

ОСОБЕННОСТИ СЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ БРЮШНОГО ТИФА

*Л.А. Кафтырева, С.А. Егорова,
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург
Референс-центр по мониторингу за возбудителями брюшного тифа*

Брюшной тиф (БТ) — кишечный антропоноз, способный к широкому эпидемическому распространению. Его возбудитель (серовар *S. Typhi*) принадлежит к виду *S. enterica* рода *Salmonella*. У *S. Typhi* имеются соматические (O) антигены 1, 9, 12, Vi и жгутиковый антиген Hd. Заболевание характеризуется язвенным поражением лимфатической системы тонкой кишки, бактериемией, лихорадкой, циклическим течением с выраженной интоксикацией, розеолезной кожной сыпью, увеличением печени и селезенки. Примерно у 1% заболевших тифом изъязвляются пейеровы бляшки подвздошной кишки, что ведет к кишечному кровотечению и прободению кишечника. В отличие от других острых кишечных инфекций после перенесенного заболевания у 5% пациентов может формироваться хроническое бактерионосительство, которое сопровождается выделением возбудителя (с фекалиями и мочой) и наличием в сыворотке крови иммуноглобулинов (антител) к Vi-антигену возбудителя. Последний признак считают индикатором хронической формы инфекции. Бактерионосители опасны как источники возбудителя. Современной особенностью эпидемиологии БТ является резкое увеличение частоты завоза (заноса) инфекции с эндемичных по этому заболеванию территорий, стран ближнего и дальнего зарубежья, а также заражение жителей России при выезде в эти страны и в процессе миграции внутри страны. Кроме того, лиц без определенного места жительства составляют обширный контингент повышенного эпидемиологического риска по БТ. Применение antimicrobных препаратов для этиотропной терапии БТ и паратифов позволило, с одной стороны, снизить летальность с 10...20% до <1%, но осложнило лабораторную диагностику, проводимую после начала антибиотикотерапии. БТ диагностируют на основании анализа симптоматики и результатов комплекса лабораторных исследований, включающих классические бактериологические и серологические методы. Бактериологическая диагностика имеет приоритетное значение, т.к. предоставляет наиболее полную информацию о биологических свойствах возбудителя, включая его чувствительность к антибактериальным препаратам. Серологические методы обеспечивают ретроспективную диагностику БТ на основании выявления в сыворотке крови специфических антител к антигенам *S. Typhi* (1, 9, 12 и Vi). Их применяют для:

- подтверждения клинического диагноза при отрицательном результате бактериологического исследования крови, фекалий и другого материала;
- обследования пациентов при обращении в ЛПУ позднее 14-го дня болезни, ее затяжном течении, назначении антибактериальной терапии и в других ситуациях, когда высока вероятность получения отрицательного результата бактериологического исследования;
- ретроспективного подтверждения диагноза;
- обследования лиц, переболевших БТ, во время диспансерного наблюдения;
- выявления предполагаемого источника инфекции при вспышках и спорадических случаях БТ;
- выявления носителей возбудителя БТ среди работников отдельных профессий, производств и организаций при поступлении на работу и по эпидемиологическим показаниям.

Серологическое исследование позволяет выявлять хронических бактерионосителей, дифференцировать их от переболевших БТ, идентифицировать острые, стертые и субклинические формы инфекции, что обеспечивает более полную и обоснованную информацию для оценки активности эпидемического процесса. Как и при других острых кишечных инфекциях, выявлять антитела к *S. Typhi* целесообразно в динамике с интервалом 7... 10 дн. На основании количественной и качественной оценки специфического антительного ответа можно дифференцировать транзитное носительство от субклинической формы. В первом случае нет достоверного сдвига в титрах антител, в то время как его повышение указывает на возникновение патологического процесса и субклиническое течение инфекции. На основании различий структурных и физико-химических свойств иммуноглобулинов классов М (IgM) и G (IgG) разработаны методы их разделения. Самый простой и доступный из них основан на разрушении редуцирующими веществами (L-цистеином, цистином, меркаптоэтанолом, этантиолом, унитиолом, и др.) макроглобулиновых антител, к которым относятся IgM. При этом IgM расщепляются с разрывом дисульфидных связей молекул белка, диссоциируя на 6-8 мономеров, не обладающих активностью антител. Антитела класса IgG устойчивы к действию редуцирующих веществ и не разрушаются. Многие редуцирующие вещества трудно доступны, а быстрая окисляемость и слабая растворимость в нейтральных растворах усложняют применение с этой целью L-цистеина. С 1987 г. в качестве редуцирующего вещества в лабораторной практике разрешено использовать унитиол (авторское свидетельство № 1182711 от 01.06.85, выданное специалистам лаборатории кишечных инфекций НИИЭМ им. Пастера, С.-Пб). Серологическая диагностика БТ основана на выявлении так называемого «диагностического» титра при однократном исследовании сыворотки крови или сероконверсии пациента в динамике заболевания. Значение «диагностического» титра в определенной

