

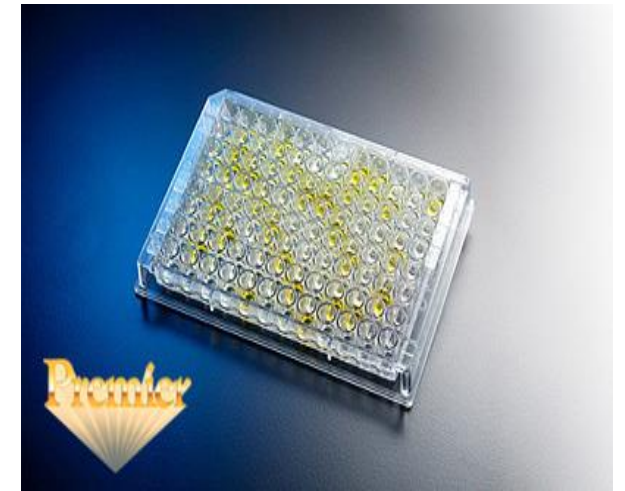
Лабораторная диагностика инфекционных заболеваний

Лабораторная диагностика шигеллезов

Клинический материал: испражнения, сыворотка

Методы:

1. **Бактериологический (культуральный метод)** – основной;
2. **Серологический метод** (латекс-агглютинация, ИФА, РСК, РПГА, развернутая реакция агглютинации – «дизентерийный Видаль») для обнаружения антител в сыворотке больного при хронических, атипичных формах и с целью ретроспективной диагностики, а также для обнаружения экзотоксинов



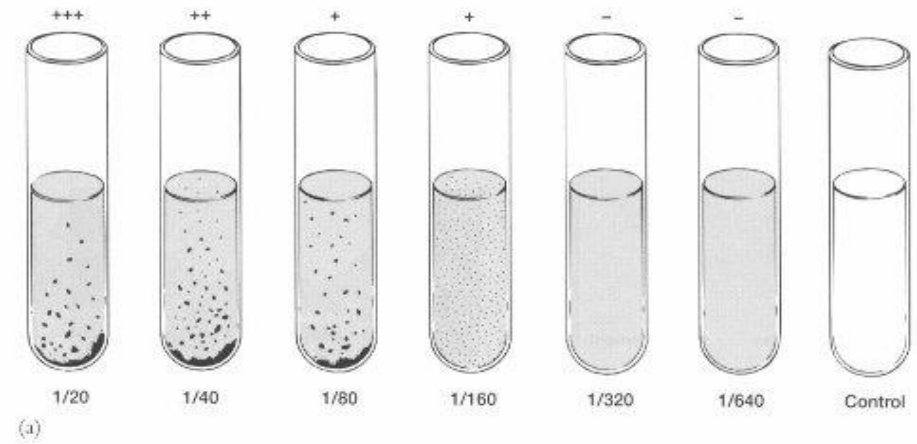
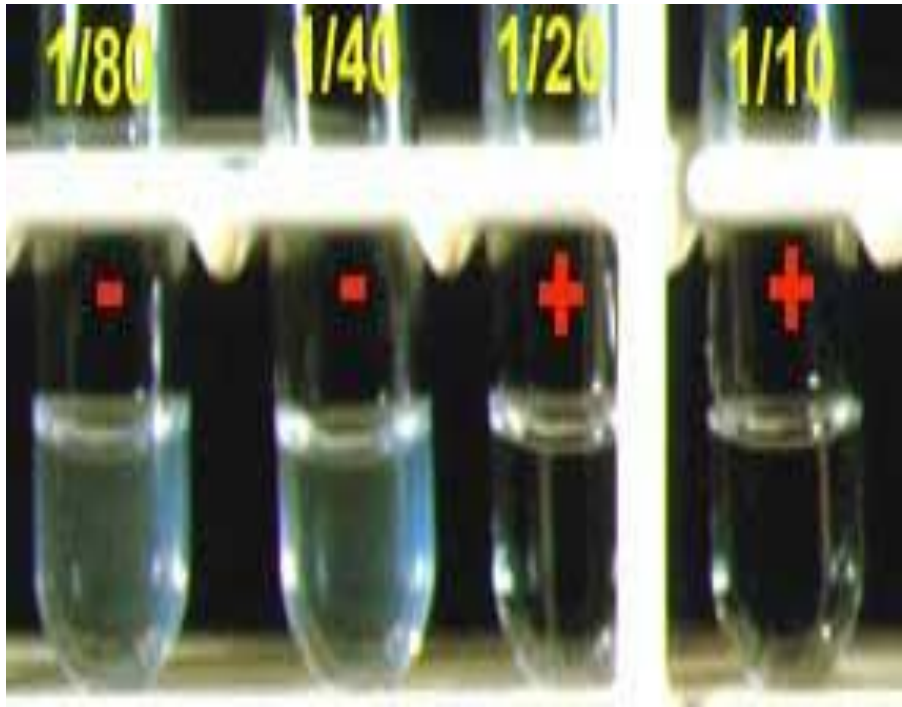
ELISA для определения Shiga токсинов в испражнениях

