

Профессиональный стандарт специалиста клинической лабораторной диагностики: консультирование медицинских работников и пациентов на примере использования молекулярных методов диагностики в реальной клинической практике

Шахгильдян В.И.

**Старший научный сотрудник,
Врач-инфекционист высшей категории, к.м.н.**

**ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНО-МЕТОДИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ПБ СПИД
ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора**

**Врач-инфекционист (консультант) Клинического госпиталя
«Лапино» и Перинатального Медицинского Центра
ГК «Мать и дитя»**

**27.03.2018 г.
Якутск**

II. Описание трудовых функций, входящий в Профессиональный стандарт

- Код В. Проведение сложных лабораторных исследований.

Код В/03.5 Проведение и первичная интерпретация результатов лабораторных исследований.

- Код D. Консультативно-диагностическое обеспечение лабораторных исследований.

Код D/01.7 Консультативное обеспечение лечебно-диагностического процесса в части лабораторных исследований.

- Код С. Организация и аналитическое обеспечение лабораторных исследований

Код С/02.7 Освоение и внедрение новых методов лабораторных исследований и оборудования

- Код Е. Организация работы и управление медицинской лабораторией
- Код Е/03.8 Планирование и прогнозирование деятельности лабораторного подразделения**

III. Характеристика обобщенных трудовых функций

- 3.4. Обобщенная трудовая функция «Консультативно-диагностическое обеспечение лабораторных исследований»

Траектория профессионального развития специалиста:
....- уметь квалифицированно оценить данные специальных методов исследования с целью установления диагноза.

- 3.4.1 Трудовая функция «Консультативное обеспечение лечебно-диагностического процесса в части лабораторных исследований»

- **Трудовые действия**

- Консультативное сопровождение врача-клинициста на этапе назначения и интерпретации лабораторных исследований.
- Анализ полученных результатов лабораторных исследований, клиническая верификация результатов.
- Составление клинико-лабораторного заключения по комплексу результатов лабораторных исследований.

- **Необходимые умения**

- Определить перечень необходимых лабораторных исследований для решения стоящей перед лечащим врачом диагностической задачи.
- Оценить достаточность и информативность полученного комплекса результатов анализов для постановки диагноза.
- Осуществить дифференциальную диагностику часто встречающихся заболеваний на основе комплекса лабораторных показателей и клинических признаков.

- **Необходимые знания**

- Принципы оценки диагностической эффективности (аналитической и диагностической чувствительности и специфичности).

3.4.5 Трудовая функция «Формулирование заключения по результатам лабораторных исследований»

- **Трудовые действия**

- Формулирование и оформление заключения по результатам лабораторных исследований.
- Участие в консилиумах совместно с лечащими врачами.

- **Необходимые умения**

- Осуществлять клиническую верификацию результатов лабораторных исследований.
- Определить необходимость и предложить программу дополнительного лабораторного обследования пациента.

- **Необходимы знания**

- Этиология, патогенез, клиника, принципы лечения и профилактики различных заболеваний
- Определение тактики лабораторного обследования пациентов

RAIL WAY HOSPITAL YAROSL AVL
 ID: 6300
 DB: 28 Jul 1987

11:43
 NoC
 W: 72
 L: 37

L
 R
 T

Var: 0
 Hor: 56
 Acc: 0

001-120
 8/7.5 mm
 10 mm (250)
 8 (200 x 250)
 (1 ave(x))
 OR

RAIL WAY HOSPITAL YAROSL AVL
 ID: 6300
 DB: 28 Jul 1987

RAIL WAY HOSPITAL YAROSL AVL
 ID: 6300
 DB: 28 Jul 1987

2 Feb 2018 16:43
 Slice: 10 (25)
 Pos: -48 mm
 NoC
 W: 72
 L: 37

L
 R
 T

Var: 1
 Hor: 48
 Acc: 0

COR ORL
 WSI: 4410/1000/120
 FA: 90 deg
 SI, thk, sep: 8.0/7.5 mm
 FOV: 195 x 250 mm (250)
 Mat: 200 x 256 (200 x 256)
 8 min - 16 sec (1 ave(x))
 Phase enc: HOR
 ET1.1

RAIL WAY HOSPITAL YAROSL AVL
 ID: 6300
 DB: 28 Jul 1987

Лабораторные маркеры для подтверждения ЦМВ-болезни

	Лаб. маркеры	Значение обнаружения или отсутствия
Серология	IgG	?
	Высокий титр IgG	?
	IgM	?
	IgG-авидность	?
Вирусология	ПИФ pp65, pp72 антигенов	?
	ДНК ЦМВ (ПЦР) Кровь, моча, слюна	?
	ДНК ЦМВ (ПЦР) БАЛЖ, СМЖ, ПЖ, биоптаты	?
	Количество ДНК ЦМВ в крови, слюне, мокроте, моче, БАЛЖ, СМЖ, ПЖ, биоптатах	?

Диагностические (клинические) чувствительность и

специфичность лабораторного теста

- с “истинно-положительным” (ИП) в отношении заболевания значением маркера, когда присутствует и лабораторный маркер, и заболевание;
- с “ложноположительным” значением (ЛП), когда имеется лабораторный маркер, но заболевание отсутствует;
- с “истинно-отрицательным” значением (ИО), когда отсутствуют и лабораторный маркер, и заболевание;
- с “ложноотрицательным” значением (ЛО), когда нет в наличии лабораторного маркера, но заболевание имеется.

- Чувствительность диагностического теста – возможность выявить тех пациентов, кто имеет заболевание

Чувствительность - $100\% \times \text{ИП} / (\text{ИП} + \text{ЛО})$;

- Специфичность диагностического теста - возможность выявить тех пациентов, кто не имеет заболевание

Специфичность - $100\% \times \text{ИО} / (\text{ИО} + \text{ЛП})$

Рос-анализ значений количественных характеристик при наличии болезни

Определение ДНК возбудителя в биологических жидкостях и тканях методом ПЦР

Преимущества:

- наиболее высокие аналитические чувствительность и специфичность**
- возможность исследовать биоматериал на наличие нескольких возбудителей одновременно**
- возможность определения количества возбудителя в биологическом материале**
- быстрое получение результата (от 3-5 часов)**
- возможность стандартизации методик**

Актуальность применение молекулярных методов для диагностики инфекционных заболеваний обусловлена:

- низкой клинической чувствительностью (ТБ)**
- низкой клинической специфичностью стандартных диагностических методов (ЦМВИ)**
- длительностью и трудоемкостью выполнением «золотых стандартов» (посевы, вирусологические методы)**
- необходимостью выявлять активность репликации возбудителя (количества копий ДНК (РНК) в биологическом материале) для постановки диагноза и обоснования этиотропной терапии (ДНК ЦМВ, ЭБВ, Candida и др.)**

Биоматериал	ДНК ЭБВ (%)	ДНК ЦМВ (%)	ДНК ВПГ-1,2 (%)	ДНК ВП-6 (%)	ДНК ВВЗ (%)
Мокрота	89	85	29,5	10	
БАЛЖ	71	90		33	
Биоптат бронхов	54	21		5	
Плев. жидкость	58	36			
Биоптат л/у	71	16,4	3,6	7,2	
Биоптат ЖКТ	69,2	80,7	11,5	15,3	0
Ликвор	26,7	10,4	2,4	1,5	1,2
Кровь	71,4	плаз. 19,3 лейк. 51,7			

Биоматериал	ДНК <i>C. albicans</i> (%)	ДНК <i>C. glab.</i> (%)	ДНК <i>C. cruz.</i> (%)	ДНК <i>C. neoform.</i> (%)
Мокрота	63	18,5	7,4	
БАЛЖ	35	16	3,7	
Биоптат бронхов	16,1	6,2	1,9	
Плев. жидкость	2,7	2,7	0	
Биоптат л/у	12,7	5,5	3,6	
Биоптат ЖКТ	50	38,5	15,3	
Ликвор	1,9	1,4	1,0	4,6
Кровь				

