

LENNETTE'S LABORATORY DIAGNOSIS OF VIRAL INFECTIONS

Fourth Edition

Edited by
Keith R. Jerome
University of Washington
Fred Hutchinson Cancer Research Center
Seattle, Washington, U.S.A.

informa
healthcare

New York London

КРАТКОЕ ОГЛАВЛЕНИЕ

1. Проверка точности и достоверности лабораторных вирусологических тестов в клинической диагностической лаборатории	13
<i>Х. Ф. Рабенау, Х. Х. Кесслер, Р. Б. Рэггам, Э. Бергер</i>	
2. Статистический анализ результатов диагностических тестов ..	26
<i>Х. Джейнс, А. Магарет</i>	
3. Методы молекулярной амплификации в диагностике вирусных инфекций	42
<i>Д. Уили, Т. Слутс</i>	
4. Генотипирование вирусов и секвенирование вирусных геномов	73
<i>П. А. Ревилл, Д. С. Боуден, П. А. Уайт</i>	
5. Разработка молекулярных вирусологических тестов	103
<i>Н. Гоффман, М. Рошал</i>	
6. Обнаружение вирусов при помощи микрочипов	127
<i>Дж. Фокс</i>	
7. Выделение вирусов	163
<i>Д. Лиланд, М. Л. Лэндри</i>	
8. Диагностика при помощи обнаружения вирусных антигенов .	189
<i>Б. Форгани</i>	
9. Серологические тесты в клинической вирусологии	222
<i>Р. Л. Ходинка</i>	
10. Хирургическая патология и цитология вирусных инфекций .	247
<i>Дж. Л. Карузо, Дж. М. Чайлдс, Д. Н. Хоуэлл</i>	
11. Электронная микроскопия вирусных инфекций	278
<i>С. Э. Миллер</i>	
12. Лабораторная диагностика вирусов в условиях ограниченных ресурсов	312
<i>Р. С. Ши, Д. М. Бендер, К. А. Петти</i>	
13. Противовирусная терапия	332
<i>Б. Ра, Д. Кимберлин, Р. Уитли</i>	
14. Распространенные детские инфекции	357
<i>Д. М. Зерр</i>	
15. Респираторные вирусные инфекции	386
<i>Р. Л. Этмар, С. Б. Гринберг</i>	
16. Инфекции желудочно-кишечного тракта	428
<i>Р. Л. Этмар, М. К. Эстес</i>	
17. Инфекции кожи и слизистых оболочек	447
<i>П. Раванфар, Н. Мендоза, А. Сатьяпракаш, Р. Крид, С. Тайринг</i>	

18. Вирусные инфекции сердца и сосудов	471
<i>Х.-П. Шультайсс, У. Кюль</i>	
19. Вирусные гепатиты	491
<i>Дж. Скотт, А. Заман, А. Чанг</i>	
20. Вирусные геморрагические лихорадки	511
<i>Й. Х. Кун, П. Б. Ярлинг, Ш. Р. Радошицки</i>	
21. Инфекции центральной нервной системы	537
<i>Дж. Л. Резнисек, К. С. Блох, Ю.-В. Танг</i>	
22. Инфекции, передающиеся половым путем	578
<i>А. Уолд, П. Е. Грэвитт, Р. А. Морроу</i>	
23. Вирусы иммунодефицита человека: ВИЧ-1 и ВИЧ-2	601
<i>Р. У. Кумбз</i>	
24. Полиомавирус. Диагностика, репликация вируса и ход болезни	632
<i>П. Синк, А. Дюмулен, Х. Х. Хири</i>	
25. Вирусные заболевания глаз	670
<i>Т. Дж. Лизеган</i>	
26. Арбовирусы	714
<i>М. Нидриг, А. Ницше, О. Доносо-Мантке</i>	
27. Вирусные инфекции у пациентов с нарушениями иммунной системы	730
<i>С. Пергам, К. Р. Джером</i>	

АВТОРЫ

Бендер Д. М. *Jeffrey M. Bender*
Department of Pediatrics, University of Utah School of Medicine, Salt Lake City, Utah, U.S.A.

Блох К. С. *Karen C. Bloch*
Departments of Medicine and Preventive Medicine, Vanderbilt University School of Medicine, Nashville, Tennessee, U.S.A.

Боуден Д. С. *D. S. Bowden*
Victorian Infectious Diseases, Reference Laboratory, Victoria, Australia (BABS), University of New South Wales, Sydney, Australia

Гоффман Н. *Noah Hoffman*
Department of Laboratory Medicine, University of Washington, Seattle, Washington, U.S.A.

Гринберг С. Б. *Stephen B. Greenberg*
Department of Medicine and Department of Molecular Virology and Microbiology, Baylor College of Medicine, Houston, Texas, U.S.A.

Грэвитт П. Е. *Patti E. Gravitt*
Department of Epidemiology, Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health, Baltimore, Maryland, U.S.A.

Джейнс Х. *Holly Janes*
Division of Public Health Sciences and Program in Biostatistics and Vaccine and Infectious Disease Institute, Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, Washington, U.S.A.

Джером К. Р. *Keith R. Jerome*
Department of Laboratory Medicine, University of Washington, and Vaccine and Infectious Disease Institute, Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, Washington, U.S.A.