Лабораторная диагностика брюшного тифа и паратифов

Неделя заболевания	Материал	Метод исследования
1-я неделя	А) Кровь, испражнения	Бактериологический (гемокультура, копрокультура)
	Б) сыворотка	Серологические методы
2-я неделя	А) Испражнения, моча	Бактериологический (копрокультура, уринокультура)
3-я неделя	А) Испражнения, моча	Бактериологический (копрокультура, уринокультура)
	Б) сыворотка	Серологические методы

Серологические методы

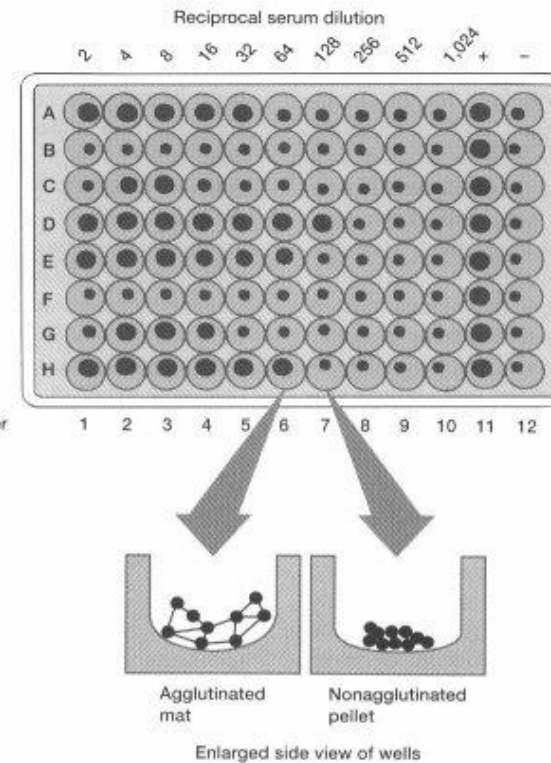
Реакция Видаля (развернутая реакция агглютинации): ставится в 4 рядах пробирок с разведениями исследуемой сыворотки с 4-мя диагностикумами: БТО (брюшнотифозный О-диагностикум), БТН (брюшнотифозный Н-диагностикум); ПТА, ПТВ (диагностикумы *Salmonella paratyphi A*, *S. paratyphi B*)



