

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

№ 1 (16)

2016

ИНФОРМАЦИОННО-РЕФЕРАТИВНЫЙ ЖУРНАЛ

СОДЕРЖАНИЕ

РЕФЕРАТИВНАЯ ИНФОРМАЦИЯ	3
Общий раздел (социальная информация, статистика, эпидемиология)	3
Лабораторная диагностика ВИЧ-инфекции	8
Загрядская Ю.Е., Обрядина А.П. Современные подходы к диагностике ранней и длительно текущей ВИЧ-инфекции	8
Загрядская Ю.Е., Обрядина А.П. Клинические аспекты лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции	12
Лабораторная диагностика сифилиса	16
Фисенко Н.С., Чепурченко Н.В. Серологическая диагностика сифилиса: возможности и перспективы	16
Лабораторная диагностика малярии	22
Кочина Е.А., Шальнова Е.Е. Современные возможности и проблемы диагностики малярии	22
Шальнова Е.Е., Кочина Е.А. Актуальные аспекты лабораторной диагностики малярии у беременных	26
Кочина Е.А., Шальнова Е.Е. Гемотрансфузионная малярия: диагностические критерии и практические рекомендации	29
Вопросы качества лабораторных исследований	32
Нормативные документы	36

Учредитель: ООО Научно производственное объединение "Диагностические системы"

Главный редактор Шальнова Е.Е.

Адрес редакции

РОССИЯ, 603022, Н. Новгород, ул. Барминская, 8а

Тел./факс (831) 434-86-83, 467-82-18

E-mail: see@npods.ru; www.npods.ru

Зарегистрировано Федеральной службой по надзору за соблюдением законодательства в сфере массовых коммуникаций и охране культурного наследия

Регистрационное свидетельство ПИ №ФС 77-228449 от 30 декабря 2005 г.

Сдано в набор 26.08.2016

Подписано в печать 20.10.2016

Тираж 1500 экземпляров.

Отпечатано в ООО "Город искусств", 603016, Н. Новгород, ул. Веденяпина, д. 8А

Распространяется бесплатно. Коммерческое использование запрещено.

При перепечатке материалов ссылка на журнал обязательна

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Бурков А.Н. (д.м.н., профессор),

Почетный член Редакционного совета

Обрядина А.П. (д.б.н.)

Пименов В.К. (к.б.н.)

Кувшинов М.В. (к.м.н.)

Шальнова Е.Е.

Голубева И.Ф.

Фисенко Н.С.

Поляков С.Ю.

Плаксина Н.Б.

Уважаемые читатели!

Обращаем ваше внимание, что информационно-реферативный журнал "Лабораторная диагностика инфекционных заболеваний" с 2016 г. изменил форму подачи публикуемых материалов. Вместо отдельных тематических рефератов научных статей мы предлагаем вам ознакомиться с дайджестами научных публикаций и обзорами исследований зарубежных и отечественных авторов, посвященными актуальным теоретическим и практическим аспектам лабораторной диагностики заболеваний.

Представляем очередной выпуск нашего журнала.

Традиционно номер открывает общий раздел "Социально-эпидемиологическая и статистическая информация", в котором приведены статистические материалы о состоянии инфекционной и паразитарной заболеваемости населения Российской Федерации за период 2014-2015 гг. Особый акцент сделан на статистических показателях заболеваемости и пораженности ВИЧ-инфекцией в стране.

Раздел "Лабораторная диагностика ВИЧ-инфекции" включает два дайджеста. В одном из них представлены современные подходы к диагностике ранней и длительно текущей ВИЧ-инфекции, рассматриваются вопросы разработки и внедрения в практическое здравоохранение алгоритмов исследований с применением тест-систем, позволяющих дифференцировать раннюю и текущую ВИЧ-инфекцию. Показана польза применения этих исследований для определения средней продолжительности раннего периода инфицирования, оценки инцидентности данной инфекции, для проведения эпидемиологического расследования в очаге и организации эпидемиологического мониторинга за ВИЧ-инфекцией. Прикладные исследования определяют возможные пути использования молекулярных методов для проведения филогенетического анализа. Другой обзор публикаций освещает ряд клинических аспектов лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции и посвящен изучению распространенности резистентности ВИЧ к антиретровирусным препаратам, изучению влияния ранней трансмиссии ВИЧ на связь антиретровирусной терапии и инцидентности ВИЧ-инфекции, решению вопросов о целесообразности применения антиретровирусной терапии. Отдельное внимание уделяется исследованиям по изучению клинико-эпидемиологических аспектов ранней диагностики ВИЧ-инфекции у детей первого года жизни и определению серологического статуса в супружеских парах, дискордантных в отношении ВИЧ/СПИДа.

В разделе "Лабораторная диагностика сифилиса" представлены научные публикации о возможностях и перспективах серологической диагностики различных

клинических форм данной инфекции. Нашли отражение актуальные тенденции в диагностике сифилиса - применение иммунохроматографических экспресс-тестов и использование реверсивного алгоритма лабораторных исследований для проведения скрининга на сифилис. Наряду с этим, ряд работ посвящен сравнительным исследованиям - анализу диагностических характеристик иммунохемилюминесцентного и иммуноферментного методов, анализу зарубежных и отечественных алгоритмов диагностики сифилиса, обсуждению особенностей, проблем и спорных аспектов существующих подходов к диагностике сифилиса. Небезынтересно, на наш взгляд, исследование, посвященное оценке современных тестов для диагностики нейросифилиса у пациентов с коинфекцией ВИЧ/сифилис и поиску предикторов развития данного заболевания. Рассмотрены также некоторые перспективные направления исследований, такие как поиск иммунодоминантных антигенов *T. pallidum* для создания высокочувствительных диагностикумов, разработка стратегии диагностики сифилиса при помощи "плазмонного" ИФА-теста.

В связи с возможной опасностью завоза малярии на территории субъектов Российской Федерации мы впервые поднимаем тему лабораторной диагностики этой инфекции на страницах нашего журнала. Материалы этого раздела посвящены современным возможностям и проблемам диагностики малярии в целом, а также актуальным аспектам ее диагностики у беременных женщин и поиску наиболее эффективных методов скрининга донорской крови с целью снижения риска развития трансфузионной малярии и обеспечения инфекционной безопасности донорской крови.

В рубрике журнала "Вопросы качества лабораторных исследований" публикуем выдержки из информационно-методического пособия "Система внешнего и внутреннего контроля качества в иммуноферментном анализе", подготовленного силами сотрудников ООО "НПО "Диагностические системы". Основной акцент сделан на причинах ошибок при постановке ИФА и способах их устранения.

В разделе "Нормативные документы" приводим перечни основных, актуальных на текущий момент времени, нормативных правовых актов Российской Федерации в сфере лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции и малярии.

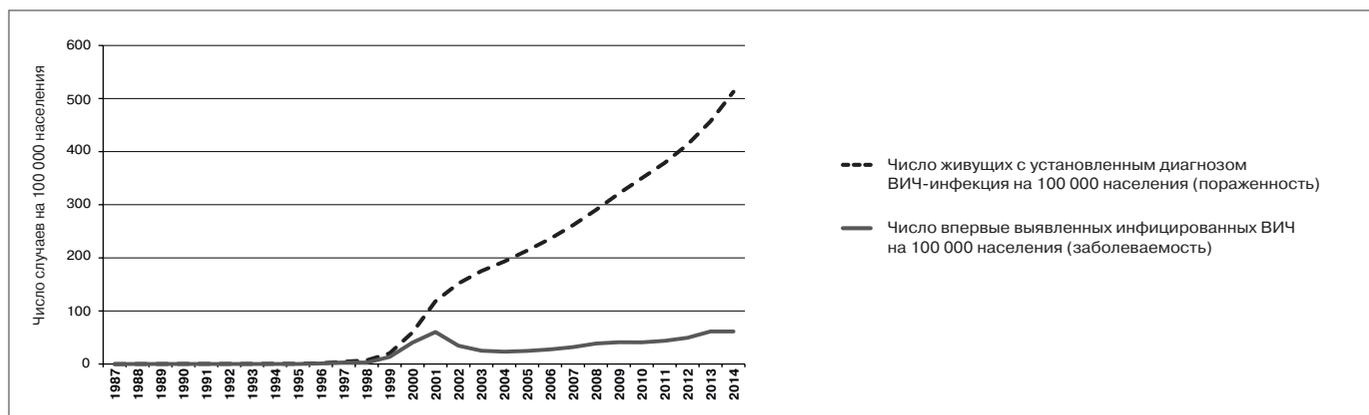
Надеемся, что опубликованные в нашем издании материалы будут полезны широкому кругу специалистов медико-биологического профиля, позволят им быть в курсе современных тенденций, новых научных разработок и достижений в лабораторной диагностике заболеваний человека и прикладной биотехнологии.

Общий раздел (социальная информация, статистика, эпидемиология)

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЗАРЕГИСТРИРОВАННЫХ СЛУЧАЕВ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ В СУБЪЕКТАХ РФ НА 31.12.2014 г. *)



ПОРАЖЕННОСТЬ И ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ СРЕДИ НАСЕЛЕНИЯ РФ С 1987 ПО 2014 гг. *)



СУБЪЕКТЫ РФ С НАИБОЛЕЕ ВЫСОКОЙ ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬЮ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ (2015 г.) **)

№ п/п	Субъекты Российской Федерации	Показатель заболеваемости ВИЧ-инфекцией на 100 тыс. населения
1	Кемеровская область	208,53
2	Новосибирская область	143,45
3	Тюменская область	142,25
4	Пермский край	131,23
5	Красноярский край	127,81
6	Томская область	126,18
7	Иркутская область	125,79
8	Омская область	123,43
9	Ханты-Мансийский автономный округ	115,60
10	Алтайский край	111,44
11	Оренбургская область	110,13
12	Самарская область	104,33
13	Свердловская область	104,18
14	Челябинская область	101,58
	Российская Федерация	65,20

* Покровский В.В., Ладная Н.Н., Тушина О.И., Буравцова Е.В. ВИЧ-инфекция. Информационный бюллетень №40 ФНМЦ СПИД. М., 2015.

** Государственный доклад "О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2015 году"

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
Федеральный центр гигиены и эпидемиологии

Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях*
(за январь—декабрь 2015 г., Российская Федерация)

Наименование заболеваний	Зарегистрировано заболеваний за январь—декабрь 2015						Зарегистрировано заболеваний за январь—декабрь 2014						рост, снижение				
	Всего		в том числе у детей в возрасте				Всего		в том числе у детей в возрасте				Всего	в том числе у детей до 17 лет вкл.	в том числе у детей до 14 лет вкл.		
			до 17 лет вкл.		до 14 лет вкл.				до 17 лет вкл.		до 14 лет вкл.						
	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.					
Брюшной тиф	29	0,02	5	0,02	4	0,02	12	0,01	1	0,00		0,00				2,4 раз	4 сл.
Другие сальмонеллезные инфекции	37026	25,39	18164	65,91	17328	73,87	41646	29,08	19965	74,73	19014	84,46	-12,7 %	-11,8 %	-12,5 %		
Бактериальная дизентерия (шигеллез)	10001	6,86	6025	21,86	5671	24,18	10744	7,50	6456	24,17	6115	27,16	-8,6 %	-9,5 %	-11,0 %		
Острые кишечные инфекции, вызванные установленными бактериальными, вирусными возбудителями, а также пищевые токсикоинфекции установленной этиологии	245236	168,14	200365	727,05	196522	837,77	223316	155,95	183837	688,12	180557	802,04	7,8 %	5,7 %	4,5 %		
Острые кишечные инфекции, вызванные неустановленными инфекционными возбудителями, пищевые токсикоинфекции неустановленной этиологии	505279	346,42	313578	1137,86	298448	1272,28	517163	361,14	325083	1216,82	309893	1376,56	-4,1 %	-6,5 %	-7,6 %		
Острый паралимпический полиомиелит, включая ассоциированный с вакциной		0,00		0,00		0,00	5	0,00	5	0,02	5	0,02	-5 сл.	-5 сл.	-5 сл.		
Острые вялые параличи	304	0,21	303	1,10	303	1,29	273	0,19	273	1,02	272	1,21	9,3 %	7,6 %	6,9 %		
Энтеровирусные инфекции	7850	5,38	7078	25,68	6837	29,15	9211	6,43	8300	31,07	8024	35,64	-16,3 %	-17,3 %	-18,2 %		
из них энтеровирусный менингит	2994	2,05	2524	9,16	2360	10,06	3212	2,24	2797	10,47	2630	11,68	-8,5 %	-12,5 %	-13,9 %		
Острые вирусные гепатиты всего	10648	7,30	2826	10,25	2401	10,24	15000	10,47	3392	12,70	2847	12,65	-30,3 %	-19,2 %	-19,1 %		
из них: острый гепатит А	6428	4,41	2671	9,69	2283	9,73	10415	7,27	3219	12,05	2729	12,12	-39,4 %	-19,6 %	-19,7 %		
острый гепатит В	1644	1,13	23	0,08	15	0,06	1822	1,27	25	0,09	15	0,07	-11,4 %	-2 сл.	-4,0 %		
острый гепатит С	2096	1,44	80	0,29	62	0,26	2216	1,55	81	0,30	54	0,24	-7,1 %	-1 сл.	8 сл.		
острый гепатит Е	96	0,07	3	0,01	3	0,01	110	0,08	6	0,02	5	0,02	-14,3 %	-3 сл.	-2 сл.		
Хронические вирусные гепатиты (впервые установленные)—всего	71744	49,19	739	2,68	456	1,94	74004	51,68	812	3,04	535	2,38	-4,8 %	-11,8 %	-18,2 %		
из них: хронический вирусный гепатит В	15739	10,79	161	0,58	70	0,30	16123	11,26	148	0,55	60	0,27	-4,2 %	5,5 %	12,0 %		
хронический вирусный гепатит С	55491	38,04	565	2,05	375	1,60	57197	39,94	644	2,41	460	2,04	-4,7 %	-14,9 %	-21,8 %		
Носительство возбудителя вирусного гепатита В	20249	13,88	233	0,85	138	0,59	22889	15,98	279	1,04	157	0,70	-13,1 %	-19,0 %	-15,6 %		
Дифтерия	2	0,00	1	0,00	1	0,00	2	0,00		0,00		0,00		1 сл.	1 сл.		
Коклюш	6447	4,42	6225	22,59	6020	25,66	4678	3,27	4500	16,84	4369	19,41	35,3 %	34,1 %	32,2 %		
Корь	840	0,58	353	1,28	329	1,40	4690	3,28	2269	8,49	2060	9,15	-5,7 раз	-6,6 раз	-6,5 раз		
Краснуха	20	0,01	4	0,01	4	0,02	54	0,04	14	0,05	12	0,05	-2,8 раз	-3,6 раз	-8 сл.		
Паротит эпидемический	193	0,13	92	0,33	83	0,35	254	0,18	111	0,42	103	0,46	-25,4 %	-19,7 %	-22,7 %		
Менингококковая инфекция	977	0,67	683	2,48	658	2,81	991	0,69	692	2,59	654	2,91	-3,2 %	-9 сл.	4 сл.		
из нее генерализованные формы	845	0,58	608	2,21	584	2,49	866	0,60	622	2,33	593	2,63	-4,2 %	-5,2 %	-9 сл.		
Ветряная оспа	819828	562,08	772520	2803,19	750269	3198,39	925097	646,01	869950	3256,30	843178	3745,43	-13,0 %	-13,9 %	-14,6 %		
Туляремия	67	0,05	4	0,01	1	0,00	96	0,07	17	0,06	15	0,07	-31,5 %	-4,4 раз	-15,6 раз		
Сибирская язва	3	0,00		0,00		0,00	7	0,00		0,00		0,00	-4 сл.				
Бруцеллез, впервые выявленный	394	0,27	27	0,10	14	0,06	368	0,26	27	0,10	19	0,08	5,1 %		-5 сл.		

Наименование заболеваний	Зарегистрировано заболеваний за январь—декабрь 2015						Зарегистрировано заболеваний за январь—декабрь 2014						рост, снижение				
	Всего		в том числе у детей в возрасте				Всего		в том числе у детей в возрасте				Всего	в том числе у детей до 17 лет вкл.	в том числе у детей до 14 лет вкл.		
			до 17 лет вкл.		до 14 лет вкл.				до 17 лет вкл.		до 14 лет вкл.						
	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.					
Вирусные лихорадки, передаваемые членистоногими и вирусные геморрагические лихорадки	9513	6,52	335	1,22	203	0,87	11619	8,11	403	1,51	217	0,96				-19,6 %	-19,4 %
из них: лихорадка Западного Нила	41	0,03	4	0,01	4	0,02	27	0,02	6	0,02	5	0,02	49,1 %	-2 сл.	-1 сл.		
Крымская геморрагическая лихорадка	139	0,10	2	0,01	1	0,00	91	0,06	3	0,01	1	0,00	50,0 %	-1 сл.			
геморрагическая лихорадка с почечным синдромом	9201	6,31	321	1,16	192	0,82	11395	7,96	391	1,46	209	0,93	-20,7 %	-20,4 %	-11,8 %		
Клещевой вирусный энцефалит	2308	1,58	295	1,07	261	1,11	1984	1,39	259	0,97	217	0,96	14,2 %	10,4 %	15,4 %		
Клещевой боррелиоз (болезнь Лайма)	7359	5,05	727	2,64	666	2,84	6375	4,45	688	2,58	619	2,75	13,3 %	2,4 %	3,3 %		
Псевдотуберкулез	1116	0,77	770	2,79	725	3,09	1339	0,94	899	3,37	840	3,73	-18,2 %	-17,0 %	-17,2 %		
Лептоспироз	128	0,09	6	0,02	5	0,02	257	0,18	12	0,04	9	0,04	-2,0 раз	-6 сл.	-4 сл.		
Бешенство	6	0,00	2	0,01	1	0,00	3	0,00	1	0,00	1	0,00	3 сл.	1 сл.			
Укусы, ослюнения, оцарапывания животными	392215	268,90	114521	415,55	101406	432,29	366030	255,60	108436	405,89	95716	425,17	5,2 %	2,4 %	1,7 %		
Укусы клещами	542512	371,95	129030	468,20	116621	497,15	429800	300,14	103400	387,04	93941	417,29	23,9 %	21,0 %	19,1 %		
Риккетсиозы	2009	1,38	505	1,83	480	2,05	2296	1,60	556	2,08	523	2,32	-14,1 %	-12,0 %	-11,9 %		
из них: эпидемический сыпной тиф		0,00		0,00		0,00		0,00		0,00		0,00					
болезнь Брилла		0,00		0,00		0,00		0,00		0,00		0,00					
лихорадка Ку	49	0,03	8	0,03	8	0,03	34	0,02	6	0,02	5	0,02	41,5 %	2 сл.	3 сл.		
сибирский клещевой тиф	1491	1,02	437	1,59	417	1,78	1653	1,15	445	1,67	422	1,87	-11,4 %	-8 сл.	-5 сл.		
астраханская пятнистая лихорадка	314	0,22	45	0,16	41	0,17	295	0,21	50	0,19	47	0,21	4,5 %	-5 сл.	-6 сл.		
гранулоцитарный анаплазмоз человека	115	0,08	10	0,04	9	0,04	258	0,18	47	0,18	42	0,19	-2,3 раз	-4,8 раз	-4,9 раз		
моноцитарный эрлихиоз человека	18	0,01	3	0,01	3	0,01	54	0,04	8	0,03	7	0,03	-3,1 раз	-5 сл.	-4 сл.		
Педикулез	243502	166,95	61534	223,28	58182	248,03	275740	192,55	54308	203,28	51036	226,70	-13,3 %	9,8 %	9,4 %		
Туберкулез (впервые выявленный) активные формы	77650	53,24	3972	14,41	2942	12,54	78125	54,56	4114	15,40	3012	13,38	-2,4 %	-6,4 %	-6,3 %		
из него туберкулез органов дыхания	74911	51,36	3689	13,39	2691	11,47	75262	52,56	3827	14,32	2769	12,30	-2,3 %	-6,6 %	-6,7 %		
из него бациллярные формы	32775	22,47	322	1,17	101	0,43	32338	22,58	317	1,19	115	0,51	-0,5 %	5 сл.	-15,7 %		
Сифилис (впервые выявленный) – все формы	33445	22,93	556	2,02	195	0,83	35615	24,87	780	2,92	240	1,07	-7,8 %	-30,9 %	-22,0 %		
Гонококковая инфекция	26501	18,17	734	2,66	90	0,38	33499	23,39	989	3,70	181	0,80	-22,3 %	-28,1 %	-2,1 раз		
Болезнь, вызванная вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) и бессимптомный инфекционный статус, вызванный ВИЧ	86599	59,37	1222	4,43	897	3,82	76230	53,23	1141	4,27	846	3,76	11,5 %	3,8 %	1,8 %		
Острые инфекции верхних дыхательных путей множественной и неуточненной локализации	30130692	20657,76	21903716	79480,42	20346949	86738,80	28156985	19662,46	20794646	77836,28	19299096	85727,39	5,1 %	2,1 %	1,2 %		
Грипп	49671	34,05	24113	87,50	21130	90,08	12836	8,96	5925	22,18	5405	24,01	3,8 раз	3,9 раз	3,8 раз		
Пневмония (внебольничная)	492660	337,77	165373	600,08	157106	669,74	507031	354,07	181313	678,67	171604	762,27	-4,6 %	-11,6 %	-12,1 %		
Малярия впервые выявленная	94	0,06	4	0,01	3	0,01	94	0,07	3	0,01	3	0,01	-1,8 %	1 сл.			
Трихинеллез	35	0,02	4	0,01	3	0,01	94	0,07	28	0,10	13	0,06	-2,7 раз	-7,2 раз	-4,5 раз		
Поствакцинальные осложнения	205	0,14	184	0,67	175	0,75	231	0,16	214	0,80	213	0,95	-12,9 %	-16,6 %	-21,2 %		

* Используются материалы Роспотребнадзора РФ/ <http://www.rospotrebnadzor.ru/activities/statistical-materials/>

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
Федеральный центр гигиены и эпидемиологии

Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях*
(за январь—июнь 2016 г., Российская Федерация)

Наименование заболеваний	Зарегистрировано заболеваний за январь—июнь 2016						Зарегистрировано заболеваний за январь—июнь 2015						рост, снижение				
	Всего		в том числе у детей в возрасте				Всего		в том числе у детей в возрасте				Всего	в том числе у детей до 17 лет вкл.	в том числе у детей до 14 лет вкл.		
			до 17 лет вкл.		до 14 лет вкл.				до 17 лет вкл.		до 14 лет вкл.						
	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.					
Брюшной тиф	5	0,00	1	0,00	1	0,00	17	0,01	2	0,01	2	0,01				-3,4 раз	-1 сл.
Другие сальмонеллезные инфекции	18941	12,97	9488	33,80	8979	37,31	16491	11,31	8521	30,92	8161	34,79	14,7 %	9,3 %	7,3 %		
Бактериальная дизентерия (шигеллез)	3322	2,27	1944	6,93	1834	7,62	3714	2,55	2151	7,81	2040	8,70	-10,7 %	-11,3 %	-12,4 %		
Острые кишечные инфекции, вызванные установленными бактериальными, вирусными возбудителями, а также пищевые токсикоинфекции установленной этиологии	141305	96,72	119255	424,84	117233	487,17	143440	98,34	121794	441,94	120058	511,81	-1,6 %	-3,9 %	-4,8 %		
Острые кишечные инфекции, вызванные неустановленными инфекционными возбудителями, пищевые токсикоинфекции неустановленной этиологии	261024	178,67	167297	595,99	159671	663,52	247967	170,01	160722	583,20	154014	656,56	5,1 %	2,2 %	1,1 %		
Острый паралимпический полиомиелит, включая ассоциированный с вакциной	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00					
Острые вялые параличи	75	0,05	75	0,27	75	0,31	96	0,07	96	0,35	96	0,41	-22,0 %	-23,3 %	-23,8 %		
Энтеровирусные инфекции	992	0,68	862	3,07	844	3,51	624	0,43	559	2,03	550	2,34	1,6 раз	1,5 раз	49,6 %		
из них энтеровирусный менингит	235	0,16	189	0,67	175	0,73	138	0,09	113	0,41	106	0,45	1,7 раз	1,6 раз	1,6 раз		
Острые вирусные гепатиты всего	4613	3,16	886	3,16	735	3,05	5360	3,67	1233	4,47	1038	4,42	-14,1 %	-29,5 %	-31,0 %		
из них: острый гепатит А	2760	1,89	826	2,94	697	2,90	3233	2,22	1157	4,20	982	4,19	-14,8 %	-29,9 %	-30,8 %		
острый гепатит В	724	0,50	11	0,04	3	0,01	816	0,56	9	0,03	6	0,03	-11,4 %	2 сл.	-3 сл.		
острый гепатит С	924	0,63	28	0,10	18	0,07	1042	0,71	38	0,14	29	0,12	-11,5 %	-27,7 %	-39,5 %		
острый гепатит Е	54	0,04	2	0,01	2	0,01	52	0,04	0	0,00	0	0,00	2 сл.	2 сл.	2 сл.		
Хронические вирусные гепатиты (впервые установленные) – всего	35893	24,57	317	1,13	204	0,85	37422	25,66	404	1,47	235	1,00	-4,2 %	-23,0 %	-15,4 %		
из них: хронический вирусный гепатит В	7985	5,47	73	0,26	38	0,16	8109	5,56	93	0,34	30	0,13	-1,7 %	-22,9 %	8 сл.		
хронический вирусный гепатит С	27758	19,00	240	0,85	162	0,67	29039	19,91	304	1,10	198	0,84	-4,6 %	-22,5 %	-20,2 %		
Носительство возбудителя вирусного гепатита В	9010	6,17	73	0,26	37	0,15	10610	7,27	131	0,48	74	0,32	-15,2 %	-45,3 %	-2,1 раз		
Дифтерия	1	0,00	0	0,00	0	0,00	2	0,00	1	0,00	1	0,00	-1 сл.	-1 сл.	-1 сл.		
Коклюш	4437	3,04	4305	15,34	4144	17,22	2323	1,59	2241	8,13	2163	9,22	1,9 раз	1,9 раз	1,9 раз		
Корь	64	0,04	37	0,13	37	0,15	754	0,52	313	1,14	291	1,24	-11,8 раз	-8,6 раз	-8,1 раз		
Краснуха	39	0,03	4	0,01	3	0,01	14	0,01	1	0,00	1	0,00	2,8 раз	3 сл.	2 сл.		
Паротит эпидемический	239	0,16	128	0,46	95	0,39	99	0,07	57	0,21	53	0,23	2,4 раз	2,2 раз	1,7 раз		
Менингококковая инфекция	401	0,27	296	1,05	285	1,18	574	0,39	402	1,46	391	1,67	-30,3 %	-27,7 %	-28,9 %		
из нее генерализованные формы	336	0,23	260	0,93	250	1,04	507	0,35	368	1,34	358	1,53	-33,8 %	-30,6 %	-31,9 %		
Ветряная оспа	547063	374,47	516928	1837,97	500066	2078,05	549184	376,52	517313	1877,14	501700	2138,74	-0,5 %	-2,1 %	-2,8 %		
Туляремия	7	0,00	0	0,00	0	0,00	8	0,01	0	0,00	0	0,00	-1 сл.				
Сибирская язва	0	0,00	0	0,00	0	0,00	3	0,00	0	0,00	0	0,00	-3 сл.				
Бруцеллез, впервые выявленный	129	0,09	1	0,00	1	0,00	171	0,12	7	0,03	5	0,02	-24,7 %	-6 сл.	-4 сл.		

