатита С методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени. «РеалБест РНК ВГС» 2012 г.
17. Инструкция по применению набора реагентов для выявления и количественного определения РНК вируса гепатита С методом ОТ-ПЦРв режиме реального времени. «РеалБест РНК ВГС ПЦР (количественный)»2012 г.
18. Инструкция по применению набора реагентов для выявления РНК и дифференциации генотипов 1/2/3 вируса гепатита С методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени. «РеалБест РНК ВГС — 1/2/3.2010 г.
19. Инструкция по применению набора реагентов для определения однонуклеотидных полиморфизмов (SNP)rs8099917 и rs 12979860 в гене Интерлейкин-28В(IL28) в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени «АмплиСенс Геноскрин -II28D-FL» 2016 г.
20. Инструкция по применению набора реагентов для выявления суммарных антител к вирусу гепатита Дельта. «Вектоген D — антитела»2014 г.
21. Инструкция по применению набора реагентов для выявления иммуноглобулинов класса М к вирусу гепатита Дельта «Вектоген Д-IgM» 2014 г.
22. Инструкция по применению набора реагентов для выявления РНК вируса гепатита Д методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени. «РеалБест РНК ВГD» 2014 г.
23. Инструкция по применению набора реагентов для выявления РНК вируса гепатита G методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени. «РеалБест РНК ВГG» 2014 г.
24. Инструкция по применению набора реагентов для выявления иммуноглобулинов класса М к вирусу гепатита А «Вектоген А-IgM» 2011 г.
25. Инструкция по применению набора реагентов для иммуноферментного количественного и качественного определения иммуноглобулинов класса G к вирусу гепатита А «Вектоген А-IgG» 2012 г.
26. Инструкция по применению набора реагентов для выявления РНК вируса гепатита А методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени. «РеалБест РНК ВГА» 2014 г.
27. Инструкция по применению набора реагентов для выявления иммуноглобулинов класса М к вирусу гепатита Е «Вектоген Е-IgM» 2014 г.
28. Инструкция по применению набора реагентов для выявления иммуноглобулинов класса G к вирусу гепатита Е «Вектоген Е-IgG» 2014 г.
29. Санитарные правила. СП 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» стр.156
30. Санитарные правила. СП 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» стр.156
31. Инструкция по применению набора реагентов для выявления иммуноглобулинов класса М к *Toxoplasma gondii* методом «захвата» в сыворотке (плазме) крови. «ВектоТоксо-IgM-ИФА-Бест» 2016 г.
32. Инструкция по применению набора реагентов для качественного и количественного определения иммуноглобулинов класса G к *Toxoplasma gondii* в сыворотке (плазме) крови. «ВектоТоксо-IgG» 2014 г.
33. Инструкция по применению набора реагентов Векто-Токсо-IgG- авидность, ЗАО «Вектор-Бест», 2014 г.
34. Инструкция по применению набора реагентов для выявления ДНК *Toxoplasma gondii* методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. «РелБест ДНК *Toxoplasma gondii*» 2012 г