Доносо-Мантке О. *Oliver Donoso-Mantke*
Robert Koch-Institut, Berlin, Germany

Дюмулен А. *Alexis Dumoulin*
Transplantation Virology and Division of Diagnostics, Institute for Medical Microbiology, Department of Biomedicine, University of Basel, Basel, Switzerland

Заман А. *Atif Zaman*
Department of Medicine, Oregon Health and Sciences University, Portland, Oregon, U.S.A.

Зерр Д. М. *Danielle M. Zerr*
Department of Pediatrics, University of Washington and Seattle Children's Hospital, Seattle, Washington, U.S.A.

Карузо Дж. Л. *James L. Caruso*
United States Navy and Duke University Medical Center, Durham, North Carolina, U.S.A.

Кюль У. *Uwe Kühl*
Medizinische Klinik II, Cardiology und Pneumonology, Charite — Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany

- Кимберлин Д.** *David Kimberlin*
Department of Pediatrics, University of Alabama at Birmingham, Birmingham, Alabama, U.S.A.
- Крид Р.** *Rosella Creed*
Center for Clinical Studies, Houston, Texas, U.S.A.
- Кумбз Р. У.** *Robert W. Coombs*
Department of Laboratory Medicine, University of Washington, Seattle, Washington, U.S.A.
- Кун Й. Х.** *Jens H. Kuhn*
NIAID Integrated Research Facility at Fort Detrick (IRF-Frederick), Fort Detrick, Frederick, Maryland, and Tunnell Consulting, Inc., King of Prussia, Pennsylvania, U.S.A.
- Лизеган Т. Дж.** *Thomas J. Liesegang*
Mayo Clinic, Jacksonville, Florida, U.S.A.
- Лиланд Д.** *Diane Leland*
Department of Pathology and Laboratory Medicine, Indiana University School of Medicine, Indianapolis, Indiana, U.S.A.
- Лэндри М. Л.** *Marie Louise Landry*
Department of Laboratory Medicine, Yale University School of Medicine, New Haven, Connecticut, U.S.A.
- Магарет А.** *Amalia Magaret*
Department of Laboratory Medicine, University of Washington, and Program in Biostatistics and Vaccine Research and Infectious Disease Institute, Fred Hutchinson Cancer Center, Seattle, Washington, U.S.A.
- Мендоза Н.** *Natalia Mendoza*
Center for Clinical Studies, Houston, Texas, U.S.A.
- Миллер С. Э.** *Sara E. Miller*
Department of Pathology, Duke University Medical Center, Durham, North Carolina, U.S.A.
- Морроу Р. А.** *Rhoda A. Morrow*
Department of Laboratory Medicine, University of Washington, and Seattle Children's, Seattle, Washington, U.S.A.
- Нидриг М.** *Matthias Niedrig*
Robert Koch-Institut, Berlin, Germany
- Ницше А.** *Andreas Nitsche*
Robert Koch-Institut, Berlin, Germany
- Пергам С.** *Steven A. Pergam*
Department of Medicine, University of Washington, and Vaccine and Infectious Disease Institute, Fred, Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, Washington, U.S.A.
- Петти К. А.** *Cathy A. Petti*
Department of Pathology, University of Utah School of Medicine, Associated Regional University Pathologists (ARUP) Laboratories, and Department of Medicine, University of Utah School of Medicine, Salt Lake City, Utah, U.S.A.

- Ра Б.** *Brian Rha*
Department of Pediatrics, University of Alabama at Birmingham, Birmingham, Alabama, U.S.A.
- Рабенау Х. Ф.** *Holger F. Rabenau*
Institute for Medical Virology, Johann Wolfgang Goethe University Frankfurt, Main, Germany
- Раванфар П.** *Parisa Ravanfar*
Department of Dermatology, Dartmouth-Hitchcock Medical Center, Lebanon, New Hampshire, U.S.A.
- Радошицки Ш. Р.** *Sheli R. Radoshitzky*
United States Army Medical Research Institute of Infectious Diseases (USAMRIID), Fort Detrick, Frederick, Maryland, U.S.A.
- Ревилл П. А.** *P. A. Revill*
Victorian Infectious Diseases Reference Laboratory, Victoria, Australia
- Резнисек Дж. Л.** *Julie E. Reznicek*
Department of Medicine, Division of Infectious Diseases, Vanderbilt University School of Medicine, Nashville, Tennessee, U.S.A.
- Рошал М.** *Misha Roshal*
Department of Laboratory Medicine, University of Washington, Seattle, Washington, U.S.A.
- Сатьяпракаш А.** *Anita Satyaprakash*
Center for Clinical Studies, Houston, Texas, U.S.A.
- Синк П.** *Paola Cinque*
Clinic of Infectious Diseases, San Raffaele Hospital, Milan, Italy
- Скотт Дж.** *John Scott*
Department of Medicine, University of Washington, Seattle, Washington, U.S.A.
- Слуте Т.** *Theo P. Sloots*
Queensland Paediatric Infectious Diseases Laboratory, Sir Albert Sakzewski Virus Research Centre, Queensland; Children's Medical Research Institute, Children's Health Service District, Brisbane, Queensland, Australia
- Тайринг С.** *Stephen Tyring*
Center for Clinical Studies, Houston, Texas, U.S.A.
- Танг Ю-В.** *Yi-Wei Tang*
Departments of Pathology and Medicine, Vanderbilt University School of Medicine, Nashville, Tennessee, U.S.A.
- Уайт П. А.** *P. A. White*
School of Biotechnology and Biomolecular Sciences (BABS), University of New South Wales, Sydney, Australia
- Уили Д.** *David M. Whitley*
Queensland Paediatric Infectious Diseases Laboratory, Sir Albert Sakzewski Virus Research Centre, Queensland; Children's Medical Research Institute, Children's Health Service District, Brisbane, Queensland, Australia
- Уитли Р.** *Richard Whitley*
Department of Pediatrics, University of Alabama at Birmingham, Birmingham, Alabama, U.S.A.