Наименование заболеваний	Зарегистрировано заболеваний за январь—июнь 2016						Зарегистрировано заболеваний за январь—июнь 2015						рост, снижение				
	Всего		в том числе у детей в возрасте				Всего		в том числе у детей в возрасте				Всего	в том числе у детей до 17 лет вкл.	в том числе у детей до 14 лет вкл.		
			до 17 лет вкл.		до 14 лет вкл.				до 17 лет вкл.		до 14 лет вкл.						
	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.	абс. число	на 100 тыс. нас.					
Вирусные лихорадки, передаваемые членистоногими и вирусные геморрагические лихорадки	1870	1,28	69	0,25	50	0,21	3580	2,45	117	0,42	81	0,35				-47,8 %	-42,1 %
из них: лихорадка Западного Нила	1	0,00	0	0,00	0	0,00	4	0,00	0	0,00	0	0,00	-3 сл.				
Крымская геморрагическая лихорадка	116	0,08	2	0,01	2	0,01	103	0,07	2	0,01	1	0,00	12,4 %		1 сл.		
геморрагическая лихорадка с почечным синдромом	1668	1,14	64	0,23	45	0,19	3406	2,34	110	0,40	76	0,32	-2,0 раз	-42,9 %	-42,3 %		
Клещевой вирусный энцефалит	691	0,47	100	0,36	89	0,37	783	0,54	113	0,41	102	0,43	-11,9 %	-13,1 %	-14,9 %		
Клещевой боррелиоз (болезнь Лайма)	1969	1,35	275	0,98	248	1,03	2118	1,45	276	1,00	254	1,08	-7,2 %	-1 сл.	-6 сл.		
Псевдотуберкулез	466	0,32	326	1,16	302	1,25	717	0,49	511	1,85	483	2,06	-35,1 %	-37,4 %	-39,0 %		
Лептоспироз	34	0,02	2	0,01	2	0,01	32	0,02	2	0,01	2	0,01	2 сл.				
Бешенство	3	0,00	0	0,00	0	0,00	1	0,00	1	0,00	0	0,00	2 сл.	-1 сл.			
Укусы, ослюнения, оцарапывания животными	193331	132,34	58246	207,50	50965	211,79	199841	137,01	57976	210,37	50957	217,23	-3,4 %	-1,4 %	8 сл.		
Укусы клещами	342326	234,32	84521	301,10	76314	317,13	370858	254,26	88767	322,10	80345	342,51	-7,8 %	-6,5 %	-7,4 %		
Риккетсиозы	861	0,59	207	0,74	192	0,80	828	0,57	180	0,65	168	0,72	3,8 %	12,9 %	11,4 %		
из них: эпидемический сыпной тиф	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00					
болезнь Брилля	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00					
лихорадка Ку	48	0,03	11	0,04	11	0,05	12	0,01	2	0,01	2	0,01	4,0 раз	9 сл.	9 сл.		
сибирский клещевой тиф	711	0,49	172	0,61	158	0,66	678	0,46	165	0,60	154	0,66	4,7 %	7 сл.	4 сл.		
астраханская пятнистая лихорадка	57	0,04	18	0,06	18	0,07	77	0,05	11	0,04	10	0,04	-26,1 %	7 сл.	8 сл.		
гранулоцитарный анаплазмоз человека	19	0,01	3	0,01	2	0,01	46	0,03	1	0,00	1	0,00	-2,4 раз	2 сл.	1 сл.		
моноцитарный эрлихиоз человека	8	0,01	1	0,00	1	0,00	6	0,00	1	0,00	1	0,00	2 сл.				
Педикулез	103174	70,62	27334	97,38	25832	107,35	118371	81,16	29398	106,67	27668	118,80	-13,0 %	-8,7 %	-9,6 %		
Туберкулез (впервые выявленный) активные формы	37248	25,50	1846	6,58	1337	5,56	39737	27,24	2034	7,38	1482	6,32	-6,4 %	-10,9 %	-12,1 %		
из него туберкулез органов дыхания	35955	24,61	1726	6,15	1236	5,14	38417	26,34	1905	6,91	1367	5,83	-6,6 %	-11,0 %	-11,9 %		
из него бациллярные формы	15436	10,57	156	0,56	53	0,22	15959	10,94	161	0,58	49	0,21	-3,4 %	-5 сл.	4 сл.		
Сифилис (впервые выявленный) – все формы	14947	10,23	203	0,72	61	0,25	17744	12,17	271	0,98	95	0,40	-15,9 %	-26,5 %	-37,4 %		
Гонококковая инфекция	10672	7,31	303	1,08	47	0,20	13542	9,28	380	1,38	49	0,21	-21,3 %	-21,7 %	-2 сл.		
Болезнь, вызванная вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) и бессимптомный инфекционный статус, вызванный ВИЧ	43531	29,80	508	1,81	356	1,48	41707	28,59	575	2,09	435	1,85	4,2 %	-13,3 %	-20,2 %		
Острые инфекции верхних дыхательных путей множественной и неуточненной локализации	17245989	11804,99	12274528	43727,33	11364783	47227,04	17216557	11803,76	12250842	44453,74	11319437	48254,63	0,0 %	-1,6 %	-2,1 %		
Грипп	81692	55,92	29841	106,31	27658	114,93	49022	33,61	23876	86,64	20909	89,13	1,7 раз	22,7 %	28,9 %		
Пневмония (внебольничная)	334222	228,78	106505	379,42	101680	422,54	274024	187,87	91089	330,53	87124	371,41	21,8 %	14,8 %	13,8 %		
Малярия впервые выявленная	50	0,03	0	0,00	0	0,00	22	0,02	0	0,00	0	0,00	2,3 раз				
Трихинеллез	79	0,05	11	0,04	10	0,04	13	0,01	2	0,01	2	0,01	6,1 раз	9 сл.	8 сл.		
Поствакцинальные осложнения	91	0,06	85	0,30	82	0,34	80	0,05	73	0,26	72	0,31	13,6 %	14,3 %	11,0 %		

* Используются материалы Роспотребнадзора РФ/ <http://www.rospotrebnadzor.ru/activities/statistical-materials/>

Лабораторная диагностика ВИЧ-инфекции

Загрядская Ю.Е., Обрядина А.П.

Современные подходы к диагностике ранней и длительно текущей ВИЧ-инфекции

ООО "НПО "Диагностические системы", г. Нижний Новгород

В настоящее время масштабы распространения ВИЧ-инфекции в мире приобрели глобальный характер и представляют реальную угрозу социально-экономическому развитию большинства стран, в том числе и России. По оценкам Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), на конец 2014 г. в мире насчитывалось примерно 36,9 (34,3-41,4) млн людей живущих с ВИЧ-инфекцией, около 2 (1,9-2,2) млн новых случаев ВИЧ-инфекции, и 1,2 (980000-1,6) млн человек умерли от причин, связанных с вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) [1].

Общее число россиян, инфицированных ВИЧ, зарегистрированных в Российской Федерации по состоянию на 31 декабря 2015 г. составило 1 008 675 человек (по данным персонифицированного учета), из них умерло по разным причинам 212 579 ВИЧ-инфицированных, в том числе 27 564 человек – в 2015 г. (на 12,9% больше, чем в 2014 г.). В 2015 г. территориальными центрами по профилактике и борьбе со СПИД сообщено о 95 475 новых случаях ВИЧ-инфекции среди граждан РФ (исключая выявленных анонимно и иностранных граждан), что на 9,8% больше, чем в 2014 г. Показатель пораженности ВИЧ-инфекцией в 2015 г. составил 543,0 на 100 тыс. населения России (2014 г. – 498,2). Показатель заболеваемости ВИЧ-инфекцией в 2015 г. составил 65,2 на 100 тыс. населения (2014 г. – 58,4 на 100 тыс. населения) [2].

Высокие показатели заболеваемости и смертности от ВИЧ-инфекции подчеркивают необходимость ее раннего выявления, внедрения современных и эффективных методов диагностики, профилактики и лечения. Ранняя диагностика ВИЧ-инфекции имеет большое значение для противодействия эпидемии данного заболевания – с одной стороны, она обеспечивает своевременное начало адекватной терапии, с другой стороны, помогает осуществлять профилактику дальнейшего распространения ВИЧ.

Современная лабораторная диагностика ВИЧ-инфекции основана на выявлении антител к ВИЧ и вирусных антигенов при помощи метода иммуноферментного анализа (ИФА) и/или иммуноблоттинга, а также (в особых случаях) – на выявлении провирусной ДНК и вирусной РНК с использованием молекулярно-генетических методов.

Применение стандартных лабораторных тестов позволяет установить факт заражения вирусом. Однако для оценки эпидемиологической ситуации в конкретном регионе, эпидемиологического расследования в очаге, ведения эпидемиологического мониторинга в целях обеспечения надзора за ВИЧ-инфекцией, а также для разработки долгосрочных профилактических программ большое значение имеет определение давности заражения ВИЧ.

В последние годы лабораторная служба за рубежом по-

лучила дополнительную возможность определять не только распространенность (prevalence) ВИЧ-инфекции, но и другой важнейший эпидемиологический показатель – частоту возникновения новых случаев инфекции (incidence), который предоставляет новые возможности для оценки течения эпидемии. Получение этих сведений возможно только при условии введения в практику эпидемиологического слежения за ВИЧ-инфекцией специальных лабораторных методов [3].

В данном обзоре представлены некоторые результаты современных исследований ряда зарубежных и отечественных авторов в этой области.

Так, в работе Murphy G., Parry J.V проведен анализ алгоритма исследований с использованием тест-систем для выявления случаев раннего инфицирования вирусом иммунодефицита человека 1 типа (ВИЧ-1) [4]. Рассматриваемый в работе алгоритм серологического тестирования для категории лиц с недавней сероконверсией ВИЧ (STARHS) является общим для нескольких лабораторных методов, позволяющих дифференцировать раннюю ВИЧ-1-инфекцию от длительно текущей. Существуют и некоторые другие подходы для определения острой сероконверсии при ВИЧ-инфекции, но методы STARHS отличаются способностью выявлять случаи инфекции, если с момента инфицирования прошло от 4 до 6 месяцев. Первоначально методы STARHS применяли на индивидуальном уровне, однако основная потенциальная польза заключается в их использовании для оценки увеличения или снижения темпов прироста новых случаев заражения ВИЧ на популяционном уровне в ходе кросс-секционных серологических исследований. Это существенно проще и дешевле, чем при проведении когортных исследований. Таким образом, применение методов STARHS значительно облегчает своевременный мониторинг воздействия на инцидентность ВИЧ-инфекции демографических, поведенческих и профилактических факторов. В исследовании рассмотрены тесты, используемые в методике STARHS. Кроме того, обсуждаются принципы, лежащие в основе этих тестов, описаны ограничения исследований и сопутствующие факторы, которые могут негативно повлиять на специфичность тестов. В работе представлена модель алгоритма тестирования с использованием метода STARHS. Авторы разработали практические рекомендации по улучшению качества лабораторных исследований для повышения эффективности тестирования при помощи алгоритма STARHS, которые, по их мнению, позволяют улучшить воспроизводимость результатов анализов и обеспечить надежность оценочного показателя инцидентности.

Разработаны лабораторные диагностикумы (модифика-

ции ИФА или экспресс-тестов), основанные на оценке титра и avidности антител к ВИЧ, с помощью которых можно отличить недавнюю ВИЧ-инфекцию от длительно текущей.

Так, Shepherd S.J. и соавт. проводили исследование при помощи модифицированной коммерческой ИФА-тест-системы, в качестве диссоциирующего агента использовали раствор 7М мочевины [5]. Первоначально определяли avidность антител к ВИЧ в определенной группе пациентов с наличием клинических признаков. Затем провели проспективное исследование для оценки доли ложных результатов выявления ранней инфекции (FRR, false recent rate) у лиц с длительно текущей инфекцией и оценки средней продолжительности раннего периода инфицирования (СПРПИ). Для определения валидности теста исследовали образцы плазмы крови пациентов, разделенных на две группы: группа 1 – пациенты с недавней инфекцией, $n=25$ и группа 2 – пациенты с текущей инфекцией, $n=301$. В проспективное исследование были включены 178 пациентов с впервые установленным диагнозом ВИЧ-инфекции. В ходе ретроспективного анализа были собраны и исследованы в общей сложности 326 образцов плазмы крови от пациентов с известным ВИЧ-статусом. При первоначальной оценке уровень чувствительности составил 100% (95% ДИ: 86,16–100%) и уровень специфичности – 98,65% (95% ДИ: 97,05–99,78%). Среди 178 пациентов, включенных в данное проспективное исследование, у 22 пациентов выявлены антитела к ВИЧ с низкой avidностью. С учетом дополнительных образцов, полученных от пациентов с наличием низко-avidных антител, СПРПИ составила 3–4 месяца, а уровень FRR – 0,89% (95% ДИ: 0,24–2,3%). Представленные результаты настоящего исследования по показателям чувствительности, специфичности и проценту FRR практически идентичны результатам аналогичных опубликованных исследований по определению avidности антител к ВИЧ.

Большой интерес представляет исследование Duong Y.T. и соавт. по выявлению новых случаев ВИЧ-инфекции при помощи теста с лимитированным содержанием антигена для определения avidности антител к ВИЧ-1, по результатам которого показано его потенциальное значение для оценки уровня инцидентности данной инфекции [6]. Ранее авторами была оценена ИФА тест-система с лимитированным содержанием антигена для определения avidности антител в одной лунке ("LAg-Avidity") с целью выявления ранней ВИЧ-1-инфекции. В дальнейшем они проделали работу по оптимизации и улучшению аналитических характеристик тест-системы "LAg-Avidity" и сравнивали полученные результаты с результатами исследований при помощи двух других тест-систем: 1) BED assay для количественного определения антител к ВИЧ методом ловушечного ИФА и 2) IA-EIA–ИФА тест-системы для определения индекса avidности (ИА) по результатам в двух лунках. В рамках лонгитудинального анализа были исследованы следующие группы образцов сывороток крови: образцы сывороток крови ($n=393$) от 89 пациентов из 4 когорт лиц, инфицированных ВИЧ-1 четырех разных субтипов, полученные в период сероконверсии, а также образцы сывороток крови ($n=488$) от пациентов из 3 разных когорт – от больных СПИДом, от пациентов с коинфекцией ВИЧ/туберкулез и без нее. Девяносто семь образцов являлись коммерческими образцами сывороток крови от пациентов, инфицированных ВИЧ-1. Необходимые серологические исследования на ВИЧ проводили при помощи

тест-систем BED assay, LAg-Avidity, IA-EIA.

Продемонстрирована высокая воспроизводимость результатов анализа при помощи тест-системы "LAg-Avidity", значения коэффициента вариации не превышали 10%. Для тест-системы "LAg-Avidity" средняя продолжительность раннего периода после заражения (ω) составила 141 день (95% ДИ: 119–160) при величине критической нормированной оптической плотности (КНОП) равной 1,0; аналогичное значение ω получено при обследовании лиц, инфицированных ВИЧ-1 различных субтипов (132–143 дня). Кинетика avidности антител при исследовании образцов сывороток крови в группах пациентов, инфицированных ВИЧ-1 четырех разных субтипов, была аналогичной при определении с использованием тестов "LAg-Avidity" и IA-EIA и сопоставимой с уровнями IgG к ВИЧ, измеренными при помощи тест-системы BED assay. Уровень FRR в группе больных СПИДом при использовании "LAg-Avidity" составил 0,2% по сравнению с 2,9% при использовании тест-системы BED assay. Результаты исследования образцов с нарастающей avidностью при помощи иммунного блота подтвердили правильность выявления недавней ВИЧ-1-инфекции.

Авторы сделали вывод, что применение тест-системы "LAg-Avidity" является перспективным подходом для дифференциации ранней и текущей ВИЧ-инфекции. Исследования с использованием данной тест-системы могут быть полезными для: 1) оценки инцидентности ВИЧ-1-инфекции при кросс-секционном исследовании образцов в рамках эпиднадзора за ВИЧ-инфекцией, 2) выявления факторов риска, 3) определения воздействия программ по профилактике, и 4) изучения avidности как индикатора "созревания" антител при проведении испытаний вакцины. СПРПИ и неправильно классифицированный срок давности заражения у пациентов с текущей ВИЧ-1-инфекцией, определяемый как FRR, являются критическими параметрами для лабораторных исследований при оценке инцидентности инфекции, вызванной ВИЧ-1.

Недавно Duong Y.T. и соавт. провели перекалибровку ИФА тест-системы "LAg-Avidity" с лимитированным содержанием антигена для определения avidности антител к ВИЧ с целью уточнения СПРПИ [7]. Авторы исследования представили результаты работы по перекалибровке теста на более чем 250 сероконверсионных панелях сывороток крови и последующей статистической обработке несколькими методами с использованием критериев согласия и точности. В ходе лонгитудинального исследования при помощи тест-системы "LAg-Avidity" были протестированы в общей сложности 2737 образцов сывороток крови, полученных от 259 сероконверторов, инфицированных ВИЧ-1 различных субтипов. Определяли СПРПИ с величиной КНОП, равной 1,0–2,0 для ВИЧ-1 разных субтипов, обработку результатов проводили с использованием 7 различных статистических методов. Кроме того, для определения FRR при различных значениях КНОП исследовали образцы сывороток крови от 3740 лиц с давностью инфекции более 1 года, в том числе от 488 больных СПИДом.

На основании полученных новых данных и углубленного анализа результатов исследований, авторы данной работы рекомендовали КНОП=1,5 для классификации ранней и текущей инфекции, что соответствует СПРПИ в 130 дней (118–142).

Использование уточненных параметров ИФА-тест-системы "LAg-Avidity" для оценки инцидентности ВИЧ-1-

инфекции должно, по мнению авторов, способствовать широкомасштабному внедрению этого исследования в медицинскую практику.

Точные методы оценки инцидентности ВИЧ-1-инфекции имеют большое значение для эпидемиологического мониторинга и оценки действенности и эффективности профилактических стратегий. Несмотря на то, что ряд лабораторных тестов был разработан исключительно для этой цели, существуют некоторые ограничения их применения, поэтому исследователи не останавливаются на достигнутом и постоянно ищут более совершенные методы и технологии.

Так, Curtis K.A. и соавт. из Центра по контролю и профилактике заболеваний (США, Атланта) была проведена работа по дальнейшей оптимизации ранее описанного ВИЧ-1-специфического мультиплексного анализа на основе микросфер с возможностью определения антител к нескольким антигенам для выявления ранней инфекции, вызываемой ВИЧ-1 [8]. В ходе лонгитудинального исследования авторы определяли реактивность образцов сывороток крови ($n=1347$) от 311 ВИЧ-1-инфицированных пациентов, ранее не получавших антиретровирусную терапию (АРТ), взятых в период сероконверсии. Уровень FRR рассчитывали для различных когорт пациентов, включающих больных СПИДом, пациентов с давней ВИЧ-инфекцией, получающих АРТ, и для пациентов, инфицированных ВИЧ-1 субтипа С. Инцидентность оценивали при исследовании конкретного вида аналита в каждой моделируемой популяции с известным показателем инцидентности, равным 1%. Для совершенствования оценки показателей инцидентности, использовали алгоритмы мультианализа, основанного на исследовании комбинации 3-6 анализируемых компонентов; оценивали и сопоставляли характеристики каждого аналита. СПРПИ при раздельном определении каждого из шести анализируемых компонентов варьировал от 164,2 до 279,4 дней, в то время как при использовании алгоритмов мультиплексного анализа диапазон значений СПРПИ варьировал от минимального 228,4 дней до максимального, равного 277,9 дням, соответственно. Уровень FRR для 7 алгоритмов мультианализа, оцениваемых в данном исследовании, варьировал от 0,3 до 3,1% в популяции пациентов с текущей инфекцией, не получающих АРТ. Все алгоритмы мультианализа продемонстрировали более точные показатели инцидентности по сравнению с результатами раздельного определения аналитов, прогноз роста инцидентности инфекции—от 0,95 до 1,02%.

Описанный в данном исследовании мультиплексный анализ на основе определения антител к нескольким инфекционным антигенам в одном исследовании, позволяет рассматривать использование мультианалитных алгоритмов для повышения достоверности оценки уровня инцидентности ВИЧ-инфекции.

На протяжении нескольких последних лет российские ученые также ведут активные исследовательские работы по созданию новых технологий и испытанию возможностей известных методов диагностики в целях совершенствования эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией.

Так, коллектив сотрудников Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора РФ предложил использование таких молекулярных методов как определение нуклеотидных последовательностей участков генома ВИЧ для

проведения филогенетического анализа, который позволит получить дополнительную информацию о взаимосвязи между пациентом и предполагаемым источником инфекции [9]. Авторы исходили из того факта, что ВИЧ обладает высоким уровнем генетической изменчивости. Поэтому применение эволюционного филогенетического анализа последовательностей позволяет определить степень генетического родства, выявляя минимальные различия в генах ВИЧ и определяя генетическую дистанцию между штаммами. Зачастую вследствие невозможности обнаружения штаммов вируса с идентичным геномом, анализ в первую очередь применяется для исключения возможных источников инфекции. Однако в ряде случаев использование молекулярных методов вместе с анализом эпидемиологической информации, позволяет с большей долей вероятности установить предполагаемый источник инфекции. Согласно мнению исследователей, филогенетический анализ успешно может использоваться в качестве метода дополняющего традиционные методы эпидемиологического расследования. В то же время авторы обращают внимание на отсутствие в России нормативных правовых актов, регламентирующих применение молекулярных методов при проведении эпидемиологического расследования случаев ВИЧ-инфекции. Отмечая явную пользу применения филогенетического анализа для повышения качества проводимых противоэпидемических мероприятий и ограничения распространения ВИЧ-инфекции, авторы предложили создать нормативно-правовую базу для применения этого метода в практическом здравоохранении.

Наряду с этим специалисты ООО "НПО "Диагностические системы" (г. Нижний Новгород) совместно с коллегами КГБУЗ "Красноярский краевой центр по профилактике и борьбе со СПИД" (г. Красноярск) разработали ИФА-тест-систему "ДС-ИФА-ВИЧ-АТ-СРОК", не имеющую аналогов в России и странах ближнего зарубежья, и провели исследование по оценке эффективности данной тест-системы для установления вероятных сроков инфицирования ВИЧ-1 [10]. Авторы работы исследовали образцы сывороток (плазмы) крови ВИЧ-инфицированных лиц с эпидемиологически установленным сроком заражения ($n=281$) и образцы коммерческих сероконверсионных панелей. Образцы сывороток (плазмы) крови были предоставлены КГБУЗ "Красноярский краевой центр по профилактике и борьбе со СПИД". Результаты проведенного исследования показали, что вероятность правильного определения давности заражения ВИЧ-1 составила 95% для образцов от лиц с наиболее вероятным сроком установленного факта инфицирования и 100% для образцов коммерческих сероконверсионных панелей. Полученные данные продемонстрировали высокую эффективность тест-системы "ДС-ИФА-ВИЧ-АТ-СРОК" при определении вероятных сроков заражения вирусом иммунодефицита человека 1 типа, что в сочетании с быстротой и простотой выполнения процедуры позволяет рекомендовать ее к использованию в лабораторной практике. Подробно материалы, методы и результаты исследования с использованием данной тест-системы изложены в оригинальной статье авторов, опубликованной на страницах журнала "Эпидемиология и инфекционные болезни".

Не меньший интерес представляют опубликованные результаты работы коллективов сотрудников КГБУЗ "Красноярский краевой центр по профилактике и борьбе

со СПИД" и ООО "НПО "Диагностические системы" о совместном использовании филогенетического анализа и определения давности инфицирования при расследовании внутрибольничного заражения ВИЧ-инфекцией [11]. Эпидемиологическое расследование проводили по результатам исследования образцов плазмы крови предполагаемых источника и реципиента вируса (с наличием подтвержденного положительного ВИЧ-статуса) при помощи молекулярно-генетического и иммуноферментного методов. Для определения давности заражения ВИЧ использовали тест-систему "ДС-ИФА-ВИЧ-АТ-СРОК". Срок заражения ранжировали согласно инструкции к тест-системе на две категории: 1) менее 9 месяцев с момента вероятного заражения и 2) более 9 месяцев с момента инфицирования. В ходе филогенетического анализа была установлена высокая степень совпадения РНК ВИЧ, выделенных у диспансерного больного и пациента с вновь выявленным случаем инфекции. Во всех случаях перестроения филогенетических деревьев эти два лица кластеризовались вместе. На этом этапе невозможно было достоверно установить, кто является источником инфицирования, несмотря на то, что у диспансерного пациента ВИЧ-инфекция была диагностирована раньше. Дополнительное исследование на давность заражения с использованием ИФА-тест-системы помогло установить, что вновь выявленный пациент находился на ранней стадии заражения (до 9 месяцев), а диспансерный – на поздней. Данные эпидемиологического анамнеза заболевания диспансерного пациента подтвердили правильность лабораторного заключения о давности инфицирования. Авторы отмечают, что и серологическое исследование на давность заражения, и филогенетический анализ не могут гарантировать 100% точность во всех случаях. Однако совместное использование нескольких методов с высокими диагностическими характеристиками позволяет установить не только взаимосвязь между инфицированием у разных лиц, но и определить источник заболевания.

Совсем недавно специалисты КГБУЗ "Красноярский краевой центр по профилактике и борьбе со СПИД" и ООО "НПО "Диагностические системы" опубликовали результаты работы, цель которой состояла в оценке точности моделирования эпидемии ВИЧ-инфекции, используя стандартные эпидемиологические данные, дополненные частотой встречаемости ранних случаев заражения [12]. В период 2011–2014 гг. авторы выполнили ретроспективное моделирование динамики эпидемии с учетом количества вновь заражающихся и умирающих ВИЧ-инфицированных лиц. Моделирование динамики ВИЧ-инфекции выполнили ретроспективно с использованием коэффициента прироста ВИЧ-инфекции в популяции. Данный параметр – экспериментально установленное значение, которое было вычислено на основании частоты встречаемости ранних случаев заражения. Оценку недавней ВИЧ-инфекции проводили у лиц с отрицательным/неопределенным результатом иммунного блота и выявленным р24 антигеном (ИБ- р24+, ИБ+/- р24+), а также выборочно у лиц с положительным иммунным блотом (ИБ+). Использование в диагностическом алгоритме дополнительного анализа для определения давности заражения позволило авторам исследования рассчитать вероятное количество вновь заражающихся через частоту встречаемости ранних случаев инфицирования в популяции. Исследователи отметили, что в среднем один

"упущенный" человек может заражать в год дополнительно еще одного партнера ($0,64 \pm 0,09$ человек) ($p < 0,05$). Авторы показали, что разница между этим значением и летальностью позволяет вычислить коэффициент прироста, который является параметром скорости развития эпидемии и характеризует краткосрочный тренд развития заболевания. Анализ точности прогноза проведен в сравнении с истинным количеством выявленных случаев ВИЧ-инфекции и методом наименьших квадратов. Средняя ошибка прогноза с использованием коэффициента прироста составила 4%, а метода наименьших квадратов – 26% при сравнении с истинным количеством выявленных случаев ВИЧ-инфекции. По результатам проведенной работы исследователи сделали вывод, что частота встречаемости ранних случаев заражения может быть критерием эффективности профилактической, противоэпидемической работы и позволяет рассчитать минимально необходимый объем скрининга, при котором тренд развития эпидемии может быть нисходящим.

