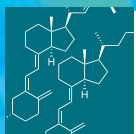


№ 8-9
НОЯБРЬ
ДЕКАБРЬ
2010

ВЕСТНИК

«ЛАБОРАТОРИИ ДНК-ДИАГНОСТИКИ»

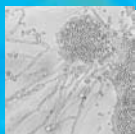
ТЕМЫ НОМЕРА:



**КЛИНИЧЕСКАЯ ЛЕКЦИЯ:
25(OH)-ВИТАМИН D**



**ПЦР ДИАГНОСТИКА ОСТРЫХ
РЕСПИРАТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**



**ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА
ВИДА ГРИБКА ПРИ КАНДИДОЗЕ**



**ПИЩЕВАЯ НЕПЕРЕНОСИМОСТЬ
И ПИЩЕВАЯ АЛЛЕРГИЯ**



**ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАКРОПРОЛАКТИНА
ПРИ ГИПЕРПРОЛАКТИНЕМИИ**



**ВЗЯТИЕ КРОВИ В ПРОБИРКИ
С АНТИКОАГУЛЯНТАМИ**



Медицинский центр «ДНК-Диагностика-Новосибирск»

Огромный выбор лабораторных исследований для частных лиц:

- Клинические исследования.
- Исследования гормонов, маркёров инфекционных заболеваний, опухолевых маркёров, аутоантител.
- Выявление причины аллергии.
- Мониторинг беременности.
- Выявление более 40 возбудителей инфекционных заболеваний методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).
- Биохимические исследования.
- Исследования системы гемостаза.
- Бактериологические исследования.
- Цитологические и гистологические исследования.

0 противопоказаниях проконсультируйтесь со специалистом



Адрес:

г. Новосибирск, Красный проспект, 77Б

Телефон: (383) 201-02-17

Время работы:

пнд-птн: с 8:00 до 18:00, сбт: с 9:00 до 15:00

Web: www.dnklab.ru

Сеть медицинских центров



Лицензия Министерства здравоохранения Новосибирской области № ЛО-54-01-000938 от 27 августа 2010 г.

ВЕСТНИК

«ЛАБОРАТОРИИ ДНК-ДИАГНОСТИКИ»

НОЯБРЬ-ДЕКАБРЬ, 2010, № 8-9

Содержание

Клиническая лекция.

25(ОН)-витамин D: от маркера костного и минерального обмена до индикатора общего состояния здоровья 2

ПЦР-диагностика инфекций.

Острые респираторные заболевания: новые возможности лабораторной диагностики и их влияние на тактику лечения 6

Этиологическая диагностика вида грибка при урогенитальном кандидозе: когда это необходимо? 18

Аллергологическая диагностика.

Пищевая непереносимость или пищевая аллергия: что и когда нужно определять? 20

Новое в лабораторной диагностике.

Роль и место определения макропролактина при гиперпролактинемии 24

Берем пробы правильно.

Взятие крови на специфические анализы или в нестандартных условиях 26

Генетическая диагностика мужской необструктивной азооспермии 28

Наш справочник обложка 3



Е. В. Селиванов, главный редактор, к. м. н., заместитель директора ООО Медицинский центр «Лаборатория ДНК-Диагностики» по лечебной работе

Уважаемые коллеги!

Чтобы успеть поздравить вас с Новым годом и опубликовать все запланированные материалы, нам пришлось сделать этот номер рекордно объемным: настоящий выпуск по своему содержанию соответствует трём обычным номерам.

Мы надеемся, что вы не почувствуете неудобств от этого, и что все опубликованные материалы окажутся своевременными и востребованными.

В канун Нового года обычно принято делиться планами на будущее. В 2011 году мы планируем печатать в нашем журнале материалы известных авторов из Москвы, Санкт-Петербурга, Нижнего Новгорода и других городов. И мы по-прежнему ждем ваших замечаний и предложений.

Поздравляем вас с наступающим Новым годом и Рождеством! Здоровья в наступающем году! Удачных, полных интересными впечатлениями новогодних выходных!

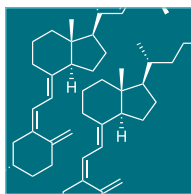
До встречи в следующем году.

Сеть медицинских центров



Вестник «Лаборатории ДНК-Диагностики» — корпоративное издание ООО Медицинский центр «Лаборатория ДНК-Диагностики».

Наш адрес: г. Барнаул, ул. А. Петрова, 247Б. **Тел./факс:** 3852 289069. **E-mail:** otvet@dnklab.com. **Web:** www.dnklab.ru.
Главный редактор: Е. В. Селиванов. **Технический редактор:** Е. Н. Звягинцев. **Печать и допечатная подготовка:** типография Printexpress, г. Барнаул, ул. Кирова, 47, тел./факс: 3852 363626.
Тираж: 600 экз.



25(OH)-ВИТАМИН D: от маркера костного и минерального обмена до индикатора общего состояния здоровья



Гильязова Д. Г.
кандидат биологических наук,
ведущий специалист по продук-
ции компании «Текан»

Основными путями поступления витамина D в организм человека являются синтез в коже его формы D₃ под действием солнечного излучения, а также поступление с пищей в форме витаминов D₂ и D₃ (содержатся в жирной рыбе, яичном желтке, молоке, растениях и др.). В организме обе формы дважды гидроксилируются: сначала в печени до неактивного производного 25(OH)-витамина D, а затем в почках до биологически активного 1,25(OH)₂-витамина D [1].

Функции витамина D

Наиболее известная функция витамина D заключается в поддержании концентрации кальция (Ca) и фосфора (P) в крови. Соли Ca обеспечивают структурную целостность скелета, уровень Ca²⁺ в крови крайне важен для поддержания и контроля многих биологических процессов. Достаточное содержание P необходимо для нормального процесса минерализации костей и нормального клеточного метаболизма. Падение уровня Ca и/или P приводит к цепи нормализующих их реакций [2, 3].

Помимо клеток кишечника, костной ткани и клеток паразитовидной железы, участвующих в поддержании костного метаболизма, рецепторы витамина D также были обнаружены в клетках мозга, простаты, молочной железы, толстой кишки, клетках иммунной системы, глад-

ких мышц сосудов и кардиомиоцитах. Физиологическая функция 1,25(OH)₂-витамина D в этих тканях очень сложна и еще в полной мере не изучена [4].

Понятие «дефицит витамина D»

Принятая на сегодняшний день практика оценки статуса витамина D заключается в измерении концентрации 25(OH)-витамина D в крови. По последним данным, оптимальный статус витамина D достигается при его концентрации в сыворотке крови выше 30 нг/мл (желательно 36-40 нг/мл). Предложено считать концентрацию 10-30 нг/мл недостатком витамина D (умеренным — в диапазоне 21-30 нг/мл, значительным — в диапазоне 10-20 нг/мл); концентрации ниже 10 нг/мл следует рассматривать как его дефицит [3]. В таких случаях могут наблюдаться нарушения минерализации костной ткани, характерные для остеомаляции/рахита.

| | |
|-------------------------|--------------------------|
| Дефицит: | <10 нг/мл (<25 нМ) |
| Недостаток: | 10-30 нг/мл (25-75 нМ) |
| Достаточное количество: | 30-100 нг/мл (75-250 нМ) |
| Токсичность: | >100 нг/мл (>250 нМ) |

Дефицит витамина D в клинической практике

Основной причиной дефицита витамина D является недостаточность солнечного облучения, не компенсированная поступлением витамина D с пищей. Реже причиной дефицита витамина D становится синдром мальабсорбции жира (болезнь Крона, целиакия, болезнь Уиппла).

Дефицит витамина D приводит к снижению эффективности всасывания Ca в кишечнике. Концентрация Ca снижается, что, в свою очередь, приводит к усилению синтеза и секреции паратиреоидного гормона (ПТГ) [3].

Биологические признаки дефицита витамина D:

- низкий или нормальный уровень сывороточного Ca;
- низкий или нормальный уровень сывороточного P;
- повышенный уровень ПТГ и пониженный уровень 25(ОН)-витамина D;
- повышенный уровень щелочной фосфатазы (в сочетании с повышенным уровнем маркеров резорбции костной ткани).

До того, как в полной мере проявляются клинические симптомы остеомаляции, D-гиповитаминоз может сопровождаться постоянной неспецифической скелетно-мышечной болью и мышечной слабостью. Клиницисты часто игнорируют эти симптомы, особенно у взрослых, потому что остеомаляция протекает в более мягкой форме, чем рахит, а до ее манифестации может пройти несколько лет [2].

Данные последних лет связывают недостаточный уровень витамина D с повышенным риском развития несkeletalных патологий: сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний, гипертонии, диабета, рассеянного склероза, ревматоидного артрита, инфекционных заболеваний, астмы [4].

Перспективное исследование (длительностью 5 лет) 1739 чел. без сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) в анамнезе продемонстрировало, что вероятность развития ССЗ была в 2 раза выше у лиц с гипертонией и концентрацией витамина D менее 15 нг/мл, чем у лиц с концентрацией витамина D более 15 нг/мл [5]. Обследование 1354 мужчин без ССЗ, у 454 из которых в течение 10 лет развились инфаркт миокарда или ишемичес-

кая болезнь сердца, показало, что риск инфаркта миокарда был в два раза выше у лиц с недостатком витамина D (менее 15 нг/мл) по сравнению с теми, у кого витамин D присутствовал в достаточном количестве (более 30 нг/мл) [6]. Семилетнее катамнестическое наблюдение 3258 пациентов, направленных на коронарографию, выявило, что уменьшение уровня витамина D было сопряжено с увеличенным риском как общей летальности, так и смертности от ССЗ [7].

Объединенный анализ двух исследований больных раком молочной железы (РМЖ) в сравнении со здоровыми людьми (по 880 наблюдений в каждой группе) показал, что вероятность развития РМЖ у лиц с концентрацией 25(ОН)-витамина D около 52 нг/мл была на 50 % меньше, чем у лиц с его концентрацией менее 13 нг/мл [8]. Анализ 1394 случаев РМЖ у женщин в постменопаузе и 1365 контролей позволяет предположить, что концентрация 25(ОН)-витамина D и риск РМЖ находятся в значительной обратной зависимости, особенно в концентрациях менее 20 нг/мл [9]. Четырехлетнее исследование, в котором участвовали 1085 здоровых женщин, принимавших плацебо, кальций или кальций + витамин D, показало, что добавки витамина D снижают риск развития РМЖ на 77 % [10].

Риск развития рассеянного склероза в группе из 148 больных и 296 контролей был на 51 % ниже среди лиц с концентрацией 25(ОН)-витамина D более 40 нг/мл по сравнению с лицами с концентрацией менее 30 нг/мл [11]. В группе из 206 больных ранним полиартритом была обнаружена обратная зависимость между концентрацией витамина D и индексом активности заболевания по 28 суставам (DAS28): каждое увеличение концентрации 25(ОН)-витамина D на 10 нг/мл приводило к уменьшению величины DAS28 на 0,3 [12]. В исследовании группы из 10366 детей включение в рацион добавок витамина D в количестве 2000 МЕ в день было сопряжено

с уменьшенным на 78% риском развития диабета типа 1 по сравнению с меньшими дозами [13].

Диагностика

При оценке статуса витамина D очень важно учитывать его суммарный уровень в крови, ведь для лечения могут применяться как формы D₃, так и D₂, в зависимости от устоявшейся в каждой стране лечебной практики. Но даже в странах, где обычно рекомендована форма D₃, также нередко применяют препараты D₂ [14]. Измерение уровней 25(OH)-D₂ и 25(OH)-D₃ по отдельности не имеет смысла, вне зависимости от используемого метода, а определение только одного из метаболитов может ввести в заблуждение практикующих врачей и стать причиной неправильного лечения.