Количественное содержание ДНК ВЭБ в биоматериалах

- **Кровь:** 1,0 - 3,3 Ig ДНК ВЭБ в 10х5 лейкоцитах,
- **Мокрота:** 2400 – 49 380 000 коп/мл
50%: <10 000 коп/мл, 12,5%: 10 000 до 100 000 коп/мл,
37,5%: >100 000 коп/мл
- **БАЛЖ:** 100 – 2 638 5100 коп/мл
38%: 100 - 5000 коп/мл, 31%: 5000-50 000 коп/мл,
8,5%: 50 000-100 000 коп/мл, 22,5%: >100 000 коп/мл
- **Плевральная жидкость:** 400 – 1 484 500 коп/мл
14%: <1000 коп/мл, 21%: 1000 – 10 000 коп/мл,
3,5%: 10 000 - 100 000 коп/мл, 11,5%: >100 000 коп./мл
- **Биоптаты лимфоузлов:** 100 – 1 553 247 коп.
21%: <1000 коп, 38%: 1000- 10 000 коп,
38%: 10 000 – 100 000 коп, 7%: >100 000 коп.
- **СМЖ:** 100 – 1 636 500 коп/мл
83%: <1000 коп/м, 11%: 1000–10 000 коп/мл,
4%: 10 000-100 000 коп/мл, 2%, >100 000 коп/мл
- **Биоптаты ЖКТ:** 100 – 19 100 коп

I группа

- Диагностическое значение выявления ДНК (РНК) возбудителя доказано.
- Диагностическая (клиническая) специфичность - около 100%.
- Диагностическая (клиническая) чувствительность – около 100% (ГВ, ГС, ВИЧ) или максимальная (45-94%) из всех лабораторных методов (ТБ)
- Рекомендованы к использованию в практическом здравоохранении (клинические протоколы, рекомендации, но не включены в перечень лабораторных исследований по тер. программе ОМС)

Наличие в РНК (ДНК) возбудителя в биоматериале – подтверждение диагноза

ДНК HBV – гепатит В

РНК HCV - гепатит С

РНК HDV – гепатит D

РНК ВИЧ – ВИЧ-инфекция

ДНК МБТ (мокрота, БАЛЖ, л/у, СМЖ)- туберкулез

РНК Rubella virus – краснуха

Диагностика гепатита С

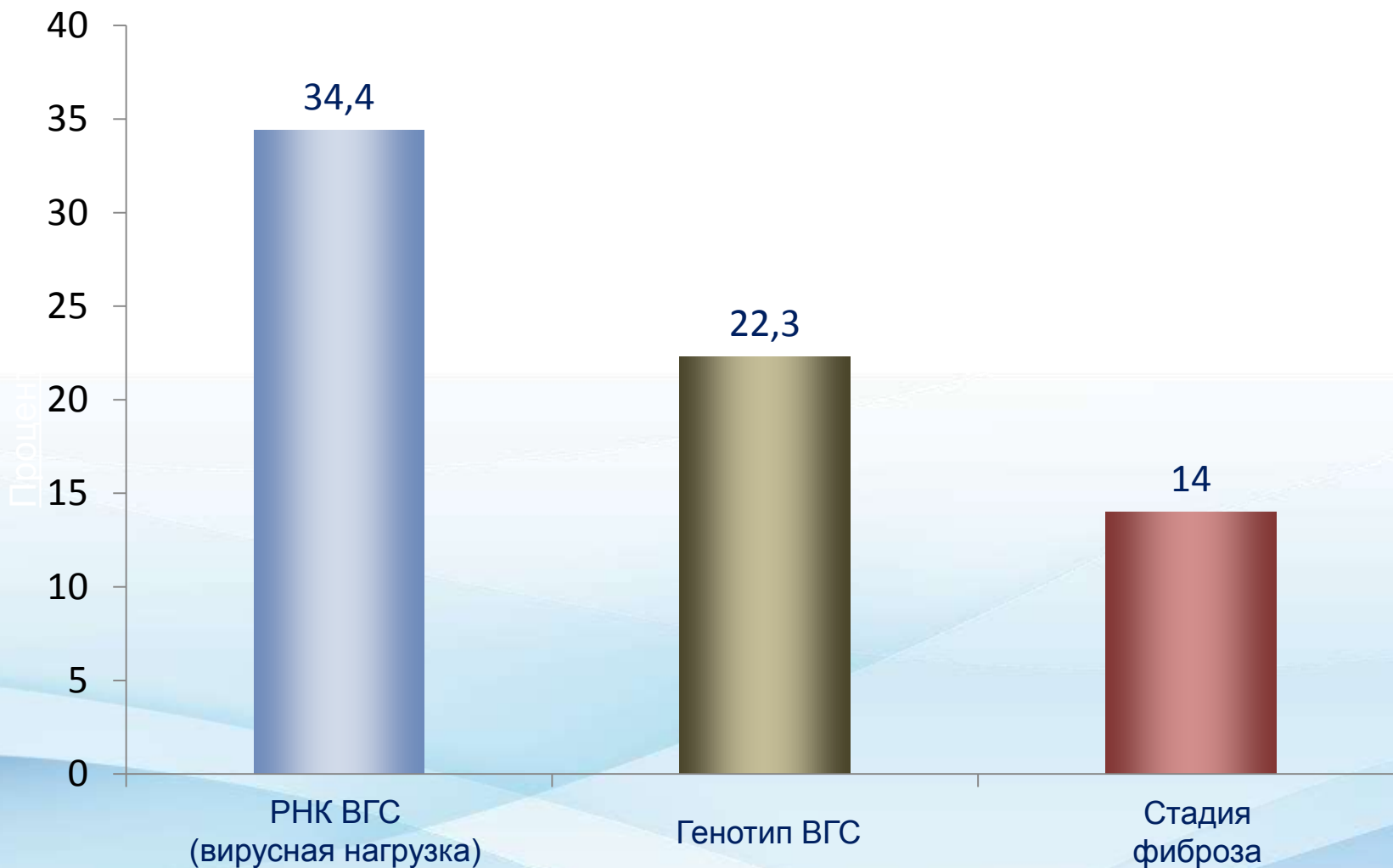
(РФ: 3.5 - 4.7 млн. больных ХГС)

II ЭТАП

(окончательный)

- Обследование лиц с **anti-HCV IgG+** с целью установления диагноза ХГС:
наличие **РНК HCV (ПЦР)**
(качественный анализ)
- Диагноз гепатита С не может быть установлен только на основании наличия специфических антител!!!

Региональные регистры больных ХВГ: уровень обследования больных ХГС



Референс-центр по мониторингу за вирусными гепатитами Роспотребнадзора
По данным анализа региональных регистров в 50 субъекте Федерации