Проведение эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией в Российской Федерации регламентируется Федеральным законом от 30.03.1995 №38-ФЗ "О предупреждении распространения в Российской Федерации заболевания, вызываемого вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ-инфекция)", Федеральным законом от 30.03.1999 № 52-ФЗ "О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения" и санитарно-эпидемиологическими правилами СП 3.1.5.2826-10 "Профилактика ВИЧ-инфекции", утвержденными Постановлением главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 11.01.2011 №1. Кроме того, 26.02.2016 главным государственным санитарным врачом РФ были утверждены методические указания МУ 3.1.3342 -16 "Эпидемиологический надзор за ВИЧ-инфекцией", ставшие первым официальным документом, подчеркнувшим, что "определение сроков заражения позволяет дать оценку развития эпидпроцесса, протекающего на данной территории, качества проводимых противоэпидемических, профилактических, информационно-просветительских мероприятий среди населения. Целесообразно оценивать сроки заражения на основании нескольких признаков" [13]. Отдельный раздел данного документа посвящен также использованию генотипирования ВИЧ и филогенетического анализа при проведении эпидемиологического расследования случаев ВИЧ-инфекции.

Таким образом, разработка отечественных тест-систем, поиск подходов к составлению более точного прогноза динамики ВИЧ-инфекции и их активное внедрение в практическое здравоохранение позволят усовершенствовать эпидемиологический надзор за распространением ВИЧ-инфекции на территории РФ, процедуру эпидемиологических исследований новых случаев инфицирования, а также диагностику ВИЧ-инфекции в стране в целом.

Литература.

1. ВИЧ/СПИД. - Информационный бюллетень ВОЗ. Июль 2016; (360) Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs360/ru/>
2. Государственный доклад "О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2015 году". Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. М.; 2016:106-8. <http://rosпотребнадзор.ru/>

3. Бобкова М.Р., Лаповок И.А. Лабораторные методы дифференциальной диагностики острой, ранней и текущей ВИЧ-инфекции (лекция). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2007; 12: 25-32

4. Murphy G., Parry J.V. Assays for the detection of recent infections with human immunodeficiency virus type 1. *Euro Surveill*. 2008; 13 (36)

5. Shepherd S.J., McAllister G., Kean J., Wallace L.A., Templeton K.E., Goldberg D.J. et al. Development of an avidity assay for detection of recent HIV infections. *J. Virol. Methods*. 2015; 217:42-9

6. Duong Y.T., Qiu M., De A.K., Jackson K., Dobbs T., Kim A.A. et al. Detection of recent HIV-1 infection using a new limiting-antigen avidity assay: potential for HIV-1 incidence estimates and avidity maturation studies. *PLoS One*. 2012; 7(3): e33328

7. Duong Y.T., Kassanjee R., Welte A., Morgan M., De A., Dobbs T. et al. Recalibration of the limiting antigen avidity EIA to determine mean duration of recent infection in divergent HIV-1 subtypes. *PLoS One*. 2015; 10 (2): e0114947

8. Curtis K.A., Hanson D.L., Kennedy M.S., Owen S.M. Evaluation of a multiplex assay for estimation of HIV-1 incidence. *PLoS One*. 2013; 8(5): e64201

9. Лопатухин А.Э., Киреев Д.Е., Кувейда Д.А. Возможности молекулярных методов при проведении эпидемиологического расследования случаев ВИЧ-инфекции. *Инфекция и иммунитет*. 2012; 2 (1-2):417-8

10. Загрядская Ю.Е., Нешумаев Д.А., Кокотюха Ю.А., Мейрманова Е.М., Ольховский И.А., Пузырев В.Ф. и др. Оценка новой тест-системы "ДС-ИФА-ВИЧ-АТ-СРОК" для определения вероятных сроков заражения вирусом иммунодефицита человека 1 типа. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2015; 20 (3): 23-7

11. Нешумаев Д.А., Татьяна Е.А., Малышева М.А., Шевченко Н.М., Кокотюха Ю.А., Мейрманова Е.М. и др. Опыт совместного использования филогенетического анализа и определения давности инфицирования при расследовании внутрибольничного заражения ВИЧ-инфекцией. В кн.: *Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием "Молекулярная диагностика -2014"*. М.: 2014; т. I: 64-5.

12. Нешумаев Д.А., Малышева М.А., Шевченко Н.М., Кокотюха Ю.А., Мейрманова Е.М. и др. Моделирование динамики эпидемии ВИЧ-инфекции с использованием частоты встречаемости ранних случаев заражения. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2016; 8 (2): 53-60

13. *Методические указания МУЗ.1.3342 - 16 "Эпидемиологический надзор за ВИЧ-инфекцией"*, утв. Роспотребнадзором РФ 26.02.2016 г. М.; 2016.

Загрядская Ю.Е., Обрядина А.П.

Клинические аспекты лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции

ООО "НПО "Диагностические системы", г. Нижний Новгород

Настоящий обзор литературы посвящен отдельным клиническим аспектам лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции, являющимся предметом научных исследований и разработок ряда зарубежных авторов, которые могут представлять интерес для специалистов практического здравоохранения.

Одним из этих аспектов является появление лекарственно-резистентных штаммов вируса иммунодефицита человека (ВИЧ). Высокоактивная антиретровирусная терапия (ВААРТ), которая должна проводиться пациенту пожизненно, может оказаться неэффективной в связи с появлением резистентности к антиретровирусным (АРВ) препаратам. В связи с высокой степенью генетической вариативности ВИЧ, активной репликацией вируса и необходимостью длительного приема АРВ-препаратов возникновение резистентности ВИЧ неизбежно. Резистентность потенциально развивается ко всем АРВ-препаратам и может проявляться уже через 14-28 дней после назначения препарата [1].

Несмотря на то, что последние несколько лет характеризуются снижением распространенности первичной (передаваемой) резистентности в связи с оптимизацией лечения, наблюдается появление множественно устойчивых штаммов ВИЧ.

В мире 9,7 млн человек получали антиретровирусную терапию (АРТ) к концу 2012 г. В странах с высоким уровнем дохода (в странах Западной Европы, Северной Америки, Австралии и Японии) средний уровень распространенности первичной резистентности у лиц, не имевших опыта применения АРТ, в последние годы составляет 10,0-17,0%, оставаясь стабильным последнее десятилетие. В странах с низким и средним уровнем дохода распространенность первичной резистентности возросла в период 2003-2010 гг., достигнув максимума—6,6% в 2009 г.

Для пациентов, получающих АРТ, в зависимости от длительности приема препаратов уровень распространенности резистентности может составлять от 5,0-18,8% в течение первых 12 месяцев терапии до существенно более высоких показателей в последующие годы. Среди пациентов с вирусологической неэффективностью терапии через 12 месяцев после ее начала 60,0-81,0% в разных регионах мира имеют резистентность ВИЧ к АРВ-препаратам, в основном к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы (НИОТ) и нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы (ННИОТ), у остальных пациентов основной причиной неэффективности терапии является низкая приверженность лечению.

В Российской Федерации в 2006-2010 гг. в 18 исследу-

емых регионах передающаяся лекарственная устойчивость ВИЧ встречалась с низкой частотой - менее 5%, однако ее распространенность ежегодно увеличивалась [1].

В связи с тем, что клиницистам приходится решать вопросы о целесообразности применения АРТ ВИЧ-инфекции, подбирать эффективные схемы АРТ, химиопрофилактики передачи ВИЧ-инфекции от матери к ребенку и схемы постконтактной химиопрофилактики, лабораторные исследования на резистентность ВИЧ среди всех вновь выявленных пациентов рекомендовано проводить до начала применения ВААРТ.

Исследователи из Японии (Hattori J. и соавт.) опубликовали результаты большого национального эпидемиологического исследования за период с 2003 по 2008 год, в ходе которого было проведено изучение тенденций в трансмиссии лекарственно-резистентных форм ВИЧ-1 и демографических характеристик пациентов с впервые выявленной инфекцией [2]. Авторы отметили, что распространенность резистентности ВИЧ-1 к антиретровирусным препаратам за анализируемый 6-летний период при обследовании 2573 пациентов (преимущественно японских мужчин старше 30 лет, инфицированных при гомосексуальных контактах с мужчинами (МСМ)), возросла с 5,9% (16/273) в 2003 до 8,3% (50/605) в 2008 году. Мутации, связанные с резистентностью к препаратам, относящимся к группе НИОТ, преобладали в каждом году наблюдения, наиболее распространены мутации устойчивости ВИЧ к Т215-ревертантам. Прогностическими факторами для передачи лекарственно-резистентных форм ВИЧ-1 были: субтип В (отношение шансов (ОШ)=2,36; $p=0,004$) и мужской пол для впервые выявленной ВИЧ-1-инфекции (ОШ=3,79; $p=0,009$), поведение МСМ (ОШ=1,67; $p=0,01$), национальность (японцы) (ОШ=2,31; $p=0,008$) и субтип В (ОШ=5,64; $p<0,05$). Авторы исследования подчеркивают необходимость дальнейших исследований с целью повышения осведомленности о рисках, связанных с ВИЧ-1-инфекцией и возможных осложнениях, возникающих при инфицировании лекарственно-резистентными штаммами, и понимания тенденций в развитии эпидемии ВИЧ-1-инфекции.

Авторы другого исследования (Eaton J.W., Hallett T.B.) выясняли, почему доля случаев заражения на ранней стадии ВИЧ-инфекции не является предиктором отдаленных результатов влияния терапии на уровень инцидентности ВИЧ-инфекции [3]. Хорошо известно, что применение АРТ снижает уровень заболеваемости ВИЧ-инфекцией, но это осуществимо только после подтверждения результатов тестирования, проведения соответствующих лечебных мероприятий и достижения уровня достоверной вирусной супрессии. Однако большая часть случаев передачи ВИЧ происходит в период высокой контагиозности вируса - в течение первых нескольких месяцев после заражения ("ранняя трансмиссия"), до тестирования и начала АРТ и, соответственно, воспринимается как угроза стратегии "Лечение как профилактика" по АРТ-противодействию распространения ВИЧ. Для того чтобы оценить влияние доли "ранней трансмиссии" на эффективность АРТ, как и снижение инцидентности ВИЧ-инфекции, авторы данного исследования разработали математическую модель развития "гетеросексуальной" эпидемии ВИЧ-инфекции. Модель строили с учетом стадий ВИЧ-инфекции, различных типов сексуальных контактов и изменения рискованного в

отношении ВИЧ поведения на протяжении эпидемического процесса. Модель была откалибрована на данных распространенности ВИЧ-инфекции в странах Южной Африки с использованием байесовских методов анализа.

Обнаружено, что доля "ранней трансмиссии" оказывает незначительное влияние в долгосрочной перспективе на связь АРТ и инцидентность ВИЧ-инфекции. Авторы объясняют это тем, что для более ранних передач наблюдается короткое время генерации, в данном случае - более низкие показатели основных значений репродуктивного числа (R_0), что согласуется с наблюдаемым ростом эпидемии; R_0 отрицательно коррелирует с долгосрочными последствиями терапии. Доля новых случаев передачи инфекции зависит от биологических факторов, поведенческих моделей и стадии эпидемического процесса, и сама по себе не может служить предиктором долгосрочных последствий терапии. Тем не менее, по мнению авторов работы, определение частоты выявления новых случаев ВИЧ-инфекции (в начале передачи) может быть важным определяющим фактором, влияющим на развитие исхода краткосрочных испытаний и для оценки программ.

Группа исследователей из Китая (Zhang F. и соавт.), изучавшая влияние раннего начала антиретровирусной терапии и увеличения охвата терапией на показатели смертности от ВИЧ-инфекции в Китае, представила результаты национального обсервационного когортного исследования [4]. В связи с тем, что в настоящее время в Китае отсутствуют литературные данные об общей смертности от ВИЧ-инфекции в стране, авторами был проведен анализ показателей общей смертности среди взрослого населения, живущего с ВИЧ, и осуществлена попытка выявить факторы риска смерти от причин, связанных с этой инфекцией. Авторы работы анализировали сведения за период с 1985 по 2009 гг., полученные из национальной базы данных по эпидемиологии и терапии ВИЧ-инфекции. В исследование были включены ВИЧ-инфицированные пациенты старше 15 лет, соответствующие критериям назначения ВААРТ. Показатели смертности рассчитывали в человеко-годах; факторы риска определяли при помощи пропорционального регрессионного анализа по Коксу. Охват населения терапией выражали как долю лиц длительно получающих ВААРТ, назначенную по медицинским показаниям. Расчеты проводили при помощи метода логистической регрессии с учетом факторов риска у пациентов, не получавших ВААРТ. По данным авторов из 323 252 ВИЧ-инфицированных, зарегистрированных в Китае к концу 2009 г., 145 484 (45%) человек соответствовали критериям назначения терапии и были включены в данное исследование. Среднее количество CD4-клеток составляло 201 кл/мкл (межквартильный интервал - 71-315) при постановке диагноза ВИЧ-инфекции и 194 кл/мкл (73-293) при включении в программу терапии. Показатель общей смертности снизился с 39,3 на 100 человеко-лет в 2002 г. до 14,2 на 100 человеко-лет в 2009 г., а охват терапией одновременно увеличился с практически нулевого значения до 64,4%. К 2009 г. показатели смертности были выше, а охват терапией - ниже среди потребителей инъекционных наркотиков (15,9 на 100 человеко-лет; охват 42,7%) и у инфицированных половым путем (17,5 на 100 человеко-лет; охват 61,7%) по сравнению с инфицированными при переливании крови и ее продуктов (6,7 на 100 человеко-лет; охват 80,2%). Исследователи отметили, что основными

факторами риска смерти от ВИЧ-инфекции были отсутствие соответствующего лечения (скорректированное отношение рисков 4,35; 95% ДИ: -4,10-4,62) и количество CD4-клеток ниже 50 кл/мкл при включении в программу терапии (7,92; 95% ДИ: 7,33-8,57). Авторы пришли к выводу о необходимости более ранней диагностики и лечения ВИЧ-инфекции у потребителей инъекционных наркотиков и лиц инфицированных половым путем, особенно в период до начала развития тяжелой степени иммуносупрессии.

Важным клинико-эпидемиологическим аспектом является ранняя диагностика ВИЧ-инфекции у детей первого года жизни. Su X. и соавт. из Китая представили результаты своего исследования в данном направлении [5]. Поскольку в Китае в 1,1% случаев ВИЧ-инфекции зарегистрирована перинатальная передача вируса от матери ребенку (во время беременности, родов и при грудном вскармливании), ВИЧ-инфекция у детей является тяжелым бременем для семьи и общества. Ранняя диагностика ВИЧ-инфекции у детей первого года жизни (младенцев) имеет решающее значение для снижения показателей младенческой смертности. Для ранней диагностики ВИЧ-инфекции у младенцев в Китае авторы данной работы исследовали образцы, полученные методом "сухой капли крови" (СКК) для выявления антител к ВИЧ.

В ходе исследования было выявлено 280 детей, рожденных ВИЧ-инфицированными матерями в четырех различных провинциях Китая, где были зарегистрированы случаи инфекции, вызванной ВИЧ различных субтипов. Инфекционный статус (наличие/отсутствие ВИЧ-инфекции) у детей раннего возраста (не ранее 18 месяцев) определяли по детекции антител к ВИЧ при помощи ИФА и последующего подтверждения в иммунном блоте или на основании клинических и эпидемиологических данных для умерших младенцев. В течение всего периода наблюдения в общей сложности были собраны 1028 образцов СКК, которые были протестированы в ИФА на наличие антител к ВИЧ и оценены по значению коэффициента позитивности (КП) теста. При исследовании образцов СКК от неинфицированных младенцев, наблюдалось снижение КП по мере увеличения возраста детей. Наибольшее снижение процента выявления антител к ВИЧ отмечено в возрасте от 6 до 9-месяцев, а у 98,7% детей 12-месячного возраста зарегистрирована сероинверсия (недетектируемый уровень антител). При исследовании образцов СКК инфицированных младенцев, минимальные значения КП чаще регистрировались у детей в возрасте не старше 6 месяцев. У детей в возрасте 6 месяцев и старше прогностическая ценность отрицательного результата выявления антител составила 100%. По увеличению значения КП $\geq 1,86$ при исследовании образцов СКК после трех месяцев наблюдения можно было предположить положительный ВИЧ-статус. При пороговом значении КП, равном 3,17 чувствительность теста составила 100%, а специфичность – не менее 94,2%, что позволило дифференцировать инфицированных и неинфицированных детей в возрасте 9 месяцев и старше. Авторы пришли к заключению, что диагностировать наличие инфекции у младенцев можно уже в 3-месячном возрасте, а снять диагноз – начиная с 6-месячного возраста. Специалисты выразили надежду, что полученные результаты исследования помогут усовершенствовать стратегию ранней диагностики ВИЧ-инфекции у детей раннего возраста Китая.

Небезынтересны в эпидемиологическом и профилактическом плане результаты исследования Eуawo O. и соавт., изучавших серологический статус в супружеских парах, дискордантных в отношении ВИЧ/СПИДа, проживающих в странах Африки к югу от Сахары, для установления распределения ВИЧ-позитивных по полу в таких парах [6]. Своим исследованием авторы попытались изменить установившееся мнение о том, что в большинстве пар чаще первыми инфицируются мужчины, поскольку социальные маркетинговые и информационные кампании ориентированы преимущественно на мужское население.

Авторами работы проведен систематический обзор и мета-анализ случайных факторов, анализ (методом мета-регрессии) опубликованных и неопубликованных исследований с участием ВИЧ-дискордантных пар, а также оценена доля мужчин и женщин, инфицированных в таких парах первыми. Авторы проанализировали демографические данные и результаты медицинского обследования (МО) пар из 14 стран, у которых определяли ВИЧ-статус. Исследователи ставили задачу установить численность дискордантных по ВИЧ-инфекции супружеских пар, и определение доли ВИЧ-позитивных женщин. В исследовании вошли данные 27 когорт, включающих 13 061 человека, а также данные МО 1145 пар из 14 стран. Доля ВИЧ-позитивных женщин в стабильных гетеросексуальных серодискордантных парах составила 47% (95% ДИ: 43-52); полученный результат показал, что женщины, также как и мужчины, могут выступать в качестве партнера, инфицированного первым в дискордантных парах. Данные МО (46%, 95% ДИ: 41-51) и анализ чувствительности, осуществленный авторами (47%, 95% ДИ: 43-52), показали аналогичные результаты. При проведении мета-регрессионного анализа было выявлено, что проживание в городе или сельской местности (ОШ- 0,31, 95% ДИ: 0,22-0,39), географическая широта (β -коэффициент 0,02; 0,023-0,034), гендерное (половое) равенство (β -коэффициент -0,42; от -0,56 до -0,27), показатель распространенности ВИЧ (β -коэффициент -0,037; от -0,04 до -0,03), а также зрелый возраст (β -коэффициент 0,2; 0,08-0,32) оказывают влияние на частоту первичного инфицирования женщин. На взгляд авторов, настоящее исследование продемонстрировало важность привлечения внимания представителей обоих полов к таким профилактическим мерам, как необходимость использования презервативов и изменение рискованного сексуального поведения.

Таким образом, многочисленные исследования ученых значительно повышают информативность лабораторных методов диагностики, расширяют возможности их применения и способствуют эффективному решению многих актуальных задач практического здравоохранения.

Литература.

1. *Методические рекомендации МР 3.1.5.0075/1-13 "Эпидемиология. Профилактика инфекционных болезней. ВИЧ-инфекция. Надзор за распространением штаммов ВИЧ, резистентных к антиретровирусным препаратам"*, утв. Роспотребнадзором РФ 20.08.2013 г. М.; 2013.
2. Hattori J., Shiino T., Gatanaga H., Yoshida S., Watanabe D., Minami R. et al. Trends in transmitted drug-resistant HIV-1 and demographic characteristics of newly diagnosed patients: nationwide surveillance from 2003 to 2008 in Japan. *Antiviral. Res.* 2010; 88 (1):72-9.

3. Eaton J.W., Hallett T.B. Why the proportion of transmission during early-stage HIV infection does not predict the long-term impact of treatment on HIV incidence. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2014; 111(45):16202-7.

4. Zhang F., Dou Z., Ma Y., Zhang Y., Zhao Y., Zhao D. et al. Effect of earlier initiation of antiretroviral treatment and increased treatment coverage on HIV-related mortality in China: a national observational cohort study. *Lancet Infect. Dis.* 2011; 11(7): 516-24.

5. Su X, Yao J, Jiang Y, Li J, Han J, Sun W. Promising antibody testing strategies for early infant HIV infection diagnosis in China. *PLoS One.* 2014; 9 (6): e99935.

6. Eyawo O., de Walque D., Ford N., Gakii G., Lester R.T., Mills E.J. HIV status in discordant couples in sub-Saharan Africa: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect. Dis.* 2010; 10 (11):770-7.

**Тест-системы для диагностики ВИЧ-инфекции
производства ООО "НПО "Диагностические системы"**

Наименование тест-системы краткое описание	Каталожный номер	Количество анализов	Срок годности
ДС-ИФА-АНТИ-ВИЧ-УНИФ Тест-система иммуноферментная для выявления суммарных антител к вирусам иммунодефицита человека ВИЧ-1 (включая все основные группы и субтипы) и ВИЧ-2 в сыворотке или плазме крови человека. <i>Подходит для ручной постановки и постановки на автоматических анализаторах</i>	I-155	96x5	24 месяца
	I-150	96x2	
	I-153	96	
ДС-ИФА-ВИЧ-АГ-СКРИН Тест-система иммуноферментная для выявления (подтверждения) антигена р24 вируса иммунодефицита человека 1 типа (ВИЧ-1) в сыворотке или плазме крови человека. Чувствительность - 0,5 пг/мл. <i>Подходит для ручной постановки и постановки на автоматических анализаторах</i>	I-1452	96 (для выявления) 48 (для подтверждения)	18 месяцев
	ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН СС₀₄₈₃ Тест-система иммуноферментная для одновременного выявления антител к ВИЧ-1 и ВИЧ-2, ВИЧ-1 группы О и антигена р24 ВИЧ-1 в сыворотке или плазме крови человека. Чувствительность по р24 - 10 пг/мл <i>Подходит для ручной постановки и постановки на автоматических анализаторах</i>	I-1656	96x5
I-1652		96x2	
I-1654		96	
ДС-ИФА-ВИЧ-АТ/АГ-СПЕКТР Тест-система иммуноферментная на основе рекомбинантных антигенов и моноклональных антител для выявления суммарных антител к отдельным белкам ВИЧ-1/2 и антигена р24 ВИЧ-1 в сыворотке или плазме крови человека. Чувствительность по р24 - 5пг/мл <i>Подходит для ручной постановки и постановки на автоматических анализаторах</i>	I-751	16	18 месяцев
	ДС-ИФА-ВИЧ-АГ+АТ СС₀₄₈₃ Тест-система иммуноферментная для одновременного выявления антител к ВИЧ-1 и ВИЧ-2, ВИЧ-1 группы О и антигена р24 ВИЧ-1 в сыворотке или плазме крови человека. Чувствительность по р24 - 5пг/мл <i>Подходит для ручной постановки и постановки на автоматических анализаторах</i>	I-2655	96x5
I-2652		96x2	
I-2654		96	
МилаЛаб-ИФА-ВИЧ-АГАТ Тест-система иммуноферментная для выявления антител к ВИЧ-1 и ВИЧ-2, ВИЧ-1 группы О и антигена р24 ВИЧ-1 в сыворотке или плазме крови человека. Чувствительность по р24 - 20 пг/мл <i>Подходит для ручной постановки и постановки на автоматических анализаторах</i>	I-1872	96x5	24 месяца
	I-1873	96x2	
	I-1874	96	
МилаЛаб-ИФА-ВИЧ-АГ+АТ Тест-система иммуноферментная для одновременного выявления антител к ВИЧ-1 и ВИЧ-2, ВИЧ-1 группы О и антигена р24 ВИЧ-1 в сыворотке или плазме крови человека. Чувствительность по р24 - 20 пг/мл <i>Подходит для ручной постановки и постановки на автоматических анализаторах</i>	I-1882	96	24 месяца
	I-1883	96x2	
	I-1884	96x5	
МилаБлот-ВИЧ Тест-система иммуноферментная для выявления антител к индивидуальным белкам ВИЧ-1 и ВИЧ-2 методом линейного иммуноблота. <i>Подходит для ручной постановки и постановки на автоматических анализаторах</i>	I-2295	18	12 месяцев
	I-2296	24	
	I-2297	36	
ДС-ИФА-ВИЧ-АТ-СРОК Тест-система иммуноферментная для определения вероятных сроков заражения вирусом иммунодефицита человека 1 типа (ВИЧ-1) и ВИЧ-1 группы О в сыворотке или плазме крови человека. <i>Подходит для ручной постановки и постановки на автоматических анализаторах</i>	I-2171	48	12 месяцев

Лабораторная диагностика сифилиса

Фисенко Н.С., Чепурченко Н.В.

Серологическая диагностика сифилиса: возможности и перспективы

ООО "НПО "Диагностические системы", г. Нижний Новгород

По оценкам Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) ежегодно во всем мире регистрируется около 300 млн новых случаев наиболее распространенных инфекций, передаваемых половым путем (ИППП), в том числе сифилис. В структуре ИППП сифилис занимает особое место по социальной значимости, потенциальной опасности развития серьезных последствий и негативному влиянию на качество жизни.

По данным официальной государственной статистической отчетности, эпидемиологическая ситуация по сифилису в Российской Федерации характеризуется постепенным снижением заболеваемости в целом по стране (в 2009 г. – 53,3 случая на 100 000 населения; в 2014 г. – 30,7 случаев на 100 000 населения). На фоне снижения общей заболеваемости сифилисом отмечается увеличение числа зарегистрированных случаев нейросифилиса с преобладанием его поздних форм (70,1%) [1].

Снижение заболеваемости сифилисом в России, наблюдаемое в течение последнего десятилетия произошло благодаря реализации государственных программ, направленных на профилактику распространения социально значимых заболеваний, лечение и внедрение современных методов лабораторных исследований в лечебно-диагностический процесс [2].

Поскольку ранняя диагностика сифилитической инфекции дает возможность своевременно назначить адекватную терапию и значительно сократить риск развития серьезных осложнений, на современном этапе большое значение придается наиболее распространенным и доступным серологическим методам лабораторной диагностики.

Настоящий обзор подготовлен по материалам зарубежных и отечественных авторов современных научных исследований, касающихся совершенствования уже существующих и разработки новых серологических методов для диагностики различных клинических форм сифилиса.