Более того, недавние исследования обнаружили в крови грудных детей в возрасте до 1 года неактивный 3-эпимер 25(OH)-витамина D. Во избежание неоправданного лечения дефицита витамина D у грудных детей важно, чтобы используемая тест-система с одинаковой эффективностью могла выявлять активные формы 25(OH)-витамина D (D₂ и D₃), но при этом не определять неактивную 3-эпимерную форму [15].

Методы определения 25(OH)-витамина D

Для измерения концентрации 25(OH)-витамина D можно использовать масс-спектрометрию, методики конкурентного связывания с белком, высокоэффективную жидкостную хроматографию, радиоиммунный и иммуноферментный анализ, а с недавнего времени — и автоматизированные хемилюминесцентные методики (Roche Diagnostics — определение 25(OH)-витамина D₃ и DiaSorin — суммарное определение 25(OH)-витамина D₂ и 25(OH)-витамина D₃) [16].

Стандартом в клинической диагностике дефицита витамина D за рубежом считают тест-систему для радиоиммунного анализа 125I RIA 25-Hydroxyvitamin D производства DiaSorin (Италия) [16], не зарегистрированную в РФ; она была использована в большинстве исследований, посвященных влиянию витамина D на здоровье.

Лечение и профилактика

Коррекция дефицита витамина D у взрослых обычно проводят приемом витамина D в среднем в количестве 50000 МЕ (1,25 мг) в неделю на протяжении нескольких месяцев (перорально). Назначение дорогостоящих метаболитов витамина D не имеет никаких преимуществ [3].

Повсеместное применение витамина D имеет большое санитарно-гигиеническое значение. Рекомендуются в настоящее время количества не способны поддерживать необходимый уровень сывороточного витамина D без его существенного синтеза в коже. В отсутствие солнечного облучения необходимо потреблять витамин D в дозе не менее 1000 МЕ в день.

Современные данные свидетельствуют, что верхняя граница допустимых значений потребляемого витамина D, равная 2000 МЕ в день, является слишком низкой. Добавки витамина D в количестве 4000 МЕ в день не несут вреда, но при этом эффективно повышают уровень витамина D до высоких/нормальных концентраций практически у всех взрослых [17].

Токсичные уровни витамина D изредка становятся причиной гиперкальцемии, но потребление витамина D при этом должно быть более 10000 МЕ в день на протяжении нескольких месяцев [3]. Диагностика гипервитаминоза осуществляется очень легко путем измерения концентрации 25(OH)-витамина D.

Список литературы:

1. Misra M., Pacaud D., Petryk A., Collett-Solberg P.F., Kappy M. Vitamin D deficiency in children and its management: review of current knowledge and recommendations. *Pediatrics*. 2008. V. 122. P. 398-417.
2. Horst R., Reinhardt T. Vitamin D Metabolism. D. Feldman, F. Glorieux, J. Pike, eds. *Vitamin D*. San Diego: Academic Press, 1997. P. 13-32.
3. Holick M.F. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*. 2007. V. 357. P. 266-281.
4. Holick M.F. Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis. *Am J Clin Nutr*. 2004. V. 79. P. 362-371.
5. Wang T.J., Pencina M.J., Booth S.L., Jacques P.F., Ingelsson E., Lanier K., Benjamin E.J., D'Agostino R.B., Wolf M., Vasan R.S. Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. *Circulation*. 2008. V. 117. P. 503-511.
6. Giovannucci E., Liu Y., Hollis B.W., Rimm E.B. 25-hydroxyvitamin D and risk of myocardial infarction in men: a prospective study. *Arch Intern Med*. 2008. V. 168. P. 1174-1180.
7. Dobnig H., Pilz S., Scharnagl H., Renner W., Seelhorst U., Wellnitz B., Kinkeldei J., Boehm B.O., Weihrauch G., Maerz W. Independent association of low serum 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D levels with all-cause and cardiovascular mortality. *Arch Intern Med*. 2008. V. 168. P. 1340-1349.
8. Garland C.F., Gorham E.D., Mohr S.B., Grant W.B., Giovannucci E.L., Lipkin M., Newmark H., Holick M.F., Garland F.C. Vitamin D and prevention of breast cancer: pooled analysis. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2007. V. 103. P. 708-711.
9. Abbas S., Linseisen J., Slinger T., Kropp S., Mutschelknauss E.J., Flesch-Janys D., Chang-Claude J. Serum 25-hydroxyvitamin D and risk of post-menopausal breast cancer—results of a large case-control study. *Carcinogenesis*. 2008. V. 29. P. 93-99.
10. Lappe J.M., Travers-Gustafson D., Davies K.M., Recker R.R., Heaney R.P. Vitamin D and calcium supplementation reduces cancer risk: results of a randomized trial. *Am J Clin Nutr*. 2007. Jun. 85(6):1586-91. Erratum in: *Am J Clin Nutr*. 2008. V. 87. P. 794.
11. Munger K.L., Levin L.I., Hollis B.W., Howard N.S., Ascherio A. Serum 25-hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis. *JAMA*. 2006. V. 296. P. 2832-2838.
12. Patel S., Farragher T., Berry J., Bunn D., Silman A., Symmons D. Association between serum vitamin D metabolite levels and disease activity in patients with early inflammatory polyarthritis. *Arthritis Rheum*. 2007. V. 56. P. 2143-2149.
13. Hyppönen E., Läärä E., Reunanen A., Järvelin M.R., Virtanen S.M. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet*. 2001. V. 358. P. 1500-1503.
14. Zerwekh J.E. Blood biomarkers of vitamin D status. *Am J Clin Nutr*. 2008. V. 87. P. 1087-1091.
15. Singh R.J., Taylor R.L., Reddy G.S., Grebe S.K. C-3 epimers can account for a significant proportion of total circulating 25-hydroxyvitamin D in infants, complicating accurate measurement and interpretation of vitamin D status. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006. V. 91. P. 3055-3061.
16. Hollis B.W. Measuring 25-hydroxyvitamin D in a clinical environment: challenges and needs. *Am J Clin Nutr*. 2008. Aug. 88(2):507S-510S.
17. Vieth R., Chan P.C., MacFarlane G. D. Efficacy and safety of vitamin D3 intake exceeding the lowest observed adverse effect level. *Am J Clin Nutr*. 2001. V. 73. P. 288-294.



ОСТРЫЕ РЕСПИРАТОРНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ: НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ТАКТИКУ ЛЕЧЕНИЯ

Селиванов Е. В., Кубышкина Т. Ю., Звягинцев Е. Н.

Приближается зима, и актуальной становится проблема острых респираторных заболеваний (ОРЗ), занимающих в осенне-зимний период первые места по обращаемости к врачам. В ряде регионов уже превышен эпидемиологический порог ОРЗ.

Нам показалось актуальным обсудить проблему — надо ли при ОРЗ определять вид возбудителя лабораторными методами?

* * *

К острым респираторным заболеваниям ОРЗ относят группу инфекций верхних дыхательных путей со схожей симптоматикой: повышением температуры, насморком, кашлем и т.п. Несмотря на похожую клинику, возбудители ОРЗ относятся к разным этиологическим группам. С точки зрения удобства дальнейшего обсуждения мы условно разделили их на 4 группы:

- 1. Внеклеточные бактерии** — *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pneumoniae* и т.п.;
- 2. Внутриклеточные бактерии** — *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*;
- 3. Вирусы гриппа** типов А, В, С.
- 4. Прочие вирусные инфекции (ОРВИ)** — вирус парагриппа, аденовирусы, респираторно-синтициальный вирус, риновирусы, коронавирусы, метапневмовирус, бокавирус, энтеровирусы.

Такое разделение связано с тем,

что каждая из этих групп возбудителей предполагает разную тактику ведения пациентов. Так, ОРЗ, вызванные внутриклеточными бактериями *Chlamydia pneumoniae* и *Mycoplasma pneumoniae*, могут адекватно и обоснованно лечиться антибиотиками (например, вильпрофеном). Бактериальные ОРЗ также эффективно лечатся антибиотиками (например, в крупном рандомизированном исследовании показана высокая эффективность комбинированного препарата амоксициллин+клавулановая кислота для лечения ОРЗ, вызванного клеточными бактериями). В то же время, при ОРВИ антибиотики практически бесполезны (если не вредны)*. Современная фармакология дает врачу возможность бороться и с вирусом гриппа. Блокатор нейраминидазы тамифлю с одинаковым успехом блокирует вирусы гриппа всех типов. Поскольку препарат весьма дорог и не влияет на другие вирусы, бессмысленно назначать его при ОРЗ, когда возбудитель неизвестен.

Таким образом, быстрая и современная этиологическая диагностика ОРЗ позволяет врачу выбрать правильную тактику лечения и избежать возможных осложнений. Причем выбор терапии в таком случае будет оправдан, что очень важно для обоснования лечения как пе-

* В нескольких крупных многоцентровых исследованиях не выявлено существенных различий между применением антибактериальных средств и плацебо в уменьшении выраженности симптомов ОРЗ, вызванных вирусами.

ред пациентом, так и перед страховыми компаниями.

Перед тем, как перейти к описанию отдельных возбудителей, нам хотелось бы развеять несколько мифов, которые активно циркулируют в медицинской среде.

1. **Воздушно-капельный путь передачи.** Передача инфекции при ОРЗ в большинстве случаев происходит контактным путем, особенно при рукопожатии, с последующим поступлением в дыхательные пути через слизистые оболочки носа и глаз, а не, как часто полагают, воздушно-капельным путем.

2. **Витамин С снижает риск ОРЗ и выраженность симптомов.** В недавно дополненный кокрановский обзор включены рандомизированные контролируемые исследования (РКИ), в которых изучалась польза витамина С для профилактики ОРЗ. Согласно результатам 23 исследований, в которых применяли аскорбиновую кислоту в дозе до 2 г, частота развития заболевания не изменялась. Согласно результатам 7 исследований, в которых изучали прием витамина С при появлении первых симптомов заболевания (у взрослых), не выявлен эффект уменьшения длительности заболевания, хотя результаты одного крупного исследования свидетельствуют о статистически значимом эффекте у пациентов, принимавших аскорбиновую кислоту в дозе 8 г однократно в день появления симптомов.

3. **Антигистаминные препараты облегчают тяжесть симптомов ОРЗ.** Выполнены два систематических обзора, посвященные эффективности антигистаминных средств при симптомах ОРЗ. Первое включает 9 РКИ с участием 1757 взрослых (7 — при естественном и 2 — при искусственном индуцировании

заболевания). Выявлено, что применение антигистаминных препаратов уменьшает выраженность выделений из носа после 2 дней приема по сравнению с плацебо, но клиническая эффективность в виде сокращения сроков заболевания, уменьшения тяжести других симптомов (интоксикационного, кашля и т.п.) — отсутствует. Более того, подсушивание слизистых может негативно сказываться на тяжести течения заболевания из-за усиления кашля, удлинения сроков санации. Авторы второго обзора (32 РКИ с участием 8228 взрослых и детей с естественным возникновением заболевания и 702 — с искусственным индуцированием) оценили применение большого количества различных антигистаминных средств и не выявили значимых отличий в выраженности симптомов ОРЗ между антигистаминными средствами и плацебо в течение первых 10 суток с начала заболевания.

Moraxella catarrhalis

Из всех внеклеточных бактерий мы выбрали моракселлу, во-первых, чтобы познакомиться с этим возбудителем как можно больше врачей, а во-вторых, продемонстрировать на ее примере значение ПЦР-диагностики при ОРЗ.

