

# Модуль «Сердечно-сосудистая система»

## Лекция № 3

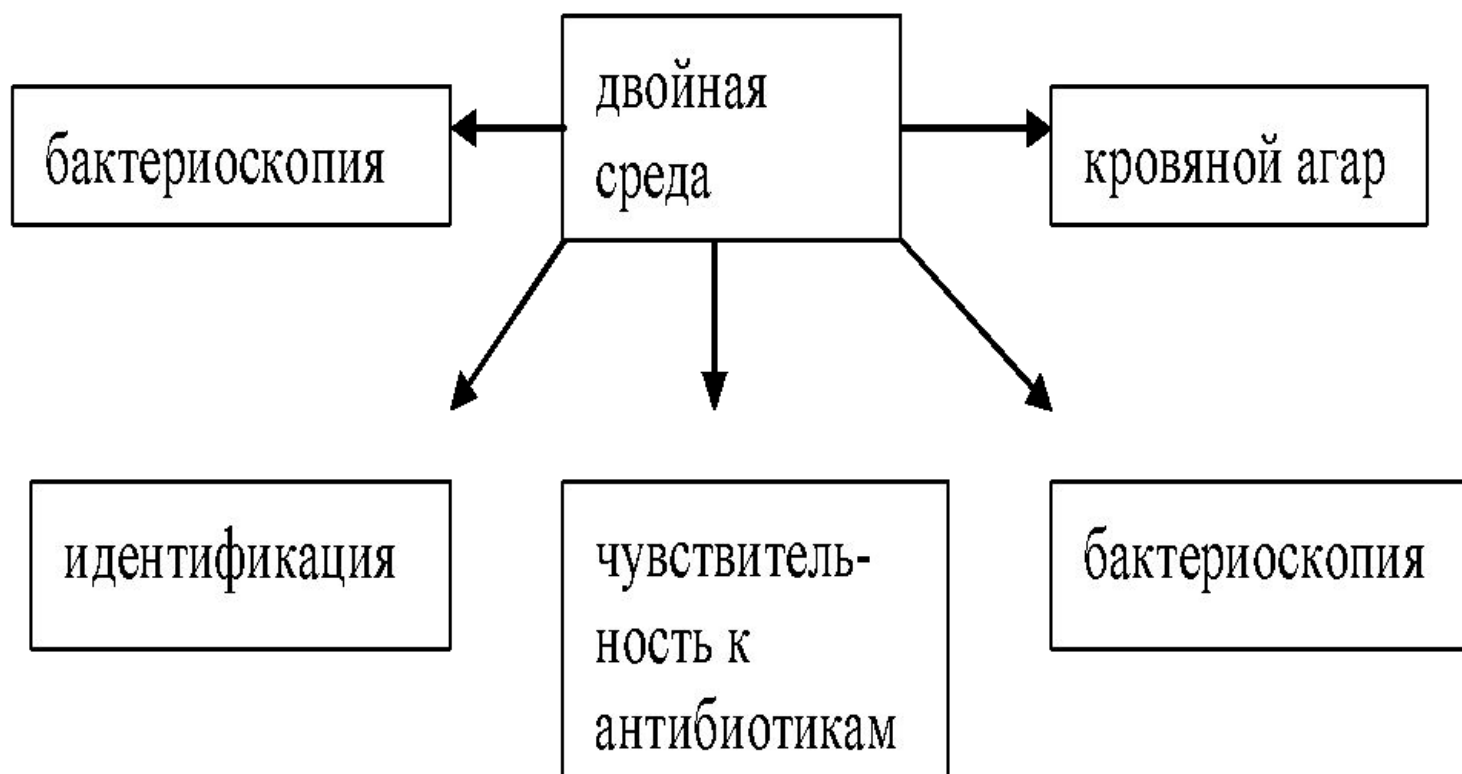
### **Тема: «Микробиологическая, вирусологическая и серологическая диагностика воспалительных заболеваний сердечно- сосудистой системы»**

**К.м.н., и.о.доцента**

**Умуралиева А.М.**

- Материалом для исследования может быть кровь больного в остром периоде до приема антибиотиков с целью выделения чистой культуры возбудителя.

Бактериологическое исследование крови проводят по схеме:



- **Микробиологическая диагностика ревматизма** основана на выявлении специфических антител к антигенам стрептококка, аутоантигеном, белков острой фазы, ЦИК серологическими методами

- В сыворотке крови обнаруживают:
  - А) антитела к О- стрептолизину (А-ОС);
    - к гиалуронидазе;
    - к специфической детерминанте А-ПСХ;
    - к дезоксирибонуклеазе В (ДНК-аза В);
    - к стрептокиназе
  - Б) аутоантитела к антигенам миокарда
  - В) циркулирующие иммунные комплексы
  - Г) антигены стрептококков: А-ПСХ; М-  
субстанция
  - Д) белки острой фазы: С-реактивный белок,  
маннан-связывающий лектин

- **Микробиологическая диагностика бактериальных патогенов:**

*Стафилококки*

1. Бактериоскопия: мазок - окраска по Граму «грозди винограда»);
2. Бактериология - культивирование на специальных средах: МЖСА или ЖСА (желточно-солевой агар для обнаружения фермента лецитиназы); на цитратную плазму для обнаружения плазмокоагулазы;
3. Идентификация по биохимическим свойствам, фаготипирование,

- Стрептококки

1. Бактериоскопия: мазок - окраска по Граму («цепочки или диплококки»), наличие капсулы;
2. Бактериология - культивирование на специальных средах: КА (кровяной агар с зонами полного или неполного гемолиза);
3. Идентификация по биохимическим свойствам, антигенным свойствам, определение чувствительности к антибиотикам

## Дифтерийная палочка

1. Бактериоскопия. Исследуемый материал: слизь из зева (ротоглотки), носа, окраска мазка по Граму, Нейссеру (палочки с волютиновыми метакроматическими зернами).
2. Бактериология - посев на кровяной теллуритовый агар (среда Клауберга). По характеру колонии определяют тип возбудителя *gravis*, *mitis*, *intermedius*.
3. Идентификация: по биохимическим свойствам; определение токсигенности с помощью реакции преципитации (РП) в геле, с использованием индикаторных бумажных дисков с антитоксином и культуры от больных;
4. Серология: определение антител-антитоксинов проводят в РПГА с эритроцитарным диагностикумом или реакция Шика.



- *Salmonella typhi*

1. Бактериоскопия. , окраска мазка по Граму, (палочки с закругленными концами Грам- средних размеров).