степени условно, поскольку зависит от многих факторов. Так, в сыворотке крови здоровых людей присутствуют «фоновые» или «анамнестические» антитела практически ко всем грамотрицательным бактериям. Это может быть обусловлено встречей с антигенами, которые попадают в организм с загрязненной пищей или водой. По данным многочисленных исследований, проведенных в 70-х годах прошлого века, титры фоновых антител обычно не превышают 1:20... 1:40 (макрометод) и 1:10 (микрометод). В разных регионах этот уровень может слегка колебаться в зависимости от уровня заболеваемости конкретной нозологической формой острой кишечной инфекции и интенсивности циркуляции различных возбудителей. Известно, что титры IgM-антител при этих инфекциях значительно возрастают с 3.. 5 дн болезни. «Диагностический» титр антител может быть выявлен в сыворотке крови здоровых людей, что обусловлено иммунным ответом на вакцинацию против БТ или заболеванием, перенесенным ранее в стертой или субклинической формах. В зависимости от эпидемической ситуации величина «диагностического» титра неодинакова

на разных территориях. Следует иметь в виду, что при многолетней циркуляции среди людей определенных сероваров сальмонелл, массивной контаминации ими пищевых продуктов и объектов окружающей среды, при естественном инфицировании населения небольшими дозами возбудителя происходит не только выработка специфических антител, относящихся к IgM, но также образуются IgG-антитела. Поэтому, когда в процессе индивидуального развития человек многократно встречается с такими возбудителями, как *S. Typhimurium* и *S. Enteritidis* (что далеко не всегда сопровождается возникновением клинически выраженного заболевания), у него в крови накапливаются соответствующие IgG-антитела. На величину «диагностического» титра большое влияние оказывает конкретная эпидемиологическая ситуация, когда риск заражения и степень распространения возбудителя среди населения варьируют, что ведет к уменьшению или повышению уровня «фоновых» антител у здоровых лиц и, следовательно, к разной оценке диагностического титра. Наиболее правильным было бы установление «диагностического» титра в каждом конкретном регионе по результатам титрования сывороток 100 здоровых лиц. При диагностике БТ по результатам исследования парных сывороток сопоставляют титры антител, обнаруженные в обеих пробах: суммарные (IgM+IgG) и IgG. Диагноз ставят при изменении титра антител во второй пробе сыворотки по сравнению с первой. Нарастание титра антител регистрируют в течение первых 2 нед болезни, в более поздние сроки он обычно снижается. В современных условиях при относительно частом контакте человека с сальмонеллами нарастание титров IgM и IgG антител у многих заболевших происходит быстро (по типу вторичного иммунного ответа). Эта тенденция особенно характерна для взрослых. Поэтому для диагностики острого заболевания первый раз кровь для серологического исследования следует брать у пациентов в начале болезни (3...5 дни). Вторую пробу сыворотки нужно взять в конце 1-й... начале 2-й нед болезни (при подозрении на сальмонеллез и шигеллез) и в конце 2-й нед (для исключения БТ и паратифов). Если получены отрицательные результаты бактериологического исследования, целесообразно исследовать сыворотку и в более поздние сроки. Принимая во внимание современные представления о групповых антигенах, имеющихся у многих грамотрицательных бактерий, необходимо учитывать частоту и выраженность серологических сдвигов не только гомологичных, но и гетерологичных антител. В таких случаях иммунологический ответ следует считать диагностическим (специфическим), когда титры антител к подозреваемому возбудителю увеличились в 4 и более раз, в то время как уровни гетерологичных антител не изменились. Во избежание ошибок в подобных ситуациях необходимо определять также титр IgG-антител, т.к. достоверными критериями инфекционного процесса служат высокий титр IgG-антител и в еще большей степени его повышение (при исследовании парных сывороток). В случае формирования острого и особенно хронического бактерионосительства (при БТ, паратифах, реже сальмонеллезах) характерно выраженное нарастание IgG-антител. При длительном бактерионосительстве титр О-антител может быть низким (иногда 1:20... 1:40), но эти антитела являются преимущественно IgG. Для хронических носителей возбудителя БТ также характерен высокий (1:40 и выше) титр IgG-антител к антигену Vi. Для правильной интерпретации результатов серологических тестов необходимо учитывать прививочный анамнез (после многократной вакцинации повышается титр IgG-антител) и тот факт, что у 10% хронических бактерионосителей *S. Typhi* в сыворотке крови могут отсутствовать Vi-антитела. Для подтверждения клинического диагноза БТ (в т.ч. ретроспективного), а также при позднем обращении больного в ЛПУ, затяжном течении заболевания, назначении антибактериальной терапии, т.е. в случаях, когда существует высокая вероятность получения отрицательного результата бактериологического исследования, РПГА проводят с 2 наборами реагентов: «Диагностикумом эритроцитарным сальмонеллезным О-антигенным жидким» серогруппы D (1, 9, 12) и «Диагностикумом эритроцитарным сальмонеллезным Ви-антигенным жидким» (для выявления антител к Ви-антигену возбудителя БТ). В очаге БТ для активного выявления больных среди контактных лиц, относящихся к работникам отдельных профессий, производств и организаций, РПГА проводят с «Диагностикумом эритроцитарным сальмонеллезным Ви-антигенным жидким» (согласно СП 3.1.1.2137-06).