Moraxella catarrhalis является грамотрицательным аэробным диплококком, который может колонизировать дыхательные пути людей и быть причиной как самих ОРЗ, так и осложнений при вирусных инфекциях респираторного тракта. Моракселла — второй по значимости возбудитель у пациентов с ХОБЛ.

Некоторые классификации помещают *Moraxella catarrhalis* в отдельный род *Branhamella* на основании того, что другие виды рода *Moraxella* являются палочками и редко вызывают инфекции у людей. Однако по результатам гибридизации ДНК и сравнения последова-

тельности 16S рРНК ее все же включили в род *Moraxella*. Тем не менее, некоторые врачи и бактериологи по-прежнему называют эти бактерии *Branhamella catarrhalis*.

Несмотря на то, что *Moraxella catarrhalis* в небольших количествах встречается в нормальной микрофлоре верхних дыхательных путей, эта бактерия может вызывать отиты, бронхиты, синуситы и ларингит. У ослабленных пациентов, курильщиков, пациентов пожилого возраста моракселла часто является осложняющим фактором вирусных ОРЗ.

При своевременной лабораторной диагностике инфекция *Moraxella catarrhalis* хорошо лечится препаратами пенициллинов с клавулановой кислотой.

Mycoplasma pneumoniae

Микоплазмы занимают промежуточное положение между вирусами и бактериями. Они не имеют клеточной стенки, для них характерно многообразие форм размножения: простое деление надвое, почкование, развитие нитевидных форм и мельчайших зернистых структур. Микоплазмы — внутриклеточные микроорганизмы и неустойчивы во внешней среде. Разрушаются прогреванием при 40° и выше. *Mycoplasma pneumoniae* вызывает поражение органов дыхания.

Возбудители респираторного микоплазмоза проникают в организм через дыхательные пути, фиксируются на поверхности эпителия слизистой оболочки трахеи и бронхов, затем достигают альвеолоцитов, внедряются в межальвеолярные перегородки. Передача возбудителя происходит воздушно-капельным путем. Инкубационный период колеблется от 4 до 25 дней (чаще 7-14 дней).

Респираторный микоплазмоз протекает преимущественно в виде ОРЗ и пневмонии. Для микоплазмозного ОРЗ характерны экссудативный фарингит и ринофарингиты. Общее самочувствие удовлетворительное, температура нормальная или субфебрильная. В отличие

от бактериальной, микоплазменная пневмония развивается чаще постепенно, начинается с симптомов, сходных с ОРВИ, но может наблюдаться и острое начало (озноб, повышение температуры до высоких цифр). При любом дебюте микоплазменной пневмонии не свойственны выраженная интоксикация и проявления дыхательной недостаточности.

Поскольку микоплазмы устойчивы к сульфаниламидным препаратам, пенициллину, стрептомицину, своевременная диагностика имеет важное значение для подбора этиотропной терапии. Обычно используют антибиотики группы полусинтетических тетрациклинов и макролидов (джозамицин).

Chlamydia pneumoniae

Важное место в этиологической структуре внебольничных пневмоний занимает *Chlamydia pneumoniae*. Считается, что от 5% до 15% внебольничных пневмоний вызывается хламидиями, а в период эпидемии эти показатели могут увеличиваться до 25%. Наиболее часто инфекция, вызванная *Chlamydia pneumoniae*, встречается среди взрослых, и особенно у лиц среднего и пожилого возраста, может приобретать эпидемический характер: описаны вспышки в изолированных и полуизолированных коллективах, известны случаи внутрисемейной передачи хламидийной инфекции. Сезонности инфекции не установлено.

Chlamydia pneumoniae была впервые выделена в 1986 году на острове Тайвань из конъюнктивы больного пневмонией ребенка. В 1989 году выделенному возбудителю дали название *Chlamydia pneumoniae* (G. Grayston). Согласно действующей классификации, данный микроорганизм назван *Chlamydia pneumoniae*, он относится к семейству Chlamydiaceae рода *Chlamydia* и является возбудителем респираторных инфекций. В последнее время накапливается все больше данных, свиде-

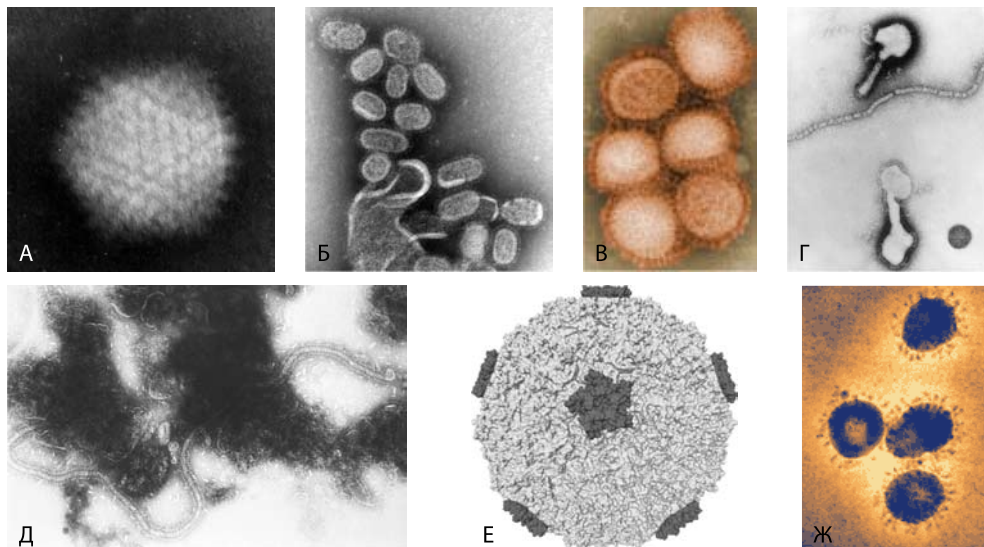


Рис. 1. Вирусы-возбудители ОРВИ (А-Д, Ж — электронные микрофотографии). А — аденовирус; Б-В — вирус гриппа; Г — вирус парагриппа; Д — респираторно-синцициальный вирус; Е — модель риновируса; Ж — коронавирус. Источник — Wikipedia.

тельствующих о возможной взаимосвязи *Chlamydomphila pneumoniae* с развитием атеросклероза, ишемической болезни сердца и бронхиальной астмы.

Chlamydomphila pneumoniae — патогенные внутриклеточные грамотрицательные бактерии. В своем составе они содержат ДНК и РНК, имеют клеточную стенку. *Chlamydomphila pneumoniae* имеет сложный двухфазный цикл развития, состоящий из чередования элементарных и ретикулярных телец. Микроорганизм обладает тропизмом к клеткам столбчатого цилиндрического эпителия слизистых оболочек человека, в частности, к эпителию бронхов, бронхов, эндотелиальным клеткам сосудов.

Обычно хламидийная инфекция начинается с респираторного синдрома, проявляющегося трахеобронхитом, назофарингитом, ларингитом; протекают с субфебрильной температурой тела, малопродуктивным, мучительным кашлем. Встречается во всех возрастных группах. Диагноз хламидийной пневмонии нередко вызывает затруднение, у 30-40% заболевших устанавливается лишь в конце первой недели болезни, такие случаи

чаще всего проходят под ошибочными клиническими диагнозами бронхита, трахеита и ОРЗ. Объяснить необычайно высокую частоту диагностических ошибок можно тем, что клиника как хламидийной, так и микоплазменной пневмонии отличается от классической пневмонии, часто без четких физикальных и рентгенологических признаков инфильтрации. Поэтому особое место в своевременном назначении антибактериальных препаратов занимает лабораторная диагностика с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Вирус гриппа

Вирус гриппа относится к семейству ортомиксовирусов, содержит одноцепочечную молекулу РНК. На поверхности вируса находятся два типа гликопротеинов — гемагглютинин (названный по способности агглютинировать эритроциты) и фермент нейраминидаза. Гемагглютинин обеспечивает способность вируса присоединяться к клетке. Нейраминидаза отвечает, во-первых, за способность вирусной частицы проникать в клетку-хозяина, а во-вторых, за способность

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ОРЗ

Наша лаборатория предлагает быструю и точную диагностику возбудителей ОРЗ, основанную на полимеразной цепной реакции (ПЦР). Короткие сроки получения результата делают этот метод актуальным при ОРЗ и дают возможность врачу правильно выбрать индивидуальную тактику лечения пациента.

Сегодня мы можем предложить исследование методом ПЦР на целый ряд распространённых возбудителей ОРЗ и респираторных инфекций: бактериальных и грибковых — *Chlamydomydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bordetella pertussis* (возбудитель коклюша), *Aspergillus fumigatus*, *Cryptococcus neoformans*; вирусных — вирус гриппа типов А и В, идентификация субтипов H1N1 и H3N2 вируса гриппа типа А, вирус парагриппа типов 1, 2, 3, 4, респираторно-синцитиальный вирус, аденовирус.

Кроме того, мы предлагаем комплекс ПЦР исследований, предназначенный для дифференциальной диагностики острых респираторных заболеваний, позволяющий выявить вирус гриппа типов А и В, *Chlamydomydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, респираторно-синцитиальный вирус, бокавирус, аденовирусы групп В, С, Е, метапневмовирус, вирус парагриппа типов 1, 2, 3, 4, коронавирусы, риновирусы.

Материал для исследования

- РСВ, метапневмовирус, вирус парагриппа, коронавирус, риновирус, аденовирус, бокавирус — мазки из полости носа и ротоглотки, мокрота (либо аспираты из трахеи), бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ), промывные воды бронхов, секционный материал.
- *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydomydia pneumoniae* — мокрота; мазки со слизистой носоглотки и слизистой задней стенки глотки; цельная кровь (с ЭДТА или цитратом натрия).
- Вирусы гриппа и парагриппа, респираторно-синцитиальный вирус — мазки из полости носа и ротоглотки, мокрота, аспираты из носоглотки и трахеи.
- Аденовирус — фекалии; отделяемое из глаз; смывы (мазки) из зева.
- *Legionella pneumophila* — мокрота или аспират из трахеи; мазки со слизистой носоглотки и задней стенки глотки.

Таким образом, универсальным материалом для выявления возбудителей ОРЗ являются мазки со слизистой носа и ротоглотки, реже — мокрота. Взятие материала проводится с помощью набора расходных материалов,

вирусных частиц выходить из клетки после размножения.

Нуклеопротеид постоянен по своей структуре, и определяет тип вируса. Выделяют три типа вируса — А, В и С. Поверхностные антигены (гемагглютинин и нейраминидаза) изменчивы и определяют разные штаммы одного типа вируса.

Вирус гриппа А. Его классификация наиболее запутана, но и наиболее важна, поэтому рассмотрим ее подробнее. В соответствии с классификацией ВОЗ (1980) в состав вируса гриппа А входит 16 типов гемагглютинина и 9 типов нейраминидазы. Принято считать что в патогенных для человека видах встречается только три типа гемагглютинина — H1, H2, H3. Типы H4 и H5 и т.д. характерны для гриппа животных*. А из всех типов нейраминидазы в патогенных человека видах встречается только два типа — N1 и N2. В зависимости от сочетаний этих антигенов выделяют различные штаммы вируса гриппа А — H1N1, H1N2, H3N2 и т.п. Так, штамм, получивший название «свиного гриппа», относится к варианту H1N1.

Вирус гриппа А обычно вызывает тяжелые и среднетяжелые формы заболевания. Именно вирусы гриппа А вызывают пандемии и тяжелые эпидемии гриппа.