2. Бактериология - посев на специальные среды (среда Эндо – бесцветные колонии, висмут сульфит агар – мелкие черные колонии)

3. Идентификация: по биохимическим свойствам; по антигенным свойствам, фаготипирование, определение чувствительности к антибиотикам.

- Микобактерия туберкулеза

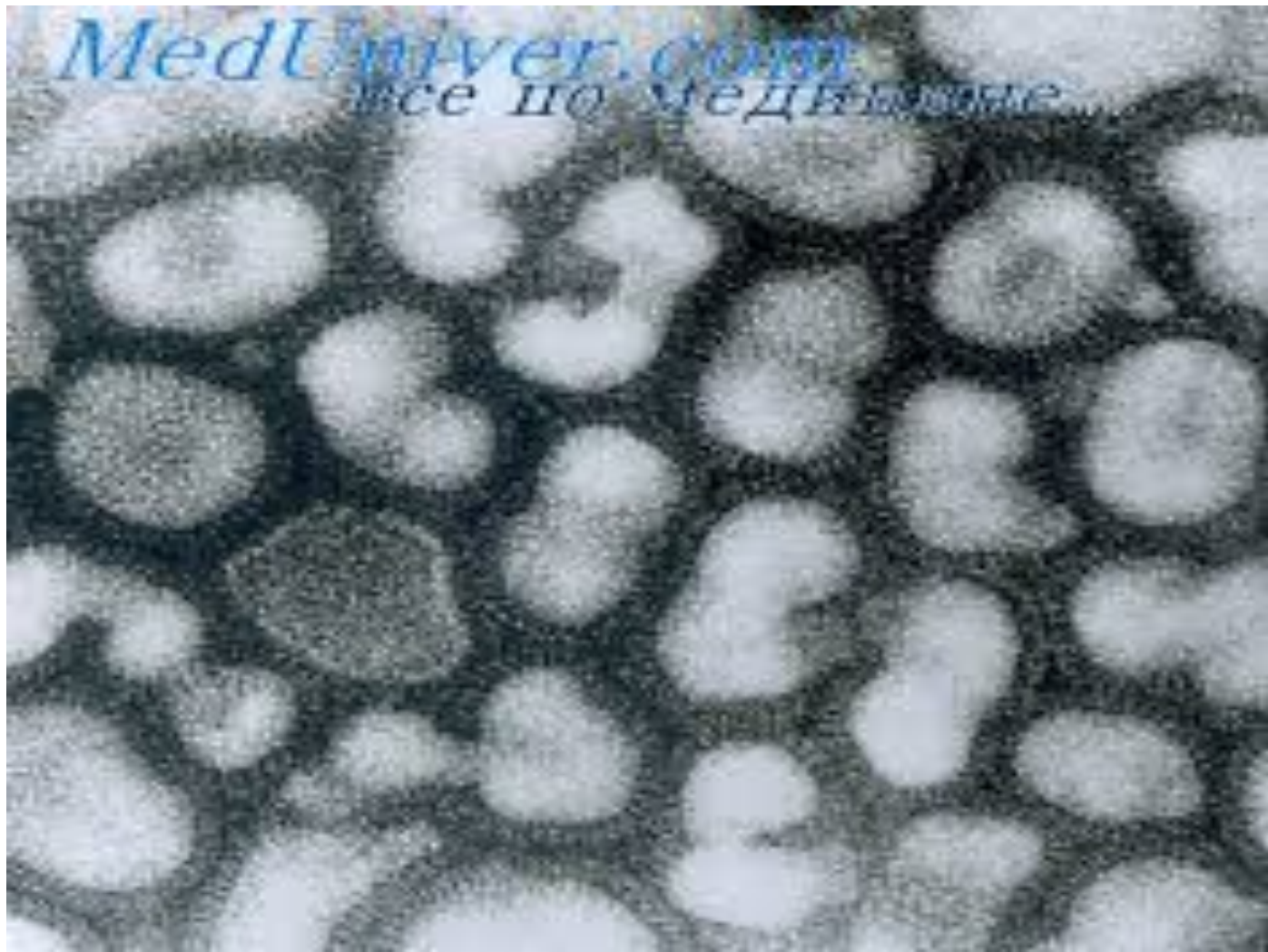
1. Бактериоскопия. окраска мазка по Граму, по Цилю-Нильсену (Грам+, по Цилю – ярко-красные тонкие палочки, кислото- и щелочеустойчивые).
2. Бактериология - посев на специальные среды: картофельно-глицериновая, яично-солевая среда Левенштейна-Йенсена. Растут медленно 2-3 недели.
3. Идентификация: корд-фактор в цитратной плазме (метод Прайса – гемокультур).
4. Серология: РИФ, РСК, ИФА, ПЦР.
5. Аллергический метод – проба Манту с туберкулином.

- **Вирусологическая диагностика** заключается в обнаружении прироста антител в парных сыворотках больных. Наивысшие титры антител определяются через 9-12 дней после заболевания. Используют РСК, РТГА, реакцию нейтрализации, иммунодиффузию, иммуноферментный метод. В качестве антигенов применяют стандартные диагностикумы.

- В сыворотке крови обнаруживают:  
аутоантитела к антигенам миокарда;  
циркулирующие иммунные комплексы
- Диагностика основывается на бак.  
посевах крови, определении  
острофазовых показателей, титра  
антител, иммунных комплексов.