35. Санитарные правила. СП 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» стр.487
36. Санитарные правила. СП 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» стр. 555
37. Инструкция по применению набора реагентов для выявления иммуноглобулинов класса М к вирусу кори.«ВектоКорь-IgM» 2012 г.
38. Инструкция по применению набора реагентов для качественного и количественного определения иммуноглобулинов класса G к вирусу кори в сыворотке (плазме) крови. «ВектоКорь-IgG» 2012 г.
39. Санитарные правила. 3.1.2952-11 «Профилактика кори, краснухи и эпидемического паротита»
40. Инструкция по применению набора реагентов для выявления иммуноглобулинов класса М к вирусу краснухи «ВектоРубелла-IgM» 2014 г.
41. Инструкция по применению набора реагентов для качественного и количественного определения иммуноглобулинов класса G к вирусу краснухи в сыворотке (плазме) крови. «РубеллаIgG -ИФА -БЕСТ» 2014 г.
42. Инструкция по применению набора реагентов ВектоРубелла — IgG – Авидность, ЗАО «Вектор-Бест», 2014 г.
43. Инструкция по применению набора реагентов для выявления иммуноглобулинов класса М к вирусу простого герпеса 1и2 типов «ВектоВПГ-IgM» 2014 г.
44. Инструкция по применению набора реагентов для выявления иммуноглобулинов класса G к вирусу простого герпеса 1и2 типов «ВектоВПГ-IgG» 2014 г.
45. Инструкция по применению набора реагентов ВектоВПГ1,2 — IgG – Авидность, ЗАО «Вектор-Бест», 2014 г.
46. Инструкция по применению набора реагентов для выявления ДНК вируса простого герпеса 1,2 типов методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. «РеалБест ДНК ВПГ1,2» 2012 г.
47. Инструкция по применению набора реагентов для выявления ДНК вируса простого герпеса человека 6 типа методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. «РеалБест ДНК ВГЧ-6» 2012 г.
48. Инструкция по применению набора реагентов для выявления иммуноглобулинов класса М к цитомегаловирусу «ВектоЦМВ-IgM» 2014 г.
49. Инструкция по применению набора реагентов для выявления иммуноглобулинов класса G к цитомегаловирусу «ВектоЦМВ-IgG» 2014 г.
50. Инструкция по применению набора реагентов ВектоЦМВ — IgG – Авидность, ЗАО «Вектор-Бест», 2014 г.
51. Инструкция по применению набора реагентов для выявления иммуноглобулинов класса G и М к предраннему белку цитомегаловируса «ВектоЦМВ-IEA» 2014 г.
52. Инструкция по применению набора реагентов для выявления ДНК цитомегаловируса методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. «РеалБест ДНК ЦМВ» 2017 г.
53. Инструкция по применению набора реагентов для выявления иммуноглобулинов класса М к капсидному антигену VCA вируса Эпштейн-Баар «ВектоВЭБ -VCA-IgM» 2014 г.
54. Инструкция по применению набора реагентов для выявления иммуноглобулинов класса G к ранним антигенам EA вируса Эпштейн—Барр «ВектоВЭБ -EA-IgG» 2014 г.
55. Инструкция по применению набора реагентов для выявления иммуноглобулинов класса G к ядерному антигену NA вируса Эпштейн—Барр «ВектоВЭБ -NA-IgG» 2014 г.

56. Инструкция по применению набора реагентов для выявления ДНК вируса Эпштейн—Барр методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. «РеалБест ДНК ВЭБ» 2017 г.
57. Инструкция по применению набора реагентов для выявления иммуноглобулинов класса М к вирусу Варицелла-Зостер «ВектоVZV-IgM» 2014 г.
58. Инструкция по применению набора реагентов для выявления иммуноглобулинов класса G к гликопротеину E вируса Варицелла-Зостер «ВектоVZV -gE-IgG» 2014 г.
59. Инструкция по применению набора реагентов для выявления иммуноглобулинов класса G к вирусу Варицелла-Зостер «ВектоVZV-IgG» 2014 г.
60. Инструкция по применению набора реагентов для выявления ДНК вирусу Варицелла-Зостер методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. «РеалБест ДНК VZV» 2017 г.
61. Санитарные правила. СП 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» стр.565
62. Инструкция по применению набора реагентов для выявления иммуноглобулинов класса М к вирусу паротита методом «захвата» «Паротит-IgM ИФА-Бест» 2018 г.
63. Инструкция по применению набора реагентов для выявления иммуноглобулинов класса G к вирусу паротита «Паротит-IgG ИФА-Бест» 2016 г.
64. Санитарные правила. СП 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» стр. 555.
65. Инструкция по применению набора реагентов для выявления ДНК *Bordetella species/Bordetella pertussis/ Bordetella bronchoseptica* «Реал Бест ДНК *Bordetella species/Bordetella pertussis/ Bordetella bronchoseptica*» 2019 г.
66. Санитарные правила. СП 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» стр. 579.
67. Инструкция по применению набора реагентов для выявления ДНК парвовируса В19 методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. «Реал-Бест ДНК Parvovirus В19»
68. Лабораторная диагностика инфекционных болезней. Справочник / Под редакцией академика РАМН, д.м.н, проф. В.И.Покровского, д.б.н., проф. М.Г.Твороговой, к.м.н. Г.А.Шипулина. -М.: Издательство БИНОМ, 2014 г..
69. Инструкция по применению набора реагентов ХламиБест *C. trachomatis*- IgA, ЗАО «Вектор-Бест», 2013 г.
70. Инструкция по применению набора реагентов ХламиБест *C. trachomatis*- IgG, ЗАО «Вектор-Бест», 2013 г.
71. Малкова Е.М., Гавалов С.М., Гришаева О.Н. «Хламидийная инфекция у новорожденных детей» Информационно-методическое пособие.ЗАО «Вектор-Бест» Кольцово, 2001 г.,-48
72. Инструкция по применению набора реагентов для выявления ДНК *C. trachomatis* методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. «Реал Бест ДНК *C. trachomatis*»
73. Инструкция по применению набора реагентов *Chlamydomphila pneumoniae*-IgM – ИФА – БЕСТ, ЗАО «Вектор-Бест», 2012 г.
74. Инструкция по применению набора реагентов *Chlamydomphila pneumoniae*-IgG – ИФА – БЕСТ, ЗАО «Вектор-Бест», 2012 г.
75. Инструкция по применению набора реагентов *Mycoplasma pneumoniae*-IgA – ИФА – БЕСТ, ЗАО «Вектор-Бест», 2012 г.
76. Инструкция по применению набора реагентов *Mycoplasma pneumoniae*-IgM – ИФА – БЕСТ, ЗАО «Вектор-Бест», 2012 г.