В своей работе Morshed M.G. из Университета Британской Колумбии (Канада) рассматривал актуальные тенденции в диагностике сифилиса [3]. Автор предпринял попытку обобщить имеющуюся информацию о современном состоянии лабораторной диагностики сифилиса и осветить наиболее актуальные глобальные проблемы в этой области. Констатируя факт широкой распространенности сифилитической инфекции в мире, он привел данные ВОЗ о том, что в 1999 году в мире зарегистрировано около 12 млн новых случаев сифилиса, более 90% которых выявлены у пациентов из стран с низким уровнем дохода. Во всем мире отмечается выраженный рост заболеваемости сифилитической инфекцией в популяции мужчин имеющих секс с мужчинами (МСМ). Автор отметил, что в практике клинических лабораторий для обнаружения *T. pallidum* в тканях и/или биоло-

гических жидкостях организма человека на протяжении многих десятилетий используются методы темнопольной микроскопии (ТПМ) и прямой иммунофлуоресценции (ПИФ). Молекулярные методы позволяют выявить *T. pallidum* и определять молекулярные детерминанты резистентности *T. pallidum* к антибиотикам (путем идентификации точечных мутаций в ДНК). Согласно опубликованным литературным данным, метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) является полезным дополнением к общепринятым методам ТПМ и ПИФ. ПЦР используют в качестве подтверждающего теста при исследовании материала из эрозивно-язвенных сифилид слизистых оболочек гениталий и других локализаций, а также при исследовании образцов биологических жидкостей, что позволяет оптимизировать алгоритм детекции возбудителя. Основой лабораторной диагностики сифилиса остаются серологические тесты, поскольку *T. pallidum* не поддается культивированию, а получение образцов крови особых сложностей не представляет. Алгоритмы серологических исследований в рутинной лабораторной практике быстро меняются от традиционного алгоритма скрининга на сифилис с использованием нетрепонемных реакций и последующим подтверждением диагноза с помощью трепонемных тестов до, так называемого, "реверсивного" алгоритма скрининга с первоначальным использованием трепонемных тестов с последующим подтверждением нетрепонемными для выявления раннего активного сифилиса. Применение специальных и дополнительных сложных алгоритмов имеет большое значение для решения вопросов диагностики таких серьезных патологий, как нейросифилис или врожденный сифилис. В условиях резкого подъема уровня заболеваемости сифилисом и ограниченной доступности медицинской помощи в развивающихся странах, важную роль может играть использование диагностических экспресс-тестов в пунктах медицинской помощи.

В своем исследовании коллектив авторов (Tucker J.D. и соавт.) из Китайского национального центра по борьбе с ИППП, Китайской академии медицинских наук и Института дерматологии поднимает вопрос о глобальном расширении масштабов скрининга на сифилис при помощи экспресс-тестов в странах с низким уровнем дохода, в которых сифилис представляет серьезную проблему [4]. Авторы обращают внимание на то, что в этих странах ограничены или отсутствуют лабораторные возможности для использования традиционного алгоритма лабораторных исследований на сифилис. Поэтому авторы предлагают расширить скрининговые исследования на сифилис при помощи иммунохроматографических экспресс-тестов (ИХЭТ). В работе приведены данные о чувствительности и специфичности ИХЭТ, полученные в специализированных медицинских учреждениях двух разных профилей - дерма-

товенерологических диспансерах, занимающихся диагностикой и лечением ИППП, и клиниках, осуществляющих антенатальное наблюдение беременных. Лабораторные данные, полученные при исследовании более чем 22000 образцов цельной крови/плазмы или капиллярной крови из пальца при помощи ИХЭТ в дерматовенерологических диспансерах или женских консультациях, были обобщены на основании результатов 15 работ. Было установлено, что ИХЭТ имеют высокую чувствительность (медиана - 0,86, интерквартильный диапазон - 0,75-0,94) и высокую специфичность (0,99; 0,98-0,99), сопоставимые с аналогичными показателями нетрепонемных скрининг-тестов. Авторы делают заключение о том, что дальнейшие исследования по использованию ИХЭТ у пациентов с первичным сифилисом, а также у пациентов с ВИЧ-инфекцией, позволят рассматривать их в качестве наиболее перспективных тестов для повышения эффективности скрининговых программ.

Специалисты из Университета Северной Каролины в г. Чапел-Хилл (США) Sena A.C. и соавт. анализируют преимущества и недостатки новых экспресс-тестов для диагностики сифилиса [5]. Они констатируют, что многие новые тесты для диагностики сифилиса, разработанные на основе специфических трепонемных антигенов, и новые форматы исследования, в том числе экспресс-тесты, выполняемые на месте оказания помощи - "у постели больного" (rapid point-of-care tests), базируются на иммуноферментном (ИФА) и хемилюминесцентном (ХЛА) анализе. Несмотря на то, что большинство из этих новых тестов пока еще не имеют разрешения Управления по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных препаратов (FDA) на применение в США, их высокая производительность, простота постановки и быстрое получение результатов анализа способствовали их внедрению в клиническую практику для скрининга сифилиса. Новые чувствительные и специфичные скрининговые тесты для детекции антитрепонемных IgM и IgG сконструированы с использованием лизатных или рекомбинантных антигенов *T. pallidum*. Тем не менее, эти тесты не позволяют различать недавнюю или прошлую инфекцию, а также ранее леченый и нелеченый сифилис. Кроме того, результаты скрининга необходимо подтверждать нетрепонемными тестами. Авторы подчеркивают, что использование для скрининга трепонемных тестов, а в качестве подтверждающих - нетрепонемных тестов - реверсия устоявшейся практики. И делают вывод, что врачи-клиницисты должны иметь научное представление о современных возможностях диагностических тест-систем, чтобы надлежащим образом использовать результаты этих исследований для разработки мероприятий, направленных на снижение заболеваемости сифилисом.

В связи с тем, что в последнее десятилетие в лабораторной диагностике инфекций, в том числе сифилиса, широкое распространение получили иммунохроматографические (ИХ) методы отечественные ученые (Ротанов С.В., Османова С.Р.) проанализировали имеющиеся научные публикации о ИХ-диагностикумах для определения антител к антигенам *T. pallidum* [6]. Особое внимание специалисты уделили клинической значимости применения современных ИХ-методов для определения антител к иммунодоминантным антигенам возбудителя сифилитической инфекции, вызываемой *T. pallidum*. Авторы отмети-

ли, что появление этих новых видов диагностических исследований стало возможным благодаря использованию технологий, поддерживаемых патентами США, касающихся разработки новых синтетических нейтральных волокнистых материалов и их применения в качестве твердой фазы при проведении иммунохимических исследований. В работе показаны основные преимущества ИХ-диагностикумов - наборы реагентов удобны в использовании, выполняются на небольшом количестве биологического материала, не требуют специального медицинского оборудования, обладают высокой чувствительностью и специфичностью, особенно при проведении исследований с образцами сыворотки или плазмы крови; отмечено также, что использование образцов цельной крови снижает чувствительность метода. Авторы сделали вывод, что ИХ-исследования предназначены для оперативного экспресс-обследования населения с целью выявления больных сифилисом в полевых условиях или в медицинских учреждениях, обеспечивающих первичный прием, и не имеющих собственных клинических лабораторий. Наряду с этим ученые констатировали, что лаборатории РФ не имеют практического опыта работы с ИХ-наборами реагентов, и что в настоящее время остаются нерешенными вопросы, регламентирующие порядок и показания к применению ИХ-методов исследования для скрининга населения с целью выявления сифилитической инфекции. Авторы работы отметили необходимость проведения исследований по разработке алгоритма применения этих методов в России.

В более позднем исследовании американские ученые Loeffelholz M.J., Binnicker M.J. отмечают, что некоторые диагностикумы для детекции специфических противотрепонемных антител с использованием автоматических анализаторов, либо экспресс-тесты для экстренного анализа были одобрены Управлением по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных препаратов (FDA, США) [7]. Подчеркивают основные два преимущества скрининговых тестов - простоту постановки и высокую чувствительность. В результате, многие клиничко-диагностические лаборатории с большим объемом исследований начали применять реверсивный алгоритм скрининга на сифилис с целью оценки активности инфекции и определения статуса терапии. Loeffelholz M. из медицинского отделения Техасского университета в Галвестоне (США) описал исследование с использованием реверсивного алгоритма, проведенное специалистами его лаборатории. Полученные результаты продемонстрировали большую эффективность данного подхода по сравнению с традиционным, обусловленную высокой чувствительностью трепонемных тестов. Были выявлены случаи вторичного, латентного и позднего сифилиса, пропущенные при использовании нетрепонемных скрининговых тестов. Исследователи отмечают, что для реализации реверсивного алгоритма необходимо дальнейшее обсуждение вопросов интерпретации результатов. Авторы рекомендуют рассмотреть возможности использования в лабораторной практике реверсивного алгоритма. Автоматизация процесса иммунологического анализа позволит, по их мнению, снизить трудозатраты персонала, увеличить пропускную способность лаборатории и сократить расходы на лабораторные исследования по диагностике сифилиса.

Группа исследователей (Gu W.M. и соавт.) из Дермато-

логического госпиталя в Шанхае (Китай) оценивала эффективность двух традиционных нетрепонемных тестов на сифилис [8]. Авторы исследовали образцы сывороток крови, полученные от больных различными формами сифилитической инфекции ($n=209$), а также контрольные образцы сывороток крови ($n=247$) от онкологических больных, больных лептоспирозом, системной красной волчанкой, гепатитом, от беременных женщин и здоровых добровольцев. ИФА для детекции антител к *T. pallidum*, реакцию пассивной гемагглютинации (РПГА) и быстрые ИХТ использовали в качестве "золотого стандарта". Тест быстрых плазменных реагинов (RPR-тест) и тест с толуидиновым красным и непрогретой сывороткой (TRUST) показали чувствительность и специфичность более 95%. Ложноотрицательные результаты при использовании RPR-теста и TRUST-теста выявлены преимущественно в случаях первичного и скрытого сифилиса, а ложноположительные результаты - у больных системной красной волчанкой и инфекционными гепатитами. В целом, оба нетрепонемных теста продемонстрировали высокие показатели чувствительности и специфичности, что позволило авторам рекомендовать их в качестве скрининговых тестов для диагностики сифилиса. Однако нельзя не отметить, что при стандартизации тестов с использованием референтных образцов сывороток ВОЗ и на основании более низких пределов детекции, нетрепонемные тесты оказались менее чувствительными, чем специфические трепонемные тесты.

Значительный интерес представляет исследование группы ученых из различных организаций медицинского профиля Швеции, Гвинеи-Бисау и США (Malm K. и соавт.), которые оценивали эффективность девяти серологических трепонемных и нетрепонемных тестов для использования в реверсивном алгоритме скрининга на сифилис [9]. Лабораторное исследование проводили с использованием шести трепонемных тестов (один из них IgM-специфический), двух нетрепонемных тестов и одного нового экспресс-теста, предназначенного для постановки "у постели больного". Исследовали образцы сывороток крови пациентов из Гвинеи-Бисау и Швеции, а также две контрольные панели и образцы сывороток крови доноров. Чувствительность и специфичность рассчитывали для каждой тест-системы, используя в качестве "золотого стандарта" различные тесты. Результаты проведенного исследования показали, что тест "Macro-Vue RPR Card" оказался наиболее чувствительным нетрепонемным тестом, а системы "TrepSure Anti-Treponema EIA Screen" и "SeroDia TP-PA" - наиболее чувствительными и специфичными трепонемными тестами. Среди тест-систем, предназначенных для постановки на автоматических анализаторах, высокую чувствительность продемонстрировали тест-системы "Liaison Treponema Screen" и "Architect Syphilis TP", но первая - еще и явно более высокую специфичность. Проанализировав результаты исследования, авторы сформулировали свои предложения. В частности, в регионах с ограниченными экономическими ресурсами, где реверсивный алгоритм является предпочтительным для скрининга на сифилис, первоначальные скрининговые исследования предложено проводить с применением автоматических анализаторов, а в дальнейшем в качестве второго трепонемного теста использовать "TrepSure" или "TP-PA"; данный формат представляется наиболее эф-

фективным. В качестве дополнительного теста для оценки активности сифилитической инфекции, было предложено использовать высокочувствительный количественный нетрепонемный тест, например "Macro-Vue RPR Card".

Совсем недавно российские исследователи из ГБОУ ВПО "Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова" Минздрава России опубликовали результаты своей аналитической работы [10]. Они изучили современные зарубежные алгоритмы диагностики сифилиса, изложенные в Европейских рекомендациях по ведению больных сифилисом (от 2008 г. и в обновленной версии от 2014 г.) и в рекомендациях по лечению ИППП Центра по контролю и профилактике заболеваний США (CDC) от 2010 г. и в проекте новых рекомендаций от 2014 г. В работе представлен сравнительный анализ диагностических подходов, содержащиеся в этих зарубежных клинических рекомендациях и в отечественных "Федеральных клинических рекомендациях по ведению больных сифилисом" (2013 г.) Российского общества дерматовенерологов и косметологов. Обсуждаются особенности, проблемы и спорные аспекты подходов к диагностике сифилиса.

Авторы отметили, что, несмотря на обилие предложенных лабораторных методов, в области диагностики сифилиса остается много нерешенных проблем. Хотя прямые методы выявления *T. pallidum* играют важную роль при ранних манифестных формах заболевания, основой диагностики по-прежнему остаются серологические тесты. Традиционный алгоритм скрининга на сифилис с использованием нетрепонемных реакций и последующим подтверждением диагноза с помощью трепонемных тестов является стандартным во всем мире. Однако недавно появившаяся возможность автоматизации трепонемных тестов способствует все более широкому использованию реверсивного алгоритма, когда эти тесты применяются с целью скрининга.

Ученые подчеркивают, что ни один из принятых серологических алгоритмов не позволяет надежно дифференцировать активный и ранее леченый сифилис, что создает неопределенность в тактике ведения больных. Отсутствует "золотой стандарт" диагностики нейросифилиса, сифилиса органов зрения, слуха, внутренних органов. Существуют большие трудности в интерпретации результатов серологических реакций у детей, рожденных серопозитивными матерями.

Коллектив исследователей (Li L. и соавт.) из госпиталя при Сычуаньском университете (г. Чэнду, Китай) опубликовал результаты своей работы по оценке эффективности иммунного хемилюминесцентного анализа (ИХЛА) для детекции специфических антител к *T. pallidum*, и точности их детекции путем сравнения с результатами иммуноферментного анализа (ИФА) и последующим подтверждением в реакции пассивной гемагглютинации (РПГА) [11]. В общей сложности исследовали 865 образцов сывороток крови от пациентов с подозрением на сифилис и от предоперационных больных. Выявление специфических антител к *T. pallidum* проводили параллельно при помощи ИХЛА и ИФА. Из них, 457 образцов были исследованы в РПГА.

Результаты исследования показали, что все значения коэффициентов вариации (CV) ИФА для образцов сывороток крови с высоким, средним и низким уровнем антител были выше 5%, а максимальное значение CV при исследовании образцов сывороток с низким уровнем антител со-

ставило 54,39%. Коэффициенты вариации ИХЛА для образцов сывороток крови с разным уровнем антител были ниже 5%. Для трех видов анализов коэффициенты корреляции Спирмена и Каппа составили 0,771 ($p \leq 0,001$) и 0,854 ($p \leq 0,001$; ИХЛА против ИФА), 0,806 ($p \leq 0,001$) и 0,897 ($p \leq 0,001$; ИФА против РПГА), 0,937 ($p \leq 0,001$) и 0,967 ($p \leq 0,001$; ИХЛА против РПГА), соответственно. Величина площади под ROC-кривой была больше для ИХЛА, чем для ИФА (0,994 против 0,989) с РПГА в качестве подтверждения теста. В 18 образцах сывороток крови с противоречивыми результатами степень соответствия между ИХЛА и РПГА была выше, чем между ИФА и РПГА (72,22% против 27,78%, $p=0,008$). В серой зоне, степень соответствия между ИХЛА и РПГА была выше, чем у ИФА с РПГА (90,91% против 41,67%, $p=0,027$). На основании полученных результатов авторы работы сделали вывод, что ИХЛА по сравнению с ИФА, является более надежным, чувствительным и точным методом детекции специфических антител к *T. pallidum*. При этом авторы заметили, что ИХЛА, обладая более высокой чувствительностью, в дальнейшем может стать альтернативой ИФА.

Специалисты из отделения клинической лаборатории детской больницы г. Суйчжоу, Китай (Song X. и соавт.) представили анализ результатов клинико-лабораторного экспериментального исследования, полученных при обследовании детей с подозрением на сифилис [12]. Авторы предприняли попытку обосновать критерии диагностики сифилиса на основе данных лабораторных исследований и клинических наблюдений. В период с апреля 2010 г. по декабрь 2012 г. в детской больнице г. Суйчжоу обследовали 141 ребенка с подозрением на сифилис в возрасте от 0 до 3 лет. В зависимости от возраста все дети были разделены на две группы: 1) младенцы (возраст от 0 до 1 года, 119 случаев) и 2) дети раннего возраста (возраст от 1 до 3 лет, 22 случая). Образцы сывороток крови всех детей были исследованы с использованием таких тестов как: тест быстрых плазменных реагенов (RPR - тест), тест с коллоидным золотом (SYP, реакция Ланге), тест на основе иммуноферментного анализа (ИФА) и тест агглютинации искусственных частиц на антитела к *T. pallidum* (TPPA-тест). Данные эксперимента были проанализированы с помощью программного пакета для обработки статистических данных SPSS 13.0. Наиболее высокий уровень положительных результатов зарегистрирован при использовании ИФА-теста, при исследовании помощи RPR - теста этот уровень оказался низким; уровень положительных результатов тестирования у SYP и TPPA-тестов был выше, чем у RPR, но ниже, чем у ИФА-теста, выявлены статистически значимые различия. Среди 86 ложноположительных результатов (ЛПР), самый высокий уровень ЛПР отмечен для ИФА, для TPPA - теста ЛПР не зарегистрированы. Процент ЛПР был выше в группе детей раннего возраста, чем в группе младенцев.

Не меньший практический интерес представляет и работа Merins V., Hahn K. из Германии, которые оценивали современные тесты для диагностики нейросифилиса (НС) у пациентов с сочетанной инфекцией ВИЧ и сифилис (коинфекцией ВИЧ/сифилис) и провели поиск предикторов развития НС [13]. Первоначально авторы проанализировали данные имеющихся научных публикаций по интересующей проблеме. Ученые констатировали, что у пациентов с высоким риском инфицирования ВИЧ регистрируется рост

заболеваемости сифилисом [Marra C.M., 2004; Dylewski J., 2007; Frippiat F., 2008; Ghanem K.G., 2009; Stoner B.P., 2007]. Отметили также, что НС достаточно сложно диагностировать, особенно у пациентов с асимптомным течением заболевания и у пациентов с наличием коинфекции ВИЧ/сифилис. Обратили внимание на то, что при сифилисе у ВИЧ-инфицированных вирусная нагрузка выше, чем при моноинфекции ВИЧ, а после успешного лечения сифилиса вирусная нагрузка снижается [Buchacz K., 2004]. Наряду с этим, у ВИЧ-инфицированных пациентов даже при отсутствии сифилитической инфекции, часто регистрируется плеоцитоз и повышенный уровень белка в ликворе (цереброспинальной жидкости, ЦСЖ) [Kent M.E., 2008]. Важность коинфекции ВИЧ/сифилис как значимого фактора для развития НС была показана в исследовании Lynn и Lightman в 2004 г. По данным этих авторов НС был диагностирован у 23,5% первичных больных с коинфекцией ВИЧ/сифилис, и только у 10% пациентов с наличием сифилитической моноинфекции (без ВИЧ) [Lynn W.A., 2004]. Диагностику НС проводили в соответствии с Германскими руководящими принципами, основываясь на клинических признаках, данных цитологического исследования ликвора для определения воспаления и результатах трепонемных и нетрепонемных тестов, таких как TRPA, RPR и РИФ_{асс.}. Было подчеркнуто, что, несмотря на то, что наличие плеоцитоза и повышение уровня белка в ЦСЖ позволяют заподозрить НС, провести грань между изменениями в составе ликвора, вызванными отдельно ВИЧ-инфекцией или сифилитической инфекцией довольно сложно, поскольку при обеих инфекциях наблюдаются сходные изменения в ЦСЖ. Дополнительным параметром, указывающим на НС, является положительный TRPA-тест или РИФ_{асс.}. Диагноз НС также может быть подтвержден положительным результатом теста VDRL или RPR, при этом необходимо учитывать чувствительность тестов, которая колеблется от 27 до 70% [Kent M.E., 2008; Golden M.R., 2003; Davis L.E., 1989]. Еще одним параметром диагностики НС, включенным в руководство Германии по диагностике и терапии инфекций, передающихся половым путем (ИППП), является индекс ИТРА. Чувствительность индекса ИТРА выше, чем чувствительность теста ЦСЖ-VDRL, однако он не подходит в качестве параметра для определения активности инфекции [Kent M.E., 2008; Golden M.R., 2003; Davis L.E., 1989; Schofer H., 2006]. К факторам, позволяющим подтвердить активность процесса, можно отнести положительный результат ЦСЖ-VDRL или RPR теста, выявление специфических IgM в ЦСЖ или плеоцитоз. Также необходимо принимать во внимание повышение проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) [Schofer H., 2006]. В связи с вышеизложенным учеными был сделан вывод о необходимости определения предикторов развития НС. Ранее в качестве прогностических индикаторов использовали показатели содержания в крови CD4+ Т-клеток ≤ 350 /мкл и титр антител в RPR-тесте $\geq 1:32$ [Marra C.M., 2004; Libois A., 2007; Ghanem K.G., 2008].

В своей работе Merins V. и Hahn K. ретроспективно проанализировали результаты обследования больных с активной сифилитической инфекцией, которым была выполнена люмбальная пункция и получен ликвор для лабораторного исследования. У пациентов, к которым были применимы критерии для постановки "достоверного" или "вероятного" диагноза НС, дополнительно оценивали

клинические симптомы, показатели исследования ЦСЖ (характер плеоцитоза, уровень белка), ВИЧ-статус, а также результаты исследования образцов сывороток крови и ЦСЖ на наличие антител к антигенам *T. pallidum*. Для корреляционного анализа зависимостей категориальных переменных использовали критерий согласия хи-квадрат или, в случаях небольшого объема образцов, точный критерий Фишера. Статистически значимыми считали различия при $p \leq 0,05$.

В ходе исследования авторы констатировали, что сифилис был диагностирован у 89 пациентов. Всем критериям, необходимым для постановки диагноза НС отвечали 67 пациентов, в том числе 35 ВИЧ-позитивных (ВП) и 32 ВИЧ-негативных (ВН) пациента. Ретроспективно достоверные признаки НС были определены в 13 случаях, вероятные признаки - еще в 25 случаях. Нормальные показатели анализа ЦСЖ, чаще всего регистрировались у ВН-пациентов ($p=0,016$). Независимо от ВИЧ статуса диагноз НС коррелировал с плеоцитозом (количеством форменных элементов > 5 клеток/мкл) и содержанием белка в ликворе $> 7,8$ мг/дл. Титр RPR $> 1:4$ при исследовании ЦСЖ чаще регистрировался у ВП-, чем у ВН-пациентов ($p=0,031$). Но при исследовании ЦСЖ в случаях "достоверного" или "вероятного" НС RPR-тест продемонстрировал чувствительность только в 21%. По результатам данного исследования авторы сделали вывод, что исследование ликвора должно быть неотъемлемой частью диагностического алгоритма, особенно в случаях коинфекции ВИЧ/сифилис. Было показано, что плеоцитоз и повышенное содержание белка (альбумина) в ликворе коррелируют с диагнозом "нейросифилис". Однако стандартный диагностический тест ЦСЖ-RPR-тест, продемонстрировавший очень низкую чувствительность и недостаточную надежность, неприменим для исследования ликвора.

Сифилитическая инфекция является серьезной медико-социальной проблемой, вызывающей неослабевающий профессиональный интерес. В своих работах исследователи отмечают, что в последнее время достигнут значительный прогресс в разработке и применении современных лабораторных технологий для диагностики сифилиса. В настоящем обзоре мы рассматриваем ряд наиболее актуальных и перспективных, на наш взгляд, направлений исследований.

Одним из них является поиск иммунодоминантных антигенов *T. pallidum* для создания высокочувствительных тестов.

Jiang C. и соавт. из Института патологической биологии, медицинского Университета (Южный Китай, г. Хэньян) опубликовали результаты исследования с использованием созданного ими рекомбинантного белка TrF1, который использовали в качестве антигена для определения специфических иммуноглобулинов G (IgG) к *T. pallidum* в образцах сывороток крови человека и кролика при помощи методов непрямого ИФА и иммуноблоттинга [14]. Рекомбинантный белок TrF1 с молекулярной массой 20 кД был обнаружен при помощи иммуноблота при исследовании сывороток крови кроликов, иммунизированных рекомбинантным TrF1 и инфицированных *T. pallidum*, штамм *Nichols* и клиническими изолятами *T. pallidum*, но не обнаружен при исследовании сывороток крови от незараженных кроликов.

Чувствительность рекомбинантного белка определяли

при проведении скрининга образцов сывороток крови пациентов с первичной, вторичной, латентной и врожденной сифилитической инфекцией ($n=82$). Специфичность рекомбинантного белка определяли при проведении скрининга образцов сывороток крови неинфицированных лиц контрольной группы ($n=30$), а также от лиц с потенциально кросс-реактивными инфекциями, в том числе с болезнью Лайма ($n=30$) и лептоспирозом ($n=5$). Чувствительность ИФА при использовании TrF1 составила 93,3, 100, 100 и 100% для первичной, вторичной, латентной сифилитической инфекции и врожденного сифилиса, соответственно, а специфичность метода составила 100% для образцов сывороток от неинфицированных лиц контрольной группы и лиц с потенциально кросс-реактивными реакциями. Чувствительность и специфичность иммуноблота на TrF1 при исследовании образцов сывороток крови человека составила 100%. Реактивность TrF1 при исследовании образцов сывороток больных сифилисом была пропорциональна титрам РПГА. По заключению авторов работы рекомбинантный белок TrF1 обладает высокой иммуногенностью при диагностике инфекций человека и кролика и может быть рекомендован как перспективный маркер для скрининга сифилиса.

Российские ученые из ФГБУ "Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии" Минздрава России (Рунина А.В. и соавт.) с использованием методов генной инженерии разработали технологию получения новых рекомбинантных белков *T. pallidum* Tr0453 и Tr0319 для совершенствования серологической диагностики сифилиса [15].

В своей работе авторы изучали антигенные свойства белков *T. pallidum* Tr0453 и Tr0319 с использованием метода ИФА. Белок Tr0453 является гипотетическим протеином наружной мембраны *T. pallidum*, с рассчитанной молекулярной массой около 31,9 кД. Данный белок представляет интерес для серодиагностики сифилиса в связи с предполагаемой локализацией на наружной мембране возбудителя, высокой иммуногенностью и отсутствием гомологов среди бактерий других родов. Белок Tr0319 является липопротеином внутренней мембраны *T. pallidum* с рассчитанной молекулярной массой 37,7 кД. Гетерологическую экспрессию рекомбинантных антигенов *T. pallidum* проводили в штаммах *E. coli* BL21 (DE3) и Top10, с плазмидным вектором для экспрессии pET28a, позволяющим проводить экспрессию целевых антигенов под контролем T7 промотора. Специфичность клонирования подтверждали методом секвенирования по Сенгеру. Очистку рекомбинантных антигенов возбудителя сифилиса осуществляли методом металл-хелатной хроматографии.

