

Современные возможности лабораторной диагностики инфекционных заболеваний

Алексеева Л.А.

ФГБУ НИИ детских инфекций

Санкт-Петербург

Основные задачи лабораторной диагностики инфекционных заболеваний

- Постановка диагноза инфекционного заболевания
- Определение этиологии заболевания с верификацией возбудителя
- Определение тяжести системного и локального воспаления и компенсаторных возможностей организма
- Прогноз течения и исхода заболевания
- Оценка эффективности терапии

Этиологическая диагностика микробных возбудителей

- **Классические микробиологические методы**, направленные на выделение, идентификацию и определение чувствительности к антибактериальным препаратам
- Vitek -2, (идентификация более 500 патогенных и условно-патогенных возбудителей и стандартная оценка их антибиотикорезистентности),
- Vidas (исследование широкого спектра антигенов различных возбудителей, прокальцитонина),
- Bact-Alert (автоматическая регистрация роста возбудителя при оптимальных условиях)
- **Масс-спектрометрия «Microflex LT» (Bruker, Германия)**- идентификация микроорганизма

Этиологическая диагностика

- Определение антигенов вирусов и бактерий **методом полимеразной цепной реакции** (ПЦР в режиме реального времени, ПЦР с электрофоретической детекцией): амплификаторы (RotorGene Q, QIAGEN, ICycler IQ5, BioRad, термоциклер «Терцик», «GelDoc, BioRad»)
- Определение специфических антигенов и антител **методами иммуноферментного анализа, иммунохемилюминесценции, иммунофлюоресценции**: ARCHITECT i 1000sr Tecan SUNRISE, Immuno Chem – 2100
- **Иммуногистохимия, иммуноцитохимия**: стандартное гистологическое оборудование Thermo Scientific, микроскопы Zeiss

Спектр этиологической расшифровки актуальных инфекций

Бактериальные нейроинфекции (пневмококковая, гемофильная и менингококковая)

Бактериальные острые кишечные инфекции (широкий спектр возбудителей)

Вирусные возбудители:

- Респираторные (вирусы гриппа, аденовирусы, РС- вирусы и др.);
- Кишечные (ротавирусы, норовирусы, астровирусы)
- Герпесвирусы вирусы (1,2 типа, ВЭБ, герпес 6, ЦМВ, ВВО, ВВЗ)
- вирусы гепатита (А,В,С, Д)
- хламидии, микоплазмы, токсоплазмы
- Комплексная лабораторная диагностика позволила увеличить этиологическую расшифровку вирусных инфекций на 11-12% (по сравнению с 2006 г – 68%), бактериальных инфекций на 17% (в 2006 году – 52%)

Основные механизмы пато- и саногенеза инфекционных заболеваний и их диагностика

- Системное и локальное воспаление – гематологические, общеклинические исследования, определение белков острой фазы в биологических жидкостях
- Нарушения метаболических процессов- биохимические исследования
- Нарушения системы гемостаза (развитие ДВС – синдрома)- изменения плазменного, сосудисто- тромбоцитарного звеньев
- Развитие эндогенной интоксикации – спектральная характеристика веществ низкой и средней молекулярной массы плазмы и эритроцитов крови
- Интратекальное воспаление при нейроинфекциях – ликворологические исследования
- Компенсаторные механизмы защиты от инфекции – иммунологические исследования

Возможности гематологических анализаторов



Гематологические анализаторы Cell – Dyn 1800

позволяют в течение 1 – 2 минут идентифицировать следующие показатели крови:

- **количество лейкоцитов**, абсолютное и процентное количество гранулоцитов, лимфоцитов и клеток среднего размера;
- **количество тромбоцитов**, средний объем тромбоцитов, тромбоциты;
- **количество эритроцитов**, гематокрит, средний объем эритроцита,
 - концентрацию гемоглобина, среднее содержание гемоглобина в клетке, среднюю концентрацию клеточного гемоглобина.
- гистограммы распределения трех основных популяций в зависимости от размера

Возможности гематологических анализаторов в условиях инфекционного стационара:

- Экспрессная оценка 18 характеристик состава крови
- Быстрая дифференциальная диагностика вирусной или бактериальной природы
- Уточнение патогенетических механизмов развития заболевания: выраженность системного воспаления, тяжесть анемии и тромбоцитопении, лейкоцитоз, выраженность ДВС синдрома

Мочевой полуавтоматический анализатор Clinitek Advantus



Высокопроизводительный анализатор мочи, обеспечивает автоматическое считывание результатов с тест-полосок. Позволяет в течение 2-3 минут определить в моче 11 показателей : рН, удельный вес, цвет, содержание белка, глюкозы, кетоновых тел, билирубина, уробилиногена, нитритов, наличие эритроцитов и лейкоцитов в моче.