77. Инструкция по применению набора реагентов *Mycoplasma pneumoniae*-IgG – ИФА – БЕСТ, ЗАО «Вектор-Бест», 2012 г.
78. Инструкция по применению набора реагентов для выявления РНК вирусов гриппа А/В «АмплиСенс Influenza virus A/B — FL»
79. Инструкция по применению набора реагентов для выявления РНК вирусов гриппа А/Н1 «АмплиСенс Influenza virus A/Н1-swin — FL»
80. Инструкция по применению набора реагентов для выявления РНК вирусов возбудителей острых респираторных заболеваний «АмплиСенс ОРВИ-скрин — FL»
81. Санитарные правила. СП 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» стр 543
82. Инструкция по применению набора реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени.
83. Инструкция по применению набора реагентов «ИФА — SARS-CoV-2-AT -М» 2020 г.
84. Инструкция по применению набора реагентов «ИФА — SARS-CoV-2-AT -G» 2020 г.
85. Инструкция по применению набора реагентов «ИФА — SARS-CoV-2-AT -G -количественный» 2020 г.
86. Информационное письмо от НИИ СД АО «Вектор-Бест» июнь, 2021 г.
87. Временным методическим рекомендациям «Профилактика, диагностика и лечение COVID-19» версии 11 (07.05.2021)
88. СанПиН 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней" стр 595
89. Инструкция по применению набора реагентов для выявления ДНК «АмплиСенс *N.meningitidis/H.influezae/S.pnevmoniae* -FL» 2012 г.
90. Инструкция по применению набора реагентов «АмплиСенс Enterovirus»
91. Санитарные правила. СП 3.1.2950-11 «Профилактика энтеровирусной (неполио) инфекции»
92. СанПиН 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней" стр 52.
93. Инструкция по применению набора реагентов «ВектоНил-IgM» 2016 г.
94. Инструкция по применению набора реагентов «ВектоНил-IgG» 2016 г.
95. Инструкция по применению набора реагентов «ВектоНил-IgG -авидность» 2016 г.
96. Инструкция по применению набора реагентов «АмплиСенс WNV-FL»
97. СанПиН 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней" стр 383
98. Инструкция по применению набора реагентов «РеалБест ДНК *Legionella pneumophila*»
99. СанПиН 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней" стр 625
100. Манзенюк И.Н., Манзенюк О.Ю. Клещевые боррелиозы (болезнь Лайма). Информационно-методическое пособие. ЗАО «Вектор-Бест» Кольцово, 2005 г.-84 с.
101. Инструкция по применению набора реагентов «ЛаймБест-IgM» 2016 г.
102. Инструкция по применению набора реагентов «ЛаймБест-IgG» 2016 г.
103. Инструкция по применению набора реагентов «РеалБест ДНК *Borrelia burgdorferi*»
104. Инструкция по применению набора реагентов «АмплиСенс *Shigella spp/ и EIEC/ Salmonella spp/ Campilobacter spp*-FL»
105. Инструкция по применению набора реагентов «АмплиСенс Rotavirus/Norovirus/ Astrovirus-FL»
106. СанПиН 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней" стр 395