Диагностический титр – 1:200

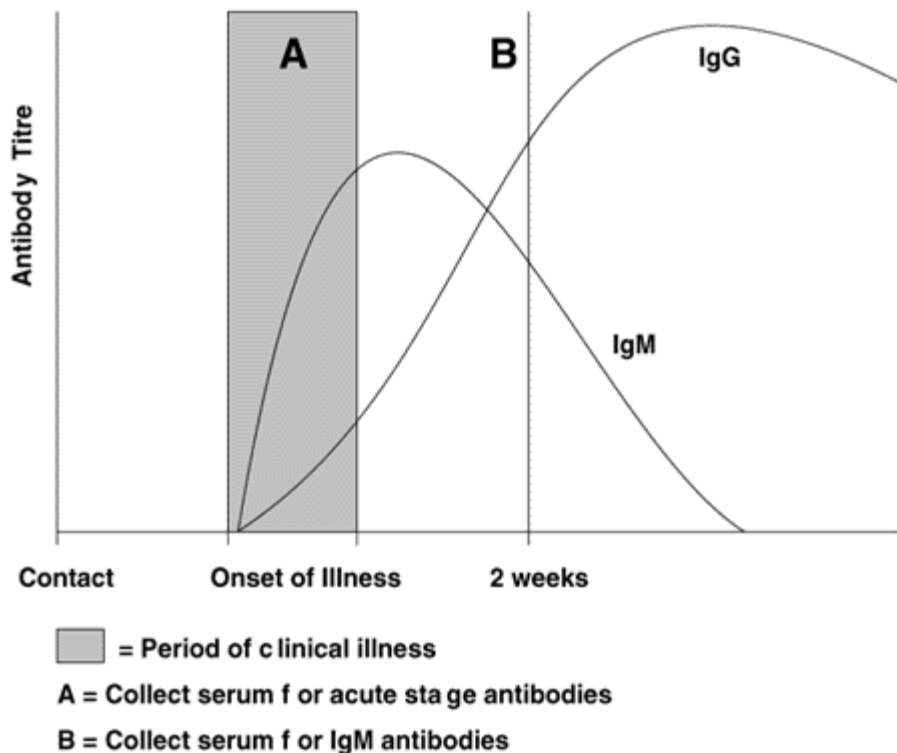


- Antígeno typhi H (Salmonella, antígeno flagelar d.) 5 ml
- Antígeno typhi O (Salmonella, antígeno somático D.) 5 ml
- Antígeno Paratyphi A (Salmonella, antígeno flagelar a.) 5 ml
- Antígeno Paratyphi B (Salmonella, antígeno flagelar b.) 5 ml.



(b)

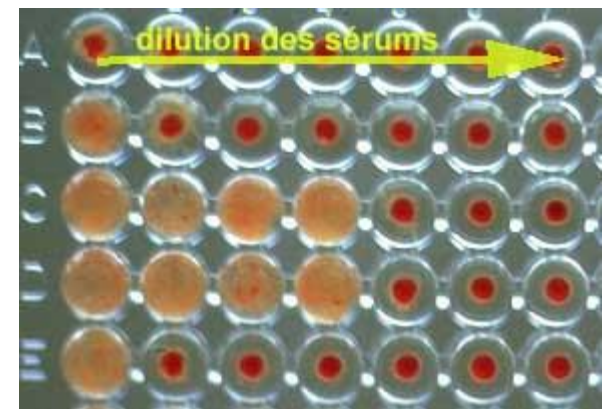
Immunoglobulin Postinfection Profile



- **РПГА** (определенные О- и Н-антигены сорбированы на поверхности эритроцитов=эритроцитарные диагностикумы) – более чувствительный, быстрый и специфичный метод обнаружения антител. Диагностический титр – 1:640

Первыми появляются антитела против О-антигена (О-антитела=IgM), они достаточно быстро исчезают, и на смену появляются антитела против Н-антигена (Н-антитела=IgG), которые сохраняются после выздоровления и обеспечивают иммунитет

Обнаружение антител против Vi-антигена означает бактерионосительство



РПГА

Лабораторная диагностика дифтерии

Клинический материал: мазок из зева, носа и других локализаций; сыворотка

Методы:

1. **Бактериоскопический** (окраска мазка по Леффлеру и Нейссеру – предварительный)
2. **Бактериологический (культуральный)** - основной
3. **Серологический** (ИФА, латексагглютинация, реакция нейтрализации антител, РНГА) для обнаружения антител и/или токсина в сыворотке крови

Бактериологический метод

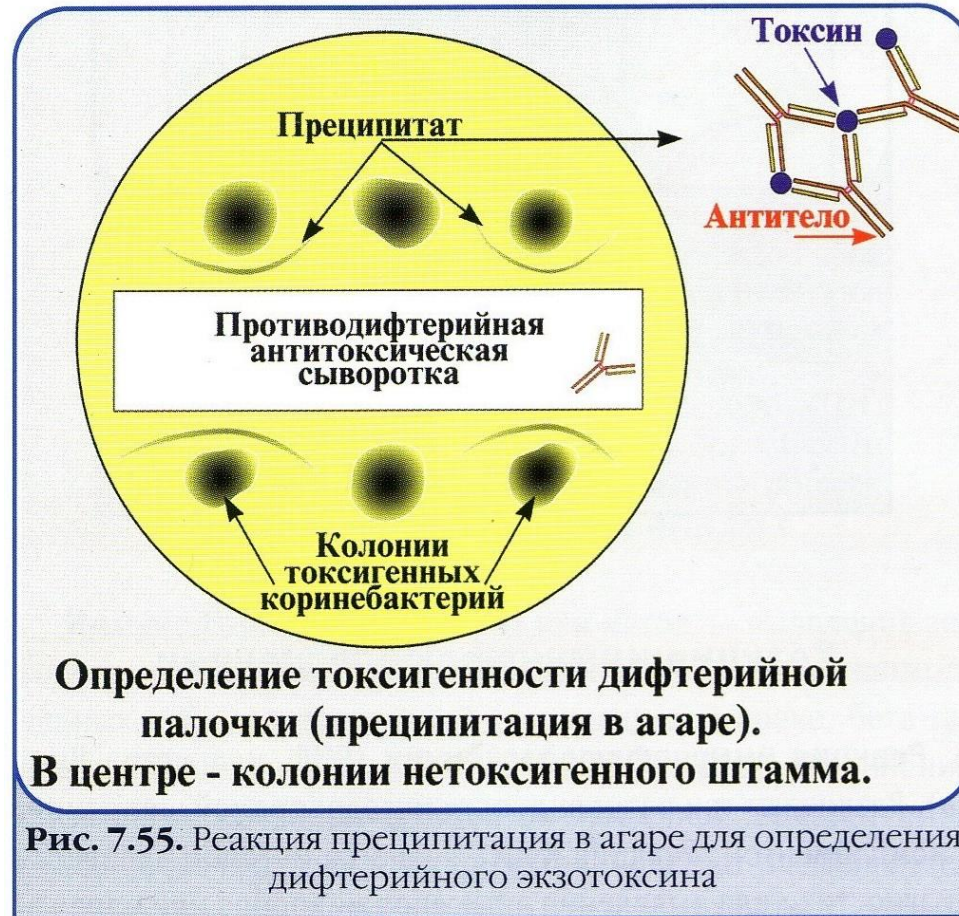
1 этап: посев клинического материала на кровяной теллуритовый агар (среда Клауберга).

2 этап: Макроскопическое изучение колоний, мазок по Леффлеру или Нейссеру; отсев типичной колонии на среды Ру или Леффлера

3 этап: *Идентификация* по совокупности свойств: культуральных, морфологических, тинкториальных, биохимических, обязательно определение токсигенности методом Оухтерлони; Используют также ИФА с антитоксином, генетические зонды и ПЦР для выявления фрагмента А гена tox+.