- Уолд А.** *Anna Wald*
Departments of Medicine, Laboratory Medicine, Epidemiology, University of Washington, and Vaccine and Infectious Disease Institute, Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, Washington, U.S.A.
- Фокс Дж.** *Julie Fox*
Department of Microbiology and Infectious Diseases, University of Calgary and Provincial Laboratory for Public Health (ProvLab), Calgary, Alberta, Canada
- Форгани Б.** *Bagher Forghani*
Viral Immunoserology Section, Viral and Rickettsial Disease Laboratory, California Department of Public Health, Richmond, California, U.S.A.
- Хирш Х. Х.** *Hans H. Hirsch*
Transplantation Virology and Division of Diagnostics, Institute for Medical Microbiology, Department of, Biomedicine, University of Basel, and Division of Infectious Diseases and Hospital Epidemiology, University, Hospital of Basel, Basel, Switzerland
- Ходинка Р. Л.** *Richard L. Hodinka*
Departments of Pathology and Pediatrics, Clinical Virology Laboratory, Children's Hospital of Philadelphia and University of Pennsylvania School of Medicine, Pennsylvania, Philadelphia, U.S.A.
- Хоуэлл Д. Н.** *David N. Howell*
Duke University Medical Center and Veterans Affairs Medical Center, Durham, North Carolina, U.S.A.
- Чайлдс Дж. М.** *John M. Childs*
United States Navy and Duke University Medical Center, Durham, North Carolina, U.S.A.
- Чанг А.** *Michael Chang*
Department of Medicine, Portland VA Medical Center, Portland, Oregon, U.S.A.
- Ши Р. С.** *Rosemary C. She*
Department of Pathology, University of Utah School of Medicine, Salt Lake City, Utah, U.S.A.
- Шультайсс Х.-П.** *Heinz-Peter Schultheiss*
Medizinische Klinik II, Cardiology und Pneumonology, Charite — Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany
- Эстес М. К.** *Mary K. Estes*
Department of Medicine and Department of Molecular Virology and Microbiology, Baylor College of Medicine, Houston, Texas, U.S.A.
- Этмар Р. Л.** *Robert L. Atmar*
Department of Medicine and Department of Molecular Virology and Microbiology, Baylor College of Medicine, Houston, Texas, U.S.A.
- Ярлинг П. Б.** *Peter B. Jahrling*
NIAID Integrated Research Facility at Fort Detrick (IRF-Frederick), Fort Detrick, Frederick, Maryland, U.S.A.

ПОСВЯЩЕНИЕ ЭДВИНУ А. ЛЕНNETУ

Эдвин Леннет родился 11 сентября 1908 г. в Питтсбурге (шт. Пенсильвания, США) и умер от дыхательной недостаточности после операции 1 октября 2000 г. Эти сухие и холодные факты ничего не способны сказать об этом замечательном человеке и его непростой жизни.

Он получил степень бакалавра в университете Чикаго в 1931 г., а докторскую степень — в 1935 г. Его докторская диссертация была едва ли не первой среди защищенных по дисциплине «Вирусология». Впоследствии Эдвин получил степень доктора медицины в Медицинском колледже Раша (подразделение Чикагского университета) в 1936 г. и после прохождения интернатуры некоторое время работал на кафедре патологии медицинского факультета Вашингтонского университета в Сент-Луисе, а также в лабораториях Рокфеллеровского университета в Нью-Йорке.

В это время в Фонде Рокфеллера работали над проблемами, связанными с желтой лихорадкой, и Международный отдел здравоохранения Фонда отправил Эдвина в Бразилию, где он провел весь период Второй мировой войны, изучая вирусы—возбудители желтой лихорадки и энцефалита.

В 1944 г. его перевели в лабораторию в Беркли (шт. Калифорния, США) для работы по изучению возбудителей вирусного гепатита и энцефалита. В 1947 г. Эдвин стал ее директором, чему предшествовал год работы в качестве начальника медико-ветеринарного отдела на военной базе в Форте Детрик (г. Фредерик, шт. Мэриленд, США).

За 31 год, прошедший с этого момента, Эдвин превратил свою лабораторию во всемирно известный центр подготовки и одну из ведущих лабораторий по диагностике вирусных и в риккетсиозных заболеваний. Эта лаборатория занималась исследованиями лихорадки Q и клещевого энцефалита, полиовирусов и прочих возбудителей инфекций, а также роли вирусных инфекций в развитии онкологических заболеваний человека. Многие вирусологи, прошедшие подготовку в этой лаборатории, стали впоследствии всемирно известными специалистами в диагностических лабораториях по всему миру. Помимо этой деятельности Эдвин также был консультантом множества



Эдвин Леннет (1908–2000)

правительственных агентств и принимал участие в работе целого ряда комиссий.