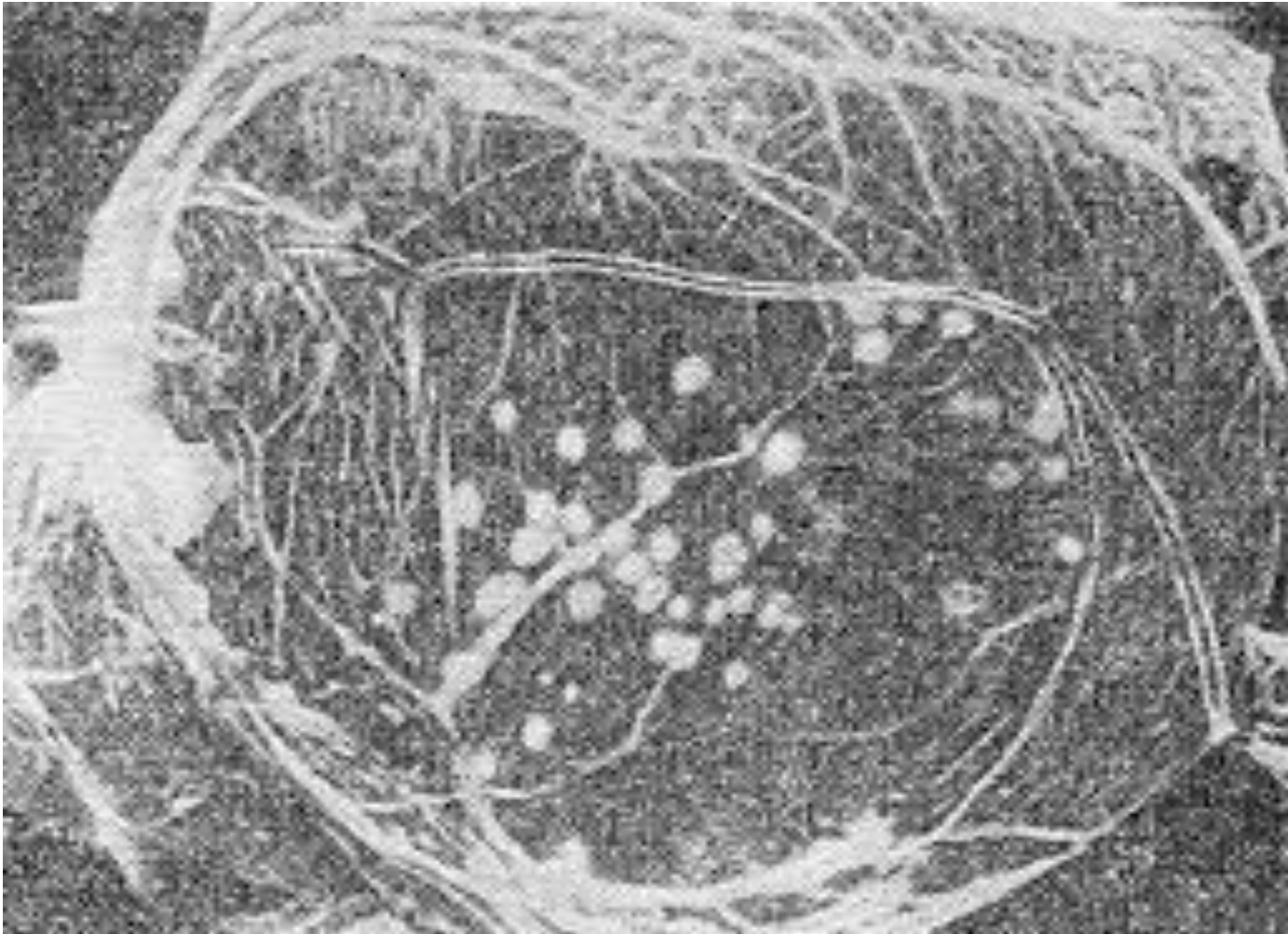
- **Прямые методы исследования в вирусологии**
- Прямые вирусологические методы исследования позволяют обнаружить вирус, вирусную нуклеиновую кислоту или вирусный антиген непосредственно в клиническом материале и являются, таким образом, наиболее быстрыми (экспресс-методы – до 24 ч). Данные методы менее информативны и требуют лабораторного подтверждения непрямыми методами диагностики в связи с нередким получением ложноотрицательных или ложноположительных результатов. К прямым относятся следующие методы исследования:

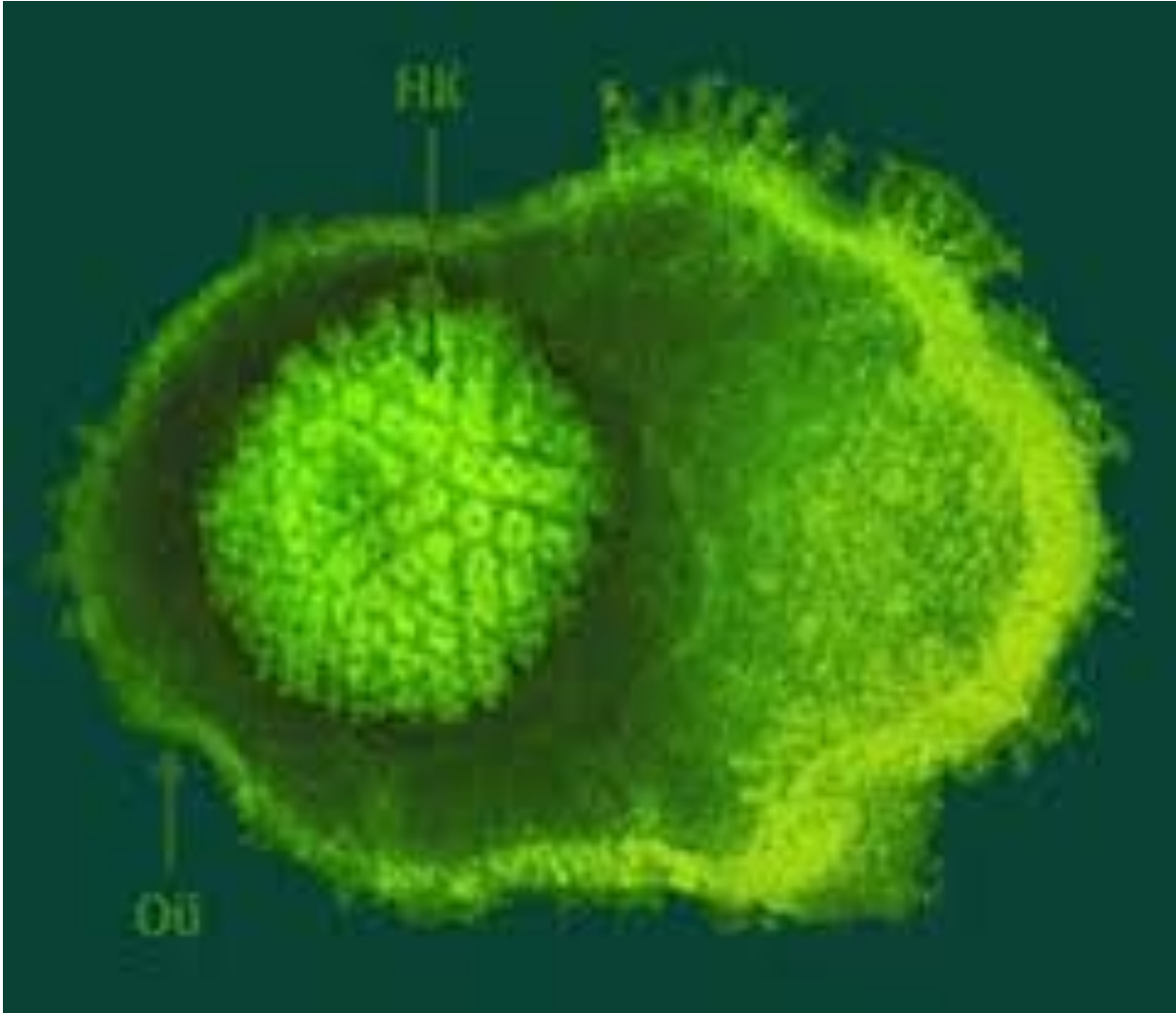
- электронная микроскопия с окрашиванием вирусов методом негативного контрастирования (позволяет определить наличие вируса и его концентрацию в материале при условии, что в 1 мл содержится не менее  $10^5$  вирусных частиц);