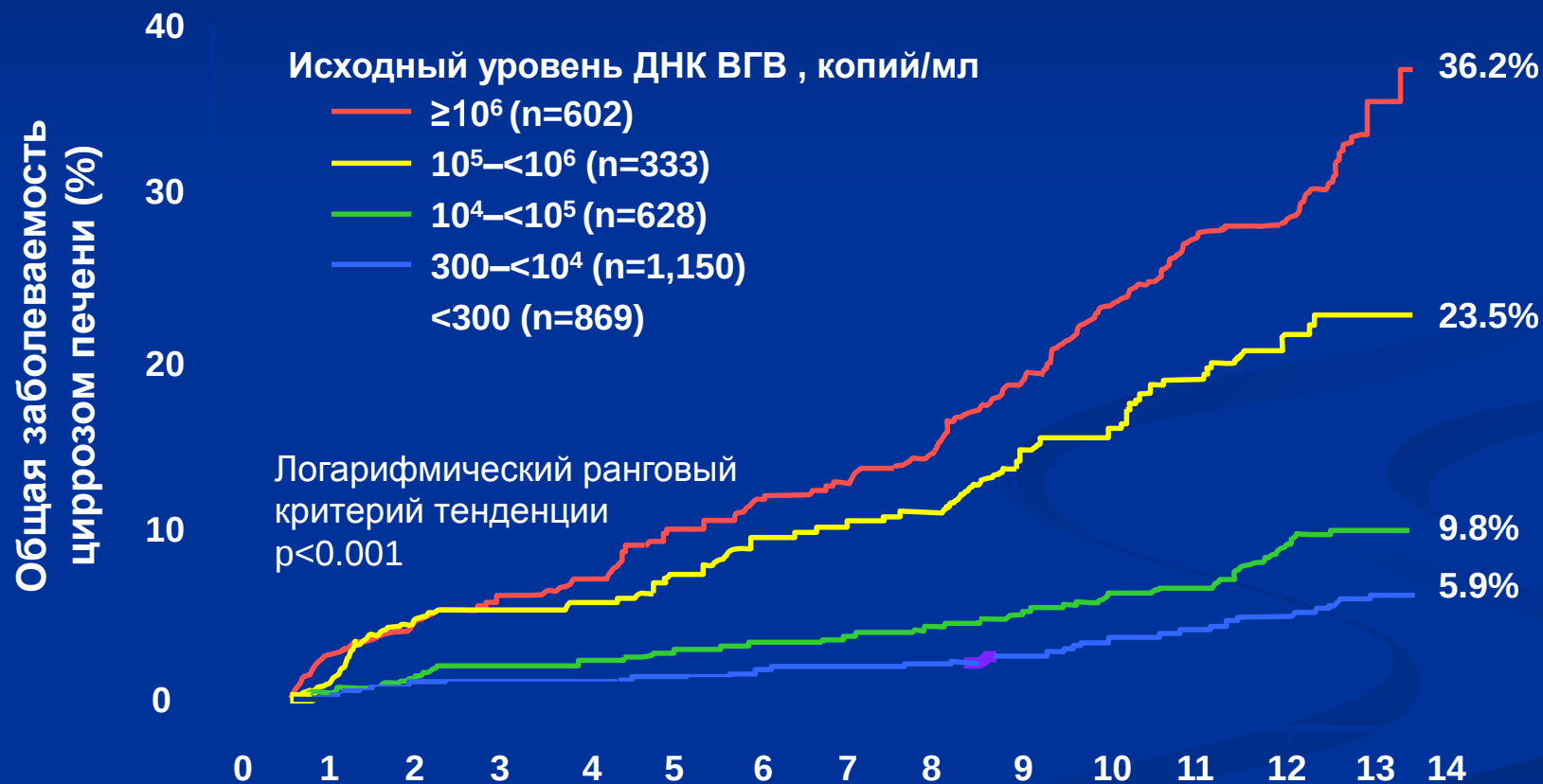


Количественное определение РНК HCV

- Концентрация РНК HCV в крови – не является прогностическим маркером течения заболевания.
- Определение вирусной нагрузки необходимо только перед началом противовирусной терапии ХГС для контроля эффективности проводимого лечения.
- Отсутствие РНК HCV в крови через 6 месяцев после окончания лечения свидетельствует о полном излечении гепатита С.

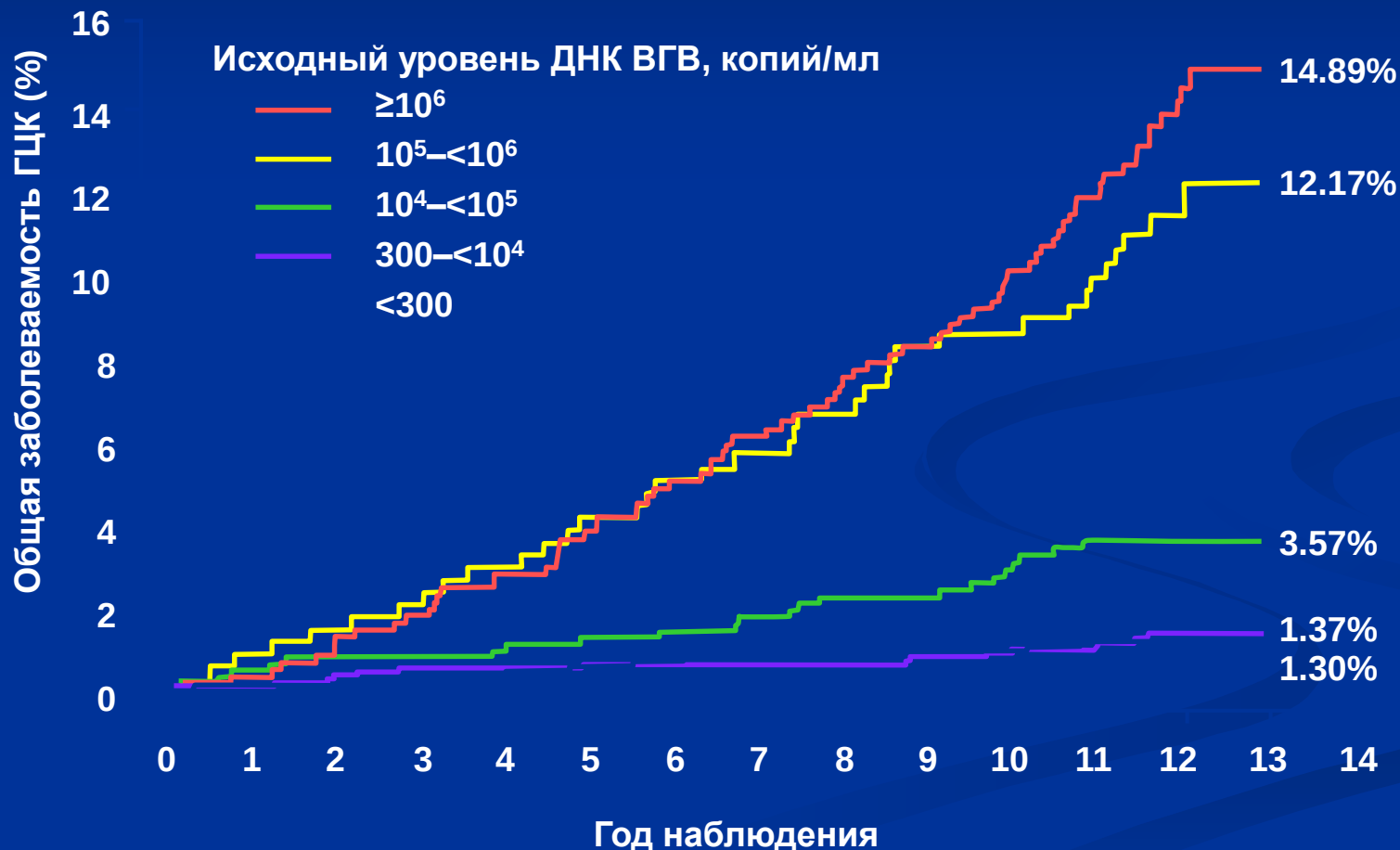
Концентрация ДНК ВГВ и риск цирроза

Общая заболеваемость циррозом печени
Всего случаев (n=3582)