Очищенные рекомбинантные белки *T. pallidum* Tr0453 и Tr0319 использовали в качестве антигенов в составе твердофазного иммуносорбента для выявления специфических IgG к исследуемому белку в сыворотке крови больных с разными формами приобретенного сифилиса. Применение полученных рекомбинантных белков позволило выявить антитела к *T. pallidum* в сыворотке крови больных сифилисом (первичным, вторичным, скрытым ранним и поздним), что свидетельствует о высокой клинической чувствительности исследования. При исследовании сыворотки крови, полученной от здоровых доноров, антитела не обнаруживались, что характеризует исследование с позиций высокой клинической специфичности. На основа-

нии результатов проведенных исследований авторы сделали заключение о возможности использования полученных рекомбинантных белков Tr0453 и Tr0319 в качестве дополнительных антигенов для диагностики сифилиса. По мнению авторов, включение их в состав иммуносорбента тест-систем для диагностики сифилиса (в формате иммуноферментного анализа, иммуноблоттинга или иммуночипа) увеличивает возможности серологической диагностики данного заболевания за счет увеличения спектра определяемых антител к *T. pallidum*. Наряду с этим авторы акцентируют внимание, что для уточнения антигенных свойств целевых белков *T. pallidum* необходимо проведение дальнейших исследований на большем количестве образцов сывороток крови с учетом возможной иммунологической кросс-реактивности в случаях инфекций, вызванных другими представителями рода спирохет (боррелиями, лептоспирами).

Несомненный интерес представляет исследование группы китайских специалистов (Nie X. M. и соавт.), разработавших стратегию диагностики сифилиса при помощи нового "плазмонного" ИФА-теста [16]. Плазмонный ИФА представляет собой твердофазный иммуноферментный анализ в сочетании с энзим-опосредованным поверхностным плазмонным резонансом (ППР) с использованием наночастиц золота (НЗ). Антитела, образовавшиеся при иммунном ответе к *T. pallidum*, инициируют гидролиз ацетилхолина, катализируемого ацетилхолинэстеразой, с накоплением большого количества продукта гидролиза тиохолина. Положительно заряженные тиолы, в свою очередь, вызывают изменение распределения поверхностного заряда НЗ, что приводит к их агрегации. Индуцированный сильный локальный ППР эффект от агрегата НЗ позволяет проводить количественный анализ детекции антител к *T. pallidum*, благодаря уникальному свечению и изменению показателей спектров поглощения со стороны реагирующей системы. Плазмонный ИФА-тест продемонстрировал квазилинейный ответ на концентрацию антител к *T. pallidum*, рассчитанную по логарифмической шкале в диапазоне 1 пг/мл - 10 нг/мл, с пределом детекции антител в 0,98 пг/мл. Такой низкий предел детекции антител показал 1000-кратное повышение чувствительности плазмонного ИФА-теста по сравнению с обычным ИФА-тестом. Авторы пришли к выводу, что результаты плазмонного ИФА-теста при исследовании образцов сывороток крови от 60 больных сифилисом согласуются с результатами исследования при помощи обычного ИФА-теста. Некоторые положительные характеристики плазмонного ИФА-теста (такие как аналитическая специфичность, экономическая эффективность, простота автоматической постановки, низкий предел обнаружения), обеспечивают возможности для совершенствования диагностики и осуществления терапевтического мониторинга сифилиса.

Таким образом, современные методы лабораторной диагностики сифилиса постоянно совершенствуются вместе с развитием научно-технического прогресса, создаются и внедряются в практическое здравоохранение инновационные технологии, что позволяет существенно повысить эффективность выявления больных и своевременно проводить этиотропную терапию.

Литература.

1. Федеральные клинические рекомендации по ведению больных сифилисом. Российское общество дерматологов и косметологов. М., 2015. Федеральная электронная медицинская библиотека. - URL: <http://www.femb.ru/feml>
2. Кубанова А.А., Мелехина Л.Е., Кубанов А.А., Богданова Е.В. Заболеваемость сифилисом в Российской Федерации за период 2004-2013 гг. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2014; 5: 24-31.
3. Morshed M.G. Current trend on syphilis diagnosis: issues and challenges. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2014; 808: 51-64.
4. Tucker J.D., Bu J., Brown L.B., Yin Y.P., Chen X.S., Cohen M.S. Accelerating worldwide syphilis screening through rapid testing: a systematic review. *Lancet Infect. Dis.* 2010; 10(6): 381-6.
5. Seña A.C., White B.L., Sparling P.F. Novel *Treponema pallidum* serologic tests: a paradigm shift in syphilis screening for the 21st century. *Clin. Infect Dis.* 2010; 51(6): 700-8.
6. Loeffelholz M.J., Binnicker M.J. It is time to use treponema-specific antibody screening tests for diagnosis of syphilis. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50(1): 2-6.
7. Gu W.M., Yang Y., Wang Q.Z., Pan B.S., Guo W., Wu L. et al. Comparing the performance of traditional non-treponemal tests on syphilis and non-syphilis serum samples. *Int. J. STD AIDS.* 2013; 24(12): 919-25.
8. Malm K., Andersson S., Fredlund H., Norrgren H., Biague A., Mansson F. et al. Analytical evaluation of nine serological assays for diagnosis of syphilis. *Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 2015; Sep 14.
9. Ротанов С.В., Османова С.Р. Иммунохроматографические методы определения антител к антигенам *T. pallidum*. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2011; 4:20-4.
10. Красносельских Т.В., Соколовский Е.В. Современные стандарты диагностики сифилиса: сравнение российских и зарубежных клинических рекомендаций (сообщение I). *Вестник дерматологии и венерологии*. 2015; (2):11-2.
11. Li L., Cai B., Tao C., Wang L. Performance evaluation of CLIA for *Treponema pallidum* specific antibodies detection in comparison with ELISA. *J. Clin. Lab. Anal.* 2015; Feb 25.
12. Song X., Tian L., Zou H., Sun H. Analysis of the clinical diagnosis data of four experimental detection methods for pediatric syphilis. *Minerva Pediatr.* 2015; Sep 11.
13. Merins V., Hahn K. Syphilis and neurosyphilis: HIV-coinfection and value of diagnostic parameters in cerebrospinal fluid. *Eur. J. Med. Res.* 2015; 20(1):81.
14. Jiang C., Zhao F, Xiao J., Zeng T., Yu J., Ma X. et al. Evaluation of the recombinant protein TpF1 of *Treponema pallidum* for serodiagnosis of syphilis. *Clin. Vaccine Immunol.* 2013; 20(10): 1563-8.
15. Рунина А.В., Хайруллин Р.Ф., Пог К.В., Семина В.И., Ротанов С.В. Новые рекомбинантные антигены *T. pallidum* TP0453 и TP0319 в диагностике сифилиса. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2014; (3):72-8.
16. Nie X.M., Huang R., Dong C.X., Tang L.J., Gui R., Jiang J.H. Plasmonic ELISA for the ultrasensitive detection of *Treponema pallidum*. *Biosens. Bioelectron.* 2014; 58: 314-29.

Лабораторная диагностика малярии

Кочина Е.А., Шальнова Е.Е.

Современные возможности и проблемы диагностики малярии

ООО "НПО "Диагностические системы", г. Нижний Новгород

Малярия—одно из самых распространенных заболеваний во всем мире, особенно в эндемичных по данному заболеванию странах, являющееся предметом особого внимания и контроля со стороны органов здравоохранения. В настоящее время основная цель борьбы с малярией в этих странах заключается в снижении заболеваемости и предотвращении смертности от малярии, минимизации социально-экономических потерь путем постепенного совершенствования и укрепления местных и национальных возможностей. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) считает раннюю диагностику малярии одним из основных элементов стратегии борьбы с этой болезнью. Поэтому научные исследования многих ученых направлены на разработку и внедрение в практику более эффективных лабораторных технологий.

Ученые из Бразилии Avila S.L., Ferreira A.W. проанализировали существующие методы лабораторной диагностики данного заболевания [1]. Они отметили, что традиционно лабораторная диагностика малярии проводится при помощи метода микроскопии "толстой капли" крови, который продолжает оставаться "золотым стандартом" диагностики. Однако у данного метода есть ряд недостатков—способ приготовления препаратов "толстой капли крови" требует квалификации и практического опыта медперсонала; наличия определенных реактивов и расходных материалов, соблюдения правил их подготовки и хранения; все перечисленные факторы оказывают существенное влияние на чувствительность метода. В связи с этим, многие научно-исследовательские лаборатории сосредоточили свои усилия на разработке альтернативных методов диагностики малярии. Они включают методы детекции плазмодиев в эритроцитах (флюоресцентная микроскопия, модификация флюоресцентной микроскопии—количественная лейкоцитарная пленка (QBC), темнопольная микроскопия, методы гибридизации нуклеиновых кислот и иммунофлюоресценции), методы детекции антигенов плазмодиев в биологических жидкостях (радиоиммунный анализ, иммуноферментный анализ) и методы детекции антиплазмодийных антител в сыворотке крови (реакция непрямой иммунофлюоресценции, иммуноферментный анализ, иммунный блоттинг). Avila S.L. и Ferreira A.W. представили критический анализ различных способов диагностики малярии на основе данных, опубликованных в мировой научной литературе, и результаты собственных экспериментов, базирующихся на последних достижениях мировой науки.

Коллектив авторов из Индонезии (Wongsrichanalai С. и соавт.) в своей работе обобщает опыт использования на практике двух наиболее распространенных методов диагностики—световой микроскопии мазков крови с окрашиванием по Гимзе и диагностического экспресс-теста (ДЭТ) [2]. Авторы исследования подчеркивают, что приме-

нение обоих указанных методов, имеющих свои достоинства и недостатки, является наиболее оптимальным для постановки точного диагноза и реализации стратегии успешной борьбы с малярией. Они рассматривают пути повышения качества существующей в настоящее время диагностики малярии и представляют результаты недавно проведенных исследований при помощи ДЭТ. Авторы акцентируют внимание, что мероприятия, направленные на сокращение заболеваемости малярией и распространение лекарственно устойчивых форм требуют срочного увеличения объема исследований и повышения качества методов диагностики малярии. Государственные инвестиции в развитие производства противомаларийных препаратов или в разработку вакцин против малярии должны сопровождаться принятием обязательств по совершенствованию методов диагностики и повышению их доступности для людей, живущих в эндемичных по малярии регионах.

Для улучшения лабораторной диагностики малярии ученые разных стран постоянно проводят исследования, направленные на совершенствование уже известных и создание новых более эффективных диагностических технологий и методик.

Так группа исследователей (Avila S.L. и соавт.) из института тропической медицины Сан-Паулу (Бразилия) представила результаты работы по стандартизации процедур получения антигена *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*) для серологических тестов [3]. Проводили стандартизацию технологических переменных для приготовления и хранения препаратов для выявления *P. falciparum* и антигенных компонентов, извлекаемых с использованием лизирующего амфотерного детергента Zwittergent. Антигенные компоненты, полученные *in vitro* из культуры *P. falciparum*, хранили при различных температурах и в течение разных периодов времени. Для каждой переменной, антигенные компоненты паразита экстрагировали в присутствии и в отсутствие ингибиторов протеаз, и исследовали, но до проведения диализа. Полученные продукты авторы исследовали после 15, 30 и 60 суток хранения при различных температурах; иммунологическую активность каждого экстракта определяли при помощи метода электрофореза белков в полиакриламидном геле (ПААГ; SDS-PAGE) и иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием стандартной сыворотки крови положительной или отрицательной на наличие IgG к антигену *P. falciparum*. Экстракты из культуры плазмодия, обладающие антигенными свойствами, хранившиеся при -20°C до 10 дней или при -70°C в течение 2 месяцев, продемонстрировали лучшие результаты, характеризовавшиеся четким распределением полос антигенов в ПААГ и в иммунном блоте, а также соответствующими значениями оптической плотно-

сти в ИФА. Они, по мнению авторов работы, подтверждают их надежность для дифференциации между положительным и отрицательным результатами.

В последнее десятилетие проводятся интенсивные исследования по разработке и совершенствованию ДЭТ. Они рассматриваются в качестве идеальной альтернативы световой микроскопии для выявления малярийных плазмодиев, особенно в отдаленных регионах. На сегодняшний день ДЭТ, в которых были использованы некоторые белки малярийных плазмодиев, как известно, имеют определенные недостатки, в связи с чем исследователи начали искать новые перспективные решения. Белок (антиген) малярийного плазмодия *P. falciparum* тиоредоксин пероксидаза 1 (PfTRx-1) в большом количестве экспрессируется в цитоплазме паразита и является одним из самых консервативных белков для разных видов малярийных плазмодиев, что делает этот антиген перспективной мишенью для диагностики малярии.

В ходе исследования Nakimi H. и соавт. были получены моноклональные антитела (МКА) к PfTRx-1 [4]. Исследовали связывающую способность МКА для определения аффинитета. Авторы создали несколько тест-систем, основанных на методе иммунохроматографического анализа (ИХА) с применением различных сочетаний МКА. Все МКА обладали высокой аффинностью к данному антигену, что позволило использовать их в диагностических целях. Результаты оценки чувствительности ИХА-теста с использованием рекомбинантного антигена PfTRx-1, привели авторов исследования к созданию 4 различных ИХА-диагностикумов. Эти тесты показали положительную реакцию с супернатантами *P. falciparum*, культивированными *in vitro*, указывающую на высвобождение PfTRx-1 во время разрыва шизонтов. В целом, полученные результаты показали, что PfTRx-1 является перспективным биомаркером для диагностики малярии, вызванной *P. falciparum*. Однако диагностическая эффективность применения данного антигена должна быть дополнительно подтверждена результатами исследований с использованием клинических образцов.

Несмотря на то, что малярия остается наиболее широко распространенной тропической болезнью в мире, снижение местной трансмиссии малярии в определенном географическом регионе создает возможность ее элиминации. Поскольку ряд стран вовлечены в программы по борьбе и элиминации малярии, ее диагностика должна меняться в зависимости от конкретных целей и задач - для выявления больных с клинической формой инфекции, или для активного выявления инфекции у всех паразитоносителей, в том числе бессимптомных, или у пациентов с низким уровнем паразитемии. Не многие современные диагностические методы обладают большой пропускной способностью и высокой чувствительностью.

Коллектив авторов из Китая (Cheng Z. и соавт.) провел исследование при помощи метода сэндвич-гибридизации для обнаружения РНК рода *Plasmodium* - 18S рРНК, выделенной непосредственно из клеток *P. falciparum*, содержащейся в образцах цельной крови, но не РНК *P. vivax* [5]. С использованием ИФА были исследованы образцы крови 202 лихорадящих больных из регионов, эндемичных по малярии; исследовали по 20 мкл каждого образца крови, внесенного в лунки 96-луночного полистиролового планшета. Полученные результаты сравнивали с результатами

микроскопии, ДЭТ и метода ПЦР "в реальном времени" с использованием родоспецифичных праймеров. При помощи авторского метода были выявлены все 66 образцов, давших положительный результат при микроскопии, в том числе 49 неправильно хранившихся образцов крови, прошедших несколько циклов замораживания и оттаивания из-за наличия определенных ресурсных ограничений. Тест выявил 3 ложноотрицательных результата микроскопии и 4 ложноотрицательных результата ДЭТ и полностью подтвердил результаты ПЦР "в реальном времени". При использовании авторского теста не было получено отрицательных результатов при исследовании образцов, ранее показавших положительный результат при исследовании другими методами. Порог обнаружения *P. falciparum* в авторском тесте составил 0,04 паразитов/мкл. Отмечая простую технику выполнения анализа, большую пропускную способность и высокую чувствительность авторы рекомендуют использовать его в процессе активного скрининга малярийной инфекции.

В настоящее время большое внимание уделяется разработке новых методов для диагностики малярии у бессимптомных паразитоносителей с низким уровнем паразитемии, лечение этих пациентов позволит прервать цепочку передачи возбудителя. Изучаются методы петлевой изотермической амплификации нуклеиновых кислот для проведения диагностики малярии в "полевых" условиях. Группой исследователей (Oriero E.C. и соавт.) из нескольких различных организаций, занимающихся проблемой малярии (Институт тропической медицины, (г. Антверпен, Бельгия), международная группа ученых из клиники при Университете Антверпена (Бельгия), специалисты кафедры микробиологии и иммунологии Левенского католического университета (Бельгия), Лондонская школа гигиены и тропической медицины (Великобритания) и Совет по медико-лабораторным исследованиям (Банжул, Гамбия)) было проведено исследование в данном направлении [6]. Авторы работы оценивали новый молекулярный метод петлевой изотермической амплификации (Loop-mediated isothermal amplification, или LAMP), предназначенный для определения генома апикопласта (уникального компонента клеток) *P. falciparum* с целью диагностики малярии у бессимптомных паразитоносителей, проживающих в сельской местности Гамбии. Проводили скрининговое исследование на малярию, в ходе которого были собраны и проанализированы образцы крови от 341 пациента (средний возраст 9 лет, диапазон 1-68 лет). Каждый образец крови исследовали при помощи ДЭТ "SD Bioline Malaria Antigen P.f." (Standard Diagnostics, Inc.; Йонгин, Республика Корея), метода микроскопии препарата "толстой капли" крови (ТКК), приготовленного непосредственно на предметном стекле и метода "сухой капли" крови (СКК), нанесенной на фильтровальную бумагу. Препараты ТКК и СКК были транспортированы в полевую лабораторию, в которой проведены исследования с использованием метода микроскопии и LAMP-метода. При помощи последнего исследовали ДНК, экстрагированную из образцов СКК (метанол/нагревание). На базе лаборатории проводили ПЦР-амплификацию всех образцов, содержащих ДНК, выделенную с использованием набора реagenтов Qiagen, результаты которой были приняты в качестве референтных для всех других методов. Результаты исследования показали, что уровень распространенности малярий-

ного плазмодия *P. falciparum*, детектированного при помощи LAMP-метода, составил 37% (127/341), с использованием метода микроскопии - 30% (104/341) и при помощи ДЭТ - 37% (126/341). По сравнению с референтным методом ПЦР, чувствительность других тестов составила: 92% для LAMP, 78% для микроскопии и 76% - для ДЭТ; специфичность составила 97% для LAMP, 99% - для микроскопии и 88% - для ДЭТ. В сравнении с референтным стандартом площадь под ROC-кривой составила 0,94 для LAMP; 0,88 для микроскопии и 0,81 для ДЭТ. Общее время анализа с использованием метода LAMP, затраченное на исследование $27 \pm 9,5$ образцов собранных в среднем за день, составило примерно 3 ч 30 мин, по сравнению с минимум 10 образцами в час на одного оператора при использовании ДЭТ и более 8 ч - на микроскопию.

Авторы отметили, что исследование при помощи LAMP-метода может давать надежные результаты при проведении скрининга на малярию в день забора проб. Геном апиколаста, на определение которого нацелен новый метод LAMP, является уникальным компонентом клеток *P. falciparum*, что обуславливает высокую специфичность метода. Данный метод позволяет выявить низкий уровень паразитемии при малярийной инфекции в значительно большем проценте случаев по сравнению с другими методами исследования, и может быть рекомендован для широкого применения при скрининговых обследованиях и для принятия решений о назначении лекарственной терапии.

В связи с существующей проблемой завоза малярии в эндемичные регионы ученые подчеркивают важность своевременной диагностики этой инфекции для оказания медицинской помощи и предотвращения внезапных летальных исходов и предлагают наиболее оптимальные алгоритмы лабораторной диагностики с использованием современных диагностикомов.

Работа в этом направлении была проведена коллективом исследователей из Франции (Brenier-Pinchart M.P. и соавт.) [7]. Авторы констатируют, что во Франции ежегодно регистрируется более 5000 случаев завозной малярии и обращают внимание на то, что микроскопическое исследование фиксированных и окрашенных "тонких мазков" крови остается основным методом лабораторной диагностики малярии, но проведение данного анализа требует высокой квалификации лаборантов. Поэтому для улучшения исследования мазков крови были созданы более простые в применении диагностикомы - например, такие как, основанный на флуоресцентной микроскопии, тест QBC® (Quantitative Buffy Coat Assay - "Количественная лейкоцитарная пленка"). Авторы работы отмечают, что широкое распространение получили экспресс-методы диагностики на основе ИФА (такие как тест-полоски ParaSight® и ICT Malaria Pf®), обеспечивающие выявление в образцах крови антигенов *P. falciparum*. Их чувствительность и специфичность сопоставима с аналогичными характеристиками паразитологического метода, важным достоинством являются: простота в использовании, не требующем квалификационных навыков от исполнителя, и отсутствие необходимости в специальном оборудовании. Однако эти методы имеют ряд недостатков и могут выдавать ошибочные результаты. Так к их недостаткам относится ограниченная возможность диагностики малярии вызванной только *P. falciparum*, вероятность возникновения ложноположительных результатов после излечения заболева-

ния, а также высокая стоимость исследования. Авторы заключают, что современные тесты должны дополнять методы традиционной диагностики. Одновременное использование этих тестов наряду с микроскопическим исследованием, обеспечит быструю и эффективную диагностику малярии в эндемичных регионах. Лучшим сочетанием, по мнению авторов, является: тест QBC® + "тонкий мазок" крови и обнаружение антигенов малярийного плазмодия (ParaSight® или ICT Малярия Pf®).

В своей работе специалисты из Каролинского медицинского института в Стокгольме, Швеция (Askling H.H. и соавт.) акцентируют внимание на основных аспектах, касающихся управления завозными случаями малярии, содержащихся в документе, разработанном Европейским обществом по клинической микробиологии и инфекционным болезням и Исследовательской группой по клинической паразитологии [8]. К этим аспектам относят: необходимость тщательного сбора эпидемиологического анамнеза, раннее выявление инфекции с использованием лабораторных методов и своевременность проведения специфической терапии.

Авторы работы свидетельствуют, что в Европе малярия встречается редко, но каждый случай требует экстренной медицинской помощи. Данные эпидемиологического анамнеза (включающие сведения о пребывании на территориях, неблагополучных по малярии) могут являться "ключом к разгадке" этиологического фактора при подозрении на малярию; тщательный сбор эпиданамнеза является обязательным у пациентов с лихорадкой. У этих пациентов могут отсутствовать специфические клинические признаки или симптомы малярии, но приступы лихорадки наблюдаются почти у всех неиммунных больных. У мигрантов из эндемичных по малярии регионов, симптомы болезни чаще всего четко выражены.

При подозрении на малярию необходимо как можно быстрее доставить кровь в лабораторию для проведения микроскопии препаратов крови методом "толстая капля - тонкий мазок", окрашенных по Гимзе, являющегося "золотым стандартом" диагностики. Использование ДЭТ рекомендовано в качестве первичного скринингового метода, однако он не заменяет экстренной микроскопии, поэтому исследование при помощи этих методов должны выполняться параллельно. Отсутствие результатов (или отрицательный результат) микроскопии не должны являться основанием для отсрочки начала специфической терапии.

Пациентов с диагнозом "малярия" обычно надлежит госпитализировать в стационар. Если амбулаторное лечение является предпочтительным, то, как показывает практика в некоторых европейских центрах, пациенты должны находиться под постоянным наблюдением врача (по крайней мере, необходимо проводить ежедневный осмотр) до наступления полного клинического и паразитологического излечения.

Для лечения неосложненной малярии, вызванной *P. falciparum*, используют либо основанную на артемизинине комбинированную терапию (АКТ), либо комбинированный препарат атоваквон/прогуанил. В Европе используют два комбинированных препарата артемизинового ряда: артемизинин-люмефантрин и дегидроартемизинин-пиперахин. АКТ также эффективна против *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* и *P. knowlesi*, но все эти виды чувствительны к хлорохину. Для устранения устойчивых печеночных форм плазмодиев

P. vivax и *P. ovale* применяют примахин, после исключения противопоказания—дефицита глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы. Существуют модифицированные схемы терапии и дозировки препаратов для лечения малярии в особых группах пациентов, таких как дети и беременные женщины. Следует учитывать важные факторы при выборе лечения—потенциально неблагоприятные взаимодействия лекарственных препаратов и влияние состава пищи на процессы всасывания противомаларийных препаратов. В случае осложненной малярии тяжелого течения лечение проводится инъекционными формами артезуната (внутривенно), при этом терапевтическая концентрация препарата в организме достигается быстрее, чем при приеме хинина перорально. При внутривенной терапии артезунатом в течение четырех недель необходимо внимательно наблюдать за состоянием пациентов ввиду возможного развития гемолиза. В некоторых странах существует обеспокоенность по поводу отсутствия артезуната, производимого в соответствии с требованиями надлежащей производственной практики (стандарта GMP).

В настоящий момент ведутся активные разработки по созданию вакцины против малярии на основе антигенов мерозоитов малярийного плазмодия *P. falciparum*. Одним из аспектов иммунитета против малярии является удаление свободных мерозоитов из фагоцитов крови. Однако оценка функциональной эффективности мерозоитов, опсонизированных специфическими антителами, является сложной задачей в связи с коротким периодом жизнеспособности мерозоитов и вариабельностью первичных фагоцитов. В исследовании Hill D.L. и соавт. из Мельбурнского университета (Австралия) подробно описан способ получения жизнеспособных мерозоитов с использованием ингибитора протеазы E64, и по результатам исследования мерозоитов на опсонинзависимый фагоцитоз с помощью проклеточной линии моноцитов ТНР-1 [9]. E64 предотвращает разрыв шизонтов, и высвобождение мерозоитов, их выделяют путем фильтрации из обработанных шизонтов. Опсонизированные мерозоиты, меченые бромистым этидием, присутствующие в образцах плазмы крови, добавляли к ТНР-1. Для оценки активности фагоцитоза использовали стандартный протокол с высокой пропускной способностью. Жизнеспособные мерозоиты являются ценным ресурсом для оценки многочисленных аспектов биологии *P. falciparum*, в том числе для оценки функции иммунитета. Уровень антител, определенный в данном исследовании, связан с приобретенным иммуни-

тетом после перенесенной малярии в естественных условиях. Авторы подчеркивают, что исследование также может быть полезным для оценки синтеза вакциноиндуцированных антител.

Таким образом, усилия ученых разных стран направлены на совершенствование методов и улучшение качества лабораторной диагностики малярии, являющейся одним из важнейших компонентов общей стратегии борьбы и элиминации этой инфекции.

Литература.

1. Avila S.L., Ferreira A.W. Malaria diagnosis: a review. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 1996; 29(4):431-43.
2. Wongsrichanalai C., Barcus M.J., Muth S., Sutamihardja A., Wernsdorfer W.H. A review of malaria diagnostic tools: microscopy and rapid diagnostic test (RDT). *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2007; 77(6 Suppl):119-27.
3. Avila S.L., Tozetto-Mendoza T.R., Arruk V.G., Ferreira A.W. Standardization of procedures of *Plasmodium falciparum* antigen preparation for serologic tests. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*; 1998; 40(5):309 - 16.
4. Hakimi H., Goto Y., Suganuma K., Angeles J.M., Kawai S., Inoue N. et al. Development of monoclonal antibodies against *Plasmodium falciparum* thioredoxin peroxidase 1 and its possible application for malaria diagnosis. *Exp. Parasitol.* 2015; 154: 62-6.
5. Cheng Z., Sun X., Yang Y., Wang H., Zheng Z. A novel, sensitive assay for high-throughput molecular detection of plasmodia for active screening of malaria for elimination. *J. Clin. Microbiol.* 2013; 51(1):125-30.
6. Oriero E.C., Okebe J., Jacobs J., Van Geertruyden J.P., Nwakanma D., D'Alessandro U. Diagnostic performance of a novel loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay targeting the apicoplast genome for malaria diagnosis in a field setting in sub-Saharan Africa. *Malar. J.* 2015; 14:396.
7. Brenier-Pinchart M.P., Pinel C., Grillot R., Ambroise-Thomas P. [Diagnosis of malaria in non-endemic countries: value, limitations and complementarity of existing methods]. *Ann. Biol. Clin. (Paris)*. 2000; 58(3):310-6.
8. Askling H.H., Bruneel F., Burchard G., Castelli F., Chiodini P.L., Grobusch M.P. et al. Management of imported malaria in Europe. *Malar. J.* 2012; 11:328.
9. Hill D. L., Eriksson E. M., Schofield L. High yield purification of *Plasmodium falciparum* merozoites for use in opsonizing antibody assays. *J. Vis. Exp.* 2014 Jul 17; (89)

Шальнова Е.Е., Кочина Е.А.