- иммунная электронная микроскопия, основанная на взаимодействии специфических антител с вирусами с образованием комплексов, которые легче обнаруживаются при негативном контрастировании, нежели вирусы отдельно;



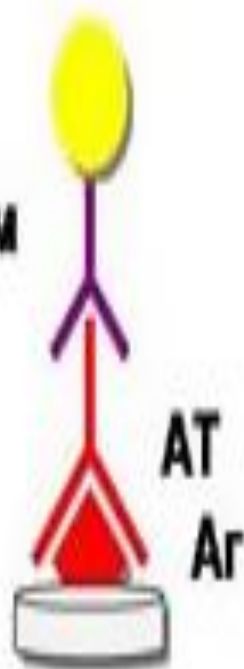




- твердофазный иммуноферментный анализ (ИФА) с использованием меченных ферментами антител, которые связываются с антигенами, образуя комплексы, выявляемые при добавлении субстрата для использованного фермента;

# Иммуноферментный анализ (ИФА)

Антитела к АТ,  
меченные ферментом



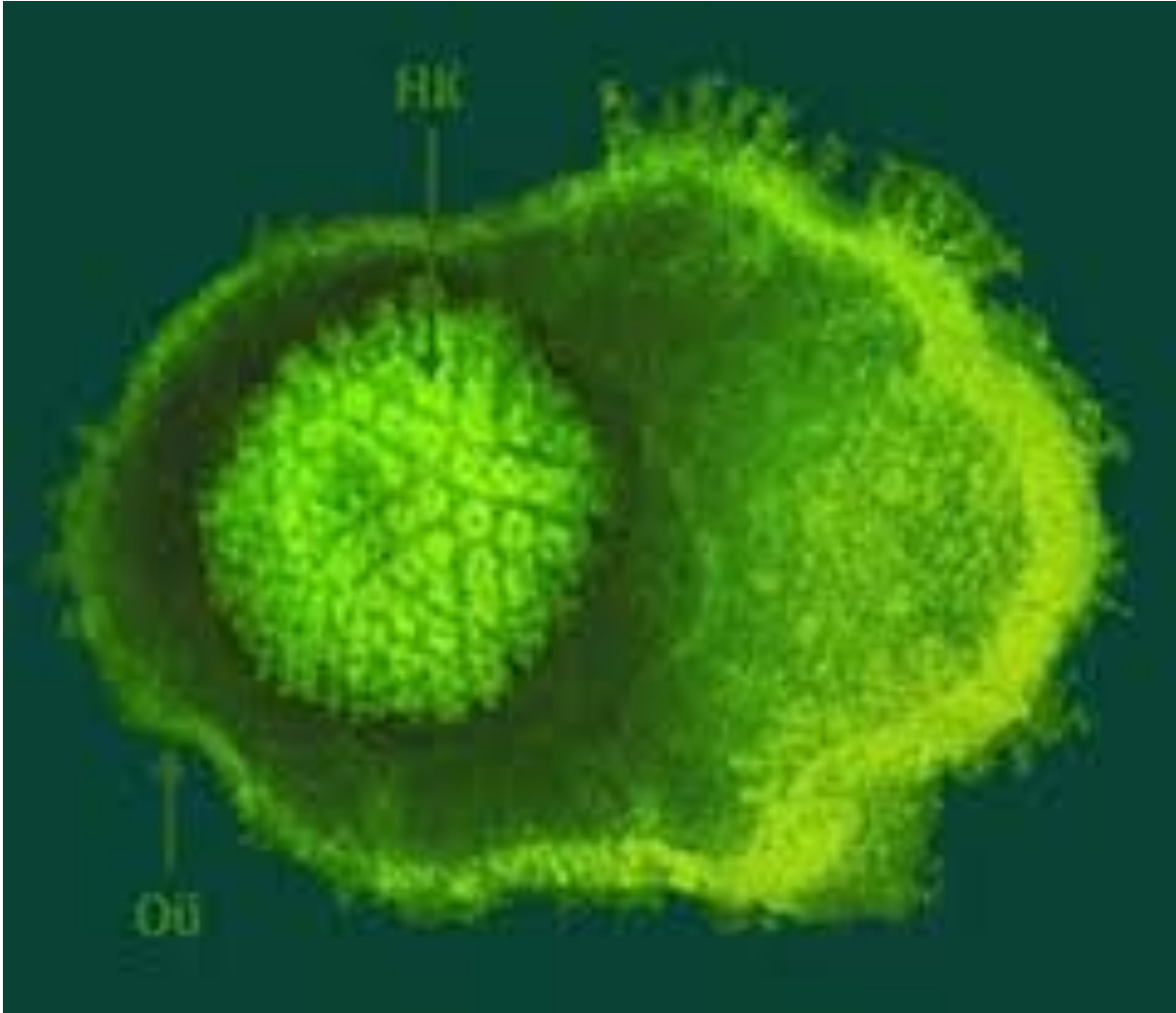
Выявление антител

Антитела к Аг,  
меченные ферментом



Выявление антигена

- реакция иммунофлюоресценции (РИФ) – прямая или непрямая – основана на применении антител, связанных с флюоресцентным красителем;
- радиоиммунный анализ (РИА) основан на использовании меченных радиоизотопами антител и гамма-счётчиков;
- цитологические методы основаны на микроскопическом исследовании окрашенных мазков, биоптатов, материалов аутопсии;