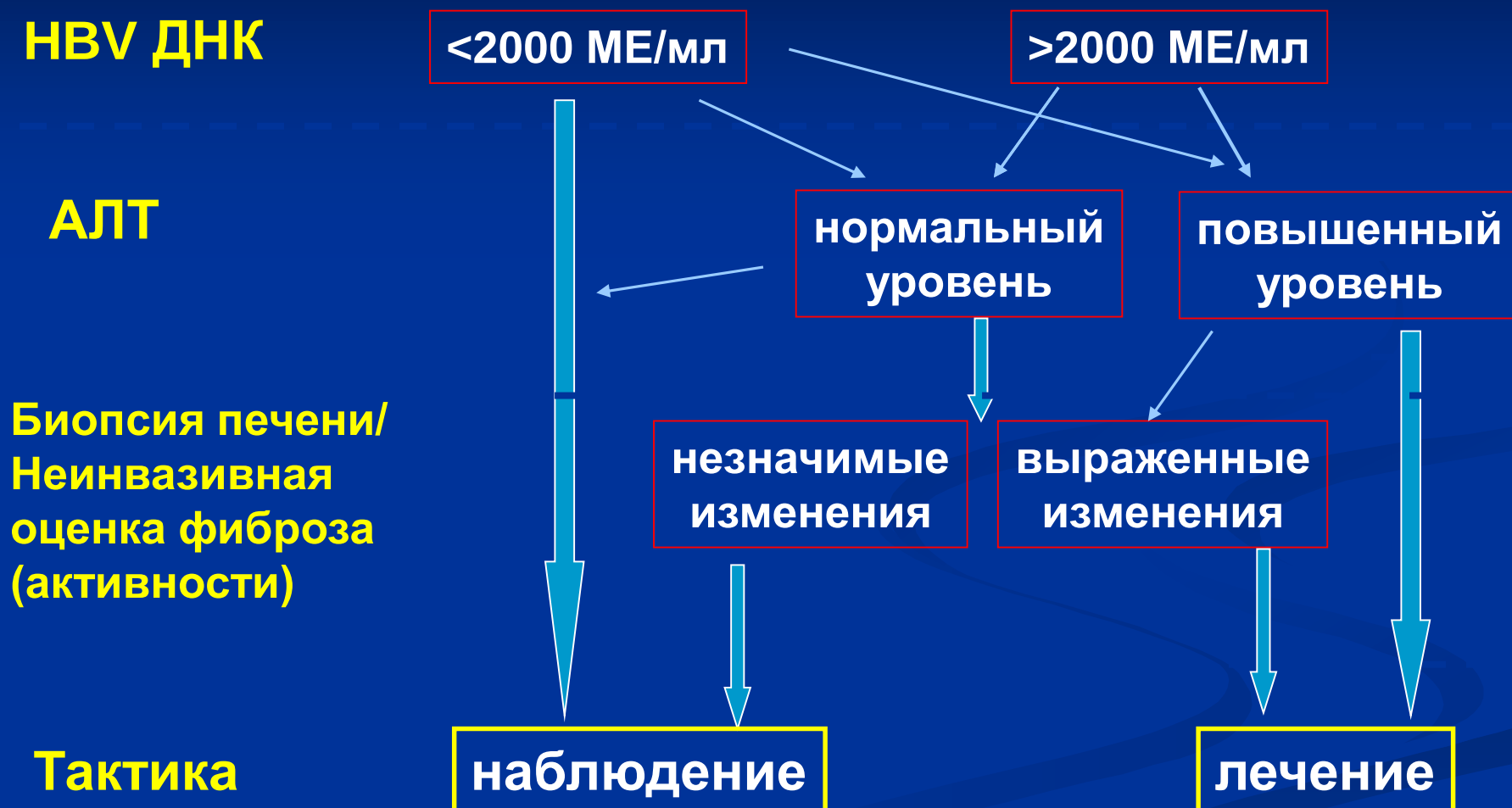


Концентрация ДНК ВГВ в крови и риск гепатоцеллюлярной карциномы

Общая заболеваемость ГЦК
Всего случаев (n=3653)



Алгоритм ведения пациентов с HBV-инфекцией



Профилактика врожденного гепатита В

■ ПОКАЗАНИЯ для назначения беременным тенофовира (виреада):

- острый гепатит В,

- наличие в крови ДНК HBV в высокой концентрации ($>10^5$ МЕ/мл?), наличие HBeAg
(синдром отмены тенофовира)

■ Введение специфического иммуноглобулина в 1-й день жизни ребенка;

■ Вакцинация против гепатита В с первых часов жизни ребенка: 0 - 1 - 2 – 12 мес.

Национальные рекомендации по диспансерному наблюдению и лечению больных ВИЧ-инфекцией (клинический протокол), 2017

В приоритетном порядке АРТ рекомендуется назначать:
(строгая рекомендация, высокий уровень доказательности):

■ **пациентам с количеством РНК ВИЧ $>100\,000$ копий/мл;**

.....

■ **Неопределяемая «вирусная нагрузка»
(РНК ВИЧ в крови <20 коп/мл):**

- Эффективная АРВТ
- Нет риска вертикальной передачи ВИЧ
- Нет риска заражения ВИЧ половым путем, парентеральным путем

Результаты исследования БАЛЖ и биоптатов бронхов на наличие ДНК МБТ у больных ВИЧ-инфекцией

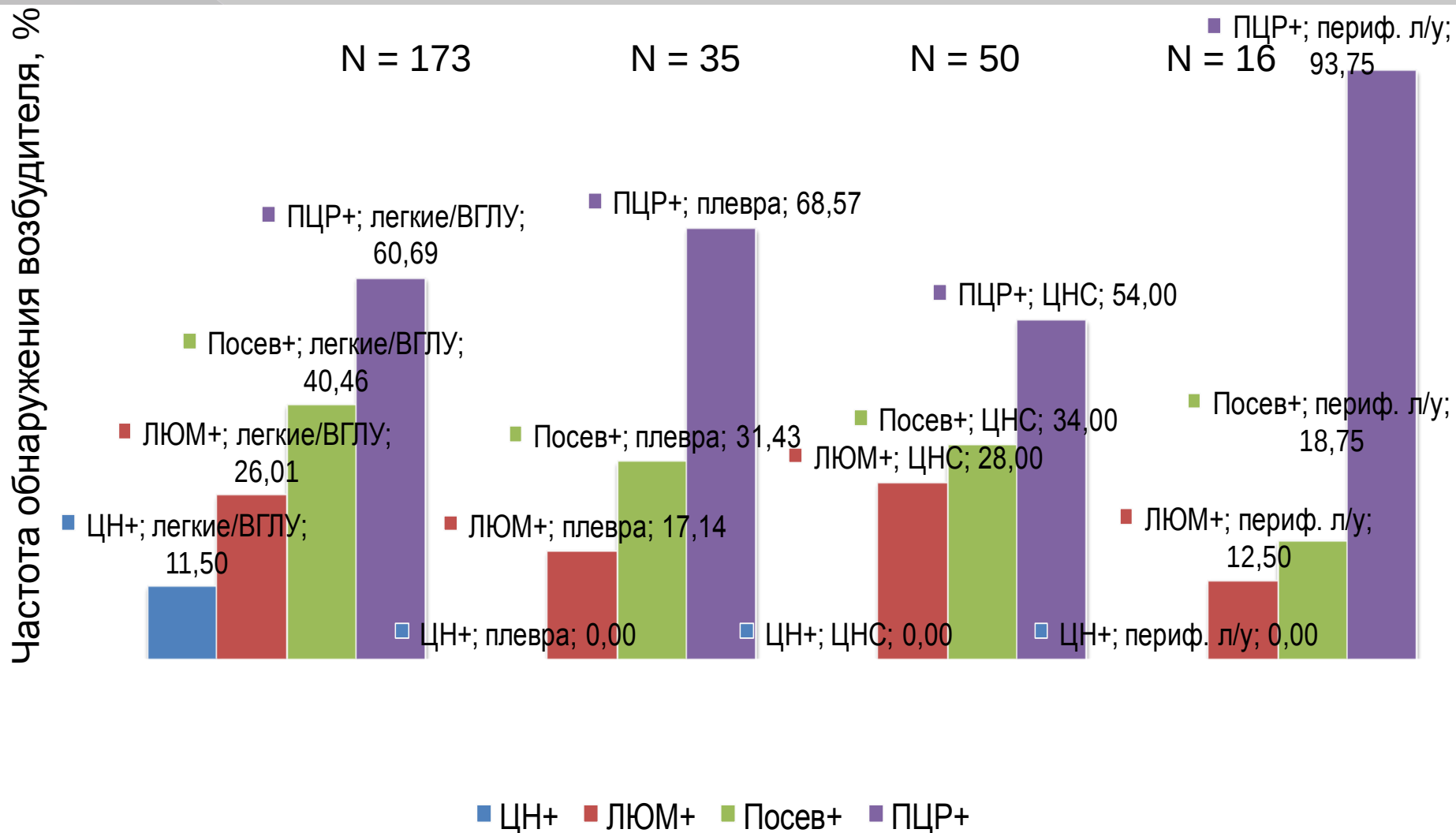
Шахгильдян В.И., Литвинова Н.Г., Морозова С.В., Шипулина О.Ю., 2006

- Диагностическая фибробронхоскопия – **744 больных** ВИЧ-инфекцией, ср.воз. 33.1 г., ст. СПИДа: 514 (69%) CD4-лимфоциты < 200 кл/мкл : 61%
- Больные туберкулезом легких: **255**
ДНК МБТ в лаважной жидкости: 182 (71%)
ДНК МБТ в биоптате бронхов: 156 (61%)
- **Диагностическая чувствительность наличия ДНК *M. tuberculosis* в БАЛЖ - 71%, специфичность – 88.5%.**
- **Диагностическая чувствительность наличия ДНК *M. tuberculosis* в биоптате бронха – 61.2%, специфичность – 98%.**

Абсолютное большинство (98%) ВИЧ-инфицированных пациентов, имевших ДНК МБТ как в БАЛЖ, так и в биоптатах бронхов, страдали туберкулезом легких. Туберкулез легких был диагностирован лишь у 14,1% больных, не имевших ДНК МБТ ни в БАЛЖ, ни в биоптатах бронхов.