Вирус гриппа В, как и вирус гриппа А, способен изменять свою антигенную структуру, однако эти процессы менее выражены. Затрагивают такие изменения только гемагглютинин; нейраминидаза у вирусов гриппа В одного типа и не меняется. Вирусы типа В не вызывают пандемии и обычно являются причиной локальных вспышек и эпидемий, иногда охватывающих одну или несколько стран. Вспышки гриппа типа В могут совпадать со вспышками гриппа типа А или предшествовать им. Вирусы гриппа В циркулируют только в человеческой популяции (чаще вызывая заболевание у детей).

Вирус гриппа С недостаточно изучен. Известно, что в отличие от вирусов А и В,

* Например, нашумевший штамм вируса т. н. птичьего гриппа относится к типу H5N1.

он содержит только 7 фрагментов нуклеиновой кислоты и один поверхностный антиген. Инфицирует только человека. Симптомы болезни обычно очень легкие, либо не проявляются вообще. Он не вызывает эпидемий и не приводит к серьезным последствиям.

Все вирусы гриппа наиболее устойчивы при низких температурах — они могут сохраняться при температуре 4°С в течение 2-3 недель; прогревание при температуре 50-60°С вызывает инактивацию вируса в течение нескольких минут, дезинфицирующие растворы — мгновенную гибель вируса.

Грипп передается воздушно-капельным путем. Резервуаром вируса, как правило, является больной человек. Вирус со слизистых дыхательных путей при дыхании, чихании, кашле, разговоре выделяется в огромной концентрации и может находиться во взвешенном состоянии несколько минут. Существенную роль вносит бытовой путь передачи. Больной человек становится заразным в конце инкубационного периода, и заразен весь лихорадочный период с максимумом через 1-2 дня после начала заболевания. После 5-7 дня болезни концентрация вируса в выдыхаемом воздухе резко снижается, и больной становится практически неопасным для окружающих. Это надо учитывать при взятии материала для диагностических исследований.

Ведущим в клинике гриппа являются явления общей интоксикации, высокий фебрилитет и выраженные катаральные проявления. Очень часто, по сравнению с другими возбудителями ОРЗ, вирус гриппа приводит к различным осложнениям — от пневмоний до дебюта сахарного диабета.

Ранняя лабораторная диагностика гриппа стала остро необходима в связи с появлением в практике препаратов осельтамивира (тамифлю), специфически блокирующих нейраминидазу вируса. Таким образом стала возможной этиотропная терапия гриппозной инфекции. Из-за высокой стоимости препаратов для

скомплектованного нашей лабораторией. Он состоит из трех компонентов:

1. Длинный стандартный велюр-тампон стерильный в индивидуальной упаковке для взятия материала с задней стенки глотки.
2. Назофарингеальный велюр-тампон с ограничителем (существуют тампоны разной длины, взрослые и детские).
3. Универсальная транспортная среда (УТС).

Техника взятия материала

Мазок из носа и задней стенки глотки

Сначала берут мазок из носа, вводя зонд поочередно в каждый носовой ход до ограничителя, поворачивая его несколько раз вокруг своей оси, касаясь стенок носовых ходов. Рекомендуется оставлять тампон в каждой ноздре на 5-7 секунд, чтобы абсорбировать секреты. Зонд вносят в УТС и обламывают по линии отлома. Зонд остается в УТС. Если линии отлома нет, зонд тщательно отмывают в УТС. Затем берут длинный велюр-тампон. Стерильным шпатель прижимают язык и, не касаясь слизистой полости рта, собирают материал поочередно с правой, левой миндалины и задней стенки глотки. Помещают тампон в УТС и отламывают. Тампон остается в УТС.

Взятие материала должно производиться в течение первых суток (максимально на третий день) с момента появления первых симптомов заболевания. После третьего дня болезни материал на исследование брать не рекомендуется ввиду исчезновения возбудителя из клеток эпителия слизистых оболочек.

(По материалам МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортировки биоматериалов в микробиологические лаборатории»)

Назальный смыв

Назальный смыв используют для определения наличия не только бактериальной, но и преимущественно вирусной инфекции.

Предупреждают пациента, чтобы он не глотал при проведении процедуры. Помещают голову пациента в положение вверх-назад под углом приблизительно 70°, вводят в каждую ноздрю по 5 мл стерильного физиологического раствора, пациент должен находиться в таком положении 3-5 с. Для сбора материала опускают голову пациента вперед, чтобы жидкость вылилась из ноздрей в стерильный одноразовый контейнер или аспирируют жидкость введением резинового дренажа в каждую ноздрю. Помещают равный объем смыва в емкость с транспортной средой для вирусов или доставляют эту порцию в стерильном одноразовом контейнере.

решения об их применении необходимы лабораторные данные о наличии вируса гриппа.

Бокавирус

Бокавирус человека (human Bocavirus, hBoV) — был открыт относительно недавно (Т. Allander, 2005). Является представителем семейства парвовирусов (Parvoviridae). Мелкий ДНК-содержащий вирус, практически не имеющий оболочки. Выявляется в основном у детей с острыми респираторными заболеваниями. Проявляется типичными общими симптомами: кашель, ринорея и лихорадка. Поражает и верхние, и нижние дыхательные пути. До 20% hBoV-инфицированных пациентов отмечают приступообразный кашель, напоминающий коклюш. Частое тяжелое поражение нижних дыхательных путей делает диагностику этого типа ОРВИ в детском возрасте очень значимой. Кроме того, бокавирусная инфекция достоверно чаще приводит к развитию обструктивного ларинготрахеита.

Подтверждено широкое распространение бокавируса на территории России (Е. Ю. Швец, Е. Л. Евсеева, А. В. Горелов, и др., 2008). В целом, бокавирусная инфекция составляет от 6 до 12% всех случаев ОРВИ у детей. Пик циркуляции вируса в России приходится на осень. Интересным является тот факт, что, по данным разных исследователей, мальчики болеют бокавирусной инфекцией в 3 раза чаще девочек. Возраст болеющих детей — от периода новорожденности до 8 лет. После достижения этого возраста большинство детей переболевают бокавирусной инфекцией и имеют иммунитет — содержащиеся в крови антитела надежно защищают от повторных инфекций.

До 45% случаев бокавирусной ОРВИ являются сочетанными, в основном с респираторно-синцитиальным вирусом, риновирусами и аденовирусами.

Специфической терапии и вакцинопрофилактики не разработано.

Респираторно-синцитиальный вирус (РСВ)

Вирус, вызывающий респираторно-синцитиальную инфекцию, впервые выделен в 1956 г. Свое название он получил в связи со способностью вызывать в культурах тканей образование синцития — особой структуры, получающейся в результате слияния клеток. РСВ содержит РНК, относится к семейству парамиксовирусов. Репликация его в организме человека ограничивается только респираторными эпителиальными клетками.

Заболевания, вызываемые РСВ, имеют возрастные ограничения. РСВ является наиболее частой причиной респираторных заболеваний на первом году жизни ребенка, особенно при острых поражениях нижних дыхательных путей. Старшие дети и взрослые обычно легко переносят эту инфекцию, но после 65 лет риск тяжелого течения с летальным исходом возрастает.

РСВ инфицирует почти каждого ребенка в возрасте до 4 лет. Заболевания РСВ-инфекцией часто имеют вид локальных вспышек в учреждениях для детей раннего возраста, и охватывают практически всех восприимчивых детей. В течение первого года жизни инфекция обычно протекает в легкой форме. Возможны повторные заболевания, которые обычно протекают легче. Характерны весенние пики заболеваемости РСВ.

Клинически заболевание характеризуется признаками поражения верхних и нижних отделов (бронхит, бронхолит) дыхательных путей при небольшой общей интоксикации. Температура тела даже при выраженных катаральных явлениях субфебрильная или нормальная, подъемы ее выше 38°C наблюдаются редко. Начало болезни чаще постепенное, с первого дня появляются заложенность носа, затем слизистое отделяемое, иногда упорный насморк. Постоянно наблюдаются чихание, сухой и короткий кашель, который в последующие дни становится приступообразным (коклюшеподобным).

С большим постоянством в процесс вовлекаются нижние дыхательные пути: наблюдается картина разлитого бронхита или бронхиолита, которые клинически проявляются в одышке и «свистящем» дыхании.

На 2-3 день заболевания появляются симптомы дыхательной недостаточности, одышка, цианоз носогубного треугольника, затрудняется вдох с втяжением межреберных мышц. Возникает так называемый астмоидный синдром. При выслушивании легких выявляются обильные, разлитые влажные хрипы, перкуторный легочный звук с коробочным опенком (эмфизема). Пневмония наблюдается в 25 % случаев. Возможно увеличение печени и селезенки. Характерно быстрое обратное развитие этих явлений: через 2-8 дней все симптомы исчезают.

В отдельных случаях вследствие наложения вторичной бактериальной флоры могут развиться тяжелые формы пневмонии, отиты, которые являются причиной летального исхода (смешанная форма бактериально-вирусной инфекции).

Метапневмовирус

Метапневмовирус был открыт голландскими учеными в 2001 году. РНК-содержащий вирус, относится к семейству парамиксовирусов, близок к респираторно-синцитиальному вирусу и вызывает сходные по клинике заболевания. В умеренных климатических широтах метапневмовирус циркулирует преимущественно в конце зимы и ранней весной, пик его активности часто совпадает или следует за пиком активности РСВ.

Клинически метапневмовирусная инфекция течет легче других ОРВИ и дает минимум осложнений. Заболевание характерно только для детского возраста, поскольку к 8 годам большинство людей имеет достаточный для защиты титр антител.

По данным разных авторов, метапневмовирус обнаруживается в назофарингеальных смывах у детей, страдаю-

щих острыми заболеваниями верхних и нижних дыхательных путей, в среднем в 11-12 % (с колебаниями от 22 до 33,3%). Мальчики болеют почти в 2 раза чаще девочек (1,8:1).

Наиболее частыми проявлениями метапневмовирусной инфекции являются ринорея, кашель, гипертермия, бронхит, бронхиолит. Как правило, клиническим диагнозом при метапневмовирусной инфекции является острый бронхит.

Ввиду легкого течения и незначительного числа осложнений выявление метапневмовируса можно считать прогностически благоприятным. Своевременная идентификация метапневмовирусной инфекции позволит избежать необоснованного применения антибиотиков.

Вирус парагриппа

Парагриппозная инфекция составляет 10-20 % от всех респираторных вирусных инфекций у детей. Вирусы парагриппа впервые выделены в 1956 г. Это РНК-содержащий вирус, относящийся к семейству парамиксовирусов. Различают 5 самостоятельных типов парагриппозных вирусов — 1, 2, 3, 4, 5, при этом типы 4 и 5 для человека непатогенны. Основным патогеном человека является 3 тип вируса парагриппа. При заболевании парагриппом в организме вырабатываются антитела только против того серотипа вируса, который вызвал данное заболевание, поэтому повторные инфекции для парагриппа типичны.

Парагриппозная инфекция охватывает значительную часть детей. Восприимчивость особенно велика у детей раннего возраста. Дети старшего возраста и взрослые заболевают реже, у них болезнь протекает преимущественно в легкой форме. Тем не менее, 20 % ОРВИ взрослых вызвано вирусом парагриппа.

Клинически, после 2-7 дней инкубационного периода постепенно начина-

ется небольшое катаральное воспаление слизистой оболочки верхних дыхательных путей. Температура тела чаще бывает субфебрильной или нормальной, общее состояние остается ненарушенным. Симптомы выраженной интоксикации наблюдаются редко.