107. Инструкция по применению набора реагентов Иерсиния-IgM-ИФА-Бест 2012 г.
108. Инструкция по применению набора реагентов Иерсиния-IgA-ИФА-Бест 2012 г.
109. Инструкция по применению набора реагентов Иерсиния-IgG-ИФА-Бест 2012 г.
110. СанПиН 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней стр 462
111. Инструкция по применению набора реагентов «АмплиСенс *Yersinia enterocolitica*/*Yersinia pseudotuberculosis*
112. Инструкция по применению набора реагентов «АмплиСенс *Candida albicans* -FL»
113. Инструкция по применению набора реагентов Кандида-IgM-ИФА-Бест 2016 г.
114. Инструкция по применению набора реагентов Кандида-IgG-ИФА-Бест 2016 г.
115. Инструкция по применению набора реагентов Кандида-IgA-ИФА-Бест 2016 г.
116. Кишкун А.А. Иммунологические и серологические исследования в клинической практике. –М.: ООО «Медицинское информационное агенство», 2006. -536 с.
117. А.Ю. Сергеев «Иммунитет при кандидозе»
118. Инструкция по применению набора реагентов «Реал Бест ДНК *Candida crusei*/*Candida glabrata*» 2014 г.
119. Инструкция по применению набора реагентов «АмплиСенс *Pneumocystis carinii*» 2016 г.
120. Инструкция по применению набора реагентов «АмплиСенс *Cryptococcus neoformans*» 2016 г.
121. Инструкция по применению набора реагентов «АмплиСенс *Dengue virus* -FL» 2016 г.
122. Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней. Практическое руководство/ Под ред. академика РАМН, профессора Г.Г.Онищенко, чл.-корр. РАМН, профессора В.В. Кутырева.- М.: ОАО «Издательство »Медицина«, издательство »Шико», 2009 г.
123. Инструкция по применению набора реагентов «АмплиСенс *Listeria monocytogenes* -Fl».
124. СанПиН 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней стр 449
125. Инструкция по применению набора реагентов «АмплиСенс *Coxiella burnetii*-Fl» 2017 г.
126. СанПиН 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней стр 303
127. Инструкция по применению набора реагентов «ВектоХанта -IgM» 2012 г.
128. Инструкция по применению набора реагентов «ВектоХанта -IgG» 2012 г.
129. СанПиН 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней с. 335
130. «Эпидемиология, диагностика и профилактика заболеваний людей лептоспирозами. 3.1. Профилактика инфекционных болезней. Методические указания МУ 3.11128-02» (Утв. Главным государственным санитарным врачом 03.07.2002) методы лабораторной диагностики лептоспирозов.
131. СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней»
132. Лысенко А.Я., Владимова М.Г., Кондрашин А.В., Майори Дж. Клиническая паразитология. Руководство. Женева, ВОЗ: 2002г., -752 с.
133. Инструкция по применению набора реагентов Описиторх-IgM-ИФА-БЕСТ, ЗАО «Вектор-Бест», 2019 г.
134. Инструкция по применению набора реагентов Описиторх-IgG-ИФА-БЕСТ, ЗАО «Вектор-Бест», 2019 г.