За время своей научной работы Эдвин опубликовал множество статей и был редактором нескольких книг, ставших классическими. Среди них «Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial, and Chlamydial Infections», над которой он работал совместно с докторами Натали Шмидт и Ричардом Эммонсом.

После ухода в отставку в 1978 г. Эдвин стал председателем Калифорнийского фонда здравоохранения, а в 1981–1982 гг. был директором Центра клеточной биологии им. Алтона Джонса в Лейк-Плэсиде (шт. Нью-Йорк, США).

Я, безусловно, много слышал о легендарном Эдвине Леннете и его многочисленных достижениях, однако лично мне удалось познакомиться с ним только в конце 1980-х гг., хотя ранее доводилось принимать участие в написании глав его книги по вирусологической диагностике. Несмотря на мой трепет перед встречей со столь уважаемым ученым и почтенным человеком, Эдвин смог быстро избавить меня от скованности. Я не перестаю им восхищаться и по сей день.

Его энциклопедические познания и необычайно остроумные практические находки были великолепны. До самого конца он отстаивал идею того, что из любого опыта следует извлекать знания, отвергая чисто технический подход, столь распространенный ныне в некоторых областях диагностики. Когда я, будучи редактором журнала «Virus Diseases», издаваемого ProMED-mail, советовал автору статьи пересмотреть его трактовку результатов и перепроверить их с использованием более старого, но надежного метода, или просто когда я высказывался, как мне потом казалось, неверно, я всегда мог рассчитывать на телефонный звонок или электронное письмо от Эдвина, в котором он говорил бы нечто вроде «так держать, молодой человек!».

Так же как я наслаждался рассказами об опытах Эдвина и чтением его ранних статей в соавторстве с Хилари Копровски, Биллом Хэммоном и другими основателями вирусологии, я наслаждался и его обществом. Эдвин был весьма суров и не терпел фамильярности ни от кого, а сам был очень дипломатичным и вежливым. Он отличался прекрасным чувством юмора, вел насыщенную общественную жизнь, щедро распоряжался своим временем и был терпелив по отношению к молодежи. Несмотря на все печали и разочарования в своей жизни, Эдвин сумел сохранить жизнелюбие. Он был одним из главных людей в моей жизни и в жизни многих других, а его дело продолжает жить, о чем свидетельствует настоящая книга.

Чарльз Кэлишер

ВВЕДЕНИЕ

При редактировании последнего издания «Лабораторной диагностики вирусных инфекций» большим удовольствием было узнавать новое о предыдущем редакторе этой книги — Эдвине Леннете. Несмотря на то что я никогда не был знаком с ним лично, истории и анекдоты о нем, рассказанные теми людьми, которые его знали, дали мне ощущение почти личного знакомства. В то же время я должен был справиться с задачей практически недостижимой — удержать невероятно высокую планку, заданную Эдвином, великолепным диагностом и ученым. Заменить собой Эдвина в этом качестве я не надеялся, но сделал все возможное для того, чтобы текст этой книги содержал как можно более полную и подробную информацию о столь любимой им дисциплине. Для того чтобы почтить заслуги Эдвина, название настоящего издания было изменено на «Лабораторную диагностику вирусных инфекций по Леннету».

Одной из самых сложных задач при подборе материала книги было найти нишу, не занятую ни одним из уже изданных руководств по вирусологии. Для этого текст пришлось подвергнуть значительной переработке. Первая часть книги практически не отличается от предыдущих изданий, в ней детально описаны различные технологии, лежащие в основе современной диагностической вирусологии. Преподнести материал второй части было гораздо труднее. Наиболее простым решением для ее построения было бы перечисление семейств вирусов и их клинических проявлений, однако такой подход уже устарел. Мы решили использовать синдромный подход, как предложил мой коллега, доктор Йи-Вей Тан. К примеру, если у пациента симптомы вирусного энцефалита, читатель может найти полезные для диагностики сведения в главе, посвященной инфекциям ЦНС, где в дифференциальной форме изложены диагнозы для всех возможных возбудителей, а также оптимальные методики лабораторной диагностики. Хотя такая реорганизация материала возлагала на нас задачу не допустить избыточности или пропусков, я считаю, что этот подход сделает книгу особенно ценной для студентов, изучающих диагностику различных заболеваний, а также для лаборантов.

Клиническая вирусология сильно изменилась за прошедшие с момента последней публикации этой книги 10 лет, поэтому настоящее издание было практически полностью переписано. Важность молекулярных подходов в диагностике продолжает возрастать, и подобным методикам посвящено несколько глав, касающихся различных тем, среди которых — разработка молекулярных тестов, генотипирование и секвенирование вирусных геномов, а также использование микрочипов в диагностике. Еще одна актуальная тема — появление глобальных проблем, связанных с вирусологией, что отражено в новой главе о диагностике вирусных инфекций в условиях ограниченной

доступности оборудования и расходных материалов. Продолжается также выявление взаимосвязей между вирусами и клинической симптоматикой, что обсуждается в главах, посвященных респираторным инфекциям, полиомавирусным инфекциям, геморрагическим лихорадкам, а также во многих других разделах книги.