Чувствительность к АМП не определяют

Двойная диффузия в геле по Оухтерлони (может проводиться без выделения чистой культуры)



Больные дифтерией или с подозрением на это заболевание, а также носители токсигенных штаммов должны быть госпитализированы в специализированные отделения инфекционных больниц

Всем больным, в т.ч. и носителям токсигенных штаммов, в день поступления в стационар и затем в течение 2 дней подряд, независимо от назначения антибиотиков проводится бактериологическое исследование. При двух отрицательных результатах пациента выписывают.

У каждого привитого, но заболевшего дифтерией в первые 5 дней от начала заболевания и до начала введения ПДС должна быть взята кровь на серологическое исследование для оценки поствакцинального иммунитета

Для определения АТ к дифтерийному токсину используют РНГА (РПГА). Уровень АТ определяют в начале заболевания (1-3 день) и с интервалом в 7-10 дней, диагностическим считается нарастание титра не менее, чем в 4 раза.

Титры антитоксических АТ, характеризующих степень восприимчивости к дифтерии

Титр АТ в МЕ/мл	Интерпретация результата
< 0,01	Обследуемый восприимчив к дифтерии
0,01	Минимальный уровень АТ, обеспечивающий некоторую защиту
0,01-0,09	Уровень АТ, обеспечивающих некоторую защиту
0,1	Защитный уровень циркулирующих АТ
$\geq 1,0$	Уровень АТ, обеспечивающих стойкую длительную невосприимчивость

Лабораторная диагностика коклюша



Основные методы лабораторной диагностики коклюша

бактериологический и серологический

Для ранней диагностики коклюша используют бактериологический метод и ПЦР

В целях раннего выявления коклюша необходимо:

Каждого ребенка, кашляющего в течение 7 и более дней, направлять на двукратное бактериологическое обследование (2 дня подряд или через день), а также устанавливать за ними мед. наблюдение

Каждого взрослого, работающего в родильных домах, детских больницах, санаториях, яслях. Детских садах. Школах, оздоровительных и закрытых организациях для детей дошкольного и школьного возраста, при подозрении на коклюш и при наличии кашля в течение 7 и более дней, при наличии контакта с больным коклюшем направлять на двукратное бактериологическое обследование (2 дня подряд или через день)

В первые 3 дня поступления в стационар независимо от назначения антибиотиков проводят двукратное бактериологическое обследование на наличие возбудителя

Бактериологическое обследование переболевших коклюшем после лечения не проводят. Кроме детей, госпитализированных из детских закрытых учреждений, которых выписывают при наличии 2 отрицательных результатов

Для дифференциальной диагностики в клинически неясных случаях и при отсутствии бактериологического подтверждения дети и взрослые могут быть обследованы серологическими методами