Широкий спектр исследуемых показателей мочи, облегчает диагностику разнообразных заболеваний и патологических состояний, в том числе инфекций мочевыводящих путей, нарушений функции печени.

Биохимические анализаторы:



Основные характеристики:

68 реагентов на борту

Технологии: фотометрия

турбидиметрия

кинетический анализ

1. **Стандартная продолжительность теста – 10 мин**

2. **Одновременная загрузка до 217 образцов**

Рутинные тесты

Кислая фосфатаза

Alpha-NBDH

Альбумин BCG

Альбумин BCP

Щелочная

фосфатаза

АЛТ

АСТ

Амилаза

Alpha Амилаза

Аммоний

Билирубин общий

Билирубин

прямой

Желчная кислота

СО₂

КФК

КФК-МВ UV

Кальций

Холинэстераза

Медь

Креатинин

Холестерин

ГГТ

Глюкоза

Железо

ЛДГ

Молочная

кислота

D ЛПВП

D ЛПНП

Липаза

Магний

Фосфор

ОЖСС

Триглицерид

ы

Общий белок

Мочевина

Мочевая

кислота

UIBC

Цинк

В ликворе

Глюкоза

Белок

ISE (S/U)

Na

K

Cl

Моча

Амилаза

β-2

микроглобу

лин

Кальций

Хлорид

Креатинин

Глюкоза

Магний

Фосфор

Калий

Натрий

Белок

Мочевина

Мочевая

кислота

Спец. белки

α-1-антитрипсин

α-1-гликопротеин

β-2

микроглобулин

Аполипопротеин

A1

Аполипопротеин

B

АСЛО

C3

C4

Церулоплазмин

СРБ

СРБ ультра

D-Dimer

Ферритин

Гаптоглобин

IgA

IgE

IgG

IgM

Lp (a)

Миоглобин

Преальбумин

Трансферрин

Ревматоидный

фактор

k & l Light Chain

- Современные приборы лабораторной диагностики позволяют мониторировать состояние метаболических процессов у детей разного возраста для оценки степени их функциональной активности, органических и системных нарушений и компенсаторных возможностей организма

Диагностика нарушений системы гемостаза

- *Под системой гемостаза понимают совокупность компонентов кровеносных сосудов, крови и их взаимодействие, обеспечивающее поддержание целостности кровеносных сосудов, жидкое состояние крови внутри сосудов и остановку кровотечения при повреждении сосуда.*
- **Структурно-функциональные компоненты системы гемостаза:** стенка кровеносного сосуда (эндотелий), форменные элементы крови (тромбоциты), плазменные ферментные системы свертывания и фибринолиза, антикоагулянтные факторы (гепарин, тромбомодулин, антитромбин III, протеины C и S)
- Внедрение любого инфекционного агента приводит к повреждению эндотелия и запуску каскада процессов свертывания крови и фибринолиза.
- *Врожденная или приобретенная недостаточность основных звеньев гемостаза сопровождается генерализацией инфекционного процесса, развитием ДВС синдрома, приводит к тромбозам и полиорганной недостаточности*

Автоматический коагулометрический анализатор ACL 200



- **1 PT-FIB** (протромбиновое время и уровень фибриногена)
- **2 АРТТ** (активированное частичное тромбопластиновое время) (АЧТВ)
- **3 ТТ** (тромбиновое время) (ТВ)
- **4 Фибриноген по Клауссу** (Fibrinogen C)
- **5 Факторы внешнего пути** (активации белков свертывания) (VII, X, V, II)
- **6 Факторы внутреннего пути** (активации белков свертывания) (XII, XI, IX, VIII)
- **7 Антитромбин III** (Antithrombin)
- **8 Гепарин** (Heparin)
- **9 alfa-2-Антиплазмин** (alfa-2 Antiplasmin)
- **10 Плазминоген** (Plasminogen)
- **11 Плазмин ингибитор** (Plasmin Inhibitor)
- **12 Протеин С** (Pro-Chrom)
- **13 Протеин S** (Protein S)
- **14 Фактор V Лейден** (APCR V)
- **15 Волчаночные антикоагулянты:** скрининговый и подтверждающий тесты (LAC Screen, LAC Confirm)
- **16 Протеин С клоттинговый** (ProClot)
- **17 Гепатокомплекс** (Hepatocomplex)
- **18 Pro-IL-Complex** (Про-IL-Комплекс)