Наличие ДНК МБТ в плевральной жидкости, ликворе, крови

Информативность различных методов при верификации ТБ в зависимости от локализации процесса (235 ТБ, 69 кон.гр.) (Альварес Фигероа М.В., Долгова Е.А., Шахгильдян В.И., 2014)



N - количество больных основной группы с указанной локализацией ТБ процесса

Выводы :

Применение метода ПЦР при диагностике ТБ у больных на поздних стадиях ВИЧ-инфекции

- выявляет МБТ со специфичностью 100% и частотой 44,8-93,8% (в зависимости от вида исследуемого материала и локализации ТБ процесса);
- увеличивает частоту верификации ТБ у больных на поздних стадиях ВИЧ-инфекции:
 - на 51,9% (95% ДИ: 44,0 - 58,8) по сравнению с бактериоскопией с окраской по Цилю-Нильсену;
 - на 39,2% (95% ДИ: 30,5 - 46,9) по сравнению с люминесцентной бактериоскопией;
 - на 30,2% (21,3 - 38,4) по сравнению с посевом
- снижает срок перевода больных в ТКБ до 1-5 дней;
- снижает сроки верификации диагноза в туберкулезном стационаре:
 - на 1-5 дня по сравнению с люминесцентной микроскопией;
 - на 22-75 дней по сравнению с посевом

II группа

- Диагностическое значение качественного выявления ДНК (РНК) возбудителя высокое.

Диагностическая специфичность - около 100%

Диагностическая чувствительность?

- Молекулярные методы рекомендованы для диагностики заболевания.
- Использование в реальной клинической практике не внедрено или внедрено в отдельных клинических центрах, необязательно к использованию в практическом здравоохранении (*мб не включены в клинические протоколы, рекомендации, отсутствуют в перечне программ ОМС*)

Значение определения ДНК ВПГ-1,2 и ДНК ВВЗ в биологических материалах для диагностики герпесвирусных инфекций у взрослых больных

КИБ №2 г. Москвы: 68 ВИЧ-инфицированных больных (37 ВПГ и 31 ВВЗ)

Наличие ДНК ВПГ или ДНК ВВЗ в содержимом везикулы: 60 (88.2%)

**Наличие ДНК ВПГ или ДНК ВВЗ в крови:
3 (4.4%) (1 б-й ВПГ и 2 б-х ВВЗ)**

(Ф. Хашиева и др., 2004)

***Подтверждение диагноза ВО у беременных:
выявление ДНК ВВЗ в содержимом везикулы***

Герпетический энцефалит –наличие ДНК ВПГ-1,2 в СМЖ

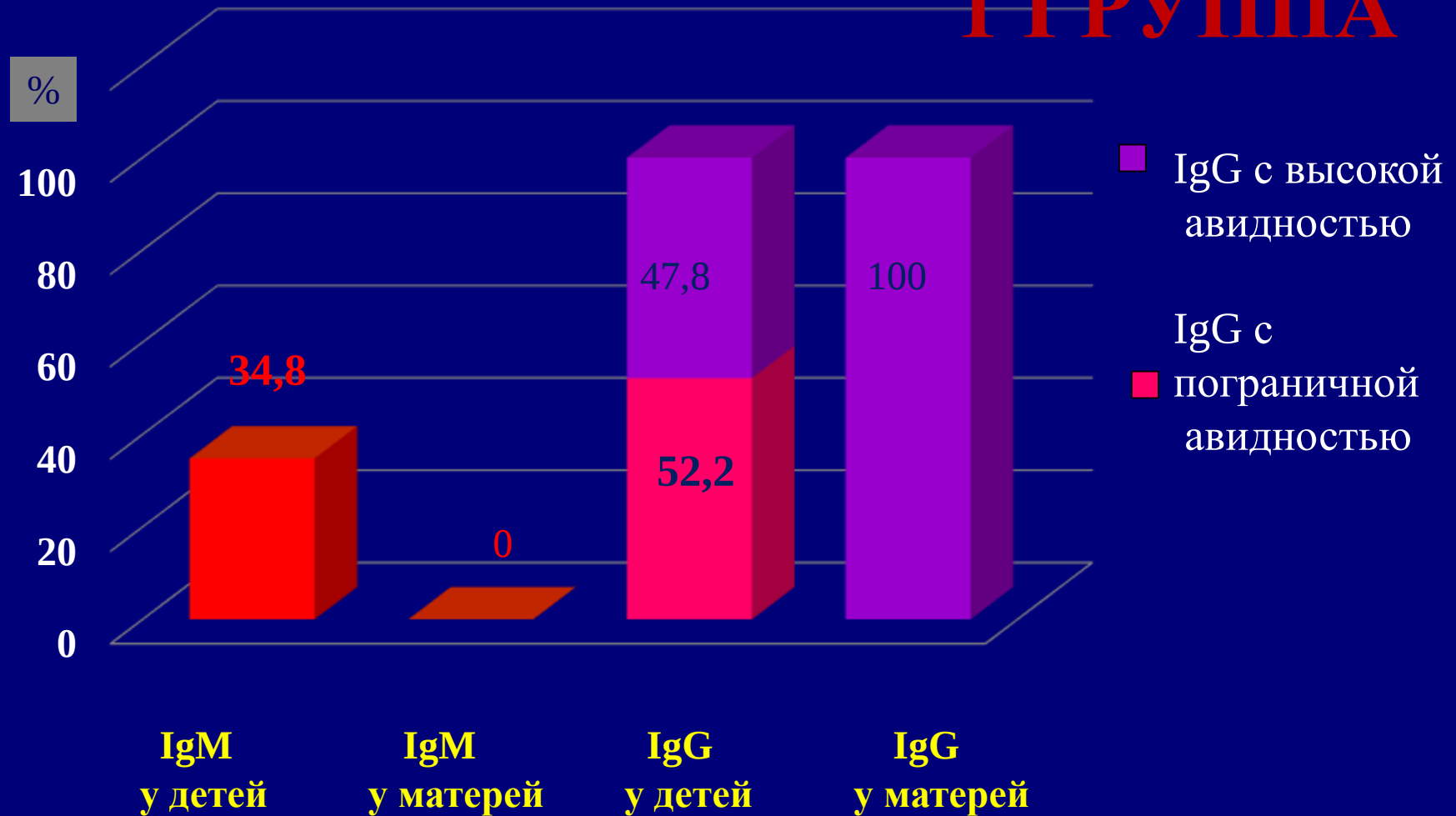
- Исследование сыворотки новорожденных на антитела к ВПГ - низкая диагностическая ценность (присутствие анти-ВПГ IgG материнских , нередкое отсутствие анти-ВПГ IgM, ложноположительные результаты).
- Достоверным методом диагностики герпесвирусной инфекции у новорожденных является **определение ДНК ВПГ-1,2.**
Материалами для исследования могут служить жидкость везикул, кровь, моча, соскобы со слизистой ротовой полости, СМЖ.

Диагностика ЦМВИ у новорожденного

- Достоверным методом подтверждения заражения ЦМВ новорожденного является выявление ДНК возбудителя.
- Материалами для исследования могут служить моча, кровь, мазок со слизистой ротовой полости, СМЖ и др.

ВЫЯВЛЕНИЕ МАРКЕРОВ ЦМВИ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ МЕТОДОМ ИФА

1 ГРУППА



Значение выявления ДНК ЦМВ в биоматериалах у новорожденных

- Выявление ДНК ЦМВ в любой биологической жидкости в первые 14 (21) дней жизни ребенка является подтверждением антенатального заражения ЦМВ (врожденной ЦМВИ)
- Выявление ДНК ЦМВ в любой биологической жидкости в первые 4 – 6 недель жизни ребенка при отсутствии ДНК ЦМВ в первые 14 дней жизни является подтверждением интранатального заражения ЦМВ.
- Выявление ДНК ЦМВ в любой биологической жидкости после 6 -12 недель жизни ребенка при отсутствии ДНК ЦМВ в предыдущих исследованиях является подтверждением постанатального заражения ЦМВ.