При подготовке настоящего издания неоценимой оказалась помощь сотрудниц издательства «Informa» Марии Лоруссо, которая первой привлекла мое внимание к проекту, и Эйми Лассен, взявшей на себя многочисленные организационные вопросы во время работы над книгой. Я также хотел бы поблагодарить моего коллегу, доктора Роду Морроу, за советы и поддержку в ходе работы над проектом.

В предисловии к предыдущему изданию Эдвин говорил о том, что данная книга предназначена для лаборанта в качестве справочной информации при диагностике вирусной инфекции. Это же осталось целью и нового издания, достичь которой было нелегко из-за быстро меняющихся методик, непрерывного обнаружения новых вирусов и появления доказательств вирусной природы клинических синдромов. Я надеюсь, что читатели этого нового издания найдут книгу полезной и хотя бы немного разделят энтузиазм Эдвина по отношению к непрерывно развивающейся и неизменно захватывающей науке вирусологии.

Кит Р. Джером

1 ПРОВЕРКА ТОЧНОСТИ И ДОСТОВЕРНОСТИ ЛАБОРАТОРНЫХ ВИРУСОЛОГИЧЕСКИХ ТЕСТОВ В КЛИНИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ

Х.Ф. Рабенау

Holger F. Rabenau, Institute for Medical Virology, Johann Wolfgang Goethe University Frankfurt/Main, Germany

Х.Х. Кесслер и Р.Б. Рэггам

Harald H. Kessler and Reinhard B. Raggam, Molecular Diagnostics Laboratory, Institute of Hygiene, Microbiology, and Environmental Medicine, Medical University of Graz, Austria

Э. Бергер

Annemarie Berger, Institute for Medical Virology, Johann Wolfgang Goethe University Frankfurt/Main, Germany

ВВЕДЕНИЕ

Наиболее распространенные методы диагностики вирусов включают в себя как прямые, так и непрямые способы их обнаружения. Непрямое обнаружение вирусов осуществляется главным образом в результате серологических исследований. Методы прямого выявления вирусов включают в себя определение вирусных антигенов, вирусных частиц или их компонентов при помощи выделения вирусов в культурах клеток (либо в лабораторных животных), а также анализ нуклеиновых кислот вирусов. Морфологию вирусов можно также изучать при помощи трансмиссионной электронной микроскопии.

На сегодняшний день выявление нуклеиновых кислот играет решающую роль в диагностике вирусов. Молекулярные методики используются во многих, если не в подавляющем большинстве вирусологических лабораторий. Технологические усовершенствования, начиная от автоматизации подготовки образцов и заканчивая технологией автоматической амплификации, дают возможность разработки и внедрения в клиническую практику методик выявления большинства вирусов. Риск загрязнения образца в последнее время существенно снизился, а время, необходимое для получения результата, заметно сократилось. Однако стандартизация и методики контроля качества и проверки результатов в последние годы оставались без должного внимания и сейчас требуют усовершенствования.

Следует помнить, что качественная диагностика в вирусологии требует дополнительных подготовительных мероприятий, таких как выбор правильного материала для проб, оптимального времени отбора образцов для анализа в соответствии со стадией течения заболевания,

а также сокращения времени транспортировки образцов в диагностическую лабораторию.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА И ПРОВЕРКА РЕЗУЛЬТАТОВ

Действующие на сегодняшний день требования к медицинским лабораториям регламентированы международным стандартом ISO 15189. Вот уже несколько редакций подряд этот стандарт включает в себя методики проверки результатов и контроля их качества. Для диагностических лабораторий в США FDA (Федеральное управление по контролю качества продуктов и лекарственных средств) разработало правила, основанные на существующих стандартах ISO [1].

Директива Европейского союза относительно медицинских приборов для диагностики *in vitro* (*In vitro diagnostics, IVD*) требует от производителя предоставления данных о том, что прибор соответствует заявленным показателям и не утратит этого соответствия после хранения, транспортировки и установки на месте эксплуатации [2].

Системы контроля качества внедрены в большинстве диагностических лабораторий. В отличие от сертификации, которая в первую очередь основана на надзоре, описании и проверке различных процессов, при аккредитации обращают дополнительное внимание на способность лаборатории получать верные результаты и возможность правильно их интерпретировать.

Контроль качества требует ведения в лаборатории строгой отчетности. Для каждого теста или тест-системы должна существовать стандартная методика работы (SOP, *standard operation procedure*) и должны быть представлены способы проверки получаемых результатов (рис. 1.1).



Рис. 1.1. Первичная проверка и подтверждение достоверности данных вирусологических тестов и тест-систем

Проверка точности и достоверности тестов или тест-систем, применяемых в диагностической лаборатории

Использование подходящего метода не всегда гарантирует правильность его исполнения и достоверность результатов. Стандарт ISO 15189, директива IVD 98/79/EC и правила FDA требуют проверки