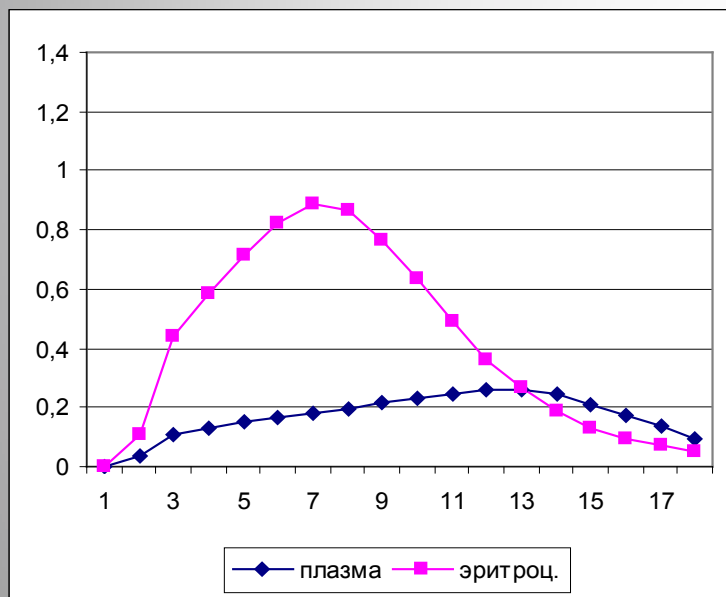
Результаты исследования нарушений системы гемостаза при инфекционных заболеваниях у детей

Установлено, что у детей при инфекционной патологии имеются нарушения во всех основных звеньях гемостаза –сосудистом,тромбоцитарном, плазменном.

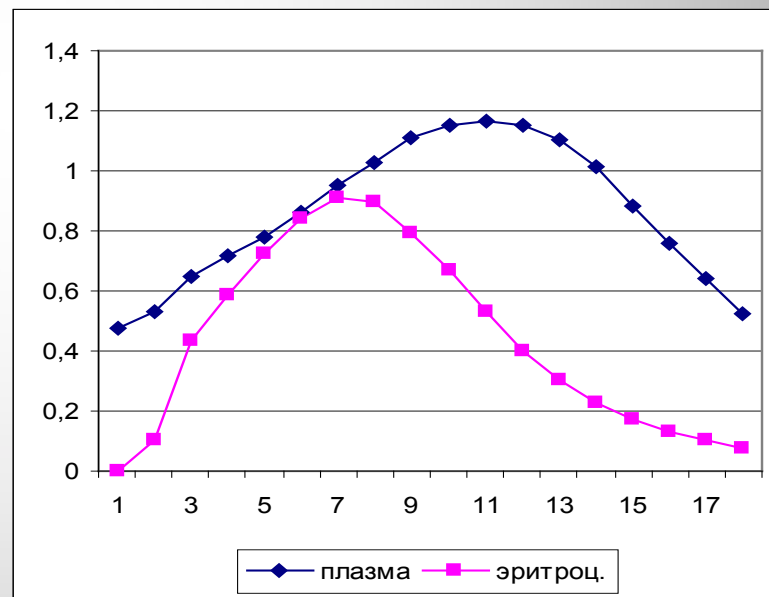
- В остром периоде инфекционных заболеваний у большинства обследованных детей имеется склонность к гипокоагуляции (увеличение ПВ, МНО, АЧТВ)
- При тяжелом течении инфекций наблюдается увеличение концентрации фибриногена, Д-димера. При критическом состоянии с развитием ДВС – синдрома – резкое снижение количества тромбоцитов, фибриногена, увеличение тромбинового времени, снижение АТ III
- У всех больных с инфекционной патологией в кровеносном русле фиксируются циркулирующие эндотелиоциты
- Выявлено нарушение агрегационной способности тромбоцитов в ответ на индукцию АДФ в разной концентрации

Исследования процессов эндогенной интоксикации при инфекционных заболеваниях у детей (спектральные характеристики веществ низкой и средней молекулярной массы крови)