В отличие от гриппа, изменения в зеве незначительные — умеренная гиперемия, ограничивающаяся преимущественно небо-язычными дужками (передними небными дужками). Характерно почти постоянное поражение гортани, которое клинически может проявляться сухим, упорным, грубым кашлем, измененным тембром голоса. Иногда может развиться вирусный круп, который необходимо дифференцировать от дифтерийного крупа.

Наиболее частым осложнением парагриппа не только у детей, но и у взрослых является пневмония, которая чаще развивается на 4-6 день болезни, сопровождается подъемом температуры тела до 38-39°C, ухудшением общего состояния и симптомами дыхательной недостаточности. Пневмония обычно бывает мелкоочаговой и может принимать затяжное течение (2-3 нед). Более тяжелая пневмония наблюдается у детей грудного и раннего возраста.

Риновирусы

Риновирус (лат. Rhinovirus, от др. — греч. ринос — нос) — род мелких РНК-содержащих вирусов семейства пикорнавирусов. Не имеет наружной оболочки. Существует много различных серологических типов риновирусов (это затрудняет борьбу со вспышками ОРЗ). Образование дочерних популяций риновирусов происходит в цитоплазме; высвобождение вирусов сопровождается лизисом клетки.

В настоящее время известно более 110 серотипов риновирусов, объединённых в группы Н и М. После перенесенного заболевания формируется нестойкий иммунитет только к тому серотипу, кото-

рый вызвал текущую инфекцию, поэтому инфицироваться риновирусами можно несколько раз в год на протяжении всей жизни.

Во внешней среде вирионы нестойки, инактивируются при 50°C в течение 10 минут, при высушивании на воздухе большая часть теряет инфекционность через несколько минут.

Риновирусы вызывают у человека и животных воспалительные заболевания верхних дыхательных путей размножаясь в клетках слизистой оболочки носоглотки. Пик заболеваемости — осень и зима. Болеют с одинаковой частотой взрослые и дети. Длительность инкубационного периода при риновирусных инфекциях составляет 2-5 суток. Резервуар и источник инфекции — человек (больной или носитель). Больной начинает выделять вирус за сутки до проявления клинических признаков болезни, заразен для окружающих на протяжении последующих 5-9 суток. Механизм передачи — аэрозольный, возможно заражение контактно-бытовым путём через предметы обихода и руки, контаминированные незадолго до этого выделениями больного из горла и носа.

Болезнь распространена повсеместно, в умеренном климате её регистрируют в течение всего года с подъёмом заболеваемости весной и осенью. Риновирусы вызывают до 25-40% всех ОРВИ.

У детей риновирусные инфекции сопровождаются лихорадкой, у взрослых повышение температуры наблюдаются редко. Продолжительность риновирусных инфекций обычно составляет 7 суток. При осмотре больных отмечают обильную ринорею, гиперемию и небольшой отёк слизистой оболочки ротоглотки, мелкую зернистость мягкого нёба. Иногда наблюдают слезотечение, гиперемию конъюнктив, инъекцию сосудов склер.

Осложнения риновирусных инфекций встречается редко, в основном у ослабленных детей.

Аденовирусы

Аденовирусы — семейство ДНК-содержащих вирусов. Впервые были выделены в 1953 г. из ткани аденоидов и миндалин, удаленных при хирургических операциях у практически здоровых людей. Они получили название по месту локализации и выделения. В настоящее время известно 32 серотипа аденовирусов, имеющих значение для человека. Различают 2 группы аденовирусов:

1. Вирусы типа 1, 2, 5 и 6, заселяющие миндалины и аденоиды; они не вызывают заболеваний с выраженными клиническими проявлениями, длительно сохраняются в местах обитания и могут участвовать в формировании хронических тонзиллитов. При наличии предрасполагающих факторов они могут послужить причиной острых респираторных заболеваний.
2. Вирусы типа 3, 7, 7а, 4, 14, 28 имеют наибольшее значение в патологии человека и чаще других выделяются от больных аденовирусной инфекцией. Многие серологические типы аденовирусов недостаточно изуче-

ны, и их роль в патологии человека остается еще неясной.

Аденовирусные инфекции широко распространены в различных странах Европы, Северной и Южной Америки, наблюдаются в любое время года, с небольшими подъемами заболеваемости в холодный период; возможны ограниченные вспышки заболеваний в детских коллективах. В России аденовирусная инфекция составляет у взрослых 3-5 %, а у детей — 12-21 % от числа всех острых респираторных заболеваний.

Источником инфекции являются больные люди и носители. Заражение происходит воздушно-капельным и бытовым путем. В отдельных случаях возбудители могут выделяться через пищеварительный аппарат с испражнениями. Наибольшая восприимчивость к этим инфекциям наблюдается у детей в возрасте от 6 мес до 3 лет. После перенесенной инфекции в организме вырабатываются специфические антитела, однако иммунитет сохраняется только к тому типу аденовирусов, который вызвал заболевание (типоспецифический иммунитет). В связи с этим дети нередко перено-



Порядок взятия биоматериала для ПЦР-исследования на ОРЗ

1. Откройте стерильную упаковку и извлеките комплект пробирка + 2 аппликатора.
2. Извлеките носовой (меньшего размера) аппликатор из его собственной упаковки и произведите взятие материала из носа, как описано на стр. 11.
3. Откройте крышку пробирки, вставьте носовой аппликатор и переломите его в точке, отмеченной цветом. Выкиньте ненужную часть аппликатора.
4. Извлеките второй (большого размера) аппликатор из упаковки, и произведите взятие материала с задней стенки глотки, как описано на стр. 11.
5. Вставьте аппликатор в ту же пробирку, переломите его в точке, отмеченной цветом. Выкиньте ненужную часть аппликатора.
6. Закрутите крышку пробирки, при этом оба аппликатора должны находиться внутри.
7. Промаркируйте пробирку.

сят аденовирусное заболевание повторно за короткий отрезок времени.

Аденовирусы проникают в организм человека через дыхательные пути, конъюнктиву глаз, ЖКТ и вызывают поражение клеток на месте входных ворот. Размножение и накопление вируса происходят не только в эпителии слизистой оболочки дыхательных путей, но и в регионарных лимфатических узлах, а возможно, в крови (виремия).

Почти постоянно развивается катаральное воспаление слизистых оболочек носа, глотки, миндалин, а также конъюнктивы (выраженный экссудативный процесс, иногда с образованием пленчатых фиброзных наложений). Пораженные эпителиальные клетки подвергаются разрушению, некрозу и слущиванию. Регионарные лимфатические узлы становятся сочными, увеличенными (микрополиаденит). Особенностью аденовирусной инфекции является склонность к распространению процесса на новые области. Этим объясняется затяжное течение заболевания.

Инкубационный период аденовирусной инфекции — 4-7 дней, иногда он может удлиниться до 12 дней. Заболевание может начинаться как остро, так и постепенно. Температура тела обычно повышается до 38-39°C, но может быть и субфебрильной. Длительность лихорадки — от 4 до 14 дней в зависимости от клинических форм болезни. Явления интоксикации в начале заболевания выражены умеренно, но к 3-6 дню болезни могут нарастать. Отмечаются головная боль, общая слабость, отсутствие аппетита.

Различают следующие основные клинические формы аденовирусной инфекции: острое респираторное заболевание; фарингоконъюнктивальную лихорадку; пленчатый конъюнктивит; аденовирусную пневмонию. Постоянными симптомами аденовирусной инфекции являются ринит с обязательным серозным или серозно-слизистым отделяемым, фарингит, тонзиллит, конъюн-

ктивит и увеличение шейных лимфатических узлов (микрополиаденит). При осмотре отмечают умеренную гиперемию зева, особенно небо-язычных дужек и задней стенки глотки; слизистая оболочка последней отечна, с четко выраженными увеличенными фолликулами (гранулезный фарингит). Для аденовирусной инфекции характерно частое поражение миндалин (тонзиллит). Обычно миндалины вовлекаются в процесс с первых дней болезни.

Конъюнктивит появляется с первого дня, становится более выраженным на 3-4 день болезни и сохраняется до 8-12 дня. Вначале поражается один глаз, второй глаз может вовлекаться в процесс позже. В связи с этим отек век и гиперемия конъюнктивы выражены неодинаково с обеих сторон.

Пневмония — наиболее частая форма аденовирусной инфекции, она наблюдается преимущественно у детей первого года жизни, часто сочетается с острым респираторным заболеванием или фарингоконъюнктивальной лихорадкой. Клинические симптомы всегда бывают четко выражены.

Кишечная форма аденовирусной инфекции наблюдается преимущественно у детей раннего возраста; в картине болезни преобладают симптомы острого желудочно-кишечного расстройства. Появляется жидкий водянистый или кашицеобразный стул, иногда с примесью слизи, нарушается аппетит, изредка может быть рвота. Кишечная дисфункция вирусного происхождения, как правило, непродолжительна (3-4 дня), протекает на фоне острого респираторного заболевания. Симптомы кишечной интоксикации обычно не наблюдаются.

Тяжелые формы аденовирусной инфекции и осложнения (вторичная ангина, пневмония, плеврит, отит) обусловлены наслоением бактериальной инфекции (смешанная бактериально-вирусная инфекция) или являются обострением хронических сопутствующих заболеваний.

Коронавирусы

Коронавирусы — семейство вирусов, объединяющее РНК-содержащие вирусы средней величины. Для них характерно наличие оболочки с ворсинками, более редкими, чем у вируса гриппа. Ворсинки прикрепляются к вириону посредством узкого стебля и расширяются к дистальному концу, напоминая солнечную корону во время затмения (отсюда название семейства). Коронавирусы размножаются в цитоплазме инфицированных клеток. Коронавирусы объединены в три группы: 1 и 2 группы представлены вирусами, вызывающими заболевания у млекопитающих, 3 группа — у птиц. Коронавирусы, вызывающие заболевание у человека, включены в 1 и 2 группы. Коронавирусы нестойки во внешней среде, разрушаются при температуре 56°C за 10-15 мин.

Коронавирусная инфекция — острое вирусное заболевание, клинически характеризующееся слабо выраженной интоксикацией и поражением верхних отделов респираторного тракта. Выделение коронавирусов человека из фекалий детей с проявлением гастроэнтерита свидетельствует об их энтеропатогенности. Какой-либо специфики в клинической картине этой инфекции нет. Она может быть сходна с болезнями, обусловленными респираторно-синцитиальными, парагриппозными вирусами и риновирусами.

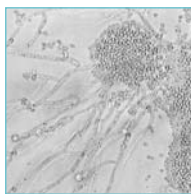
У детей коронавирусная инфекция протекает клинически более выраженно, чем у взрослых. Наряду с насморком, достаточно часто наблюдается воспаление гортани и увеличение шейных лимфатических узлов. Кроме того, почти в 25% случаев отмечается кашель, свидетельствующий о распространении воспалительного процесса в нижние отделы респираторного тракта.

Нас бы особенно и не интересовал этот тип ОРВИ, если бы не т.н. тяжёлый острый респираторный синдром (ТОРС, SARS, «атипичная пневмония») — новое инфекционное заболевание, впервые возникшее в ноябре 2002 года в Южном Китае и распространившееся на территории 29 государств Европы, Азии, Северной и Южной Америки, Африки и Австралии.

* * *

Подводя итоги нашего долгого разговора, отметим, что пришло время врачам переосмыслить свои взгляды на необходимость ранней диагностики ОРЗ и взять на вооружение современные методы их лабораторной диагностики.

Своевременное этиологическое лечение будет обоснованным и направленным, что облегчит течение ОРЗ у ваших пациентов и позволит избежать большей части типичных для них осложнений.



ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ВИДА ГРИБКА ПРИ УРОГЕНИТАЛЬНОМ КАНДИДОЗЕ: когда это необходимо?

Селиванов Е. В.

В предыдущих номерах нашего журнала мы уже обращались к проблеме патологических выделений из влагалища и воспалительных заболеваний женской половой сферы. В числе этиологических факторов таких заболеваний не последнее место занимают дрожжеподобные грибы, и чаще всего речь идет о роде *Candida*.

По частоте обращаемости к врачу урогенитальный кандидоз стоит на втором месте после бактериального вагиноза (Ray A. et al, 1989), а по некоторым данным — даже на первом (Simoes J. A. et al, 1998).

Кандидоз — заболевание слизистых оболочек, кожи и внутренних органов, вызванное дрожжеподобными грибами рода *Candida*. Одним из наиболее часто встречающихся проявлением этой инфекции является урогенитальный кандидоз — поражение грибками мочевого тракта. Несмотря на то, что это заболевание не относят к инфекциям, передаваемым половым путем (т.к. болезнь возникает, как правило, без полового контакта), в ряде случаев урогенитальный кандидоз может развиваться и в результате полового контакта, или быть спровоцирован им. В литературе имеются противоречивые сообщения, касающиеся возможности передачи этой инфекции половым путем. Некоторые авторы полагают, что в 30-40% случаев кандидоза влагалища передача инфекции происходит именно при половых контактах. Кандидоз мочепо-

лой системы у женщин встречается в 10 раз чаще, чем у мужчин.

Сегодня принято считать, что кандидоз является следствием нарушения баланса нормальной биоты во влагалище и является его индикатором. При этом резервуаром грибов в организме может быть и полость рта, и кишечник.

В 80-90% случаев урогенитальный кандидоз вызывается *Candida albicans*. Значительно реже встречаются т.н. неальбикантные виды: *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. glabrata* и др. Частота выявления урогенитальных кандидозов постоянно нарастает. Так, уже до 40% вульвовагинитов имеют грибковую этиологию (в начале 1990-х гг. — только 20%), при этом в последние 10 лет неальбикантные виды, устойчивые к противогрибковым препаратам, стали встречаться в 2 раза чаще.

Вторым по частоте выявления возбудителем после *Candida albicans*, выделяемым при вагинальном кандидозе, является *Candida glabrata*. Частота выделения этого вида составляет около 10-15%. *Candida glabrata* значительно чаще выделяется при вагинальном кандидозе на фоне сахарного диабета. Носительство и заболеваемость инфекцией, вызванной этим видом, ассоциируются также с ВИЧ-инфекцией. Вагинальный кандидоз, вызванный *Candida glabrata*, часто протекает в хронической рецидивирующей форме. Возбудители *Candida glabrata* генетически устойчивы к имидазольным антимикотикам. При лечении ими смешанной инфекции (*Candida albi-*

cans вместе с *Candida glabrata*) происходит селекция *Candida glabrata*.

К довольно редким видам относят *C. krusei* и *C. tropicalis*, частота встречаемости которых не превышает 3%. Именно эти виды приносят врачу наибольшие проблемы.

Как мы уже упоминали, **неальбикантные виды кандид имеют высокую природную устойчивость к триазольным препаратам (флуконазол)**: абсолютное большинство *C. krusei*, 30% всех изолятов *C. glabrata*, выделенных при дисбиозе влагалища, 40% всех изолятов *C. glabrata*, выделенных из образцов мочи.

Таким образом, при выявлении неальбикантных видов кандид назначение флуконазола для монотерапии без предварительного лабораторного определения чувствительности к антибиотикам нецелесообразно.

Рост числа урогенитальных микозов в условиях высокого потребления населением антибиотиков (а антибиотики позволяют кандидам преодолевать конкуренцию нормальной бактериальной микрофлоры) грозит в будущем существенным ростом количества системных кандидозов. Известно, что у пациентов с микозом слизистых риск системных микозов в 32 раза выше. Особенно часто переход в системный микоз наблюдается у ослабленных и пожилых людей, пациентов хирургических и онкологических отделений, больных с гранулоцитопенией. У 25% таких больных кандиды выявляют-

ся в культурах крови. Системные микозы, вызванные дрожжеподобными грибами, дают высокую смертность: до 40% — в случае высеваемости *C. glabrata* из крови, до 51% — в случае смешанных неальбикантных культур *Candida spp.*

Безусловно, определять вид кандид всем подряд смысла не имеет — это довольно дорогостоящая процедура, однако определение вида кандид абсолютно необходимо пациентам с рецидивирующими урогенитальными кандидозами, при подозрении на кандидемию, системный микоз, случаи неэффективного лечения антимикотиками.

В нашей лаборатории проблема дифференциальной диагностики кандид решается двумя путями, в зависимости от того, какой первичный материал был взят врачом:

- Если дифференциальная диагностика кандид (выявляются виды *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*) делается в комплексе с другими ПЦР-исследованиями, то определение вида происходит методом ПЦР в реальном времени.
- Если определить вид дрожжеподобного грибка понадобилось при посеве (просто или посева в среду Vagicult), то используется готовый хромогенный агар фирмы BioRad Кандиселект 4, позволяющий в течение 12-14 часов точно определить вид кандид без дополнительного пересевания материала (рис. 1).



Прямая идентификация

Candida albicans
сферические колонии
фиолетового цвета
с четким контуром



Candida tropicalis
сферические колонии
интенсивно бирюзового
цвета с четким контуром



Candida glabrata
плоские колонии
бирюзового цвета
с четким контуром



Candida krusei
сухие колонии
бирюзового цвета
с изрытым контуром

Предварительная идентификация

резистентные к флуконазолу виды

Другие виды: белые или серые колонии различной формы

Рис. 1. Идентификация колоний различных грибов рода *Candida* на хромогенном агаре BioRad Кандиселект-4.



ПИЩЕВАЯ НЕПЕРЕНОСИМОСТЬ ИЛИ ПИЩЕВАЯ АЛЛЕРГИЯ: ЧТО И КОГДА НУЖНО ОПРЕДЕЛЯТЬ?

Селиванов Е. В.

Необходимость в написании данной статьи возникла у нас в тот момент, когда на стол заместителя директора по медицинским вопросам легло несколько жалоб от различных людей на то, что исследования, выполненные на пищевую непереносимость 90 пищевых продуктов, не совпали с исследованиями на аллергенспецифический IgE к пищевым продуктам, выполненным в других клиниках.

Непереносимость пищевых продуктов — очень обширное понятие. Непереносимость пытаются объяснить все заболевания и симптомы, связанные с той или иной реакцией организма на пищу, а между тем, эти реакции очень разные по происхождению и механизмам развития.

Непереносимость продуктов (в широком смысле) может быть обусловлена:

- наличием аллергенспецифических иммуноглобулинов E;
- наличием аллергенспецифических иммуноглобулинов G₄;
- наличием специфических иммуноглобулинов G всех субклассов;
- глютеновой энтеропатией (целиакией), которая ассоциируется с аутоантителами к глиадину и трансовой транслугтаминазе;
- псевдоаллергическими реакциями на химические вещества (красители, консерванты, усилители вкуса), содержащиеся в продуктах питания;
- приемом пищи с высоким содержанием гистамина;

— поступлением пищевых токсинов (например, при длительном или неправильном хранении рыбы в ней образуется гистаминоподобный токсин — скомбротоксин, вызывающий крапивницу, диарею, рвоту и т.п.).

Во всех этих случаях клиническая картина, лабораторные и диагностические подходы будут совершенно разными.

Истинная пищевая аллергия (ИПА) встречается примерно у 2% взрослого и 10% детского населения. Она обусловлена выработкой аллергенспецифических иммуноглобулинов E или IgG₄. Это аллергия немедленного типа, т. е. **реакция организма наступает в считанные минуты, реже часы, после приема пищи**. Клинически она может проявляться по-разному: кожным зудом, высыпаниями на коже по типу крапивницы, отеками век и губ. Ее довольно часто можно выявить анамнестически, поскольку между приемом продукта и реакцией проходит небольшое время. Следует помнить что истинные аллергические реакции — дозозависимые, и реакция развивается даже на минимальное количество аллергена.

Другое дело, если при тех же клинических симптомах из анамнеза выясняется, что реакция на продукт зависит от употребленного объема. В таких ситуациях правомерно заподозрить псевдоаллергическую реакцию. Конечный этап такой реакции похож на аллергическую, т.е. в ответ на раздражитель выделяется гистамин и другие вещества, обеспе-

чивающие клиническую картину, но вот механизм дегрануляции в данном случае чисто химический, и выработки аллергенспецифических иммуноглобулинов E не происходит. В ряде случаев речь может идти о высоком поступлении гистамина из пищи (например, сыры с плесенью, квашенная капуста, пивные дрожжи и красная рыба). Псевдоаллергические реакции составляют 65-70 % всех случаев обращения пациентов к врачу с жалобами на пищевую аллергию (ПА). Причиной большинства псевдоаллергических реакций считают большое количество химических добавок к пищевым продуктам (табл. 1).

симптомов или заболеваний (табл. 2).

Своевременное лабораторное выявление антител IgG к пищевым продуктам позволяет назначить диету с исключением соответствующих продуктов. **В 70 % случаев при соблюдении такой диеты наблюдается стойкое улучшение состояния.** Многие пациенты, длительно страдающие необъяснимой патологией с постоянным болевым синдромом (головные боли, артрит и др.), при определении источника пищевой непереносимости замедленного типа и исключении его из рациона на определенное время в сочетании с 4-дневной ротационной диетой могут получить значительный лечебный

Таблица 1

Наиболее часто используемые пищевые добавки

| Добавка | Искусственные | Естественные |
|---------------|--|--|
| Консерванты | Нитриты (E249-252) Бензоаты (E211-219) Лимонная кислота синтетическая Антибиотики | Овес, ячмень, хитины Лимонная кислота натуральная Натуральные салицилаты |
| Красители | Тартразин (E102) Красная кошениль (E124) Бриллиантовая чернь (E151) | Куркума, шафран, амарант и др |
| Загустители | Крахмал модифицированный | Желатин, инулин, гуммиарабик, гуаровая камедь, камедь рожкового дерева |
| Ароматизаторы | Глутамат натрия | Корица, ваниль, мята, кардамон, орехи, имбирь, лавровый лист, перец |

Гораздо хуже обстоят дела с диагностикой т.н. «замедленных» форм непереносимости, обусловленных наличием антител к компонентам пищи класса IgG.

Такая IgG-зависимая реакция часто возникает, но редко диагностируется. Кожные тесты при таком реагировании отрицательны, анамнестически очень трудно связать клинические проявления с приемом конкретного продукта. **Симптомы пищевой аллергии замедленного типа (ПАЗТ) развиваются как минимум через 2 часа, но чаще — спустя несколько дней после приема определенных продуктов.** Кроме того, проявления реакции непереносимости данного типа могут быть очень разнообразными, провоцируя развитие десятков различных

эффект, а в ряде случаев — и полностью избавиться от своего недуга.

Коровье молоко и молочные продукты являются наиболее употребляемыми пищевыми продуктами, и, одновременно, самым распространенным пищевым аллергеном, вызывающим как истинную аллергию, так и ПАЗТ на белки молочной сыворотки и казеин. Предполагается существование связи между ПАЗТ (антитела к протеинам коровьего молока) и развитием детского аутизма, атопического дерматита, анемии и хронического бронхита. Также отмечена положительная корреляция между аллергической реакцией (IgG-антитела к β-лактоглобулину) и детским гастроэзофагеальным рефлюксом и «идиопатическим» запором.