Актуальные аспекты лабораторной диагностики малярии у беременных

ООО "НПО "Диагностические системы", г. Нижний Новгород

Малярия во время беременности создает угрозу здоровью и жизни беременной женщины и плода. Инфекция оказывает неблагоприятное влияние на течение беременности, которая часто сопровождается различными осложнениями, а тропическая малярия нередко заканчивается летальным исходом. Летальность у беременных женщин в 2 раза выше, чем у небеременных. Характер последствий определяет срок беременности, на котором произошло заражение малярией. Наибольшую опасность инфекция представляет при заражении ею на ранних сроках вынашивания ребенка. Серьезную проблему в эндемичных по малярии регионах представляют такие осложнения у беременных как гемолитическая анемия, нефропатия, эклампсия и гипогликемия. Тяжелее инфекция протекает у первобеременных, чем у многорожавших женщин. Наиболее частым осложнением являются самопроизвольные аборт и преждевременные роды. Поскольку плацента не является барьером для малярийных плазмодиев, то вызываемые патологические изменения в структуре плаценты, паразиты могут инфицировать плод. Наиболее вероятно заражение плода при тропической малярии. При инфицировании женщины на ранних сроках беременности наиболее распространенным исходом является гибель плода, на поздних сроках – высока вероятность рождения недоношенных детей. Очень часто новорожденные имеют низкую массу тела при рождении и другие патологические изменения.

Для предупреждения тяжелых последствий малярии у беременных необходимо проведение ранней диагностики и специфической терапии противомаларийными препаратами. Лабораторные исследования играют решающую роль не только в постановке диагноза малярии, но в определении конечного исхода заболевания. В настоящем обзоре представлены научные исследования ряда зарубежных авторов с использованием различных современных лабораторных методов, направленных на улучшение ранней диагностики малярии во время беременности.

Duffy P.E., Fried M. из Института исследований им. Уолтера Рида (г. Вашингтон, США) отметили, что формы *P. falciparum*, связывающиеся с хондроитинсульфатом А (ХСА), у небеременных женщин появляются редко, тогда как у беременных они секвестрируются в плаценте для дальнейшего роста и развития [1]. Предположительно паразиты секвестрируются в сосудах плаценты по признаку способности связываться с ХСА и размножаются, достигая высокой численности. ХСА появляется на поверхности синцитиотрофобластов плаценты и является компонентом протеогликана, обнаруживаемого в плаценте. Антиадгезивные антитела к малярийным паразитам, связанным с ХСА, ассоциируются с защитой беременных женщин от малярии, но эти антитела появляются только после нескольких беременностей. Отсутствие этих антител, вероятно, является

основной причиной тяжелых форм малярии у первобеременных женщин, по сравнению с многорожавшими. Появление этих антител не зависит от штамма паразита. Ученые сделали заключение, что вакцина, созданная на основе этих антител, может быть эффективным средством профилактики малярии у беременных женщин.

Группа авторов из Малави (Rogerson S.J. и соавт.) проводила исследование для сравнения эффективности диагностики тропической малярии у беременных женщин при помощи метода микроскопии мазков периферической и плацентарной крови и гистологического исследования плаценты [2]. В исследовании приняли участие 464 женщины, у 124 (26,7%) из которых наблюдалась острая инвазия, а у 148 (31,9%) – малярия была диагностирована в прошлом. В ходе исследования авторы установили, что гистологический метод оказался более чувствительным (91%), чем микроскопия мазков периферической (47%) и плацентарной крови (63%). Кроме того, при гистологическом исследовании выявлены случаи инфекции перенесенной в прошлом (паст-инфекции). Лишь у небольшого числа женщин малярия была диагностирована при помощи микроскопического метода при отсутствии положительных гистологических результатов. У новорожденных детей, родившихся у женщин с положительными результатами гистологического исследования, обнаружены низкая масса тела и анемия. На основании полученных результатов авторы работы сделали вывод, что наиболее чувствительным методом для диагностики малярии у беременных женщин в момент рождения ребенка является гистологическое исследование плаценты.

Значительный интерес представляет работа Adam I. и соавт. о случаях субмикроскопической инвазии *P. falciparum* у беременных женщин одного из регионов Судана [3]. Авторы отметили, что отсутствуют крупные исследования и мало литературных данных о случаях малярии во время беременности у женщин, проживающих в регионах Африки к югу от Сахары, где интенсивность передачи малярии невысока, а также результатов исследований об обнаружении у беременных женщин субмикроскопической инвазии возбудителя тропической малярии. Свое исследование авторы проводили в период с августа 2003 г. по июль 2004 г. в г. Нью-Халфа (Восточный Судан), являющемся регионом с низким уровнем трансмиссии малярии. Основной целью исследования было оценить распространенность случаев выявления субмикроскопической инвазии *P. falciparum* для определения последствий таких инвазий на развитие анемии во время беременности. Мазки крови беременных женщин исследовали с использованием стандартного метода микроскопии. Параллельно образцы крови этих женщин исследовали при помощи полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием поверхностного протеина-2 мерозоитов *P. falciparum* как

полиморфного маркера. Из 142 обследованных беременных женщин паразиты в мазках крови были обнаружены у 17 (11,9%). В то же время в 40 случаях у женщин с отрицательной микроскопией мазка крови была получена положительная ПЦР (32%). Из этих 40 у 32 (80%) была обнаружена только FC 27 аллель (поверхностного протеина-2 мерозоитов), у 6 (15%) – только IC1 аллель и у 2 (5%) – обе эти аллели. По результатам проведенного исследования не выявлено статистически значимых различий по возрасту, числу родов в анамнезе, гестационному сроку беременности и концентрации гемоглобина в крови между группой беременных женщин с положительным результатом микроскопии и отрицательной ПЦР и группой женщин с субмикроскопической инвазией. Несмотря на это, авторы акцентируют внимание на том факте, что субмикроскопическая малярия у беременных может оказывать негативное воздействие на здоровье женщины-матери и плода.

Специалисты Национального института аллергии и инфекционных заболеваний (США) Fried M. и соавт. заостряют внимание на том, что малярию в период беременности (МБ) трудно распознать и диагностировать [4]. Во время беременности, паразиты обычно секвестрируются в плаценте, и при исследовании мазков периферической крови малярийные паразиты могут не обнаруживаться. Кроме того, у многих женщин инфекция часто протекает бессимптомно, особенно у проживающих в регионах с высоким уровнем трансмиссии малярии, у которых, несмотря на выраженные показатели системного иммунитета, регистрируются осложнения, в числе которых анемия беременных и задержка внутриутробного развития плода, что утяжеляет заболевание и может привести к летальному исходу. Авторы отмечают, что новые диагностические экспресс-тесты (ДЭТ) оказались перспективными для диагностики малярии у небеременных женщин, недавно они были одобрены FDA (Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств, США) для использования в США. Однако ДЭТ могут не обладать достаточной чувствительностью и специфичностью для диагностики МБ. В своем исследовании Fried M. и соавт. анализируют методы, используемые для обнаружения или диагностики МБ, такие как: микроскопия мазка крови, ДЭТ, методы на основе ПЦР, и наконец, метод гистологии плаценты, который часто упоминается в качестве "золотого стандарта" для использования в научных исследованиях и клинических испытаниях.

В 2013 году Takem E.N. и D'Alessandro U. из Гамбии обобщили результаты многолетнего наблюдения [5]. Их обзор содержит обновленную информацию о малярийной инфекции в период беременности, вызванной *P. falciparum* и *P. vivax*, собранную начиная с 2000 года. Представлены данные, касающиеся механизмов развития осложнений, методов диагностики, профилактики и лечения малярии у беременных. Авторы отмечают, что беременные женщины имеют более высокий риск заболевания малярией по сравнению с небеременными. Материнские факторы риска МБ включают: молодой возраст беременной женщины, низкий уровень паритета (небольшое число родов в анамнезе), и малый для гестационного возраста плод. Основные проявления МБ – анемия беременных, низкий вес плода (НВП) при рождении, самопроизвольный выкидыш на раннем сроке и высокий риск младенческой и материн-

ской смерти. Авторы данного исследования подтверждают ранее установленные данные, что эритроциты, инфицированные *P. falciparum*, секвестрируются в плаценте путем экспрессии поверхностных антигенов (вариант поверхностного антигена VAR2CSA), которые связываются со специфическими рецепторами, в основном ХСА. В эндемичных регионах, высокий риск восприимчивости к малярии у впервые забеременевших женщин можно объяснить нераспознаванием этих поверхностных антигенов иммунной системой. В последнее время плацентарная секвестрация была описана также для инфекций, вызываемых *P. vivax*. Механизм самопроизвольных выкидышей и внутриутробной задержки развития плода до сих пор неясен, но лихорадка (которая может спровоцировать выкидыш), анемия, и высокие уровни имеют существенное значение.

Клинические подозрения на МБ должны быть подтверждены результатами паразитологических методов диагностики. Чувствительность методов микроскопии и гистологического исследования плаценты, используемых в качестве "золотого стандарта" при исследовании мазков периферической и плацентарной крови у африканских женщин, инфицированных *P. falciparum*, составила соответственно 60 и 45%. По сравнению с микроскопией, ДЭТ имеют более низкую чувствительность, однако в случаях отрицательных результатов микроскопии, результаты ДЭТ могут быть более надежными.

В эндемичных регионах для снижения уровня заболеваемости малярией среди беременных рекомендовано использование противомоскитных сеток, обработанных инсектицидами (СОИ) и периодическое превентивное лечение (ППЛ). Было показано, что использование СОИ снижает уровень неблагоприятных исходов беременности на 28-47%.

Несмотря на проблемы, связанные с резистентностью к противомаларийным препаратам была показана важность использования эквивалентных доз соответствующих препаратов для ППЛ. Для лечения неосложненной малярии в первом триместре беременности применяют хинин в сочетании с клиндамицином в течение 7 дней, в качестве альтернативной схемы рассматривается прием артезуната в комбинации с клиндамицином в течение 7 дней; во втором и третьем триместре назначают комбинированную терапию, основанную на артемизинине (АКТ) – артезунат с клиндамицином или хинин с клиндамицином в течение 7 дней. Для лечения тяжелой малярии, во втором и третьем триместре предпочтительнее парентеральное применение артезуната вместо хинина. В первом триместре, можно применять как артезунат, так и хинин (парентерально). Тем не менее, лечение следует начинать незамедлительно, используя наиболее доступные препараты.

Коллективом ученых из различных клинических научных организаций Индонезии (Ahmed R. и соавт.) было проведено кросс-секционное исследование по оценке диагностической эффективности четырех комбинированных ДЭТ для определения HRP-2/ pLDH и метода микроскопии для использования их в качестве скрининговых тестов при проведении диагностики малярии у беременных [6]. Авторы констатируют, что малярия во время беременности является серьезной проблемой общественного здравоохранения Индонезии, и по оценкам, ежегодно около 6 миллионов беременных женщин подвержены риску заражения *P. falciparum* или *P. vivax*. В 2010 году в националь-

ную программу Индонезии по борьбе с малярией во время беременности было включено проведение скрининговых исследований в антенатальный (дородовой) период с использованием метода микроскопии или ДЭТ, основанных на методе иммунохроматографии, а также проведение лекарственной профилактики. Для сравнения эффективности четырех различных ДЭТ, используемых для экспресс-диагностики малярии в "полевых" условиях, авторами работы было проведено исследование крови преимущественно у асимптомных беременных женщин о. Сумба (Индонезия).

Скрининговое обследование беременных женщин на малярию проводили в рамках антенатальной программы с использованием метода микроскопии и четырех комбинированных ДЭТ для выявления антигенов, пригодных для иммунохроматографии—специфического белка HRP-2а и фермента pLDH (HRP-2а /pLDH) возбудителей малярии: (Carestart, First-Response, Parascreen и SD-Bioline). Полученные результаты ДЭТ сравнивали с результатами методов—микроскопии и "гнездовой" (nested) ПЦР, выбранных в качестве референтных. Окончательный вывод делали по совокупности результатов ДЭТ и данных опросника.

В целом в исследовании приняли участие 950 беременных женщин, 98,7% из них были клинически здоровыми (без симптомов малярии). Уровень распространенности малярии составил от 3,0 до 3,4% при использовании ДЭТ, 3,6%—при внелабораторном микроскопическом исследовании, 5,0%—при проведении микроскопии опытным экспертом и 6,6% при исследовании методом ПЦР. Средний уровень паразитемии был низким и составил 418 паразитов/мкл для *P. falciparum*, и для 147 паразитов/мкл —для *P. vivax*. По сравнению с ПЦР, средняя чувствительность ДЭТ и внелабораторной микроскопии для обнаружения всех видов малярийных плазмодиев составила от 24,6 до 31,1%; специфичность методов—более 98,4%. В отличие от ПЦР диагностический экспресс-тест First-Response показал лучшую диагностическую точность при обнаружении всех видов плазмодиев, его чувствительность составила 31,1%, специфичность—98,9% и диагностическое отношение шансов (ОШ)—39,0. Значения ОШ для тестов Carestart, Parascreen, SD-Bioline и микроскопии составили 23,4, 23,7, 23,5 и 29,2, соответственно. Чувствительность ПЦР для выявления Pap-pLDH при моноинфекции, вызванной *P. vivax*, составила от 8,6 до 13,0%. Чувствительность ПЦР для обнаружения специфического белка HRP-2а *P. falciparum* составила от 10,3 до 17,9%. Было установлено, что использование тест-системы для одновременного выяв-

ления белков HRP-2 и фермента Pap-pLDH малярийных плазмодиев повышает эффективность диагностики. Авторами исследования предпочтение было отдано тесту First-Response для использования в общей практике.

По результатам своей работы авторы сделали вывод о том, что среди тестов, предназначенных для выявления малярии, главным образом, среди асимптомных беременных женщин, у теста First-Response была отмечена несколько более высокая диагностическая точность и очевидная простота использования. Но в целом, различия в результатах четырех ДЭТ были незначительными, и по диагностической эффективности они были сравнимы с микроскопией. Использование комбинации ДЭТ является наиболее подходящей альтернативой микроскопии для лабораторной диагностики малярии во время беременности в сельских районах Индонезии. В дальнейших планах авторов данного исследования—изучение клинической значимости ПЦР для выявления малярийных плазмодиев у лиц с низким уровнем паразитемии в тех случаях, когда паразиты не могут быть обнаружены ДЭТ или методом микроскопии.

Таким образом, большинство современных разработок в данной области представляют несомненный интерес для достаточно широкого круга ученых и специалистов.

Литература.

1. Duffy P.E., Fried M. Malaria during pregnancy: parasites, antibodies and chondroitin sulphate A. *Biochem. Soc. Trans.* 1999 Aug; 27(4):478-82.
2. Rogerson S.J., Mkundika P., Kanjala M.K. Diagnosis of *Plasmodium falciparum* malaria at delivery: comparison of blood film preparation methods and of blood films with histology. *J. Clin. Microbiol.* 2003 Apr; 41(4):1370 -1374.
3. Adam I., A-Elbasit I.E., Salih I., Elbashir M.I. Submicroscopic *Plasmodium falciparum* in-ffections during pregnancy, in an area of Sudan with a low intensity of malaria transmission. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 2005 Jun; 99(4):339-44.
4. Fried M., Muehlenbachs A., Duffy P.E. Diagnosing malaria in pregnancy: an update. *Expert. Rev. Anti. Infect. Ther.* 2012 Oct; 10(10): 1177-87.
5. Takem E.N., D'Alessandro U. Malaria in pregnancy. *Mediterr. J. Hematol. Infect. Dis.* 2013; 5(1):e2013010.
6. Ahmed R., Levy E.I., Maratina S.S., de Jong J.J., Asih P.B., Rozi I.E. et al. Performance of four HRP-2/pLDH combination rapid diagnostic tests and field microscopy as screening tests for malaria in pregnancy in Indonesia: a cross-sectional study. *Malar. J.* 2015 Oct 29; 14(1):420.

Кочина Е.А., Шальнова Е.Е.

Гемотранфузионная малярия: диагностические критерии и практические рекомендации

ООО "НПО "Диагностические системы", г. Нижний Новгород

В связи с тем, что существует риск заражения малярией при переливании крови как в эндемичных, так и в неэндемичных по малярии странах, трансфузионная малярия (ТМ) является предметом особого внимания медицинской науки и практики. С учетом актуальности проблемы и для обеспечения максимальной безопасности донорской крови ученые разных стран постоянно проводят усовершенствование существующих и поиск новых более эффективных методов диагностики и современных подходов к предупреждению трансфузионного пути передачи инфекции. В рамках настоящего обзора представлен ряд работ зарубежных авторов, проводивших исследования в данном направлении.

Значительный интерес представляет экспериментальное исследование Dubey A. и соавт. из Северной Индии [1]. В связи с недостаточностью опубликованных данных о распространенности маркеров малярии у доноров крови и об уровне распространенности ТМ авторы изучали уровень распространенности противомаларийных (ПМ) антител у доноров крови и определяли риск развития ТМ у пациентов, получающих множественные трансфузии. Данное ретроспективное кросс-секционное исследование проводили совместно со специалистами отделения трансфузионной медицины, входящим в состав службы высокоспециализированных видов медицинской помощи штата Уттар-Прадеш на севере Индии, в период с октября 2006 г. по август 2008 г.

В исследование были включены допущенные к донорству доноры крови ($n=1000$), доноры, временно отстраненные от донорства из-за наличия лихорадки в анамнезе в течение последних 3-х месяцев ($n=100$), а также пациенты, получающие множественные гемотрансфузии ($n=200$).

Скрининговые исследования на малярию проводили при помощи метода микроскопии, диагностического экспресс-теста (ДЭТ) на основе иммунохроматографического анализа для определения малярийного антигена и иммуноферментного анализа (ИФА) для детекции ПМ антител. Для классификации эндемичности малярии по уровню распространенности ПМ антител в обследуемой группе населения использовали следующие критерии: гипоэндемичная (<10%), мезоэндемичная (11-50%), гиперэндемичная (51-75%) и голоэндемичная (>75%) [Chatterjee K.D., 1959].

По результатам исследования уровень распространенности ПМ антител у здоровых доноров, у доноров с лихорадкой в анамнезе, у пациентов с талассемией и других пациентов, получавших множественные трансфузии, составил 16,9, 22, 6 и 15%, соответственно. Общий уровень распространенности ПМ антител составил 17,4%, в связи с чем регион обследуемой популяции доноров был оценен как мезоэндемичный по малярии. Ни у одного из до-

норов не были выявлены возбудители малярии при микроскопическом исследовании мазков крови. ДЭТ, основанный на определении специфических белков малярийного плазмодия-паразитарной лактатдегидрогеназы (pLDH), показал отрицательный результат у всех доноров крови, за исключением одного-с наличием лихорадки в анамнезе.

Исследователи отметили высокий уровень распространенности ПМ антител в популяции доноров крови данного исследования. Однако авторы считают неприемлемым отбраковывание донорской крови только на основании положительного результата ПМ антител. В связи с этим, они приводят результаты исследований других авторов [Oh J.S., 2008], которые проводили детекцию ПМ антител к *P. vivax* при помощи ИФА тест-системы (специфичность составила 94,0%), а в качестве референтного метода использовали ПЦР.

Dubey A. и соавт. считают целесообразными разработку и внедрение в практическое здравоохранение дополнительных высокотехнологичных методов анализа для снижения риска развития ТМ и обеспечения безопасности донорской крови [1].

Малярия является одной из ведущих причин смерти населения южных регионов государства Бенин (Западная Африка). Особую проблему тропическая малярия, вызываемая *P. falciparum*, представляет для беременных женщин и детей при трансфузиях донорской крови в критических ситуациях. Atchade P.S. и соавт. свое исследование проводили с целью сравнения эффективности различных методов скрининга малярии у доноров крови из южных областей Бенина, являющихся эндемичными по малярии [2].

Для исследования на протяжении 10 месяцев забирали образцы крови от 2515 добровольных доноров (из них 2025 мужчин и 490 женщин). Все образцы крови классифицировали в зависимости от сезона, в который они были получены: длительный сезон дождей, короткий сухой сезон, короткий сезон дождей и длительный сухой сезон. Для подсчета числа паразитов проводили микроскопическое исследование. Определяли уровень паразитемии по количеству плазмодиев в 1 мкл крови. Специфический антиген *P. falciparum* pLDH определяли при помощи антигенного ИФА-теста. С использованием растворимых неочищенных антигенов *P. falciparum* в антительном ИФА-тесте детектировали антитела к возбудителю малярии *P. falciparum*.

По данным авторов исследования частота бессимптомной трансмиссии *P. falciparum* составила 295/2515 (11,72%, 95% ДИ: 10,5-13,1). Среди доноров-мужчин отмечен более высокий уровень малярийной инфекции (12,4%), чем у доноров-женщин (8,8%). Выявлен очень низкий уровень паразитемии: от 7 до 100 паразитов в 1 мкл крови у 80% доноров. Были идентифицированы три вида *Plasmodium*: *P. falciparum* у 280/295 доноров (95,0%),

P. malariae в 14/295 (5,0%) и *P. ovale* в 1/295 (0,34%). В ходе исследования было установлено, что уровень распространенности малярии оказался выше в сезон дождей (13,7%), чем в сухие сезоны (9,9%). Использование высокочувствительного теста позволило детектировать rLDH в 966 случаях из 2515 (38,4%; 95% ДИ: 36,5–40,3). Уровень распространенности ПМ антител составил 1,859/2515 (73,9%; 95% ДИ: 72,16–75,6). Уровни антигенемии и ПМ антител у доноров крови значительно различались ($p < 0,05$) в течение четырех сезонов. Самый высокий показатель антигенемии—323/630 (51,3%) отмечен в период короткого сезона дождей, а самый высокий уровень распространенности антител—751/886 (84,7%) зарегистрирован в период длительного сухого сезона.

Исследователи отметили, что методы диагностики малярии в настоящее время доступны, но преобладающими являются критерии экономической целесообразности проведения массового скрининга в эндемичных районах. По мнению авторов, выявление специфического антигена rLDH, являющегося признаком наличия паразитов, является подходящим диагностическим инструментом для скрининговых исследований в эндемичных регионах. Рутинный скрининг всей донорской крови позволит обеспечить безопасность гемотрансфузий и снизить уровень передачи тропической малярии, особенно у таких категорий пациентов, как дети и беременные женщины. Он позволит сократить расходы на медицинскую профилактику среди реципиентов крови, а также будет способствовать снижению резистентности *P. falciparum*.

В Бразилии, малярия является эндемичным заболеванием в регионе бассейна реки Амазонки и неэндемичной на территории, расположенной вне бассейна реки Амазонки, которая включает районы штата Сан-Паулу. С учетом этих особенностей, ежегодно регистрируются автохтонные (местные) случаи заболевания малярией, однако опубликованных данных о распространенности субклинической формы инфекции недостаточно. Бессимптомные формы инфекции могут оставаться незамеченными, поддерживая передачу возбудителя, в том числе при трансфузии крови. Описаны случаи субклинической малярийной инфекции у доноров крови центра переливания крови в Сан-Паулу, Бразилия.

Коллективом специалистов из Бразилии (Maselli L.M. и соавт.) было проведено кросс-секционное исследование репрезентативных выборок образцов крови от 1108 здоровых доноров крови из Гемоцентра Сан-Паулу, главного центра переливания крови в штате [3]. Для обнаружения возбудителей малярии *P. falciparum* и *P. vivax* авторы использовали ПЦР в реальном времени. Определяли территориальную привязку автохтонных субклинических случаев малярии (районы тропических лесов и нелесные территории).

По результатам исследования образцов крови доноров в 84 (7,41%) случаях выявлен положительный результат на малярийные плазмодии; у 57 доноров обнаружен *P. falciparum*, у 25 человек—*P. vivax*, а в 2 случаях—оба вида. Уровень распространенности *P. falciparum* и *P. vivax* составил 5,14 и 2,26, соответственно. Общий коэффициент распространенности (КР) составил 3,23 (95% ДИ 2,03; 5,13); для *P. falciparum* КР составил 16,11 (95% ДИ 5,87, 44,21) и для *P. vivax* КР составил 0,47 (95% ДИ 0,2; 1,12). Субклиническая форма малярийной инфекции, вызванной *P. falcipa-*

rum, зарегистрирована в горных районах Атлантического леса, в то время как инфекция, вызванная *P. vivax* обнаружена на территории городов, окруженных лесами. Таким образом, исследователями была установлена территориальная привязка малярийной инфекции, вызванной *P. falciparum*, к лесной среде, а инфекция, вызванная *P. vivax* была связана с фрагментарностью лесных массивов.

Авторы сделали вывод, что выявление малярийных плазмодиев у здоровых доноров крови неэндемичных регионов имеет большое значение в плане биологической безопасности гемотрансфузий. Инфицированные реципиенты могут быть бессимптомными носителями и резервуаром паразитов, поддерживающими их передачу.

Заслуживает внимания исследование Wang Z.Y. и соавт., описавших единичный случай четырехдневной малярии неясного генеза у пациента одного из стационаров г. Шанхай [4]. Исследователи провели клинико-эпидемиологический анализ, в ходе которого было установлено, что пациент не посещал эндемичных по малярии регионов, ранее малярией не болел, но получил массивную гемотрансфузию во время хирургической операции. Пациенту переливали кровь от трех доноров. Образцы крови пациента и доноров крови авторы исследовали при помощи микроскопического метода, ДЭТ и метода "гнездовой" ПЦР. По результатам микроскопического исследования мазков крови пациенту был поставлен диагноз четырехдневной малярии, вызываемой *P. malariae*. А при исследовании перечисленными методами образцов крови доноров малярийная инфекция не была выявлена. Однако при использовании усовершенствованного метода мультиплексной "гнездовой" ПЦР у пациента и одного из доноров обнаружена 100% гомология нуклеотидной последовательности ДНК *P. malariae*. В связи с этим, был подтвержден гемотрансфузионный путь заражения пациента малярией.

По результатам проведенного исследования авторы пришли к выводу, что при проведении лабораторной диагностики случаев малярии неясного генеза необходимо использовать различные методы; усовершенствованный метод мультиплексной "гнездовой" ПЦР позволяет эффективно диагностировать малярию с низким уровнем паразитемии.

Olawumi H.O. и соавт. из Нигерии опубликовали данные своего исследования по изучению уровня распространенности малярийной паразитемии среди доноров крови в г. Илорин, а также социально-демографических и других факторов, связанных с этой инфекцией [5]. Они провели кросс-секционное исследование, в котором приняли участие 308 добровольных доноров крови. Социально-демографические характеристики участников, а также сведения анамнеза доноров получали из данных структурированных вопросников. Для обнаружения малярийных плазмодиев использовали стандартную микроскопию толстых и тонких мазков крови, окрашенных по методу Гимза. Определение групп крови по системе АВО и тест "электрофорез гемоглобина" также выполняли с использованием стандартных методов.