Норма



Септический шок



Результаты исследования эндогенной интоксикации при инфекционных заболеваниях у детей

1. Установлена роль эндогенной интоксикации в течении и исходах острых кишечных инфекций, менингококковой инфекции, хронических вирусных гепатитов С и заболеваниях периферической нервной системы.
- 2. Показано, что исследование ВНСММ является объективным лабораторным критерием тяжести интоксикации и может быть использовано для коррекции терапии.
- 3. Разработан способ экспресс-диагностики тяжести интоксикации при генерализованных бактериальных нейроинфекциях

Ликвородиагностика нейроинфекционных заболеваний

- Постановка диагноза
- Уточнение нозологической формы
- Определение этиологии
- Уточнение тяжести поражения мозговой паренхимы
- Изучение патогенеза интратекального процесса
- Прогноз течения и исхода болезни

Современные возможности исследования состава ликвора

- 1. Стандартные показатели** (общий белок, хлориды, глюкоза)
- 2. Определение индивидуальных белков методом количественной иммунотурбидиметрии** (СРБ, альбумин, альфа1-антитрипсин, альфа2-макроглобулин, гаптоглобин, трансферрин)
- 3. Цитологический анализ** (цитоз с дифференциацией клеток на поли- и мононуклеары), иммуноцитохимия, проточная иммуноцитофлюорометрия)
- 4. Иммунологические методы** (цитокины, иммуноглобулины)

Белки острой фазы и их функциональное значение

Наименование	Функции
С-реактивный белок	Связывает токсины бактерий, эндогенные патогены, ионы Са, блокирует процессы деструкции мембран, влияет на активность клеток крови, обладает прокоагулянтным действием и антиоксидантными свойствами
Альбумин	Связывание и транспорт ионов, биологически активных веществ, гормонов, метаболитов; поддержание коллоидно-осмотического давления, резерв аминокислот
Альфа 1- Антитрипсин Альфа 2- Макроглобулин	Основные ингибиторы протеолитических ферментов; Связывание и транспорт ионов, метаболитов, цитокинов Способность инактивировать бактериальные токсины Влияние на функциональную активность лимфоцитов и фагоцитов
Гаптоглобин	Связывание свободного гемоглобина, транспорт витамина В 12
Трансферрин	Транспорт железа и других ионов

Результаты исследования белков острой фазы в ликворе при нейроинфекционных заболеваниях у детей

- 1. Исследование индивидуальных белков ЦСЖ является дополнительным критерием для:
 - дифференциации вирусной или бактериальной природы заболевания
 - контроля за течением нейроинфекционного процесса
 - оценки тяжести поражения мозговой паренхимы и прогноза течения заболевания
- 2. Наиболее информативным является определение в ЦСЖ концентраций альбумина, гаптоглобина, альфа₂-макроглобулина, альфа₁-антитрипсина.
- 3. Перспективно дальнейшее изучение уровня индивидуальных белков ЦСЖ и проведение детальных клинико-биохимических сопоставлений для своевременной коррекции терапии и улучшения результатов лечения нейроинфекционных заболеваний у детей

Изучение иммунопатогенеза инфекционных заболеваний у детей

- - иммунофенотипирование лимфоцитов,
 - оценка их функциональной способности (ФГА-РБТЛ),
 - определение ЦИК,
 - спектра иммуноглобулинов,
 - определение цитокинов методом ИФА.
 - исследования фагоцитирующей способности нейтрофилов

Проточный цитофлуориметр
FASC-COLIBUR
(Beckman Dickinson США)

Благодаря использованию анализатора обеспечивается точность, объективность и быстрота анализа



Заключение

- Современные возможности лабораторной диагностики инфекционных заболеваний основаны на использовании высокотехнологичных автоматизированных приборов и чувствительных методов биохимического и иммунологического анализа.
- Современное оборудование позволяет мониторить состояние метаболических процессов для оценки степени их функциональной активности, органных и системных нарушений и компенсаторных возможностей организма.
- Внедрение новых технологий в рутинную практику способствует совершенствованию системы оказания квалифицированной медицинской помощи и имеет важное медико-социальное значение.
- Изучение механизмов пато- и саногенеза инфекционных заболеваний способствует разработке новых информативных критериев диагностики и прогноза их течения



БЛАГОДАРЮ ЗА ВНИМАНИЕ!