135. Памятка врачу Трихинеллез Вектор-Бест, 2014 г.
136. Инструкция по применению набора реагентов Трихинелла-IgM-ИФА-БЕСТ, ЗАО «Вектор-Бест», 2019 г
137. МУ 3.2.1173-02 «Серологические методы лабораторной диагностики паразитарных заболеваний.» -Бест, 2014 г.
138. Инструкция по применению набора реагентов Трихинелла-IgG-ИФА-БЕСТ, ЗАО «Вектор-Бест», 2019 г.
139. Инструкция по применению набора реагентов Токсокара-IgG-ИФА-БЕСТ, ЗАО «Вектор-Бест», 2019 г.
140. МУ 3.2.1043-01 «Профилактика токсокароза».
141. Инструкция по применению набора реагентов Аскарида-IgG-ИФА-БЕСТ, ЗАО «Вектор-Бест», 2019 г.
142. Памятка врачу. Т.Н.Ткаченко . Аскаридоз. ЗАО «Вектор-Бест», 2019 г.
143. МУ 3.2.1882-04 «Профилактика лямблиоза».
144. Инструкция по применению набора реагентов Лямблия-IgM-ИФА-Бест, ЗАО «Вектор-Бест», 2019 г.
145. Инструкция по применения набора реагентов Лямблия-антиген-ИФА-БЕСТ ЗАО «Вектор-Бест» 2019 г.
146. Лабораторная диагностика инфекционных болезней. Справочник / Под редакцией академика РАМН, д.м.н, проф. В.И.Покровского, д.б.н., проф. М.Г.Твороговой, к.м.н. Г.А.Шипулина. -М.: Издательство БИНОМ, 2014 г.-648с.
147. СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» Профилактика кишечный инфекций стр.392
148. СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» Профилактика кишечный инфекций стр.462
149. СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» Профилактика листериоза стр.449
150. СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» Профилактика лептоспироза стр.273
151. Методические указания МУК 4.2.3222—14 Лабораторная диагностика малярии и бабезиозов
152. МУ 3.1.1.2957—11 Эпидемиологический надзор, лабораторная диагностика и профилактика ротавирусной инфекции
153. МР 4.2.0108—16 Организация и проведение лабораторной диагностики лихорадки Денге
154. Инструкция по применению набора реагентов Эхинококк-IgG-ИФА-БЕСТ, ЗАО «Вектор-Бест, 2019г
155. СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».Профилактика менингококковой инфекции. С. 595.

**Дополнительная литература**

1. Временные методические рекомендации Министерства здравоохранения Российской Федерации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (2019-nCoV)», версия 13, раздел 4.
2. Долгов В.В, Ракова Н.Г., Колупаев В.Е., Рытикова Н.С. Иммуноферментный анализ в клинико-диагностических лабораториях. -М.-Тверь: ООО «Издательство »Триада», 2007.-320 с.
3. Кишкун А.А. Руководство по лабораторным методам диагностики. – М.: ГОЭТАР-Медиа, 2007.-800 с.
4. Лабораторная диагностика инфекционных заболеваний, учебное пособие под редакцией з.д.м. РФ, академика РАН Лобзина Ю.В. и з.д.н. РФ, д.м.н. профессора Скрипченко Н.В. Санкт-Петербург, 2018
5. Лысенко А.Я., Владимова М.Г., Кондрашин А.В., Майори Дж. Клиническая паразитология. Руководство. Женева, ВОЗ: 2002г., -752 с.
6. Межгосударственный стандарт ГОСТ ISO-6710-2011 «Контейнеры для сбора образцов венозной крови одноразовые. Технические требования и методы испытаний» (введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 13 декабря 2011г. N 1379-ст)
7. Методики клинических лабораторных исследований: Справочное пособие. Том 3. Клиническая микробиология. Бактериологические исследования. Микологические исследования. Паразитологические исследования. Инфекционная иммунодиагностика. Молекулярные исследования в диагностике инфекционных заболеваний / Под ред. В.В.Меньщикова
8. Методические рекомендации МР 3.1.0165-20 «Лабораторная диагностика COVID-19»
9. Методические рекомендации МР 3.1.0166-20 «Изменения № 1 в МР 3.1.0165-20» «Лабораторная диагностика COVID-19»;
10. Методические указания 1.3 2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности»;
11. Методические указания МУК 4.2.3222—14 Лабораторная диагностика малярии и бабезиозов
12. Молекулярная диагностика инфекционных болезней под редакцией акад. РАН д.м.н. проф. В.И.Покровского, д.б.н. проф. М.Г. Твороговой, к.м.н. Г.А.Шипулина 653, 3-15, 137, 165
13. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам. EUCAST Версия 2021-01
14. Организация и порядок лабораторной диагностики инфекционных болезней в период проведения XXII Олимпийских зимних игр и XI Паралимпийских зимних игр 2014 года в г. Сочи / Методическое пособие для врачей общей практики и специалистов по лабораторной диагностике инфекционных болезней. // Под ред. Куличенко А.Н. и др. – Ставрополь, 2013, – 97 с.
15. Осин А.В., Краснов Я.М., Гусева Н.П. и др. Разработка алгоритма MLST-типирования пандемических и предпандемических штаммов *Vibrio cholerae* биовара Эльтор. Проблемы особо опасных инфекций. 2011. Т. 107. № 1. С. 58-61. Мониторинг антибиотикорезистентности с использованием платформы AMRcloud. Практическое руководство
16. Постановление главного государственного санитарного врача РФ от 30.03.2020 № 6 «О дополнительных мерах по снижению рисков распространения COVID-19».