•

Значение наличия ДНК *Toxoplasma gondii* в СМЖ для подтверждения диагноза церебрального токсоплазмоза

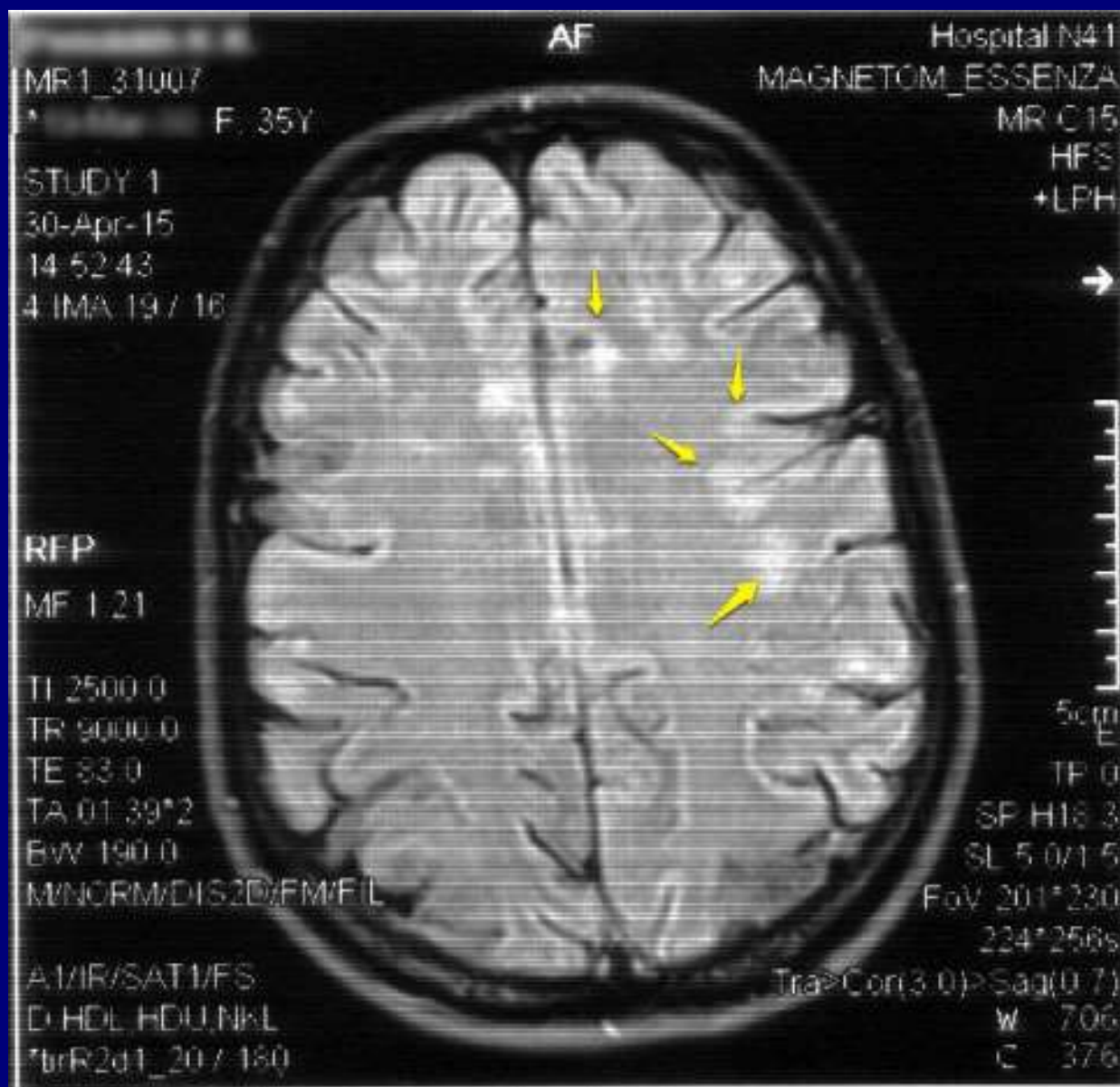
- Диагностическая специфичность наличия **ДНК *Toxoplasma gondii*** в СМЖ 100% (чувствительность 36%)
- (Перегудова А.Б., Шахгильдян В.И., 2013))

Врожденный токсоплазмоз

- Достоверным подтверждением заражения плода токсоплазмами – **выявление ДНК *T. gondii* в амниотической жидкости.**
- Терапевтическая тактика у беременных с острым токсоплазмозом зависит от результатов исследования амниотической жидкости на ДНК токсоплазмы:
при отсутствии ДНК *Tox.gondii* – ровамицин,
при выявлении ДНК *Tox.gondii* – бисептол.

Значение наличия ДНК *Cryptococcus neoformans* в СМЖ для подтверждения диагноза криптококкового менингита (менингоэнцефалита)

- Диагностическая специфичность и чувствительность наличия ДНК *Cryptococcus neoformans* в СМЖ около 100%.



Заключение: мультифокальная энцефалопатия (может соответствовать прогрессирующей мультифокальной лейкоэнцефалопатии).

Значение наличия ДНК *JS-вируса* в СМЖ для подтверждения диагноза многоочаговой лейкоэнцефалопатии

- Диагностическая специфичность и чувствительность наличия **ДНК *JS-вируса*** в СМЖ 96-98%.

Саркома Капоши



Выявление ДНК ВГЧ-8 в элементах саркомы Капоши – высокое значение для подтверждения этиологии поражений

ГГ – угроза репродуктивному здоровью женщин

- 85-90% случаев неонатального герпеса - результат интранатального инфицирования плода, 5-8% - врожденные формы, остальные – постнатальные.
- У 70% матерей инфекция протекает бессимптомно (у 2/3 беременных первичный ГГ – бессимптомный).

Первичный ГГ за месяц до родов	Риск заражения ребенка
	50-70%

Рецидив ГГ за несколько дней до родов	2-5%
---------------------------------------	------

ГГ в анамнезе	0,1%
---------------	------

(отсутствие клинических проявлений ГГ во время беременности)

(70-80% случаев неонатального герпеса!!!)

Показания для проведения исследования соскоба из цервикального канала на наличие ДНК ВПГ-1,2 на 32-34 неделе беременности

Ретроспективное скрининговое исследование 6904 женщин: 14 (0.2%) при родах ВПГ в вагинальном секрете, 1 новорожденный был инфицирован (0.014).

Показания:

- первичный генитальный герпес в 1 и/или 2 триместре
- рецидивы ГГ в 1 и/или 2 триместре
- наличие рецидивизирующего ГГ в анамнезе (до беременности)
- наличие рецидивизирующего ГГ у полового партнера
- наличие поражений ур/ген тракта н/генеза (жалобы, видимые изменения).
- наличие анти-ВПГ -1,2 IgM при плановом обследовании во время беременности

При выявлении ДНК ВПГ-1,2 в ур/ген соскобе – назначение лечения в профилактических целях

- Реинфекция ЦМВ у матери обуславливает заражение плода значительно реже: 0,2–2,2% случаев, реактивация – до 20% случаев
- У 30-50% детей с врожденной ЦМВИ матери были серопозитивны (*Leung J, 2012 , Asher Ornoy, 2007*).

Значение различных маркеров активной ЦМВИ у беременных ВИЧ-инфицированных женщин для определения риска врожденного и внутриутробного заражения ребенка

**(ФНМЦ ПБ СПИД, ИКБ№2 г. Москвы,
ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора)**

Шахгильдян В.И. и др.

«Диагностика цитомегаловирусной инфекции у ВИЧ-инфицированных беременных женщин и определение факторов риска антенатального и перинатального заражения плода цитомегаловирусом»

«Акушерство и гинекология», 2005. – №2, с. 24 - 29

Значение лабораторных признаков активной репликации ЦМВ как факторов риска врожденной ЦМВИ

(Шахгильдян В.И. и др., 2007)

Маркеры активной ЦМВИ	Высок. титры IgG	Низко-авидные IgG	Ранн. IgG	IgM
Положительное прогностическое значение	16,7 %	33,3 %	13,3 %	50 %
Отрицательное прогностическое значение	84,4 %	92,2 %	84,4 %	92,2 %

Значение наличия ДНК ЦМВ в слюне, моче и крови ВИЧ-инфицированных беременных женщин как фактора риска врожденной ЦМВИ
(Шахгильдян В.И. , Сильц Н.В., Шипулина О.Ю. и др, 2007)

Прогностическое значение	ДНК ЦМВ		
	слюна	моча	кровь
Положительное	21,9 %	29,2 %	58,3 %
Отрицательное	95,9 %	96,2 %	96,6 %

Диагностика ЦМВИ у беременных

Наличие ДНК ЦМВ в клетках крови - высокоактивная ЦМВИ – высокий риск заражения плода – требуется назначение Неоцитотекта – обследование ребенка на ДНК ЦМВ в первые 2 и 4 недели жизни.