Серологический метод диагностики коклюша

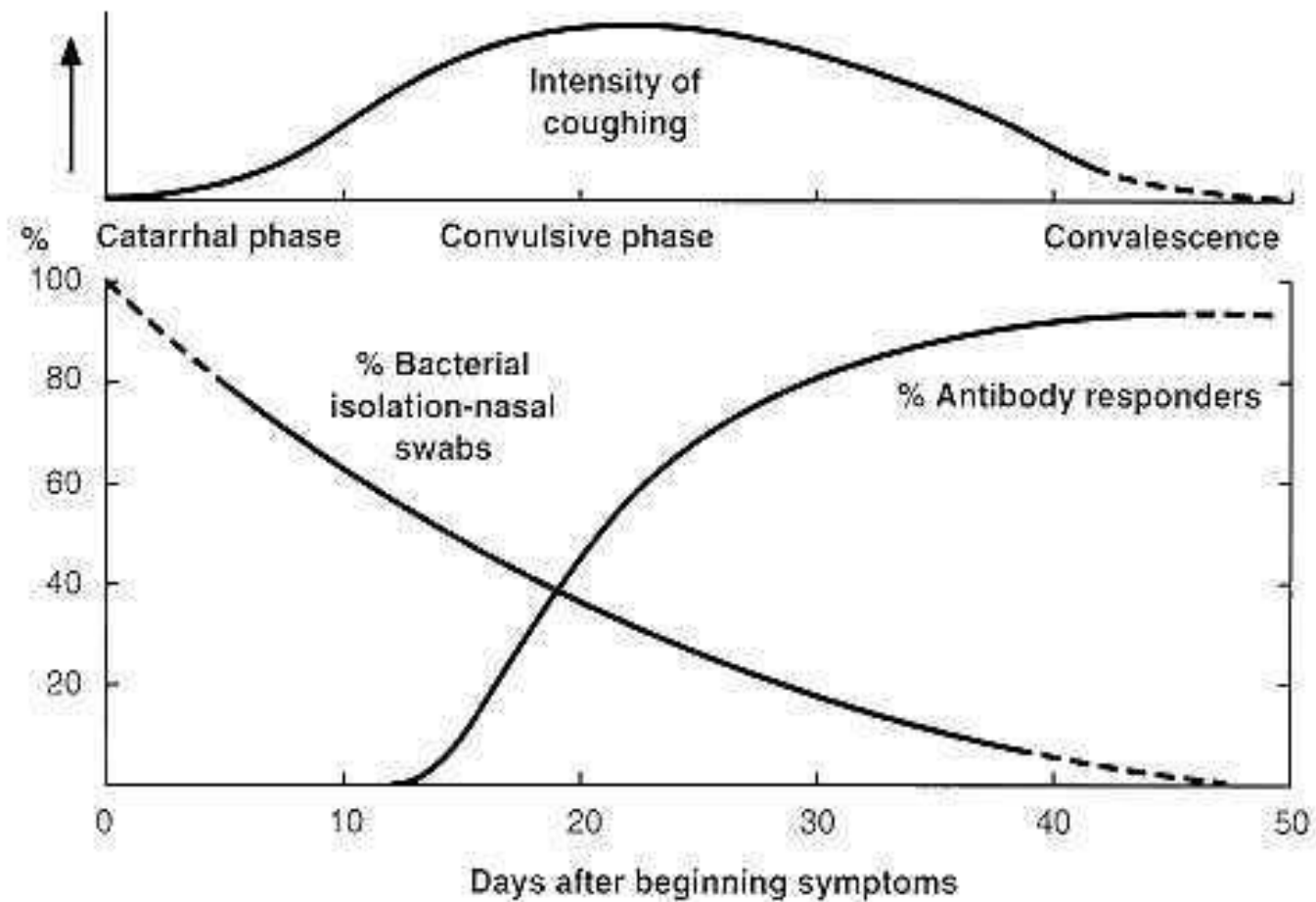
ИФА используют для определения sIgA в носоглоточной слизи, начиная с 2-3 недели заболевания

РНГА (РПГА) используют при анализе сывороток через 10-14 дней, диагностический титр 1:80 и выше (у непривитых), у здоровых детей 1:20

РСК и РПГА в парных сыворотках

(непригодны для ранней диагностики коклюша)

Динамика образования антител при КОКЛЮШЕ



Хламидии и микоплазмы

Лабораторная диагностика респираторного микоплазмоза

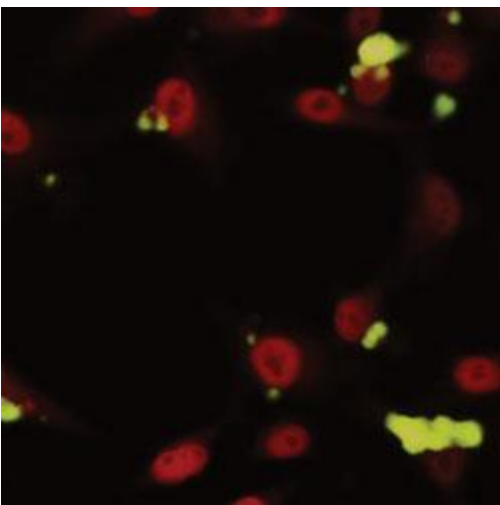
Клинический материал: слизь из носоглотки, мокрота, смыв с бронхов – для определения микоплазменных антигенов; сыворотка - в более поздний период для определения антител (начиная с 9-10 дня заболевания)