- молекулярные методы – молекулярная гибридизация нуклеиновых кислот и полимеразная цепная реакция (первая основана на выявлении комплементарных нитей нуклеиновых кислот с помощью метки, вторая – на принципе репликации вирусспецифической последовательности ДНК в три этапа). ПЦР (полимеразная цепная реакция) на сегодняшний день всё шире применяется в мониторинге и диагностике вирусных инфекций в связи с высокой чувствительностью

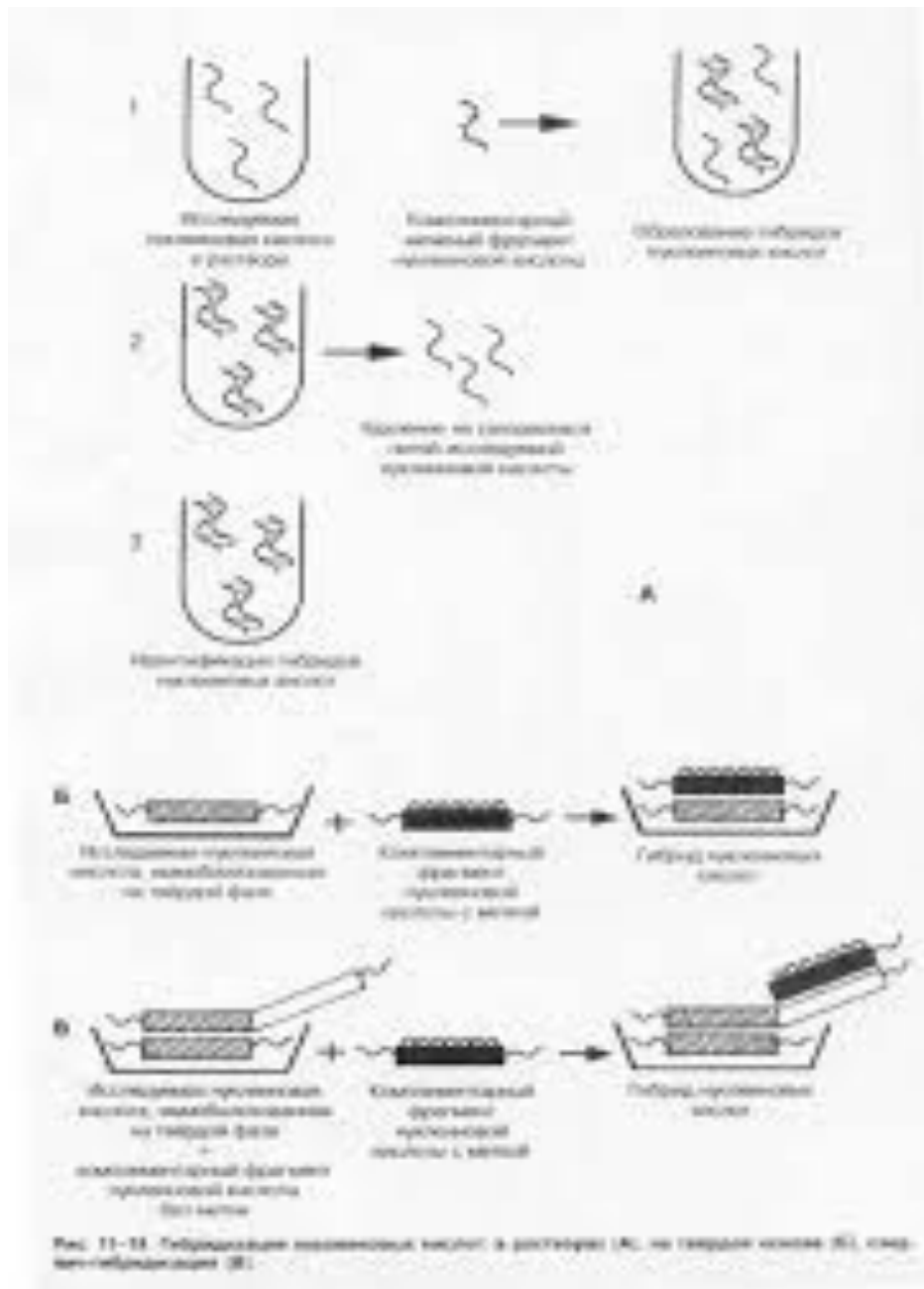


Рис. 11–12. Гибридизация нуклеиновых кислот: в растворе (А), на твердой основе (В), иммобилизации (Б).



- **Непрямые вирусологические методы исследования**
- Данные методы основаны на выделении и идентификации вируса.
- Материалом для таких исследований может быть: содержимое везикул, смывы, кровь и ликвор, фекалии

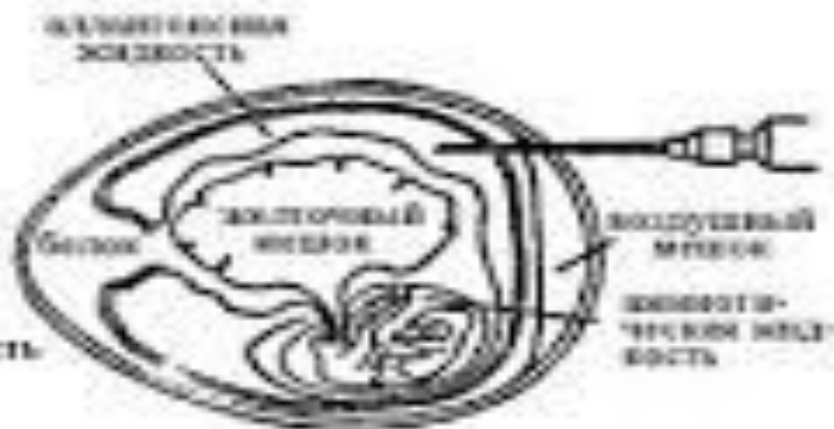


Рисунок 1. Способы заражения курного эмбриона:

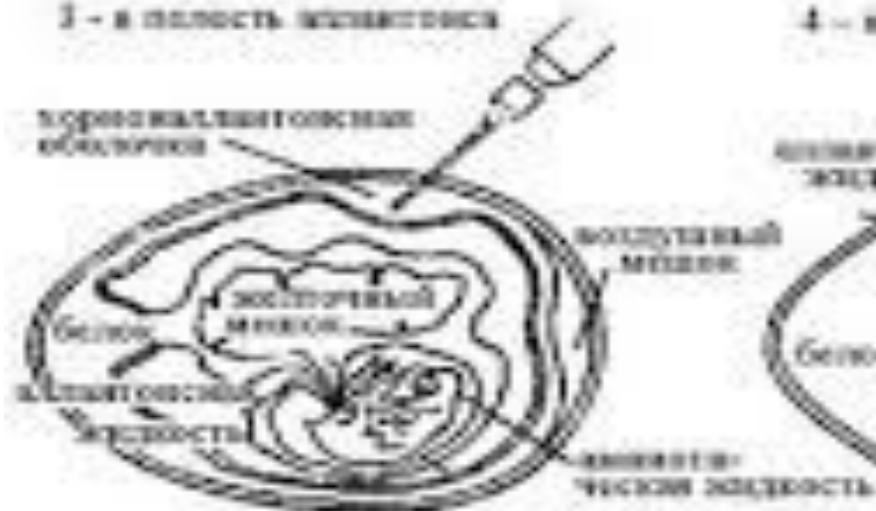
1 - в полость амниона.