точности и достоверности каждой процедуры исследования для обеспечения использования той или иной методики по назначению и для правильности ее проведения. Сложность и объем применяемых для проверки подходов различаются в зависимости от того, проверяется ли с их помощью тест, соответствующий требованиям IVD/CE и/или FDA, либо тест, разработанный в конкретной диагностической лаборатории и проверки на соответствие указанным требованиям не прошедший. Для проведения диагностики с использованием подобных тестов или тест-систем следует отдавать предпочтение приборам и реагентам, рекомендованным FDA. Использование в диагностических целях любых реагентов, маркированных «только для исследовательских целей» («*Research use only*», RUO), в США запрещено для любого теста или тест-системы, применяемых в клинической диагностической лаборатории. В Европе один или более реагентов с такой маркировкой может быть использован в диагностических тест-системах после проверки достоверности получаемых результатов. Как термин «медицинское устройство для диагностики *in vitro*», используемый в директиве IVD 98/79/ЕС, так и термин «прибор», используемый в нормативных актах FDA, может означать не только тест, но также и тест-систему в том случае, если для получения результата необходимо более одного компонента. Так, диагностические системы, базирующиеся на методе ПЦР, требуют для проведения анализа множества реактивов и приборов для выделения ДНК, амплификации и анализа ПЦР-продуктов.

Проверка точности и достоверности результатов необходима при внедрении теста или тест-системы в повседневную клиническую практику диагностической лаборатории (см. рис. 1.1). Проведение одной или обеих указанных процедур требуется и при внесении изменений в существующие диагностические методики [3].

Производитель коммерческих тестов или тест-систем, регламентированных FDA и/или IVD/CE, должен гарантировать достижение заявленных параметров системы после ее доставки и установки на месте использования. Тем не менее это не освобождает конечного пользователя от необходимости проверки характеристик результатов такого теста или тест-системы, в особенности таких, как правильность и точность (табл. 1.1). Правильность (по старой номенклатуре — правдивость) может быть выражена как отношение измеренного или вычисленного значения параметра к его истинному значению и вычисляется с использованием литературных данных или эталонного метода (рис. 1.2). Только эти два подхода допустимы при анализе правильности. При невозможности использования ни одного из них следует выбрать другой способ для установления степени правильности методики. Неточность определяется как разброс отдельных результатов теста как внутри одной выборки, так и в разных. Неточность чаще всего характеризуется с помощью стандартного отклонения и коэффициента вариации. В случае если тест или тест-система предоставляет количественные результаты, необходима также проверка на линейность (см. табл. 1.1).

	Правильный и точный
	Неправильный, но точный
	Неточный, но правильный
	Неточный и неправильный

Рис. 1.2. Точность и правильность результатов

Таблица 1.1

Минимальные требования при первичной проверке и подтверждении достоверности тестов и тест-систем в клинической вирусологии

Проверка точности и достоверности (верификация)	Подтверждение точности и достоверности (валидация)
Точность	Точность
Стандартное отклонение (внутри выборки и между выборками)	Воспроизводимость
Линейность (для количественных методов)	Селективность
	Стандартное отклонение (внутри выборки и между выборками)
	Линейность (для количественных методов)

Линейность подразумевает определение диапазона, в котором получаемые данные имеют линейную зависимость от истинного значения определяемого параметра. Данные тестов на линейность должны подвергаться анализу линейной регрессии с идеальным коэффициентом регрессии в 1. В случае нелинейности кривой следует пользоваться любым достоверным статистическим методом [4].

Если диагностическая лаборатория использует тесты или тест-системы, не регламентированные IVD/CE и/или FDA, или использует не предполагаемую производителем комбинацию таких тестов,

то она сама выступает в качестве производителя, а следовательно, несет ответственность за качество получаемых результатов и их пригодность для диагностических целей. Тесты и тест-системы, используемые такой лабораторией, должны пройти проверку достоверности результатов, включающую в себя проверки точности, правильности, воспроизводимости, селективности и — для количественных методов — линейности (см. табл. 1.1). Проверка воспроизводимости (аналитической чувствительности) подразумевает анализ биологических образцов с заранее известным количеством аналита. Селективность (аналитическая специфичность) отражает способность метода определять присутствие (и количество в случае систем количественного анализа) аналита в сложных смесях биологического материала, называемых фоном. Для селективного теста должна быть исключена любая возможность перекрестной реакции с любым аналитом, помимо того, для определения которого он предназначен. Исследования по взаимодействию аналитов позволяют оценить влияние на результаты тестирования различных веществ, таких как гемоглобин, ревматоидный фактор, аутоантитела, частички материала инструментов для сбора и хранения проб и наиболее часто применяемые при данном заболевании лекарственные препараты. Важно упомянуть, что использование внутреннего контроля (см. ниже) позволяет производить дополнительную проверку для каждого анализа по отдельности на возможное влияние компонентов пробы и таким образом увеличить достоверность теста или тест-системы, основанных на анализе нуклеиновых кислот.

Минимальные требования для процедур контроля точности и достоверности результатов вирусологических тестов описаны в последующих разделах. В том случае, если материал для калибровки труднодоступен или если метод основывается на научной публикации, можно применять упрощенную процедуру проверки. Обычно для калибровки служат референтные образцы, собираемый у пациентов биоматериал или пулы сывороток. При использовании для калибровки образцов от пациентов или пулов сывороток пробы должны быть заранее исследованы с применением наиболее точного и достоверного метода из уже применяемых («золотого стандарта»). Калибровочные образцы могут быть положительными, слабopоложительными и отрицательными. Для тестов и тест-систем на вирусные антигены и вирусспецифичные антитела положительные образцы определяются как образцы с концентрацией аналита, в три и более раз превышающей нижний порог чувствительности метода или порог количественного анализа (см. ниже), и находящиеся ниже верхней границы линейности; слабopоложительными называют образцы с содержанием аналита, не превышающим более чем в три раза порога чувствительности или порога количественного анализа. Для тестов на нуклеиновые кислоты положительными пробами считаются те, в которых концентрация аналита превышает величину, равную 10 в степени значения порога чувствительности метода или порога количественного анализа,

и лежит в пределах участка линейности, тогда как слабоположительными называют пробы с концентрацией аналита, не превышающей этого значения на порядок. Если для проведения проверки требуется более одного положительного контроля, в таких контролях должны быть использованы разные концентрации аналитов.