Наличие ДНК ЦМВ в моче – маркер умеренной активности вируса. Обуславливает дальнейший мониторинг беременной (повторение анализа на ДНК ЦМВ в крови) и обследование ребенка в первые 2 и 4 недели жизни.

Присутствие ДНК ЦМВ в слюне является маркером инфицированности, но НЕ свидетельствует о существенной вирусной активности.

(в зависимости от возраста, социального статуса вирус выделяется из слюны у 25 – 30% и мочи у 10 - 15% обследованных женщин, не имеющих клинических симптомов)

Диагностика РV В19 – инфекции у плода и новорожденного

- УЗИ мониторинг состояния плода для своевременной диагностики неиммунной водянки (каждые 2 нед. в течение 8-12 нед. после острой инфекции у матери)
- Фиксирование частоту движений плода
- **Исследование амниотической жидкости, крови плода (кордоцентез) на ДНК РV В19**
- **Исследование ткани плаценты, крови, мочи, слюны, аутоптатов на ДНК РV В19**

IgG, IgM у новорожденного мало информативно. Низкая чувствительность.

Присутствие IgG в крови ребенка больше года – показатель инфицированности.

III группа

- Выявление ДНК возбудителя недостаточно информативно для постановки диагноза: диагностическая специфичность качественного определения ДНК патогена низка (*чувствительность около 100% - отсутствие ДНК возбудителя свидетельствует об отсутствии заболевания*)
- Необходимо использование количественных показателей – определение концентрации ДНК возбудителя в биологическом материале.
- Использование в реальной клинической практике затруднено в связи с неустановленным клиническим значением различных концентраций возбудителя в том или ином биологическом материале.

**Специфичность и чувствительность маркеров
активности цитомегаловируса при развитии
манифестной ЦМВ-инфекции у больных СПИДом**
(Шахгильдян В.И., Шипулина О.Ю. и др., 1999)

Маркеры активности ЦМВ	Чувствительность %	Специфичность %
ДНК ЦМВ в лейкоцитах крови (качественный анализ)	100	60.5

Диагностическое значение обнаружения ДНК ЦМВ в БАЛЖ и биоптатах бронхов

(Шахгильдян В.И., Литвинова Н.Г., Шипулина О.Ю. и др., 2006)

Диагностическая фибробронхоскопия – **744** больных ВИЧ-инфекцией (CD4-лимфоциты < 200 кл/мкл – 75%).

- ДНК ЦМВ в БАЛЖ – **294 (39.5%)**, биоптатах бронхов – **112 (15.1%)**
- Больные ЦМВ-пневмонией: **70**
- Диагностическая чувствительность наличия ДНК ЦМВ в БАЛЖ - **90%**, специфичность – **66%**.
- Диагностическая чувствительность наличия ДНК ЦМВ в биоптате бронха - **79%**, специфичность – **92%**.

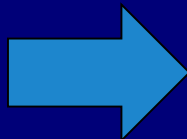
Диагностика острой ЦМВИ

Инвазивные методы диагностики:

- Амниоцентез: ПЦР амниотической жидкости 16-22 нед. беременности
- Кордоцентез : исследование пуповинной крови на наличие вируса и IgM

Доказательство заражения плода - обнаружение ДНК ЦМВ в амниотической жидкости и пуповинной крови.

При выявлении IgM,
низкоавидных IgG антител,
ДНК ЦМВ в крови или
ДНК ЦМВ в моче + IgM



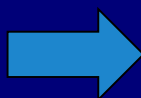
амниоцентез и исследование амниотической жидкости через 5–7 нед. после постановки диагноза острой ЦМВИ у матери, но не ранее 16 нед. и не позднее 22 нед. гестации.

Положительное прогностическое значение (вероятность выявления факта заражения плода) составляет 90-100%, отрицательная прогностическая ценность (специфичность) – 92-98%.

Диагностика острой ЦМВИ

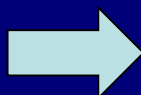
Доказательство заражения плода - обнаружение ДНК ЦМВ в амниотической жидкости и пуповинной крови.

При количестве ДНК ЦМВ <10х3 коп/мл



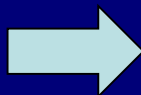
ребенок останется не инфицированным в 83% случаев

При количестве ДНК ЦМВ 10х3 коп/мл и более



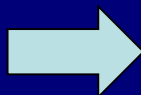
в 100% случаях ребенок заражен.

Уровень ДНК ЦМВ <10х5 коп/мл



с вероятностью 92% свидетельствует об отсутствии манифестации инфекции у плода и новорожденного.

Концентрация ДНК ЦМВ в амниотической жидкости 10х5 копий/мл и более



означает развитие у ребенка клинически выраженной ЦМВ-болезни.

При исследовании амниотической жидкости наличие ЦМВ в 2,5% у детей с врожденной ЦМВИ и 0% у здоровых (Petrikovsky et al., 2010)

Значение концентрации ДНК ВПГ в крови для диагностики неонатальной герпесвирусной инфекции (*H.Kimura, 2002*)

Диагностическое значение концентрации ДНК ВПГ в крови:

поражение кожи, глаз – 10 коп/мл

патология ЦНС – 10^2 коп/мл

генерализованная форма – 10^6 коп/мл

Концентрация ДНК ВПГ в крови коррелировала с риском летального исхода: из 6 больных с концентрацией ДНК ВПГ 10^6 коп/мл – 4 (67%) умерли

Концентрация ДНК ВПГ в ликворе также коррелировала с риском летального исхода

Клиническое значение количественного определения высокоонкогенных генотипов вируса папилломы человека (Кувейда Д.А., Шипулина О.Ю., 2017 г.)

- ВПЧ-тест должен иметь возможность выявлять только клинически значимую концентрацию вируса или дифференцировать клинически значимую от незначимой концентрации, что существенно повышает специфичность исследования.
- **«Порог значимости»** - вирусная нагрузка, ниже которой ВПЧ не встречается в образцах тяжелой дисплазии и РШМ (клинически незначимое инфицирование) – **3 lg (1000 копий) ДНК ВПЧ на 100 тыс. клеток человека.**
- **«Порог прогрессии»** – вирусная нагрузка, которая ассоциирована с большой вероятностью наличия или прогрессии в РШМ - **5 lg (100 000 копий) ДНК ВПЧ на 100 тыс. клеток человека.**
- Введение порога клинической значимости повышают диагностическую специфичность >20% при сохранении высокой диагностической чувствительности

Диагностика острой РV В19-инфекции у беременных

Сероконверсия анти-РV В19 IgG + IgM

Выявление в крови ДНК РV В19 в количестве
> 6 Ig коп/мл

Вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ)

- **Инфекционный мононуклеоз**
- **Волосатая лейкоплакия (98% больных имеют АТ к ВИЧ)**
(одно- или двустороннее поражение боковых сторон языка в виде белых складок или выступов. Боли отсутствуют)
- **Неходжкенские лимфомы (3%) (17 - 28%) больных на поздних стадиях ВИЧ инфекции)**

Назофаренгиальная карцинома

Лимфома Беркита (В-клеточная неходжкенская лимфома)

Антиген или ДНК ВЭБ: в 28 – 78% биоптатах ткани опухоли

- **Поражения ЦНС (редко)**
- **Поражение легких?, ЖКТ?**

Количественное содержание ДНК ВЭБ в биоматериалах

- **Кровь:** 1,0 - 3,3 Ig ДНК ВЭБ в 10х5 лейкоцитах,
- **Мокрота:** 2400 – 49 380 000 коп/мл
50%: <10 000 коп/мл, 12,5%: 10 000 до 100 000 коп/мл,
37,5%: >100 000 коп/мл
- **БАЛЖ:** 100 – 2 638 5100 коп/мл
38%: 100 - 5000 коп/мл, 31%: 5000-50 000 коп/мл,
8,5%: 50 000-100 000 коп/мл, 22,5%: >100 000 коп/мл
- **Плевральная жидкость:** 400 – 1 484 500 коп/мл
14%: <1000 коп/мл, 21%: 1000 – 10 000 коп/мл,
3,5%: 10 000 - 100 000 коп/мл, 11,5%: >100 000 коп./мл
- **Биоптаты лимфоузлов:** 100 – 1 553 247 коп.
21%: <1000 коп, 38%: 1000- 10 000 коп,
38%: 10 000 – 100 000 коп, 7%: >100 000 коп.
- **СМЖ:** 100 – 1 636 500 коп/мл
83%: <1000 коп/м, 11%: 1000–10 000 коп/мл,
4%: 10 000-100 000 коп/мл, 2%, >100 000 коп/мл
- **Биоптаты ЖКТ:** 100 – 19 100 коп

Больные ВИЧ-инфекцией: секционные данные ПАО ИКБ №2 г. Москвы за 2007 г.