Заболевания, в развитии которых IgG-опосредованная пищевая непереносимость имеет большое значение

| У взрослых | | У детей |
|---------------------------------|--|--|
| Гастриты | Муковисцидоз | Аутизм и задержка развития |
| Мальабсорбция | Инсулин-зависимый диабет | Артриты |
| Целиакия | Железодефицитная анемия | Астма |
| Синдром раздражённого кишечника | Воспалительные заболевания кишечника (болезнь Крона, неспецифический язвенный колит) | Заболевания среднего уха (острое воспаление среднего уха, серозный отит) |
| Депрессия | Избыточный или недостаточный вес | Запор |
| Энурез | Отёки, задержка жидкости | Муковисцидоз |
| Бронхиты | Бронхиальная астма | Диарея |
| Головные боли | Повышенная возбудимость | Необъяснимый дистресс у младенцев |
| Экзема | Несезонный аллергический ринит | Синдром гиперактивности и дефицита внимания |
| Артриты | Анкилозирующий спондилит | Гастриты |
| Эпилептиформные припадки | Синдром хронической усталости | Целиакия |
| Фибромиалгия | Нарушения сна (бессонница, апноэ, храп) | Нарушения сна и головные боли |

IgG-антитела к некоторым видам молочных продуктов индуцируют артрит. **Ассоциация высоких концентраций специфических IgG-антител с определёнными клиническими симптомами установлена не только для молока, но и для пшеницы и креветок** (например, отмечалось развитие воспалительного синовиита вместе с ростом специфических IgG-антител к антигенам креветок). Каждый третий ребенок, имеющий ПАЗТ на коровье молоко, имеет непереносимость соевого молока. Кукуруза, яйца, гречневая крупа, рожь, ячмень и овёс могут вызвать множество различных симптомов, включая головную боль, отит, гастроинтестинальные симптомы, часто повторяющиеся инфекции, одышку, атопический дерматит, стенокардию и крапивницу. Десять наиболее часто встречаемых ПАЗТ-аллергенов включают: коровье молоко, глютен злаковых растений, белок и желток яиц, сою, кукурузу, арахис, ракообразных, цитрусовые, пекарские и пивные дрожжи. Анализ на ПАЗТ может быть полезен пациентам с хроническими болезнями,

плохо поддающимися лечению в течение многих лет. Элиминационная диета (ЭД) в данной ситуации может облегчить состояние. Например, клиническая картина улучшалась у 90 % детей, страдающих муковисцидозом с диареей, на фоне ЭД, составленной по результатам анализа (специфические IgG- и IgA-антитела к антигенам коровьего молока и к белкам яйца).*

У младенцев, которые плохо развиваются, или состояние которых ухудшается после кормления, может развиваться повышенная чувствительность к определённым продуктам питания. Иногда это связано с рационом кормящей матери. В этом случае на ПАЗТ должны быть обследованы и мать, и ребёнок. Такое обследование полезно также для новорожденных, у которых матери имеют аллергическое заболевание: у них повышен риск возникновения аллергии. Если результаты положительны хотя бы у одного из них (выявлены специфические IgE

* Абзац написан на основе материала, предоставленного компанией «Биохиммак»

или IgG), то кормящей матери назначается ЭД в качестве профилактики развития atopического дерматита и других аллергических состояний у ребёнка.

Признаки ПАЭТ у взрослых обычно развиваются медленно. Поэтому пациенты, у которых только начинает развиваться непереносимость, должны знать продукты, которых необходимо избегать, чтобы уменьшать возможность осложнений ПАЭТ в будущем. Информация, полученная в тесте на ПАЭТ, и последующая хорошо сбалансированная полноценная диета помогают достигать у таких пациентов лучшего качества жизни.

Для лиц с избыточным весом ЭД приводит к потере веса. Многие пациенты сообщают о коррекции веса и о повышении жизненного тонуса в целом в результате применения диеты, основанной на диагностике ПАЭТ.

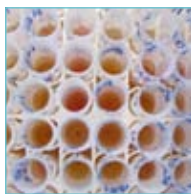
Таким образом, пищевая непереносимость в широком смысле этого термина, подразумевает под собой несколько принципиально разных механизмов развития, диагностики и лечения. Следует тщательно собирать анамнез и вдумчиво относиться к назначению тех или иных лабораторных исследований. При дозозависимой быстрой реакции на продукты необходимо максимально

сосредоточиться на поиске аллергенспецифического иммуноглобулина Е к продуктам питания, при дозозависимой клинике аллергии следует в первую очередь исключить псевдоаллергию на пищевые добавки. Выявлять замедленную IgG-опосредованную аллергию на пищевые продукты имеет смысл при следующих проявлениях:

- избыточный вес и ожирение;
- различные кожные высыпания;
- «хроническая усталость»;
- боли в мышцах и суставах;
- снижение тонуса и работоспособности;
- хронический насморк;
- частые простудные заболевания;
- отеки различной этиологии;
- заболевания желудочно-кишечного тракта (запоры, поносы, изжога, отрыжка, гастрит, метеоризм, заболевания желчного пузыря и т.д.);
- сердечно-сосудистые заболевания, тромбоз, атеросклероз (профилактика и облегчение симптомов);
- акне, сухость кожи, раздражения, потеря тонуса, экзема, диатез, псориаз и т.д.;
- дисбактериоз кишечника;
- бронхиальная астма;
- хронические головные боли.

ПРАВИЛА ПОДГОТОВКИ К ИССЛЕДОВАНИЮ ПИЩЕВОЙ НЕПЕРЕНOSИМОСТИ:

1. Минимум за двое суток отказаться от употребления алкоголя, биологически активных добавок, витаминов, медикаментов (кроме жизненно необходимых, необходимо согласовать с лечащим врачом).
2. Кровь сдается на голодный желудок. Утром нельзя пить кофе, чай, соки. Необходимо выпить стакан теплой, негазированной бутилированной воды.
3. Противопоказаниями для сдачи являются:
 - менструация (сдать можно за 3 дня до и через 5 дней после менструации);
 - во время приема антибиотиков (неделя после отмены);
 - ОРВИ, грипп;
 - лихорадка;
 - ВИЧ-инфекция;
 - наличие трансплантированных органов (почка, печень, сердце);
 - хронический алкоголизм;
 - наркомания.



РОЛЬ И МЕСТО ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАКРОПРОЛАКТИНА ПРИ ГИПЕРПРОЛАКТИНЕМИИ

Ивашкина С. Г., Селиванов Е. В.

Исследование пролактина в крови уже давно стало привычным в клинической практике большинства гинекологов. Несмотря на длительное изучение, пролактин еще остается во многом загадочным гормоном. Помимо передней доли гипофиза (долго считалось, что его продукция происходит только там), пролактин секретируется клетками децидуальной оболочки и эндометрием. Пролактин играет исключительно важную роль во многих процессах, происходящих в организме, и, в частности, в обеспечении нормальной работы репродуктивной системы — участвует в поддержании лактации, активности желтого тела, влияет на выработку прогестерона и рост некоторых тканей в организме человека. Основным регулятором (ингибитором) синтеза и секреции пролактина является дофамин. Поэтому многие проблемы, связанные с повышением уровня пролактина, в первую очередь следует связывать с нарушениями дофаминэргических структур нервной системы. На втором месте среди причин гиперпролактинемии — гормонопродуцирующие опухоли гипофиза: микро- и макроаденомы.

Пролактин выполняет важные функции и в мужском организме. Клиническое значение имеет как повышение, так и снижение концентрации пролактина. Наиболее часто рассматриваются ситуации, когда уровень пролактина повышен. Повышение концентрации гормона может иметь краткосрочный характер, вызванный физиологическими причинами

или стрессом, а может быть длительным. Критерием хронической гиперпролактинемии является выявление высоких концентраций пролактина не менее чем в трех измерениях, проведенных с интервалом в несколько недель.

Повышение концентрации пролактина не всегда является показателем истинного увеличения уровня биологически активного гормона. Связано это с тем, что фракция пролактина крови неоднородна: 60-90 % составляет биологически активный низкомолекулярный пролактин с молекулярной массой 23 кД (нмПЛ), 5-25 % может приходиться на высокомолекулярный биологически неактивный пролактин (вмПЛ) с молекулярной массой 50-60 кД, и 9-21 % может составлять малоактивная форма макропролактина (мПЛ) с высокой молекулярной массой — 150-170 кД.

В клинической практике нередки ситуации, когда соотношение этих фракций меняется, и доля макропролактина увеличивается — например, с 20 до 60 %.

При этом наблюдается увеличение концентрации пролактина в крови, а симптомы, характерные для увеличения его концентрации, отсутствуют, т. к. макропролактин гормонально неактивен и не вызывает никаких биологических эффектов.

Такое состояние получило название **гипермакропролактинемии**.

Гипермакропролактинемия составляет в среднем около 20 % всех случаев повышения пролактина (от 15 до 30 %,

по данным различных авторов). Интересно, что концентрация пролактина у пациентов с гипермакропролактинемией чаще всего лежит в пределах 700-2000 мЕД/л, и крайне редко превышает 4500 мЕД/л.

Этиология и патогенез гипермакропролактинемии до сих пор до конца не изучены, несмотря на обилие научных работ, посвященных этому вопросу. Принято считать, что макропролактин — это пролактин, связанный в иммунные комплексы с аутоантителами. Макропролактин выводится из крови медленнее, чем мономерный пролактин, и потому может накапливаться в ней в большом количестве. Имея более высокий молекулярный вес и связанные аутоантителами активные центры гормона, макропролактин не оказывает ауторегуляторного влияния на гипоталамо-гипофизарную систему, поэтому в ответ на его накопление не происходит снижения синтеза и секреции пролактина.

Поскольку при феномене макропролактинемии лечение не требуется, а при истинной гиперпролактинемии необходимо дополнительное обследование и дальнейшее лечение, представляется актуальным вопрос лабораторной диагностики гипермакропролактинемии.

В нашей лаборатории внедрен и предлагается широкому кругу врачей тест на определение макропролактина. Тест основан на том, что макропролактин осаждается после обработки проб полиэтиленгликолем (ПЭГ), в то время как низкомолекулярный пролактин остается в сыворотке. Результаты исследования оцениваются следующим образом:

— если после осаждения макропролактина ПЭГ концентрация пролактина в пробе составляет более 60 % от исходной, делают заключение о том, что проба содержит преимущественно низкомолекулярный

пролактин, а гиперпролактинемия является истинной;

- если после осаждения макропролактина ПЭГ концентрация пролактина в пробе составляет 40-60 % от исходной, говорят о невозможности сделать точное заключение о типе пролактина в пробе;
- если после осаждения макропролактина ПЭГ концентрация пролактина в пробе составляет менее 40 %, от исходной, можно с уверенностью утверждать, что гиперпролактинемия обусловлена макропролактином или высокомолекулярным пролактином.

Как и при проведении других лабораторных исследований, при определении макропролактина должен соблюдаться ряд важных условий:

1. У пациента должен быть выявлен повышенный уровень пролактина (более 700 мЕД/л) не менее чем в трех исследованиях.
2. У пациента должны отсутствовать или проявляться минимально клинические симптомы гиперпролактинемии.
3. Пробы крови для выявления макропролактина не должны замораживаться до исследования (в крайнем случае допускается однократное замораживание; повторное замораживание-размораживание недопустимо).

Таким образом, сегодня имеется клинически обоснованная необходимость в исследовании на наличие высокого уровня макропролактина у лиц с повышенными концентрациями пролактина. Такой подход позволит избежать дополнительных расходов на обследование у тех пациентов, кому это не требуется, и с уверенностью назначать фармакотерапию там, где это необходимо.