Минимальные требования, кратко освещенные в этой главе, применимы для всех процедур проверки точности и достоверности в клинической вирусологии. Тем не менее тесты и тест-системы, предназначенные для выявления патогенов списка А приложения II Директивы 98/79/ЕС (вирус иммунодефицита человека 1 и 2, Т-лимфотропный вирус человека типов I и II, вирусы гепатита В, С и D), здесь не рассматриваются в силу действующих для них специальных нормативов (статья 9 Директивы 98/79/ЕС). Технические параметры, принятые для таких тестов и тест-систем, изложены в решениях Еврокомиссии от 7 мая 2002 г. [5]

Минимальные требования к проверке достоверности результатов регламентированных FDA и/или IVD/CE тестов и тест-систем, предназначенных для определения вирусспецифичных антител, вирусных антигенов и нуклеиновых кислот вирусов

При внедрении регламентированного IVD/CE теста или тест-системы для обнаружения вирусспецифичных антител или вирусных антигенов либо теста на нуклеиновые кислоты в диагностическую лабораторную практику производят эксперименты по проверке правильности, точности и (для количественных тест-систем) линейности (табл. 1.2). Для определения точности используют три положительных, три слабоположительных и три отрицательных контроля. Для качественной системы для оценки отклонений отдельного эксперимента (теста) используют одну положительную и одну слабоположительную пробу. Каждый образец исследуют трижды. Для определения отклонений между повторами эксперимента (теста) используют один положительный и один слабоположительный образец. Каждый образец исследуют по одному разу в течение трех разных дней. Для оценки разброса результатов отдельного эксперимента при использовании количественного теста или тест-системы, определяющих вирусспецифичные антитела или вирусные антигены, используют четыре положительных и три слабоположительных образца; для оценки разброса между повторами эксперимента используют два положительных и один слабоположительный образец. Для тестов на нуклеиновые кислоты рекомендуется использовать три положительных и три слабоположительных образца для оценки разброса внутри отдельного эксперимента и по одному положительному и слабоположительному образцу для оценки разброса между повторами эксперимента.

В целях оптимизации процесса проверки допустимо принять первый результат теста разброса внутри эксперимента и в качестве пер-

Таблица 1.2

Проверка точности регламентированных IVD/CE и/или FDA тестов и тест-систем, определяющих вирусспецифичные антитела, вирусные антигены, а также тестов на нуклеиновые кислоты

		Необходимое количество образцов			
		Определение вирусспецифичных антигенов		Тесты на нуклеиновые кислоты	
Параметр	Тип образца	Качественный тест	Количественный тест	Качественный тест	Количественный тест
Точность	Положительный ^а	3	3	3	3
	Слабopоложительный ^б	3	3	3	3
	Отрицательный	3	3	3	3
Разброс внутри отдельного эксперимента	Положительный ^а	1	4	1	3
	Слабopоложительный ^б	1	3	1	3
Разброс между повторами эксперимента	Положительный ^а	1	2	1	1
	Слабopоложительный ^б	1	1	1	1
Линейность	Положительный ^а	0	1	0	1

^а Более чем на порядок выше нижнего предела чувствительности метода или предела количественного анализа и в пределах участка линейности результатов.

^б Не более чем на порядок выше нижнего предела чувствительности или предела количественного анализа теста или тест-системы

вого результата теста разброса между повторами эксперимента, что позволит для завершения оценки разброса между повторами эксперимента провести тест только два раза. Для количественных тестов и тест-систем требуется проверка линейности — определение количества аналита в серии кратных (как правило, десятикратных) разведений положительной пробы (не менее трех последовательных разведений), выполняемое для двух повторов каждой точки.

Рекомендуется также следить за результатами, получаемыми с использованием регламентированных IVD/CE и/или FDA тестов и тест-систем, и после их внедрения в диагностическую практику. Для этого используют дополнительный контрольный образец, независимый от положительных контрольных образцов, предоставляемых поставщиком теста или тест-системы, и применяемый либо при каждом использовании теста, либо через определенные временные интервалы. При внедрении новой тест-системы различие результатов, получаемых для дополнительного контрольного образца и для положительных проб, предоставляемых производителем, позволяет на ранней стадии выявить критические ошибки (рис. 1.3). Полезно также про-

вести статистический анализ результатов, получаемых для дополнительного контрольного образца и для положительных контролей.