2 - на хордантальной стороне оболочки.



3 - в полость аллантоиса.

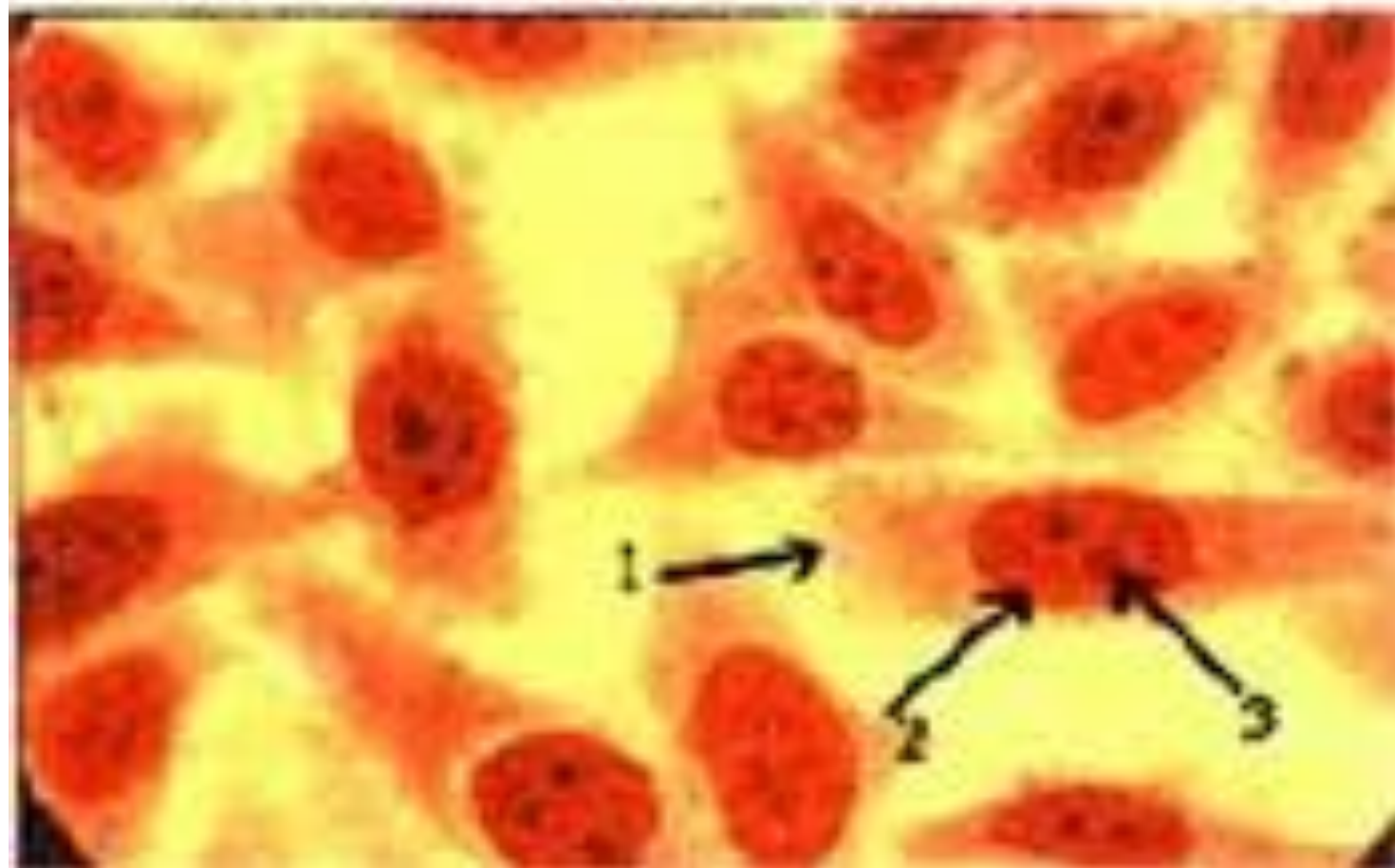


4 - в желточный мешок.



Рисунок 2. Культура фибробластов человека, инфицированных вирусами.

1 - цитоплазма, 2 - ядро, 3 - ядрышко



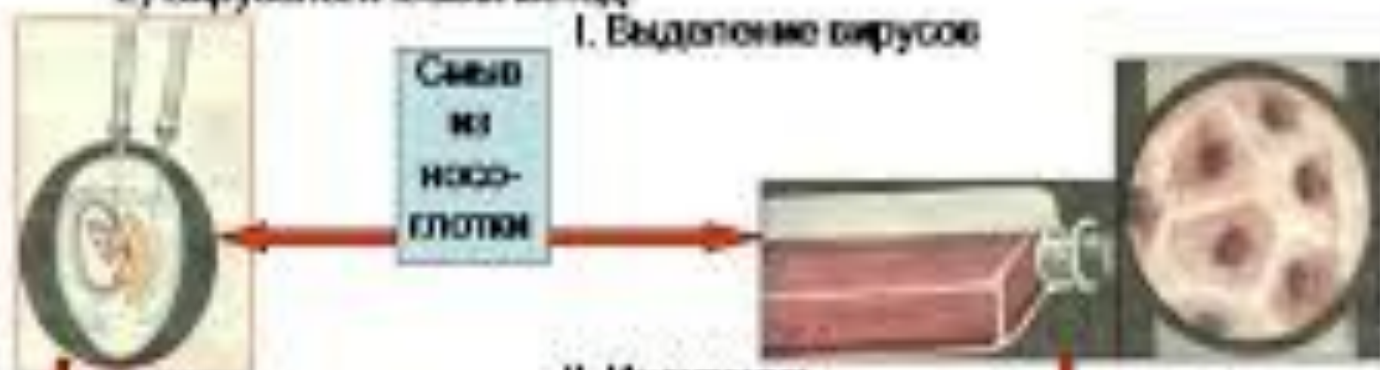
- Культивирование вируса осуществляют в культуре ткани, курином эмбрионе или в организме животного (хомяка, белой мыши, собаки, кошки, некоторых видов обезьян).
- Индикацию вируса проводят по цитопатическому действию, в реакции гемадсорбции, по цветной пробе, по результатам реакции торможения гемагглютинации, по изменениям или их отсутствию в куриных эмбрионах или культурах ткани, по выживаемости чувствительных животных.