БЕРЕМ ПРОБЫ ПРАВИЛЬНО: взятие крови на специфические аналиты или в нестандартных условиях

Селиванов Е. В., Шикова Т. Е., Звягинцев Е. Н.

Существует ряд методик, для которых кровь берется либо в особых условиях, либо в специальные пробирки. К нестандартным условиям, в первую очередь, относится взятие крови для отправки в стороннюю, централизованную лабораторию. В современной России лабораторные сети получили широкое распространение, и не редкость случаи, когда кровь транспортируется на дальние расстояния. Централизация лабораторий — это большие возможности, но и дополнительная ответственность процедурных кабинетов в местах взятия крови. Целый ряд аналитов при транспортировке вместе с клетками крови значительно изменяет свою концентрацию. Чтобы анализ получился максимально достоверным, необходимо scrupulously соблюдение правил взятия биоматериала.

Глюкоза крови

Самым ярким примером такого аналита является глюкоза крови. Эритроциты потребляют ее для своего метаболизма, и концентрация глюкозы в пробе крови уменьшается со скоростью примерно 0,1 ммоль в час. За 24 часа транспортировки, если не предпринять никаких мер, концентрация глюкозы в пробе снизится на 2,4 ммоль, а то и больше. Так, если у пациента при взятии было 7,4 ммоль/л глюкозы (патологическое значение), то после суточной транспортировки мы получим 5,0 ммоль/л (результат входит в диапазон нормальных показателей), соответственно, лечащий врач будет введен в заблуждение (рис. 1).

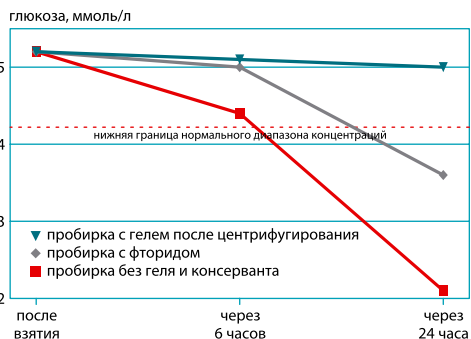


Рис. 1. Динамика изменения концентрации глюкозы в сыворотке крови в зависимости от типа используемой пробирки. Начальная концентрация глюкозы $5,2 \pm 0,4$ ммоль/л (собственные исследования, $n=24$).

Для исключения такой ошибки используется два подхода.

Если с момента взятия до исследования проходит до 6 часов, то можно брать кровь для исследования концентрации глюкозы в пробирки с фторидом натрия (в разных сочетаниях — фторид без антикоагулянта, комбинации фторида с оксалатом или КЗ-ЭДТА, в зависимости от того, какие еще тесты предполагается делать из этой пробы), или йодацетатом.

Глюкоза превращается в лактат в результате комплекса реакций, протекающих в несколько этапов. Фторид ингибирует один из последних этапов разрушения глюкозы, но начальные этапы с участием гексокиназы и фосфофруктокиназы блокируются менее эффективно, поэтому падение концентрации глюкозы в образце все-таки происходит.

Если же кровь до исследования будет транспортироваться более 6 часов, лучше воспользоваться пробирками с разделительным гелем (см. ниже).

Быстроразрушающиеся гормоны

Целый ряд белковых гормонов имеет короткий срок жизни и быстро разрушается протеазами крови. Транспортировка таких проб без особых условий приводит практически к полному разрушению гормона к моменту исследования. Здесь также существует два решения.

1. Воспользоваться специальной пробиркой с аprotинином, который блокирует протеазы крови.
2. Немедленно после взятия отцентрифугировать кровь, отобрать сыворотку или плазму в отдельную пробирку и немедленно заморозить.

Для транспортировки в сторонние лаборатории лучше всего комбинировать эти способы (поскольку в реальных условиях деятельности процедурных кабинетов очень трудно организовать работу так, чтобы кровь центрифугировалась быстро): отбирать кровь в пробирки с аprotинином, после окончания рабочего дня процедурного кабинета отцентрифугировать кровь, после чего сыворотку или плазму немедленно заморозить.

Гомоцистеин

Преаналитический этап исследования играет важную роль при определении содержания гомоцистеина в пробе крови. Это связано с тем, что эритроциты, даже в пробирке, продолжают продуцировать гомоцистеин. Без стабилизации крови гомоцистеин поступает в сыворотку/плазму постоянно, при этом концентрация его увеличивается примерно на 10% в час.

В данном случае нужно использовать пробирки с разделительным гелем, или центрифугировать кровь и переливать сыворотку в отдельную пробирку.

Также производятся специальные пробирки для взятия гомоцистеина,

как вакуумные (Grainer), так и невакуумные (Sarstedt). Для стабилизации концентрации гомоцистеина в таких пробах, как правило, используют кислый цитрат с pH 4,3, что обеспечивает стабильность образца в условиях комнатной температуры в течение 6 часов, а в холодильнике при 4-8°C — в течение 48 часов.

Существуют системы, совмещающие технологии кислого цитрата и геля. В таких системах кровь берется в пробирку с кислым цитратом, а затем центрифугируется для полного отделения гелем форменных элементов крови.

Общие рекомендации по подготовке и транспортировке проб, или несколько слов о пробирках с гелем

Если в вашей клинике после взятия крови предполагается отправить материал в стороннюю лабораторию, для исследования необходима сыворотка, и никаких особых требований к пробе не предъявляется, мы настоятельно рекомендуем брать кровь только в пробирки с разделительным гелем.

Пробирки с активатором свертывания (активатор нужен для ускорения коагуляции, иначе в пластиковой пробирке кровь долго не свернется) и разделительным гелем используются для взятия крови в клинической биохимии, иммунологии и т.п. На дне таких пробирок находится специальный гель. Во время центрифугирования этот гель направляется вверх к границе между ступком и сывороткой, где и формирует прочный барьер, отделяя сыворотку от фибрина и клеток. Этот барьер обеспечивает стабильность состава сыворотки. Материал может быть забран на анализ прямо из пробирки; тем самым исчезает потребность переноса в другую пробирку.

Пробирки с гелем необходимо обязательно центрифугировать. Без центрифугирования использование таких пробирок бессмысленно. Делать это следует не позднее, чем через 2-4 часа

после взятия крови. При центрифугировании следует строго придерживаться нескольких несложных, но важных правил:

1. Используйте только горизонтальный ротор; угловой ротор малопригоден для пробирок с разделительным гелем.
2. Никогда не центрифугируйте пробирки с гелем повторно.
3. Точно соблюдайте скорость вращения ротора центрифуги, температуру и время центрифугирования:

— центробежное ускорение должно быть не менее 1100 g (рекомендуется 1500 g). Ускорение 1100 g можно получить, например, на горизонтальном роторе с радиусом 14 см при скорости вращения 2700 об./мин. Вы можете легко рассчитать нужную скорость вращения своего ротора с помощью формулы:

$$n = 1000 \cdot \sqrt{\frac{g}{11.18 \cdot R}}$$

где g — центробежное ускорение, единицы g, R — радиус ротора, см (расстояние от центра ротора центрифуги до дна пробирки), n — скорость вращения ротора, об./мин.;

- температура пробирки 22-25°C;
- для большинства настольных центрифуг рекомендуемое время центрифугирования, обеспечивающее надёжное отделение гелем сыворотки от густка, должно составлять **не менее 30 минут при 3000 об./мин.**

Необходимость соблюдения рекомендуемых производителем температуры и продолжительности центрифугирования определяется вязкостью самого геля. Химический состав гелей (виды полиэфирных гетерополимеров, гель-модифицирующих добавок) в системах забора крови различных компаний-производителей может существенно отличаться, что и определяет различия оптимальных температур и время разделения. Уточняйте требования к центрифугированию у своего производителя.

Генетическая диагностика мужской необструктивной азооспермии

Примерно у 5% мужчин репродуктивного возраста имеются различные отклонения количественных или качественных показателей спермы. Около трети случаев мужского бесплодия относят к идиопатическому бесплодию, причины возникновения которого неизвестны. Видимо, в большинстве случаев идиопатическое бесплодие обусловлено генетическими факторами: патологией хромосом или мутациями в ответственных за сперматогенез генах.

Среди мужчин с бесплодием и нарушением сперматогенеза у 5-15% обнаруживают хромосомные нарушения, при этом аномалии половых хромосом составляют около 75%. Хромосомные патологии делят на количественные (моно- и полисомии) и структурные (транслокации, делеции, дупликации, инверсии, инверсии).

Одними из распространённых структурных хромосомных нарушений являются микроделеции в структуре генов Y-хромосомы, контролирующей дифференцировку пола, формирование яичек и процесс сперматогенеза, приводящие к нарушению развития половой системы. Основные гены, контролирующие сперматогенез у мужчин, расположены в определенном участке Y-хромосомы, в т.н. локусе AZF (azoospermic factor). Регион подразделяют на три субрегиона — AZFa, AZFb и AZFc, в каждом из этих субрегионов находятся различные гены, мутации в которых ведут к различным нарушениям сперматогенеза, от гипосперматогенеза до азооспермии.

Примерно в 10-15% идиопатической азооспермии и 5% олигозооспермии тяжелой степени у мужчин обнаруживают микроделеции в локусе AZF на Y-хромосоме. Наиболее тяжелыми являются микроделеции, захватывающие субрегионы AZFa и AZFb. В таких ситуациях почти невозможно получение зрелых сперматозоидов. У мужчин с AZFc микроделециями примерно в 50-70% случаев удается извлечь сперматозоиды при биопсии яичка, и вероятность успешного лечения бесплодия у них достаточно высока. У мужчин с делециями локуса AZF есть вероятность прогрессирования нарушений сперматогенеза с возрастом (от олигозооспермии до азооспермии).

www.eco-baby.ru

Наша лаборатория начинает выполнение ПЦР-теста, направленного на выявление частых микроделений локуса AZF Y-хромосомы (Y-специфичные маркеры: sY84 (AZFa) и sY86 (AZFa), sY127 (AZFb) и sY134 (AZFb), sY254 (AZFc) и sY255 (AZFc)).

Суточные колебания концентрации некоторых аналитов в сыворотке крови

| Аналит | Max концентрация, часы | Min концентрация, часы | Амплитуда колебаний, % от среднесуточной концентрации |
|---|------------------------|------------------------|---|
| АКТГ | 6-10 | 0-4 | 150-200 |
| Кортизол | 5-8 | 21-3 | 180-200 |
| Тестостерон | 2-4 | 20-24 | 30-50 |
| ТТГ | 21-23 | 1-21 | 300-400 |
| Свободный тироксин | 8-12 | 23-3 | 10-20 |
| Тироксинсвязывающий глобулин | 20-2 | 7-13 | 5-15 |
| Пролактин | 5-7 | 10-12 | 80-100 |
| Альдостерон | 2-4 | 12-14 | 60-80 |
| Ренин | 0-6 | 10-12 | 120-140 |
| Адреналин | 9-12 | 2-5 | 30-50 |
| СТГ | 0-6 | 13-19 | 40-50 |
| ФСГ | 6-9 | 21-4 | 30-40 |
| ЛГ | 6-9 | 21-4 | 30-40 |
| Инсулин (базальный уровень, не связанный с приемом пищи!) | 13-19 | 0-6 | 30-40 |
| Ангиотензин превращающий фермент | 16-21 | 1-6 | 20-30 |

Пик суточных минимумов и максимумов концентраций аналитов может изменяться под влиянием индивидуальных ритмов — сна, физической активности, приема пищи.



сеть медицинских центров



www.dnklab.ru

С Новым годом!