Методы:

1. **Прямой иммунофлуоресцентный** (экспресс диагностика).
2. **серологический:** ИФА для обнаружения антигенов; ИФА, РСК, латекс-агглютинация для определения антител в парных сыворотках (диагноз по 4-кратному нарастанию титра антител)
3. **Молекулярно-генетический метод (ПЦР)**

Интерпретация результатов определения АТ к *M. pneumoniae*

IgG	IgM	IgA	Интерпретация результата
отриц	отриц	отриц	Инфекция отсутствует
отриц или положит	положит	отриц или положит	Текущая инфекция
положит	отриц	отриц	Перенесенная или текущая инфекция
Отриц или положит	отриц	положит	Текущая или хр инфекция



Иммунофлуоресцентный метод

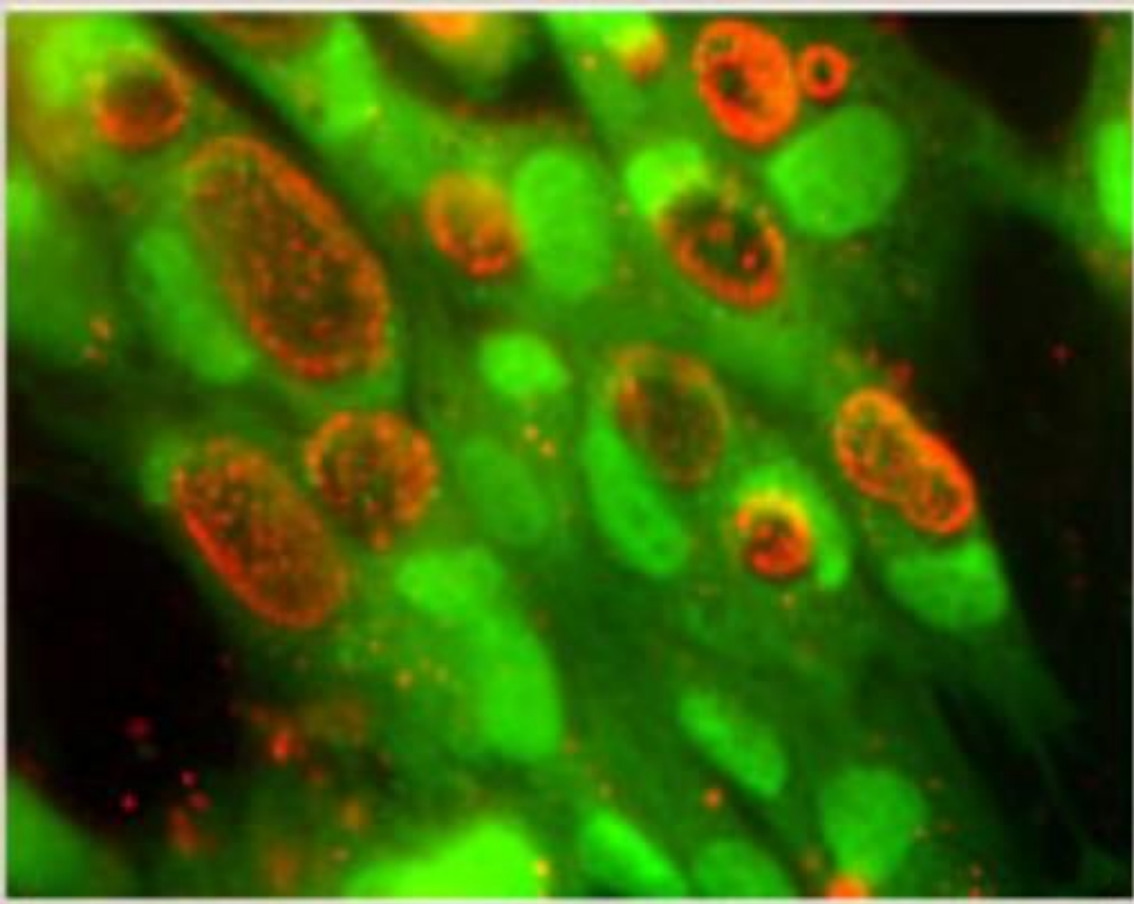


Набор для ИФА

Диагностика респираторного хламидиоза

1. *Цитологические методы* с окраской мазков по Романовскому - Гимзе и другими методами мало чувствительны и специфичны, имеют преимущественно историческое значение.

2. *Метод флюоресцирующих антител (МФА)* с моноклональными антителами



3. *ИФА для выявления антигена* применяется относительно реже, требует большого количества материала (соскоб), связана с получением суспензии и опасностью инфицирования персонала.

4. *ПЦР для выявления ДНК хламидий* - наиболее чувствительный метод.

ПЦР носоглоточного или бронхиального смыва применяют для выявления ДНК хламидий

АТ в сыворотке определяют с помощью ИФА (любое серологическое исследование без одновременного применения ПЦР носит ретроспективный, а не диагностический характер)

Диагностика микозов

Диагностика инвазивного кандидоза

Микроскопия биосубстрата: соскоб слизистой оболочки, кожи, раневое отделяемое, мокрота, биоптат (обнаружение активно вегетирующих клеток и псевдомицелия)

Выделение грибов из стерильных жидкостей организма больного (кровь, СМЖ) или биоптатов