# Лабораторная диагностика гриппа

МЕТОДЫ: 1) экспресс-диагностика – обнаружение вирусных аг в РИФ, ИФА, ПЦР

2) Вирусологический метод:

I. Выделение вирусов



II. Индукция



Тонкопленочная культура



Эпителиальная культура

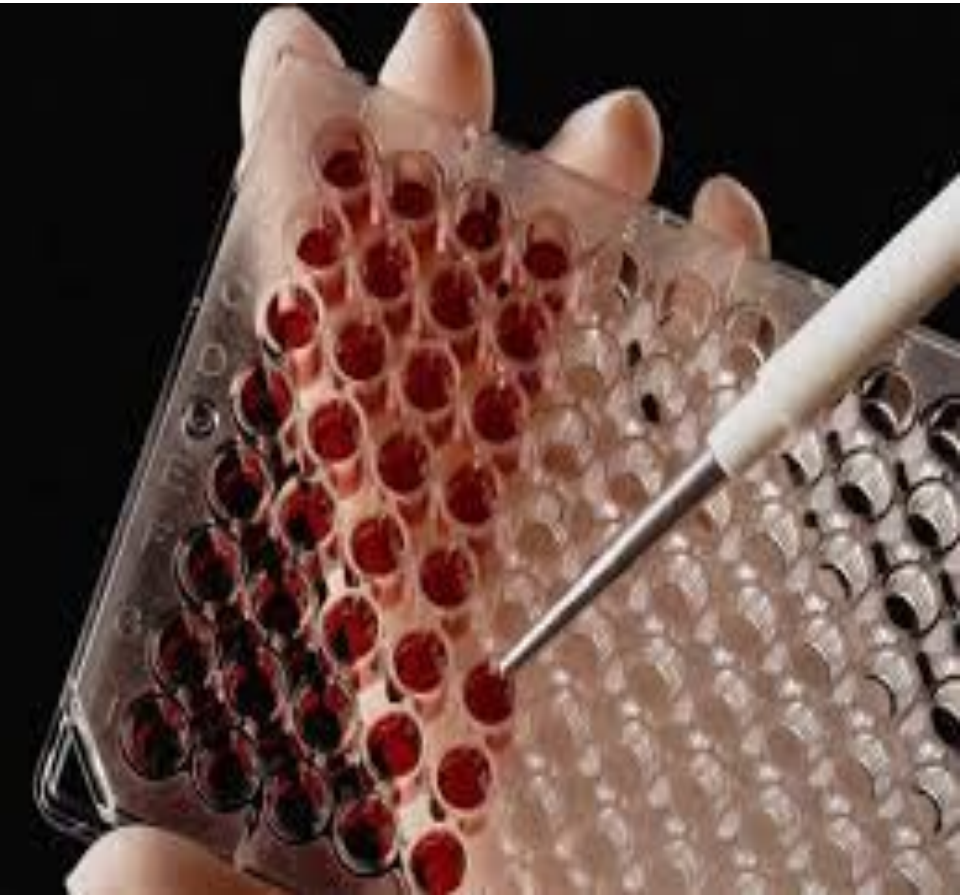
III. Идентификация

3) Серологический – РТГА, РСК, ИФА, РБН вирусов

РГА

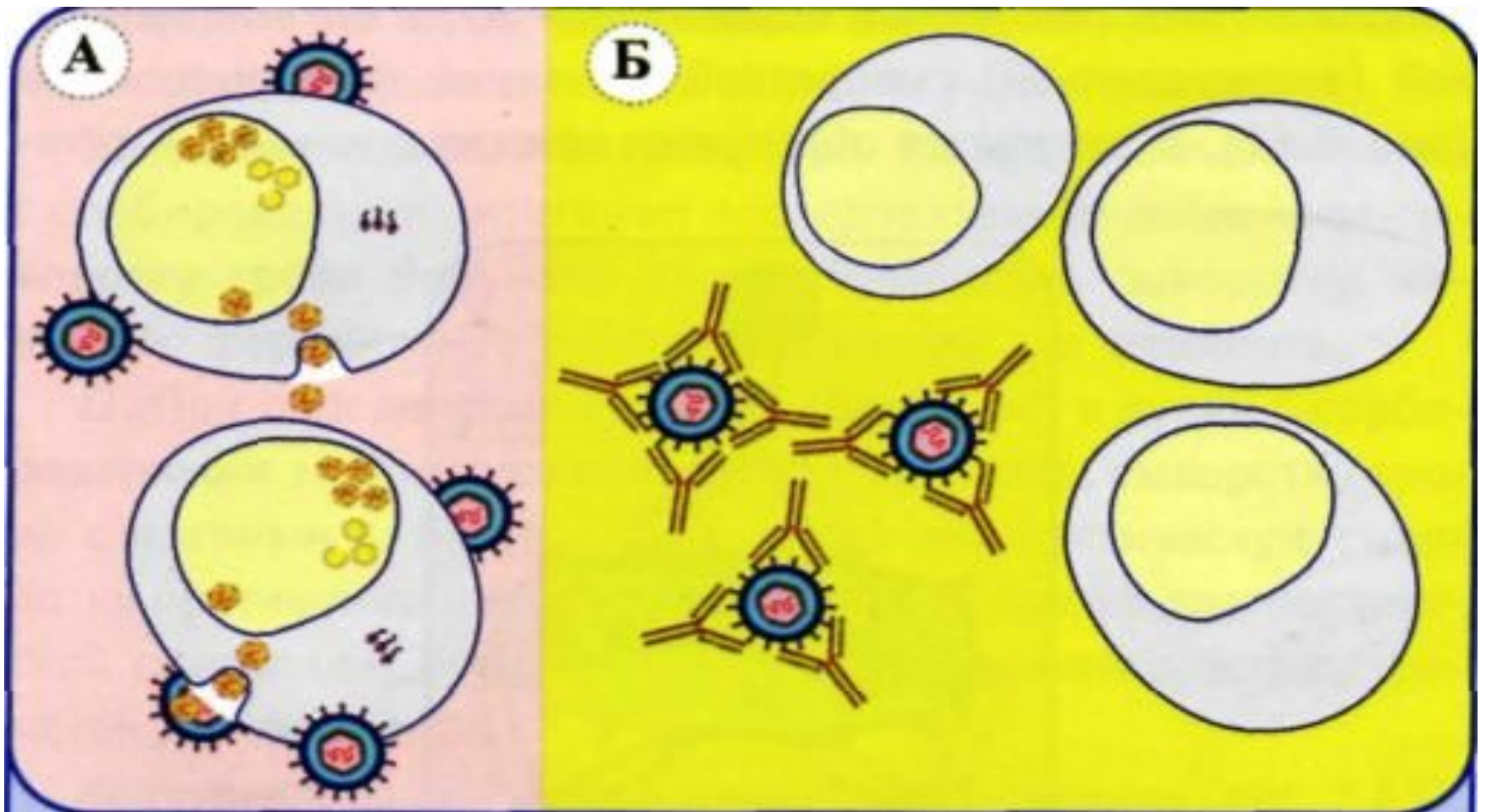


- **Серологические методы диагностики, применяемые в вирусологии**
- Под серологической **диагностикой** подразумеваются вирусологические методы исследования, основанные на реакции антиген-антитело. При этом чаще всего используются парные сыворотки крови, которые берутся с интервалом в несколько недель. При нарастании титра антител в 4 и более раз реакция считается положительной.



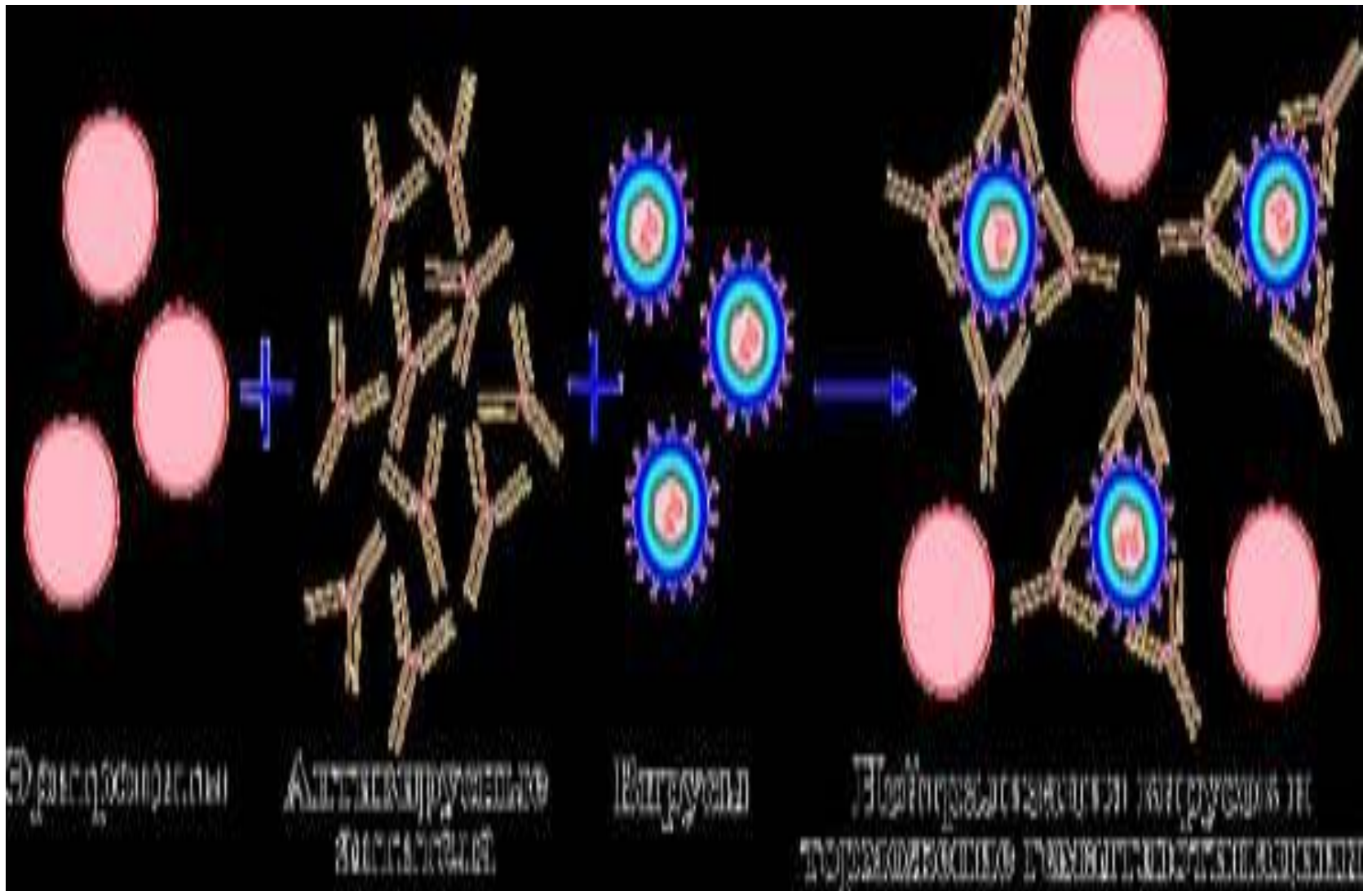


- Для определения типоспецифичности вирусов применяется реакция вируснейтрализации, с целью определения группоспецифичности – реакция связывания комплемента. Также широко применяются реакции пассивной гемагглютинации, торможения гемагглютинации, обратной пассивной гемагглютинации, РИФ и различные варианты иммуноферментного анализа.



**Рис. 7.56.** Реакция нейтрализации вирусов в культуре клеток:

*А* — цитопатогенный эффект (ЦПЭ) в результате размножения вирусов; *Б* — ЦПЭ отсутствует в результате предварительной нейтрализации вирусов антителами





- В ходе генно-инженерных исследований разработана методика получения **моноклональных** антител. Узкая специфичность моноклонов преодолевается применением нескольких моноклональных антител к разным вирусным детерминантам. Это повысило чувствительность и специфичность вирусологических методов исследования с определением вирусных антигенов.
- В настоящее время создано множество различных **тест-систем** для иммунологической диагностики вирусных инфекций.