В ходе данного исследования уровень распространенности малярийной паразитемии среди доноров крови в г. Илорин составил 27,3%. Чаще идентифицировали *P. falciparum* (85,7%), чем *P. malariae* (14,3%). У доноров с наличием паразитемии не было выявлено статистически значимых различий по возрасту или полу ($p=0,8$ и $p=0,32$,

соответственно). Паразитемия чаще регистрировалась у доноров с группой крови O, чем у лиц с группами крови A и B, но это различие не было статистически значимым ($p=0,13$). Также не было обнаружено значимых различий по типам гемоглобина.

По итогам исследования авторы констатировали, что уровень распространенности малярийной паразитемии среди доноров крови в г. Илорин достаточно высок, и отсутствие рутинного скрининга крови ставит под угрозу здоровье реципиентов крови. Они рекомендовали внедрять скрининг на малярию в рутинную лабораторную практику, начиная с банков крови, а также применять в банках крови меры по обеззараживанию донорской крови до ее трансфузии пациентам при помощи рибофлавина и воздействия УФ-излучения для инактивации малярийных паразитов и других инфекционных патогенов.

Elyamanу G. и соавт. из Саудовской Аравии провели исследование по оценке используемых методов скрининга на малярию среди доноров неэндемичных регионов государства [6]. Авторы отметили, что в Саудовской Аравии—стране неэндемичной по малярии, регистрируется очень низкий уровень заболеваемости малярией. Однако зарегистрированы случаи малярии в провинциях Асир и Джазан, расположенных вдоль юго-западной границы с Йеменом. Зарегистрированы также завозные случаи малярии. Исследователи определяли уровень распространенности малярии среди доноров крови госпиталя высокоспециализированной медицинской помощи в центральной части Саудовской Аравии, а также оценивали эффективность методов скрининга малярии, используемых службами переливания крови.

В данном исследовании приняли участие 180 000 доноров, сдававших кровь в период 2006-2015 гг. Все препараты крови доноров, окрашенные по методу Гимзы, исследовали с использованием микроскопов малой и высокой мощности, и с применением масляно-иммерсионных объективов. Из общего числа 180 000 доноров крови, обследованных на малярию, 156 000 (87%) доноров являлись гражданами Саудовской Аравии, а 23 400 (13%) человек не были гражданами этой страны. Средний возраст участников составил 32 года (диапазон от 18 до 65 лет), половой состав: 97%—мужчины и 3%—женщины. При проведении скрининга на малярию с использованием метода микроскопии, показатель распространенности малярии в исследуемой популяции оказался равным нулю.

На основании полученных данных авторы пришли к выводу, что применяемый в настоящее время метод скрининга малярии у доноров крови не приемлем в случаях низкого уровня паразитемии. Скрининг, проводимый с использованием метода микроскопии, авторы предложили дополнить иммунологическими и молекулярными методами исследования.

Поскольку настоящий обзор посвящен использованию тех или иных методов скрининга донорской крови на малярию, внимание специалистов лабораторной службы необходимо обратить на то, что согласно рекомендациям ВОЗ, выбор метода скрининга будет зависеть от того, яв-

ляется ли регион эндемичным по малярии или нет [7]. Методы, используемые для определения наличия малярии, ориентированы на следующие мишени для скрининга: прямое определение паразита в толстой капле крови и определение серологических маркеров (антител и антигенов).

В эндемичных регионах, наряду с микроскопическим определением паразитов, в настоящее время широко доступны высококачественные и чувствительные ИФА-тесты для антигенного анализа на (при низких уровнях паразитемии). Вместе с тем, в эндемичных странах стратегии организации и внедрения скрининга на малярию, как правило, носят комплексный характер и предусматривают сочетание определенных критериев для отбора доноров и их отстранения от донорства с учетом времени года, географического положения и доступности средств профилактики малярии, включая лабораторный скрининг.

В неэндемичных регионах эффективным методом скрининга донаций от лиц, относящихся к группе риска по передаче малярии, является выявление специфических антител при помощи ИФА. Практически во всех случаях такие меры, как временное отстранение от донорства на период до шести месяцев с даты последнего потенциального контакта с заразным началом и тестирование на антитела к малярии, позволят предотвратить передачу малярии.

Литература.

1. Dubey A., Elhence P., Ghoshal U., Verma A. Seroprevalence of malaria in blood donors and multi-transfused patients in Northern India: relevance to prevention of transfusion-transmissible malaria. *Asian. J. Transfus. Sci.* 2012; 6(2):174-8.
2. Atchade P.S., Doderer-Lang C., Chabi N., Perrotey S., Abdelrahman T., Akpovi C.D. et al. Is a Plasmodium lactate dehydrogenase (pLDH) enzyme-linked immunosorbent (ELISA)-based assay a valid tool for detecting risky malaria blood donations in Africa? *Malar. J.* 2013 Aug 8; 12:279.
3. Maselli L.M., Levy D., Laporta G.Z., Monteiro A.M., Fukuya L.A., Ferreira-da-Cruz M.F. et al. Detection of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* subclinical infection in non-endemic region: implications for blood transfusion and malaria epidemiology. *Malar. J.* 2014 Jun 6; 13:224.
4. Wang Z.Y., Zhang Y.G., Jiang L., Li M., Zhu M., Cal Li. Laboratory analysis and diagnosis of one transfusion-transmitted quartan malaria case in Shanghai City. *Zhongguo Xue Xi Chong Bing Fang Zhi Za Zhi.* 2015 Aug; 27(4):362-6.
5. Olawumi H.O., Fadeyi A., Babatunde S.K., Akanbi A.A., Babatunde A.S., Sani M.A. et al. Malaria parasitaemia among blood donors in Ilorin, Nigeria. *Afr. J. Infect. Dis.* 2015; 9 (1):10-3
6. Elyamanу G., Al Gharawi A., Alrasheed M., Alsuhaibani O. Blood donors screening for malaria in non-endemic area in the Kingdom of Saudi Arabia: is it necessary to introduce immunological testing? *Electron. Physician.* 2016 Feb 25; 8 (2):2001-2005.
7. Всемирная Организация Здравоохранения. Скрининг донорской крови на гемотрансмиссивные инфекции. Рекомендации. 2010. http://www.who.int/bloodsafety/publications/bts_screendondbloodtransf/ru/

Вопросы качества лабораторных исследований

Залесских Н.В., Голубева И.Ф., Кокорева М.Н., Макарова Д.В., Сивилева Т.В.

Система внешнего и внутреннего контроля качества в иммуноферментном анализе

Приводим выдержки из информационных материалов, подготовленных сотрудниками ООО "НПО "Диагностические системы"

Метод иммуноферментного анализа (ИФА) основан на высокой избирательности и специфичности иммунологической реакции антиген-антитело. ИФА применяется для определения наличия антигенов в сыворотке крови, серологического профиля антител, а также определения уровня различных гормонов. Надежность метода характеризуется его специфичностью, чувствительностью, а также правильностью и воспроизводимостью результатов исследования. Обязательным требованием к диагностическим лабораторным исследованиям является достоверность получаемых результатов. Поэтому обязательное условие надежной аналитической работы клинико-диагностических лабораторий - это контроль качества проводимых исследований. Рекомендации Международной организации стандартизации (ISO) и нормативные документы Российской Федерации в сфере здравоохранения (приказы Минздрава России, Государственные стандарты в области лабораторной медицины) предусматривают условия обеспечения качества всех этапов лабораторных исследований. Для полноценного осуществления всей программы по контролю качества необходимо выполнять предписания приказов Минздрава России от 07.02.2000 г. № 45 "О системе мер по повышению качества клинических лабораторных исследований в учреждениях здравоохранения Российской Федерации" и от 26.05.2003 г. № 220 "Об утверждении отраслевого стандарта "Правила проведения внутрилабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов" (ОСТ 91500.13.0001-2003)". При проведении внутрилабораторного контроля качества необходимо также руководствоваться ГОСТ Р ИСО 5725-5-2002 "Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Альтернативные методы определения прецизионности стандартного метода измерений". В каждой клинико-диагностической лаборатории (КДЛ) необходимо последовательно формировать систему обеспечения качества лабораторных исследований. Если такая система в КДЛ отсутствует или не достаточно эффективна, можно утверждать, что деятельность такой лаборатории в лучшем случае бесполезна - врачи не будут использовать в своей работе ее результаты, а в худшем случае вредна - на основании недостоверной информации врачи могут поставить неправильный диагноз и проводить неэффективное лечение. Поскольку результатом лабораторного

исследования является информация, то качество этой информации должно характеризоваться степенью соответствия достоверности результата лабораторного исследования тем целям, для которых это исследование выполнялось. Следовательно, целью работы КДЛ является предоставление достоверной информации, на основании которой врач-клиницист может оценить состояние пациента и принять решение о проведении того или иного лечения.

Качество и надежность результатов лабораторных исследований, несомненно, являются важными факторами. Однако качество и надежность достигаются не случайно, а исключительно посредством четко отлаженной и правильной организации всех взаимосвязанных этапов работы. Недостаточно оптимизации лишь одного этапа; для того, чтобы добиться наивысшего общего качества исследований, все этапы процесса лабораторной диагностики должны быть скоординированы. Только при хорошей организации и качественном проведении всех стадий лабораторного исследования можно рассчитывать, что каждый производимый лабораторией результат, представленный в авторизованном отчете, может быть использован врачом для принятия диагностических решений или решений, изменяющих схему лечения.

Как известно, процедура лабораторного исследования подразделяется на преаналитический, аналитический и постаналитический этапы. Любая выполняемая в лаборатории процедура измерения включает целый ряд шагов - подготовка проб и реагентов, дозирование, инкубация, измерение оптической плотности и т.д., при этом на каждом из них может произойти ошибка, которая влияет на конечный результат. Результат измерения, таким образом, содержит вклады всех этих ошибок.

Ошибки, возникающие на разных этапах лабораторного анализа:

- 1) Ошибки преаналитического этапа - связаны с подготовкой пациента, взятием пробы, ее транспортировкой и хранением, подготовкой пробы к исследованию;
- 2) Аналитические ошибки, т. е. ошибки, возникающие в процессе проведения анализа;
- 3) Ошибки, обусловленные постаналитическим этапом и связанные с возможным искажением полученных результатов.

В таблице приведены возможные причины ошибок при проведении ИФА и способы их устранения.

Причины ошибок в ИФА и меры их устранения

№ п/п	Результат ошибки	Причины	Способ устранения
1.	Занижение сигнала ОП исследуемых образцов, контрольных образцов или калибровочных проб	Уменьшенное время инкубации с конъюгатом и/или субстратной смесью	Точно выдерживать время инкубации, указанное в инструкции к набору
		Компоненты набора и/или исследуемые образцы перед использованием не прогреты до комнатной температуры	Перед использованием набор необходимо выдержать при комнатной температуре в течение 30 минут
		Несоблюдение температурного режима при хранении набора	Хранить наборы в холодильнике при 2-8°C
		Заниженный температурный режим при инкубациях в термостате/шейкере	Регулярно проверять температуру в термостате и шейкере
		Недостаточно полная аспирация после отмывки: на дне лунок имеются остатки промывающего раствора	Отрегулировать параметры аспирации, следить за работой промывочного устройства; подвергать метрологическому контролю в установленные сроки
		Длительное нахождение планшета на воздухе между этапами реакции, излишнее высыхание лунок	Заранее готовить компоненты для следующего этапа реакции. Внесение растворов производить быстро. Не допускать больших пауз между шагами процедуры при постановке на автоматическом анализаторе
		- Использование реагентов из других наборов или другой серии; - Истечение срока годности компонентов; - Низкая температура в лаборатории (ниже 20°C)	Не использовать для анализа реагенты из других наборов или другой серии, а также с истекшим сроком годности
2.	Увеличение сигнала ОП во всех лунках планшета (повышенный фон) или увеличение ОП исследуемых образцов, контрольных образцов или калибровочных проб	Ошибки в работе спектрофотометра	Контролировать работу спектрофотометра; в установленные сроки проводить метрологический контроль
		Количество вносимого в лунки промывающего раствора меньше нормы. Верхняя часть лунок не промывается	Установить в программе промывочного устройства значение количества вносимого в лунки промывающего раствора, указанное в инструкции
		Недостаточно полная аспирация после отмывки: на дне лунок имеются остатки промывающего раствора	Отрегулировать параметры аспирации, следить за работой промывочного устройства; подвергать метрологическому контролю в установленные сроки
		Загрязнение субстратной смеси вследствие использования многоразовой емкости или воздействия прямых солнечных лучей	Использовать только одноразовые емкости
		Недостаточное время отстаивания образцов сыворотки крови перед анализом	Сыворотку следует отбирать после отстаивания крови в термостате (37°C) через 0,5-1 часа. Чистой сухой стеклянной палочкой сгусток крови нужно осторожно отделить от стенок пробирки. Рекомендуется центрифугировать образец при +4°C, со скоростью вращения 500–1000 g (1500–3000 об./мин) не более 15–20 минут
		Увеличение времени инкубации с субстратной смесью или конъюгатом	Точно выдерживать время инкубации, указанное в инструкции по применению
	Температура в лаборатории выше 25-30°C	Поддерживать постоянство параметров температуры и влажности в помещении лаборатории	

№ п/п	Результат ошибки	Причины	Способ устранения
3.	Низкая воспроизводимость результатов измерений	Сбой в работе промывающего устройства	Следить за работой промывочного устройства - подвергать метрологическому контролю в установленные сроки
		- Ошибки при внесении исследуемых образцов и реагентов; - Недостаточное перемешивание образцов, реагентов или содержимого лунок планшета; - Повреждение поверхности лунки наконечником; - Пузырьки воздуха в лунках	Изучить технику пипетирования по инструкции, прилагаемой к дозаторам
		Увеличение ОП по краю планшета вследствие неравномерного нагревания или инкубации с субстратным раствором на свету	Поддерживать постоянство параметров температуры и влажности в помещении лаборатории
		- Использование дозаторов, не прошедших калибровку; - Неправильная техника пипетирования	Следить за работой дозаторов; подвергать метрологическому контролю в установленные сроки
		Длительное нахождение планшета на воздухе между этапами реакции, излишнее высыхание лунок	Заранее готовить компоненты для следующего этапа реакции. Внесение растворов производить быстро. Не допускать больших пауз между шагами процедуры при постановке на автоматическом анализаторе
4.	Полное отсутствие окраски после реакции	- Не внесен конъюгат или раствор субстрата; - В раствор субстратного буфера не внесен ТМБ; - Перепутаны реагенты, вносимые на разных этапах реакции; - Пропуск одной из стадий постановки анализа	Перечитать инструкцию к набору и точно следовать всем пунктам постановки анализа
		Использование реагентов из других наборов	Использовать только реагенты, относящиеся к набору

Политика нашего предприятия – это достижение отличного качества нашей продукции, конкурентоспособной на мировом рынке. В ООО "НПО "Диагностические системы" внедрены правила GMP ("Good manufacturing practice" – "Правила хорошего производства") и производство полностью перешло на эти технологии в 2006 году. Целью деятельности отдела биологического и технологического контроля является обеспечение отличного качества нашей продукции её безопасности и эффективности.

Мы строго соблюдаем отраслевые стандарты и международные требования. Любая деятельность, результаты которой влияют на качество продукции, всегда выполняется при строгом соблюдении принципов международных стандартов по производству и реализации медицинских изделий.

Однозначно и точно разработанная документация дает возможность отслеживать качество выпускаемой продукции и обнаруживать возможные ошибки.

Система менеджмента качества ООО "НПО "Диагностические системы" соответствует требованиям нормативных документов ИСО 13485:2011 "Изделия медицинские системы менеджмента качества. Системные требования для целей регулирования", введен в действие 01.01.2013 г.

Внедренная система управления качеством производства диагностических тест-систем определяет всю деятельность организации, как единый процесс, каждый элемент которого подробно описан и обязателен для выполнения. Данная система позволяет выявлять и устранять ошибки, постоянно повышая качество выпускаемой продукции. Главной особенностью системы качества является пошаговый контроль всех этапов производства продукции и ориентирование на удовлетворенность потребителя. Отдел биологического и технологического контроля строго следует основному принципу политики предприятия в области качества "Только путем постоянного повышения качества своей продукции мы можем удовлетворить потребности наших потребителей", что и должно обеспечить успех деятельности ООО "НПО "Диагностические системы".

Потребители нашей продукции всегда могут рассчитывать на профессиональные консультации специалистов и безотлагательную реакцию на все вопросы, касающиеся качества готовой продукции. В случае возникновения вопросов по продукту потребители могут обратиться в службу поддержки: help-ds@npods.ru, (831) 467-82-15 (добавочный 7655, 7647), бесплатная линия связи 8-800-555-03-00.

**Наборы реагентов производства ООО "НПО "Диагностические системы"
для проведения внутреннего и внешнего контроля качества работы диагностических лабораторий
и входного контроля работы тест-систем**

Наименование наборов реагентов	Номер по каталогу	Состав наборов	Срок годности
ДС-ВЛК-НВsAg Контрольный образец для внутрилабораторного контроля качества исследований на наличие НВsAg	B-1431	24 флакона по 0,5 мл	5 лет
ДС-СО-НВsAg Стандартный образец НВsAg для оценки чувствительности иммуноферментных тест-систем на стадиях производства и выпуска, для научно-производственных целей, внешнего и внутреннего контроля качества работы диагностических лабораторий, а также для количественного определения НВsAg в исследуемой сыворотке (плазме) крови человека методом ИФА.	B-0350	1 флакон – стандартный образец 9 флаконов с отрицательными образцами	5 лет
ДС-ВЛК-АНТИ-НСV Контрольный образец для внутрилабораторного контроля качества исследований на наличие антител к вирусу гепатита С.	C-731	24 флакона по 0,3 мл	5 лет
ДС-Стандартная панель анти- НCV Стандартная панель сывороток содержащих и не содержащих антитела к вирусу гепатита С. Предназначена для контроля чувствительности и специфичности иммуноферментных тест-систем, выявляющих антитела к вирусу гепатита С, может быть использована для научно-производственных целей, а также для внешнего и внутреннего контроля качества работы диагностических лабораторий.	C-0380	20 флаконов с положительными образцами; 8 флаконов с отрицательными образцами	5 лет
ДС-ВЛК-ВИЧ Ag (p24) Контрольный образец для внутрилабораторного контроля качества исследований на наличие антигена p24 ВИЧ-1.	I-931	24 флакона	5 лет
ДС-ВЛК-АНТИ-ВИЧ-1 Контрольный образец для внутрилабораторного контроля качества исследований на наличие антител к ВИЧ-1.	I-831	24 флакона	5 лет
Стандарт ВИЧ-1 АТ (+) Стандартная панель сывороток содержащих антитела к ВИЧ-1. Предназначена для проведения входного контроля тест-систем, выявляющих антитела к ВИЧ-1, методом ИФА, а также методом иммунного блотинга.	I-1620	16 флаконов	5 лет
Стандарт ВИЧ-2 АТ (+) Стандартная панель сывороток содержащих антитела к ВИЧ-2. Предназначена для проведения входного контроля тест-систем, выявляющих антитела к ВИЧ-2 методом ИФА, а также методом иммунного блотинга.	I-1970	8 флаконов	5 лет
Стандарт ВИЧ-1 АГ p24(+) Стандартный биологический материал, содержащий антиген p24 ВИЧ-1. Предназначен для оценки чувствительности иммуноферментных тест-систем, выявляющих антиген p24 (ВИЧ-1); для контроля тест-систем на стадиях производства и выпуска; для научно-производственных целей, внешнего и внутреннего контроля качества работы диагностических лабораторий, а также для количественного определения p24 ВИЧ-1 в исследуемой сыворотке (плазме) крови человека методом ИФА.	I-1030	11 флаконов (Стандарт ВИЧ-1 АГ p24(+)) в одной концентрации – 1 фл. Реагент 1–10 фл.)	5 лет
	I-1032.2	10 флаконов (Стандарт ВИЧ-1 АГ p24(+)) в различных концентрациях, по одному флакону каждой концентрации)	
Стандарт ВИЧ-1,2 АТ (-), ВИЧ-1 АГ p24 (-) Стандартная панель сывороток, не содержащих антитела к ВИЧ-1 и ВИЧ-2 и антиген p24 ВИЧ-1. "Стандарт ВИЧ-1,2 АТ(-), ВИЧ-1 АГ p24(-)" предназначен для контроля специфичности иммуноферментных тест-систем, выявляющих антитела к ВИЧ-1 и ВИЧ-2 и антиген p24 ВИЧ-1, может быть использован для научно-производственных целей, для контроля качества работы диагностических лабораторий, а также для входного контроля тест-систем, выявляющих маркеры ВИЧ-инфекции методами ИФА и иммунного блотинга.	I-1610	20 флаконов	5 лет
ДС-ВЛК-АНТИ-ЛЮИС Контрольный образец для образца для внутрилабораторного контроля качества исследований на антитела к <i>T. pallidum</i> при постановке ИФА.	L-531	24 флакона	5 лет

МУК 4.2.3222-14.4.2. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Лабораторная диагностика малярии и бабезиозов. Методические указания. (утверждены Главным государственным санитарным врачом РФ 22.09.2014 г.)

Настоящие методические указания наряду с микроскопическим методом, являющимся "золотым" стандартом лабораторной диагностики малярии, впервые регламентируют дополнительное использование иммунохроматографического (экспресс-тесты) и молекулярно-генетического (ПЦР) методов.

Приводим извлечения из документа, касающиеся применения этих непрямых методов лабораторной диагностики малярии, опуская подробную технику паразитологических исследований.

"Возможность завоза малярии на территорию Российской Федерации, появление вторичных от завозных, а также местных случаев заболевания требует своевременной лабораторной диагностики, необходимой для лечения и рационального проведения противоэпидемических мероприятий.

Неспецифические клинические проявления малярии, преимущественно в первые дни болезни, при наличии ряда объективных показателей эпидемиологического характера (географический анамнез—пребывание на территории стран с тропическим и субтропическим климатом) и клинического характера (лихорадочное состояние неясной этиологии, анемия, увеличение селезенки) обязывают врачей лечебно-профилактических организаций заподозрить малярию. Безусловным подтверждением диагноза служит обнаружение малярийного паразита при микроскопическом исследовании крови. Особое значение имеет раннее выявление возбудителя тропической малярии, при несвоевременной диагностике которой возможен летальный исход. Определение вида паразита служит основанием для выбора рациональной терапии и правильной организации противоэпидемических мероприятий.

Диагностика возбудителей бабезиозов вводится в целях дифференциальной диагностики с возбудителями малярии, в частности, с *P. falciparum*. Поскольку, несмотря на различия в жизненном цикле возбудителей малярии и бабезиозов, они имеют ряд близких особенностей по морфологии некоторых стадий развития возбудителей в эритроцитах и по клиническим проявлениям инфекции. Ошибочная диагностика может привести к летальному исходу.

3. Методы лабораторной диагностики малярии и бабезиозов

Диагностика малярии основана на обнаружении кровяных форм паразитов (трофозоиты, шизонты и гаметоциты) при микроскопическом исследовании крови. В настоящее время не предложено способов обнаружения гипнозоитов: ни иммунологических, ни паразитологических. Для обнаружения эритроцитарных форм плазмодиев и определения их вида используют препараты крови, приготовленные методом тонкого мазка и толстой капли, окрашенные по методу Романовского-Гимзы. Оба метода, имеющие свои преимущества и недостатки, являются взаимодополняющими.

Основной метод—толстая капля. В толстой капле фор-

менные элементы располагаются многослойно. В результате за один и тот же промежуток времени просматривается количество крови в 30-40 раз большее, чем в тонком мазке, что значительно повышает шанс обнаружения паразитов, особенно при низкой паразитемии. Чувствительность метода толстой капли такова, что при просмотре 100 полей зрения можно обнаружить паразитов при их численности около 8 в 1 мкл крови. Начинать надо всегда с просмотра толстой капли.

Толстую каплю окрашивают нефиксированной; это приводит к гемолизу эритроцитов, в результате чего паразиты становятся доступными для выявления. Однако при этом паразиты подвергаются деформации.

Толстая капля может позволить выявить и других паразитов крови: бабезий, трипаносом, микрофилярий, спирохет. В тонком мазке, фиксированном до окраски, сохраняются морфологические особенности, присущие данному виду паразита, и характерные изменения пораженного эритроцита. Тонкий мазок крови делают в дополнение к толстой капле.

Дифференциальное определение вида малярийного паразита проводят по совокупности признаков: морфологии паразита, состоянию пораженных эритроцитов, соотношению стадий паразита, обнаруженных в периферической крови.

Кроме того, в настоящее время широко используются для лабораторной диагностики малярии иммунологические (экспресс-тесты) и молекулярно-биологические методы. Данные методы являются взаимодополняющими, но "золотым" стандартом остается метод микроскопии толстой капли.

Основным методом диагностики бабезиозов является микроскопическое исследование препаратов крови—толстой капли и тонкого мазка. Однако при диагностике инфекции *B. microti*, характеризующейся низкой или субмикроскопической паразитемией, одна микроскопия при отрицательном результате может создать ложное представление, поэтому применяют и другие методы. Проводится иммунологическое исследование для обнаружения специфических антител с применением иммунофлюоресцентной методики (РИФ), а также молекулярно-биологическим методом—полимеразной цепной реакцией (ПЦР), позволяющей выявить единичные особи паразита. Для выявления низкой и субмикроскопической паразитемии проводится заражение хомяков кровью больного—изодиагностика; заболевание хомяков наступает спустя 1–4 недели.

6. Иммунохроматография в лабораторной диагностике (экспресс-тесты)

Микроскопические методы в их классическом варианте остаются основными в диагностике малярии, "золотым стандартом". Однако микроскопия - сравнительно трудоемкий метод, который требует квалифицированного персонала, специального оборудования и реактивов.

Недостатки обычной микроскопии: большое время обучения; не все обнаруживают способности к занятию микроскопией; требуется лаборатория; необходим тщательный контроль за работниками.

В связи с этим появилась необходимость разработки экспресс-тестов, которые не требовали бы высокого профессионализма и лабораторного оборудования. Они известны под аббревиатурой RDT = Rapid Diagnostic Tests. Эти тесты простые; не требуют специального оборудования и долгого обучения.

Экспресс-тесты основаны на методе тонкослойной иммунохроматографии. Имеющиеся в продаже тесты можно разделить на три группы:

1. Тесты, дающие ответ в отношении *P. falciparum*: есть/нет. Эти тесты не реагируют на присутствие гаметоцитов и дадут отрицательный результат, если бесполой форм не имеется.

2. Тесты, дающие ответ в отношении *P. falciparum*: есть/нет, а также указывающие, есть ли какой-то другой вид, без видовой расшифровки.

3. Тесты, дающие диагноз до вида.

Недостатки экспресс-тестов заключаются в том, что они менее чувствительны, чем микроскопия: для положительной реакции требуется не менее 200 паразитов/мкл, а вполне надежны эти тесты бывают лишь при паразитемии примерно от 2000 паразитов/мкл; быстро теряют свойства при хранении при температуре выше 30°C; менее информативны: не выявляют гаметоцитов *P. falciparum* и не определяют уровень паразитемии; тесты продолжают давать положительный результат и после исчезновения паразитов (до двух недель). Иными словами, тест реагирует не только на живых паразитов, но и на их останки. Поэтому экспресс-тесты нельзя использовать для мониторинга хода лечения.