Серологические реакции (обнаружение антигена *C. albicans* в биологических жидкостях или динамика специфических АТ)

ПЦР

Микробиологическая диагностика аспергиллеза

1. Обнаружение мицелия и характерных органов спороношения (конидиеносцев) в биоматериале
2. Выделение культуры гриба. На среде Сабуро быстро образуют плоские колонии, сначала белые, слегка пушистые или бархатистые, затем в зависимости от вида принимают синеватую, коричневую, желтоватую окраску.
3. ИФА
4. ПЦР

Обнаружение АТ и АГ

АТ к возбудителю аспергиллеза в норме в сыворотке отсутствуют

Определяют IgG и IgE методом ИФА

Более чувствительным методом является обнаружение АГ (галактоманнан) аспергилл в крови. Можно использовать ИФА и латекс-тест.

АТ к *C. albicans*

В норме отсутствуют

Определяют IgG методом ИФА

Результат	Титр АТ
Отрицательный	Менее 1:100
Слабоположительный	1:100
Положительный	1:200
Резкоположительный	1:400 и выше

Диагностика вирусных инфекций

ГРИПП

Экспресс - индикация - выявление антигена вируса в цитоплазме эпителиальных клеток носа и носоглотки при исследовании мазков - отпечатков методом флюоресцирующих антител (РИФ), а также в ИФА и **идентификация генома в ПЦР.**

Серологическая диагностика - выявление антител и нарастания титров антител в динамике (исследование парных сывороток) - в РТГА, РСК, **ИФА**, **в т.ч. ИФА** - выявление специфических sIgA- антител в слюне.

Корь, паротит, краснуха

IgM к данным вирусам в норме отсутствуют

Обнаружение всегда говорит об острой инфекции.

Интерпретация при диагностике краснухи:

ИФА: результат + или -, титр не указывается

ИХЛА:

Менее 20 МЕ/мл – отр

20-25 МЕ/мл – сомнит

Более 25 МЕ/мл - положит

Антитела IgG к вирусу краснухи:

ИФА: более 35 МЕ/мл или 4-кратное увеличение титра в парных сыворотках

Защитный титр – более 15 МЕ/мл

ИХЛА:

Менее 10 МЕ/мл – отр

Более 10 МЕ/мл - положит