При диспансерном наблюдении за лицами, переболевшими БТ, РПГА ставят с «Диагностикумом эритроцитарным сальмонеллезным Ви-антигенным жидким» (согласно СП 3.1.1.2137-06). Для выявления предполагаемого источника инфекции по эпидемиологическим показаниям (согласно СП 3.1.1.2137-06 — для выявления хронического бактерионосительства) РПГА проводят с «Диагностикумом эритроцитарным сальмонеллезным Ви-антигенным жидким». Поскольку источником инфекции нередко бывают

реконвалесценты или больные БТ (в манифестной или субклинической форме), у которых титр антител к Vi-антигену может не достигать диагностического значения, целесообразно исследовать сыворотку также с «Диагностикумом эритроцитарным сальмонеллезным О-антигенным жидким» серогруппы D (1, 9, 12). Для выявления носителей возбудителя БТ среди работников отдельных профессий, производств и организаций при поступлении на работу РПГА проводят с «Диагностикумом эритроцитарным сальмонеллезным Vi-антигенным жидким» (согласно СП 3.1.1.2137-06).

Серологическое обследование работников отдельных профессий, производств и организаций, привитых против БТ, у которых в сыворотке крови имеются соответствующие прививочные антитела, нецелесообразно из-за невозможности интерпретации положительного результата.

Интерпретация результатов РПГА у детей имеет свои особенности:

- у детей первых месяцев жизни из-за низкой иммунологической реактивности отсутствует или оказывается недостаточно напряженным гуморальный иммунитет. Обнаружить в РПГА специфические антитела к возбудителям кишечных инфекций у детей в возрасте до 10 мес удается крайне редко и в низких титрах, поэтому проведение серологических исследований детям до 10-месячного возраста не рекомендуется;
- в возрасте 1...3 лет нарастание титров антител определяется на 2...3 нед болезни (у 60...70% обследованных в титрах 1:80 и выше). Наибольший процент положительных реакций отмечен у детей в возрасте 3 лет и старше;
- у детей раннего возраста нарастание титров антител имеет диагностическое значение даже при низких титрах: от 1:10... 1:20 (на 1-й неделе болезни) до 1:40... 1:80 (на 2...3-й нед болезни). Исходя из этого, при серологическом исследовании детей в возрасте от 10 мес до 3 лет РПГА следует ставить, начиная с разведения сыворотки 1:10.

Таким образом, диагностика БТ и других этиологических форм ОКИ только на основании результатов РПГА (титр > 1:200) с сывороткой, взятой однократно после 5...6 дн болезни, либо на основании 4-кратного (на 2 разведения) изменения титров антител в парных пробах может вести к определенному проценту диагностических ошибок. Поэтому необходима комплексная экспертная оценка результатов серологического исследования сыворотки крови с учетом клинико-эпидемиологических особенностей каждого конкретного случая заболевания, а также сроков взятия сыворотки и т.д.