Экспресс-тесты разрабатывались прежде всего для удовлетворения нужд населения, живущего в эндемичных районах, вдали от лабораторий. Для российских контингентов потребность в экспресс-тестах возникает в следующих условиях: группы соотечественников и отдельные лица, находящиеся в отдаленных районах тропиков по служебным надобностям или в туристических целях; авиапассажиры и персонал авиалиний на рейсах из эндемичных стран, у которых малярия может начаться в ходе полета; команды и пассажиры судов, посещающих тропические порты.

В условиях отечественного здравоохранения экспресс-тесты следует иметь в инфекционных больницах на случай необходимости срочной диагностики, если лаборатория в данный момент не функционирует.

Общим принципом является необходимость подтверждения положительного теста методом микроскопии. Поэтому при проведении теста всегда следует сделать несколько толстых капель и тонких мазков для последующей окраски и исследования (спустя несколько часов или на следующий день).

В настоящее время на мировом рынке присутствует большое количество фирм, производивших RDT и выпускавших около 200 коммерческих продуктов. Объем производства тестов и количество брендов непрерывно растут, а сами тесты усложняются, например, появляется возможность количественной оценки уровня паразитемии.

В настоящее время выпускаются в основном так называемые кассетные тесты. Индивидуальный тест представляет собой пластмассовую кассету размерами чуть больше стандартного предметного стекла. В кассете имеется три выреза: для помещения капельки крови, заливки реагента и считывания результата. Кассета запечатана в индивидуальный пакетик вместе с другими материалами, необходимыми для одного исследования, включающими скарификатор, пластиковый капилляр, флакончик с реагентом.

Определенное количество капиллярной крови испытуемого вносится в соответствующее отверстие, а в другое (большее) выливается содержимое флакончика. Смесь растекается по нитроцеллюлозной полоске, которая видна в отверстии для считывания результата. В зависимости от типа теста и результата проявляются от одной до нескольких полосок. Обязательным условием успешного теста является проявление контрольной полоски. Если таковая не проявилась, тест считается неудавшимся и исследование повторяют. Интерпретация факта проявления других полосок зависит от конкретного бренда.

Детальные правила проведения каждого теста: схема постановки теста, хранение и стабильность набора, сбор и хранение исследуемых образцов, процедура анализа, соблюдение правил постановки тестов, ограничения теста, внутренний контроль качества, аналитические характеристики указаны в инструкциях по выполнению, особой для каждого конкретного бренда.

7. Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

В настоящее время для диагностики малярии используется метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), суть которой заключается в идентификации минимальных количеств специфических белков возбудителей.

Ценность ПЦР заключается в том, что ее чувствительность значительно выше, чем у микроскопии.

Высокая чувствительность дает большие преимущества для выявления скрытых источников инфекции с субклинической паразитемией, например, при расследовании случаев прививной малярии у реципиентов крови или среди наркоманов, а также для поиска источников в очагах с остаточной передачей при элиминации малярии.

Кроме того, ПЦР позволяет легко выявлять смешанную инфекцию. В этом случае, как правило, один вид резко доминирует (обычно *P. falciparum*) и маскирует таким образом единичных паразитов второго вида при микроскопии крови.

Может использоваться ПЦР для контроля качества работы лабораторий, для вторичного исследования отрицательных препаратов.

Вместе с тем высокая чувствительность метода не играет большой роли в индивидуальной диагностике малярии у лихорадящих субъектов, так как количества паразитов, не выявляемые микроскопией, но выявляемые ПЦР,

обычно недостаточны, чтобы вызвать температурную реакцию.

В настоящее время существует ряд модификаций классической ПЦР, но любая модификация включает три основных этапа:

1. Выделение ДНК.

2. Собственно ПЦР (амплификация), которая представляет собой циклический процесс в специальном программируемом термостате, называемом амплификатор, или термоциклер. На этом этапе с помощью праймеров, которые ограничивают фрагмент ДНК, подлежащий копированию, выделяются и достраиваются нити ДНК. В результате многократных повторений этого процесса концентрация искомого ДНК в пробе нарастает в миллионы раз.

3. Детекция продукта ПЦР (амплифицированной ДНК). В случае положительной реакции концентрация искомого ДНК возрастает настолько, что ее становится легко выявить с помощью электрофореза.

Одной из наиболее эффективных модификаций классической ПЦР является "вложенная" ПЦР (nested PCR), при которой применяются две пары праймеров, и, соответственно, амплификация идет в два этапа. Такой прием значительно повышает чувствительность и специфичность амплификации.

В случае диагностики малярии на первом этапе происходит амплификация ДНК с использованием праймеров только по отношению к роду *Plasmodium*, на втором этапе выделяется видоспецифичный материал, что определяется подбором соответствующих специфичных праймеров.

В качестве источника ДНК можно использовать толстую каплю крови, нативную или окрашенную. Собранные пробы крови направляют в лабораторию, где имеется оборудование для проведения ПЦР. Каждую пробу крови упаковывают отдельно, чтобы избежать контаминации.

Следует иметь в виду, что в ходе подготовки материала толстые капли разрушаются, т.е. не могут быть использованы для повторной микроскопии. Для постановки ПЦР выпускаются готовые стандартные наборы."

Перечень нормативных правовых актов Российской Федерации, применяемых в области эпидемиологического надзора и диагностики малярии (по состоянию на 01.08.2016г.)

№ п/п	Название документа	Краткое описание	Статус
1	Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 22.08.2014 №50 (ред. от 29.12.2015) " Об утверждении СанПиН 3.2.3215-14. Профилактика паразитарных болезней на территории РФ " - Зарегистрировано в Минюсте России 12.11.2014 №34659	Требования к комплексу мероприятий, направленных на предупреждение возникновения и распространения паразитарных заболеваний P.V. Мероприятия по профилактике малярии, п. 5.8 - Контингент, подлежащий обследованию на малярию	Действует Разработано взамен СанПиН 3.2.1333-03
2	МУК 4.2.3222-14.4.2. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Лабораторная диагностика малярии и бабезиозов. Методические указания (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 22.09.2014)	Регулируют порядок применения метода отбора проб и методов лабораторных исследований биологического материала людей с целью обнаружения возбудителей малярии и бабезиозов, определения их видовой принадлежности П.3. Методы лабораторной диагностики малярии и бабезиозов П.4. Техника паразитологической (микроскопической) диагностики П.6. ИХА в лаб. диагностике (экспресс-тесты) П.7. ПЦР Микрофотографии препаратов	Действуют Разработаны взамен МУК 3.2.987-00 "Паразитологическая диагностика малярии"
3	МУ 3.4.3008-12. 3.4. Санитарная охрана территории. Порядок эпидемиологической и лабораторной диагностики особо опасных, "новых" и "возвращающихся" инфекционных болезней. Методические указания (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 28.03.2012)	Схема 12. Порядок проведения эпидемиологической диагностики, включающей клинические, эпидемиологические и диагностические критерии малярии; П.9. Порядок лабораторной диагностики новой (неизвестной) инфекционной болезни	Действуют Введены впервые
4	МУ 3.4.2552-09. 3.4. Санитарная охрана территории. Организация и проведение первичных противозидемических мероприятий в случаях выявления больного (трупа), подозрительного на заболевания инф. болезнями, вызывающими чрезвычайные ситуации в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения. Методические указания (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 17.09.2009)	Приведены материалы по инфекционным болезням, требующим проведения мероприятий по санитарной охране территории Российской Федерации: клинико-эпидемиологическая характеристика отдельных нозологических форм (в том числе малярии - прил. 1, стр. 35-36), действия медицинского персонала при выявлении больного (трупа), схемы информации и оповещения, лечения и экстренной профилактики, комплектование упаковок, правила забора и транспортирования материала (малярия - прил.6 - стр. 72), применение средств индивидуальной защиты, режимы обеззараживания различных объектов, зараженных патогенными микроорганизмами	Действуют Введены в действие 01.11.2009
5	МУ 3.2.974-00 Малярийные комары и борьба с ними на территории Российской Федерации. Методические указания (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 16.05.2000)	Документ содержит требования к организации и проведению профилактических и истребительных мероприятий против малярийных комаров в целях предупреждения возникновения заболеваний малярией и ликвидации активных очагов	Действуют Введены впервые

Перечень нормативно-правовых документов в сфере здравоохранения Российской Федерации, содержащих разделы, касающиеся лабораторной диагностики ВИЧ - инфекции (по состоянию на 01.08.2016г.)

№ п/п	Название нормативного документа	Краткое описание профильных разделов	Статус
1	Федеральный закон от 30.03.1995 № 38-ФЗ (ред. от 23.05.2016) "О предупреждении распространения в Российской Федерации заболевания вызываемого вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ-инфекции)"	Гл. II. Медицинская помощь ВИЧ-инфицированным (ст.7.-9 -добровольное и обязательное медицинское освидетельствование; ст.15 - профилактика, диагностика и лечение ВИЧ-инфекции)	Действует
2	Постановление Правительства РФ от 04.09.1995 № 877 "Об утверждении Перечня работников отдельных профессий, производств, предприятий, учреждений и организаций, которые проходят обязательное медицинское освидетельствование для выявления ВИЧ-инфекции при проведении обязательных предварительных при поступлении на работу и периодических медицинских осмотров"	Перечень работников отдельных профессий, производств, предприятий, учреждений и организаций, которые проходят обязательное медицинское освидетельствование для выявления ВИЧ-инфекции при проведении обязательных предварительных при поступлении на работу и периодических медицинских осмотров	Действует
3	Постановление Правительства РФ от 13.10.1995 № 1017 (ред. от 04.09.2012) "Об утверждении Правил проведения обязательного медицинского освидетельствования на выявление вируса иммунодефицита человека (ВИЧ-инфекции)"	Настоящие Правила устанавливают единый порядок обязательного медицинского освидетельствования граждан Российской Федерации, иностранных граждан и лиц без гражданства в целях предупреждения распространения в Российской Федерации заболевания, вызываемого вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ-инфекции)	Действует
4	Постановление Правительства РФ от 28.02.1996 № 221 (ред. от 30.12.2005) "Об утверждении Правил обязательного медицинского освидетельствования лиц, находящихся в местах лишения свободы, на выявление вируса иммунодефицита человека (ВИЧ-инфекции)"	Правила устанавливают порядок обязательного медицинского освидетельствования с целью выявления вируса иммунодефицита человека (ВИЧ-инфекции) у лиц, находящихся в местах лишения свободы	Действует
5	Постановление Правительства РФ от 31.12.2010 №1230 "Об утверждении правил и методов исследований и правил отбора образцов донорской крови, необходимых для применения и исполнения технического регламента о требованиях безопасности крови, ее продуктов, кровезамещающих растворов и технических средств, используемых в трансфузионно-инфузионной терапии"	П. 9-13 - исследование донорской крови и ее компонентов на наличие возбудителей гемотрансмиссивных инфекций, иммунологические методы для выявления маркеров ВИЧ, ВГВ, ВГС, сифилиса; молекулярно-биологические методы; правила отбора образцов донорской крови для исследования на данные маркеры	Действует
6	Приказ Минздравмедпрома РФ от 16.08.1994 №170 (ред. от 18.04.1995) "О мерах по совершенствованию профилактики и лечения ВИЧ-инфекции в Российской Федерации" (вместе с "Методическими указаниями по организации лечебно-диагностической помощи и диспансерного наблюдения за больными ВИЧ-инфекцией и СПИДом", "Положением о кабинете психосоциального консультирования и добровольного обследования на ВИЧ")	Ч.1. Клиника, диагностика и лечение ВИЧ-инфекции. П.1.2. Лабораторные критерии для постановки диагноза ВИЧ-инфекции	Действует* *) в редакции Приказа Минздрава РФ от 18.04.1995 №100 приложение 2 - положение о территориальном ЦСПИД утратило силу
7	Приказ Минздравмедпрома РФ от 30.10.1995 №295 "О введении в действие правил проведения обязательного медицинского освидетельствования на ВИЧ и перечня работников отдельных профессий, производств, предприятий, учреждений и организаций, которые проходят обязательное медицинское освидетельствование на ВИЧ"	Приложение 3 к приказу - Перечень показаний для обследования на ВИЧ/СПИД в целях улучшения качества диагностики ВИЧ-инфекции	Действует
8	Приказ Минздрава РФ от 07.08.2000 №312 "О совершенствовании организационной структуры и деятельности учреждений по профилактике и борьбе со СПИД"	Положения о Федеральном и окружных ЦСПИД. В числе функций - совершенствование методов диагностики (в т.ч. лабораторной); проведение экспертных и арбитражных лабораторных исследований с целью верификации ВИЧ-инфекции; организация и проведение внешнего контроля качества лабораторий, занимающихся серодиагностикой ВИЧ-инфекции	Действует

№ п/п	Название нормативного документа	Краткое описание профильных разделов	Статус
9	<p>Приказ Минздрава РФ от 19.12.2003 №606 "Об утверждении инструкции по профилактике передачи ВИЧ-инфекции от матери ребенку и образца информированного согласия на проведение химиофилактики ВИЧ" (зарегистрировано в Минюсте РФ 22.01.2004 №5468)</p>	<p>Инструкция по профилактике передачи ВИЧ от матери ребенку в период беременности, родов и в период новорожденности; в том числе по проведению тестирования</p> <p>R.I. п. 1.6 - лабораторное подтверждение диагноза - обнаружение АТ к ВИЧ в ИФА и подтверждение их специфичности в ИБ; в ряде случаев применяются более сложные и дорогие методики по обнаружению самого ВИЧ, его АГ и генетического материала.</p> <p>R.II. Показания и противопоказания к применению метода.</p> <p>R. III. П.3.4 - необходимость двукратного тестирования беременных - при первичном обращении и в 3-ем триместре (34-36 недель беременности).</p> <p>П. 3.6. В экстренных случаях (при невозможности стандартного тестирования) для обнаружения АТ к ВИЧ используют экспресс-тест-системы (для решения вопроса о назначения химиофилактики, но не для постановки диагноза; для диагностики обязательно подтверждение в ИФА и ИБ)</p>	<p>Действует</p>
10	<p>"Методические рекомендации о проведении обследования на ВИЧ-инфекцию" (утверждены Минздравсоцразвития РФ от 06.08.2007 №5950 PX)</p>	<p>Настоящее руководство дополняет приказ Минздрава от 30.10.1995 №295. Определены контингенты лиц, подлежащие обязательному обследованию на ВИЧ, кратность обследования, а также методы (в том числе ИФА) и особенности лабораторной диагностики этой инфекции. Оценка результатов. Правила и порядок обязательного медицинского освидетельствования на ВИЧ</p>	<p>Действует</p>
11	<p>"Методические рекомендации Минздравсоцразвития РФ по лабораторному предупреждению передачи ВИЧ при переливании крови и ее компонентов" (утверждены МЗ и СР РФ от 24.09.2007 №7067-РХ)</p>	<p>Лабораторное обследование доноров на наличие АТ и АГ ВИЧ</p>	<p>Действует</p>
12	<p>"Проведение лабораторного обследования на ВИЧ-инфекцию (в том числе исследование иммунитета и вирусной нагрузки при ВИЧ-инфекции)" Методическое письмо (утверждено Минздравсоцразвития РФ от 04.08.2006 №4174-РХ)</p>	<p>Диагностический алгоритм проведения лабораторного обследования на ВИЧ-инфекцию (ВИЧ-1/ВИЧ-2) на первом этапе (скрининговая лаборатория) и втором этапе (референс-лаборатория, включены описания методов (ИФА, быстрые тесты, ИБ, ПЦР); определение вирусной нагрузки, интерпретация результатов; безопасность работы в лаборатории</p>	<p>Действует</p>
13	<p>Методическое письмо Минздравсоцразвития РФ от 28.08.2006 №4614-ВС "Об организации медико-социальной помощи ВИЧ-инфицированным беременным женщинам и рожденным ими детям"</p>	<p>Изложены основные принципы организации медико-социальной помощи ВИЧ-инфицированным беременным женщинам и их детям</p> <p>П.2.1 выводов по профилактике перинатальной передачи ВИЧ - применение стандартов мед. помощи (приказы МЗСР РФ от 2005г №374 и 375);</p> <p>П.2.2. выводов - проведение информированного добровольного тестирования всех беременных на ВИЧ дважды за период беременности (при взятии на диспансерное наблюдение и на сроке 34-36 недель (или при поступлении на роды - если не было проведено на сроке 34-36 недель)</p>	<p>Действует</p>
14	<p>"Правила постановки диагноза ВИЧ-инфекции. Методическое письмо" (утверждено Минздравсоцразвития РФ от 10.11.2006 №5922-РХ)</p>	<p>П.1.1. Установление факта инфицирования ВИЧ, раздел Лабораторное подтверждение диагноза ВИЧ-инфекции - обнаружение АТ к ВИЧ; обнаружение ВИЧ, его АГ и генетического материала; неспецифические лабораторные признаки ВИЧ-инфекции</p> <p>П.1.2. Постановка клинического диагноза ВИЧ-инфекции</p>	<p>Действует</p>
15	<p>"Рекомендации по проведению добровольного обследования населения на наличие антител к ВИЧ" (утверждены Минздравом РФ от 04.07.1997)</p>	<p>Важнейшим подходом к предотвращению распространения ВИЧ-инфекции в Российской Федерации является обучение населения безопасному в плане заражения ВИЧ поведению. Обследование на наличие ВИЧ-антител с соответствующей консультацией играют главную роль в предупреждении передачи инфекции и минимизации нанесенного вреда</p>	<p>Действует</p>
16	<p>Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 18.05.2010г №58 (ред. от 10.06.2016) "Об утверждении Сан-Пин 2.1.3.2630.10 "Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность" (зарегистрировано в Минюсте РФ 09.08.2010 №18094)</p>	<p>Раздел III. - Профилактика внутрибольничных инфекций (ВБИ) в стационарах (отделениях) хирургического профиля;</p> <p>Раздел IV. - Профилактика ВБИ в акушерских стационарах (отделениях) - включают пункты, касающиеся обследования медперсонала на ВИЧ</p>	<p>Действует</p>

№ п/п	Название нормативного документа	Краткое описание профильных разделов	Статус
17	<p>Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 11.01.2011 №1 "Об утверждении СП 3.1.5.2826-10 "Профилактика ВИЧ-инфекции" (зарегистрировано в Минюсте РФ 24.03.2011 №20263)</p>	<p>Гл.IV. - Лабораторная диагностика ВИЧ-инфекции (п.п. 4.1-4.9) - в том числе - Диагностический алгоритм тестирования на наличие АТ к ВИЧ (п.4.4); диагностика ВИЧ-инфекции у детей до 18 мес., рожденных ВИЧ-инфицированными матерями (п.4.5.); использование только сертифицированных стандартизованных тест-систем, разрешенных к использованию на территории РФ, для входного контроля качества тест-систем применение стандартных панелей сывороток (отраслевых стандартных образцов), разрешенных к использованию в установленном порядке (п. 4.6.); применение простых/быстрых тестов для определения АТ к ВИЧ (п.4.8.); гл.V - Порядок освидетельствования на ВИЧ</p>	<p>Действует</p>
18	<p>Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 13.02.2012 №16 "О неотложных мерах по противодействию распространения ВИЧ-инфекции в РФ" (зарегистрировано в Минюсте 22.03.2012 № 23584)</p>	<p>п.2.2. Об обеспечении медицинской помощи ВИЧ-инфицированным - необходимости проведения таких лабораторных обследований как вирусная нагрузка и иммунный статус - для контроля за состоянием здоровья, назначения АРВТ и мониторинга ее эффективности;</p> <p>п.3.5. О систематических плановых выборочных (дозорных) серологических и поведенческих обследованиях среди групп высокого риска заражения ВИЧ-инфекцией и трудно идентифицируемых контингентов населения (потребителей инъекционных наркотиков, мужчин, вступающих в сексуальные отношения с мужчинами, коммерческими секс работниками)</p>	<p>Действует</p>
19	<p>"МР 3.1.0087-14. Профилактика инфекционных болезней. Профилактика заражения ВИЧ. Методические рекомендации" (утв. Роспотребнадзором 18.03.2014)</p>	<p>Предназначены для организаций и специалистов, работающих в области профилактики ВИЧ-инфекции. Содержат основную информацию об этиологии, клиническом течении, диагностике, лечении и профилактических и противозидемических мероприятиях.</p> <p>П. 3.2. Диагностика ВИЧ-инфекции (в том числе лабораторная диагностика). Перечень контингентов, подлежащих обязательному обследованию на ВИЧ</p>	<p>Действует</p>
20	<p>"МУ 3.1.3342-16. 3.1. Профилактика инфекционных болезней. Эпидемиологический надзор за ВИЧ-инфекцией. Методические указания" (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 26.02.2016)</p>	<p>Определены основные принципы организации и порядок осуществления эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией</p> <p>п.3.5. Выявление (лабораторная диагностика) ВИЧ-инфекции;</p> <p>п.3.7. Учет случаев ВИЧ-инфекции;</p> <p>п.4. Организация системы эпиднадзора за ВИЧ-инфекцией в РФ (в том числе по результатам тестирования на ВИЧ);</p> <p>п.4.1. Анализ и оценка эпидемиологических данных;</p> <p>п.4.3. Интерпретация данных по обследованию населения на АТ к ВИЧ;</p> <p>п.4.4. Значение обследования различных групп населения;</p> <p>п.4.6. Мониторинг за резистентностью ВИЧ к АРВП (в том числе определение ВН, CD4);</p> <p>п.5. Эпидемиологическое расследование случаев ВИЧ-инфекции;</p> <p>п.5.1. Использование генотипирования ВИЧ и филогенетического анализа при проведении эпид. расследования случаев ВИЧ-инфекции.</p> <p>Прил. 1. Контингенты, подлежащие обязательному мед. освидетельствованию и рекомендуемые для добровольного обследования на ВИЧ-инфекцию</p>	<p>Действует</p>

СПИСОК АББРЕВИАТУР

АГ	антиген	ННИОТ	нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы
АРТ	антиретровирусная терапия	НС	нейросифилис
АКТ	артемизинин-комбинированная терапия	ОП	оптическая плотность
АТ	антитело	ОР	относительный риск
БААРТ	высокоактивная антиретровирусная терапия	ОШ	отношение шансов
ВГВ (HBV)	вирус гепатита В	ПМА	противомалярийные антитела
ВГС (HCV)	вирус гепатита С	ППР	поверхностный плазмонный резонанс
ВИЧ (HIV)	вирус иммунодефицита человека	ТКК	метод "толстой" капли крови
ВОЗ	Всемирная организация здравоохранения	РИФ	реакция иммунофлюоресценции
ВП	ВИЧ-позитивный	РИФабс.	реакция иммунофлюоресценции с абсорбцией
ВН	ВИЧ-негативный	ПВТ	противовирусная терапия
ГЭБ	гематоэнцефалический барьер	ПИФ	метод прямой иммунофлюоресценции
ДИ	доверительный интервал	ПЛС	процент ложных сроков
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота	ПЦР	полимеразная цепная реакция
ДЭТ	диагностический экспресс-тест	РНК	рибонуклеиновая кислота
ИППП	инфекции, передаваемые половым путем	РПГА	реакция пассивной гемагглютинации
ИФА	иммуноферментный анализ	РЧ	репродуктивное число
ИХЛА	иммунохемилюминисцентный анализ	СКК	метод "сухой капли крови"
ИХ	иммунохроматографический метод	СПИД	синдром приобретенного иммунодефицита
ИХЭТ	иммунохроматографический экспресс-тест	СПРПИ	средняя продолжительность раннего периода инфицирования
КП	коэффициент позитивности	ТМП	метод "темнопольной" микроскопии
ЛПР	ложноположительные результаты	ХЛА	хемилюминисцентный анализ
МБ	малярия беременных	ХСА	хондроитинсульфат А
МКА	моноклональные антитела	ЦНС	центральная нервная система
МСМ	мужчины, вступающие в сексуальные отношения с мужчинами	ЦСЖ	цереброспинальная жидкость
НИОТ	нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы	СДС	(Centers for Disease Control)–Центр по контролю и профилактике заболеваний, США
		FDA	(Food and Drug Administration)–Управление по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных препаратов, США

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Нижний Новгород

Центральный офис ООО «НПО «Диагностические системы»:

603024, г. Нижний Новгород
ул. Горького, д. 195
тел./факс канцелярии (831) 434-86-83
тел. 8-800-555-03-00 (звонок по России бесплатный)
E-mail: info@npods.ru, selling@npods.ru
официальный сайт: <http://www.npods.ru>

Служба поддержки клиентов:
тел.(831) 467-82-18 (доб.7647,7655)
E-mail: help-ds@npods.ru

Представительства

Москва	Диагностические системы—Столица 123317, г. Москва, Пресненская наб, д. 12, Деловой комплекс "Федерация", Башня "Восток", 29-й этаж тел. (495) 653-81-31, 653-81-32 ds-stolica@bk.ru
Санкт-Петербург	Диагностические системы—СПб 194156, г. Санкт-Петербург, пр. Энгельса, д. 33/1, офис 411 тел/факс (812) 331-72-82 info@spb-npods.ru
Красноярск	ООО "Диагностические системы—Сибирь" 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 16 д тел./ факс (3912) 78-19-83, 54-16-55, 54-17-58 sbit@ds-s.ru
Екатеринбург	ООО "Диагностические системы—Урал" 620100, г. Екатеринбург, Сибирский тракт, 12, стр. 22, вход 10 отдел продаж: (343) 272-33-08 ds-ural@npods.ru
Украина	ООО "Диагностические системы—Украина" 04107, Украина, г. Киев, ул. Баггоутовская, 8/1, тел. +38044-361-55-76 ua@npods.ru
Казахстан	ТОО "FORTIS PAI" (ФОРТИС ПАЙ) 050019, Республика Казахстан, г. Алматы, ул. Чаплина, 71, оф. 2, тел.факс +7-727-234-46-44, +7-727-231-05-12 sales@fortispai.ru www.fortispai.kz
Узбекистан	ООО "INSTEP" 100090, Республика Узбекистан, г. Ташкент, ул. М. Таробий, 29 А, тел. +99871-254-00-26, тел./факс +99871-254-07-05, instep@inbox.ru www.instep.uz

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2515051

**ИММУНОФЕРМЕНТНАЯ ТЕСТ-СИСТЕМА ДЛЯ
ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВЕРОЯТНЫХ СРОКОВ ЗАРАЖЕНИЯ
ВИРУСОМ ИММУНОДЕФИЦИТА ЧЕЛОВЕКА 1 ТИПА
(ВИЧ-1), В ТОМ ЧИСЛЕ ВИЧ-1 ГРУППЫ O, В
СЫВОРОТКЕ (ПЛАЗМЕ) КРОВИ ЧЕЛОВЕКА "ДС-ИФА-
ВИЧ-АТ-СРОК"**

Патентообладатель(ли): *Общество с ограниченной
ответственностью "Научно-производственное объединение
"Диагностические системы" (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2013117608

Приоритет изобретения 17 апреля 2013 г.

Зарегистрировано в Государственном реестре
изобретений Российской Федерации 12 марта 2014 г.

Срок действия патента истекает 17 апреля 2033 г.



Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Б.Л. Симонов

Автор(ы): Шарипова Ирина Николаевна (RU), Загрядская Юлия Евгеньевна (RU), Пузырев Владимир Федорович (RU), Ольховский Игорь Алексеевич (RU), Нешумаев Дмитрий Александрович (RU), Рузаева Людмила Александровна (RU), Обрядина Анна Петровна (RU), Бурков Анатолий Николаевич (RU), Уланова Татьяна Ивановна (RU)