17. Постановление Правительства РФ 27.03.2021 N452 «Об обеспечении уведомления физических лиц о результатах исследований на наличие возбудителей новой коронавирусной инфекции (COVID-19) с использованием Федеральной государственной информационной системы «Единый портал Государственных и муниципальных услуг (функций)» и обмена информацией о результатах таких исследований».
18. Приказ МЗ РФ от 18.05.2021№ 464н «Правила проведения лабораторных исследований»
19. Приказ МЗ СССР от 22.04.1985 № 535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений»
20. ПЦР «в реальном времени» /Ребриков Д.В., Саматов Г.А., Трофимов Д.Ю. и др.; под ред. д.б.н. Д.В.Ребрикова; 2-е издание; испр. и доп. –М.: БИОКОМ. Лаборатория знаний, 2009.-223 с.
21. Современные методы лабораторной диагностики инфекционных заболеваний. Учебное пособие для клинических ординаторов и слушателей циклов повышения квалификации врачей по специальности Клиническая лабораторная диагностика. Составители: д.б.н., проф. Колесникова Н.В., д.м.н. Филиппов Е.Ф., д.б.н. Чудилова Г.А., ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, Краснодар, 2020, 110с.
22. СП 1.2.036-95 «Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I — IV групп патогенности»;
23. СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I — II групп патогенности (опасности)»;
24. СП 3.1.3597-20 «Профилактика новой коронавирусной инфекции
25. Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории»: Методические указания МУ 4.2.2039-05. –Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2008.-116 с.
26. Эпидемиологические и клинические аспекты диагностики, лечения и профилактики завозных случаев малярии в Российской Федерации А. К. Токмалаев, А.М.Баранова, В.В.Малеев, Терапевтический архив 11,2020.
27. Dien Bard J. Et al. Panels and Syndromic Testing in Clinical Microbiology, Clin Lab Med 40 (2020) 393–420, <https://doi.org/10.1016/j.cll.2020.08.001>





*Учебное издание*

В.Н. Городин, С.В. Зотов, Д.Л. Мойсова,  
Е.Е. Яковчук, Т.А. Книжник, Е.В. Журавлева,  
О.В. Чернявская, В.И. Баклай, Д.В. Носиков

**ОСНОВЫ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ  
ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

Учебное пособие для врачей, клинических  
ординаторов и аспирантов

Кубанский государственный медицинский университет.

Издательство «Новация»  
г. Краснодар, ул. Фадеева, 429. Тел. +7 961 52 36 146.

ООО «Типография Б плюс»  
ул. Дальняя, 43, оф. 303.

Формат 64х90/16.  
Бумага офсетная. Гарнитура шрифта Myriad Pro.  
Заказ №6051. Тираж 3000 шт.