(Пархоменко Ю.Г., Тишкевич О.А., Шахгильдян В.И. и др., 2008)

- 430 вскрытий (256 сл.(59,5%) из других больниц)
- ТБ – 177 случаев (41,2%)
- ТБ как моноинфекция – 122 сл. (69%)
- **Сочетание ТБ и других заболеваний – 55 сл. (31%)**

Из них:

- ЦМВИ: 23 сл. (42%)
- ТОХ: 4 сл. (7%)
- РСР: 2 сл. (4%)
- Опухоли: 6 сл. (11%)
- Цирроз печени (ГС): 17 сл. (31%)
- Ветряная оспа, генерализованная герпесвирусная инфекция, криптококкоз.

Возможность одновременного определения ДНК нескольких возбудителей в биологическом материале: дифференциальный диагноз

Поражения дыхательной системы (мазок из носоглотки, ротоглотки, мокрота, БАЛЖ): микоплазмы, хламидии, пневмоцисты каринии, возбудители коклюша и паракоклюша, грибы рода *Candida*, МБТ, стрептококки гр. В, ЦМВ, ВПГ-1,2 и др.

Грипп и ОРВИ (мазок из носоглотки, ротоглотки, мокрота, БАЛЖ): вирусы гриппа, парагриппа, РНК RS-вирус, метапневмовирус, коронавирус, риновирус, аденовирус, бокавирус, парвовирус и др.

Поражения ЦНС (СМЖ): ТОХ, герпесвирусы, ЦМВ, JC-вирус, грибы рода *Candida*, криптококки, МБТ, стрептококки гр. В и др.

Кишечные инфекции (кал): шигелла, сальмонелла, кампилобактер, аденовирус, ротавирус, энтеровирус, астровирус, норовирус, эшерихии (энтерогеморрагические, энтероинвазивные, энтеропатогенные, энтеротоксигенные)

Возможность одновременного определения ДНК нескольких возбудителей в биологическом материале: дифференциальный диагноз

Инфекции мочеполовой системы (в т.ч. ИППП) (соскоб из уrogenитального тракта, отделяемое цервикального канала, влагалища, моча): нейссерия гонорея, гонококк, хламидия трахоматис, микоплазма гениталиум, трихомонада, уреоплазма, гарнерелла, грибы рода Candida и др.

Врожденные заболевания: TORCH, PV B19, листерии

Мононуклеозоподобный синдром (кровь)): ДНК ВЭБ, ЦМВ, ВГЧ-6 в клетках крови с определением количества

Лихорадка неясной этиологии (кровь и др.)

- **Исследование биопсийных материалов:** гистология + ПЦР
- **Посмертные исследования (аутоптаты):** гистология + ПЦР

Клиническое значение выявления ДНК *T. gondii* в СМЖ у больных ВИЧ-инфекцией с поражением ЦНС

Шахгильдян В.И., Шипулина О.Ю., 2004

КИБ №2 г. Москвы: 170 больных ВИЧ-инфекцией с поражением ЦНС:

Церебральный токсоплазмоз: 35

Наличие ДНК *T. gondii* в ликворе: 9

Специфичность: 100%

Чувствительность: 26%

Перегудова А.Б., Шахгильдян В.И., Шипулина О.Ю., 2007

КИБ №2 г. Москвы: 156 больных ВИЧ-инфекцией с поражением ЦНС:

Церебральный токсоплазмоз: 57

Наличие ДНК *T. gondii* в ликворе: 12

Специфичность: 100%

Чувствительность: 30%

Перегудова А.Б., Шахгильдян В.И., 2013)

КИБ №2 г. Москвы: 384 больных ВИЧ-инфекцией с поражением ЦНС:

Церебральный токсоплазмоз: 173

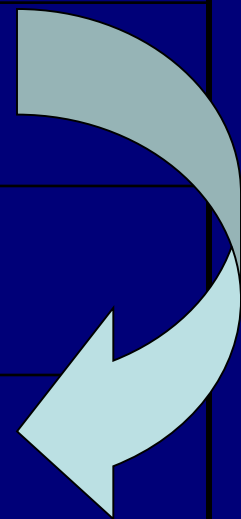
Наличие ДНК *T. gondii* в ликворе: 12

Специфичность: 100%

Чувствительность: 36%

Тест-системы АмплиСенс

Название	Метод детекции	размер ампликона	Аналитическая чувствительность (тахизоитов/мл)
АмплиСенс <i>T.gondii</i> – 325	ЭФ	325 п.о.	50
АмплиСенс <i>Toxoplasma gondii</i> 211-EPh	ЭФ	211 п.н.	16
АмплиСенс <i>Toxoplasma gondii</i> -FRT	Real-Time	81 п.о.	4



Результаты исследования (107 образцов СМЖ от 97 больных ВИЧ-инфекцией с поражением ЦНС в возрасте 18 – 64 лет) Шипулина О.Ю. и др, 2014).

Тест- системы для выявления ДНК <i>Toxoplasma gondii</i>	Выявлено ДНК <i>Toxoplasma gondii</i> , n (доля от всех образцов)	Доля от всех ДНК-положительных образцов
«АмплиСенс® <i>Toxoplasma gondii</i> -211-EPh»	7 (6,5%)	36,8%
«АмплиСенс® <i>Toxoplasma gondii</i> -FRT»	19 (17,8%)	100,0%

В *Toxoplasma gondii* – положительных образцах ДНК других микроорганизмов (HSV, ЦМВ, МБТ, *Candida spp*) не обнаружена

Критерий эффективности лечения больных ВИЧ-инфекцией, ХГС, ХГВ

- Неопределяемая «вирусная нагрузка»:
РНК ВИЧ в крови <20 коп/мл (НЕ 400 коп/мл!)

Быстрый вирусологический ответ (БВО) при терапии ХГС:

РНК HCV <15-25 МЕ/мл (НЕ 150 МЕ/мл)

Полный ответ на лечение ХГВ:

ДНК HBV <25-60 МЕ/мл (НЕ 300 МЕ/мл)

- Приказ МЗ РФ от 29 сентября 2016 г. №751н «О внесении изменений в номенклатуру медицинских услуг, утвержденную Приказом Минздравсоцразвития от 27 декабря 2011 г. № 1664н « «Об утверждении номенклатуры медицинских услуг в лабораторной части»)
- Приказ МЗ РФ от 24 октября 2017 г. №548н
- Приказ МЗ РФ от 13 октября 2017 г. №804н
«Об утверждении номенклатуры медицинских услуг»

«ЭХО Москвы» «Мединфо» (Татьяна Лямзина) 23.03.18 г.

- Диагностические ошибки являются самой большой угрозой безопасности пациентов (Emergency Care Research Institute USA).
- Ежегодно каждый 20-й взрослый пациент сталкивается с диагностической ошибкой. Причем часто такие ошибки остаются не выявленными, что сказывается на состоянии больного (Ремедиум).

Диагноз инфекционного заболевания предполагает обязательное лабораторное подтверждение.

С целью подтверждения клинического диагноза необходимо использовать лабораторные методы с высокими диагностическими (клиническими) чувствительностью и специфичностью.

Следовательно, при выборе лабораторного метода для использования в практическом здравоохранении необходимо знать клиническое значение его результатов (вероятность заболевания при положительном результате и вероятность отсутствия заболевания при отрицательном результате).

Часто именно результаты высоко специфических и чувствительных лабораторных методов становятся определяющими для подтверждения диагноза заболевания, выбора тактики ведения больного и служат основанием для применения дорогих, нередко токсичных, но эффективных этиотропных лекарственных средств.

Современные методы лабораторной диагностики (в частности, молекулярные методы) позволяют эффективно использовать финансовые ресурсы.

Использование современных методов лабораторной диагностики – основа современной организации помощи больным с инфекционной патологией.

«Востребованность лечащими врачами лабораторных исследований с наибольшей клинической информативностью»