Рис. 1.3. Использование дополнительного контрольного образца в тесте для выявления нуклеиновых кислот (стрелки обозначают введение нового образца)

Минимальные требования к проверке точности результатов разработанных в лаборатории тестов и тест-систем, предназначенных для определения вирусспецифических антител, вирусных антигенов и нуклеиновых кислот

Для разработанного в лаборатории теста или тест-системы, предназначенных для определения вирусспецифических антител, вирусных антигенов и нуклеиновых кислот в диагностической практике, эксперименты по проверке точности результатов включают проверку правильности, воспроизводимости, селективности, разброса и (для количественных систем) линейности (табл. 1.3). Для определения правильности используют три положительных, три слабоположительных и три отрицательных образца. Для установления воспроизводимости используют 10 положительных и 10 слабоположительных проб. Селективность теста на вирусспецифические антитела определяют анализом 10 отрицательных проб, включающих антитела, способные давать перекрестные реакции. Для тестов на вирусные антигены и нуклеиновые кислоты используют 10 отрицательных проб, содержащих материал вирусов того же семейства и материал, способный приводить к перекрестным реакциям. Каждый аналит, потенциально ведущий к перекрестным реакциям, должен присутствовать в больших концентрациях (не менее 10^5 ЦПЕ₅₀/мл (50% цитопатогенных единиц, TCID₅₀, от англ. *tissue culture infective dose*) или 10^5 геномных эквивалентов в 1 мл). Помимо этого, для проверки селективности требуется 10 слабоположительных образцов, в том числе, например,

образцы с повышенным содержанием гемоглобина, положительные на ревматоидный фактор и/или содержащие аутоантитела. Определение разброса внутри выборки и между выборками сходно с таковым для процедур проверки достоверности результатов, за исключением большего числа положительных проб при проверке количественных тестов (шесть положительных проб вместо трех для определения разброса внутри отдельного эксперимента и две вместо одной для определения разброса между повторами эксперимента). Для количествен-

Таблица 1.3

Проверка точности результатов разработанного в лаборатории теста или тест-системы, определяющих вирусспецифичные антитела, вирусные антигены и нуклеиновые кислоты

		Необходимое количество образцов			
		Определение анти-тел или антигенов		Тесты для вы-явления нуклеи-новых кислот	
Параметр	Тип образца	Каче-ственный тест	Количе-ственный тест	Каче-ственный тест	Количе-ственный тест
Точность	Положительный ^а	3	3	3	3
	Слабоположи-тельный ^б	3	3	3	3
	Отрицательный	3	3	3	3
Степень вы-деления	Положительный ^а	10	10	10	10
	Слабоположи-тельный ^б	10	10	10	10
Селектив-ность	Отрицательный ^в	10	10	10	10
	Слабоположи-тельный ^{б,г}	10	10	10	10
Разброс вну-три выборки	Положительный ^а	1	6	1	6
	Слабоположи-тельный ^б	1	3	1	3
Разброс между вы-борками	Положительный ^а	1	2	1	2
	Слабоположи-тельный ^б	1	1	1	1
Линейность	Положитель-ный ^{а,д}	0	2	0	2

^а Более чем на порядок выше нижнего предела чувствительности метода или пре-дела количественного анализа и в пределах участка линейности результатов.

^б Не более чем на порядок выше нижнего предела чувствительности или предела количественного анализа теста или тест-системы.

^в Образцы, способные давать перекрестные реакции.

^г Образцы, содержащие вещества, способные исказить результат.

^д Последовательные разведения (не менее четырех) двух образцов, исследованные в двух повторях на каждую точку и дважды в разные рабочие дни

ного теста или тест-системы, разработанных в лаборатории, требуется также проверка линейности, включающая анализ серии последовательных разведений (не менее четырех) двух положительных образцов с двумя повторами каждой точки, воспроизведенных в два разных рабочих дня.

Процедуры, необходимые для внедрения разработанного в лаборатории теста для выявления нуклеиновых кислот в диагностическую практику

При разработке теста для выявления нуклеиновых кислот последовательности используемых в нем праймеров и зондов должны проходить тщательную проверку по базе данных геномов. В качестве дополнительных мер проверки следует секвенировать продукт амплификации, получаемый в тесте. Также рекомендуется использовать пару праймеров, публиковавшуюся в авторитетном журнале, чтобы уменьшить объем необходимых исследований для подтверждения специфичности. Тем не менее такие праймеры следует сравнивать с выровненными известными геномными последовательностями патогена для подтверждения правильности опубликованной последовательности.

Кроме того, необходимо подвергать проверке такие составляющие теста, как использованный молекулярно-биологический метод, способ определения результата, наличие внутреннего контроля и метод количественного определения. Автоматизация позволяет свести к минимуму ошибки молекулярно-биологического метода, вызванные человеческим фактором. Для обеспечения специфичных по отношению к аналиту результатов требуется внедрение распознавания зонда, поскольку анализ кривой плавления без зондов не обеспечивает нужной специфичности. Поскольку амплификация может оказаться неудачной из-за наличия ингибиторов в пробе, каждый тест должен включать в себя внутренний контроль, позволяющий исключить ложноотрицательные результаты. Для обеспечения контроля теста на нуклеиновые кислоты вируса на всех его этапах внутренний контроль следует вносить в образцы до выделения нуклеиновой кислоты. Для этих целей допускается применение как гомологичного, так и гетерологичного внутреннего контроля. Гомологичным внутренним контролем может служить ДНК (для тестов, задействующих амплификацию ДНК) или РНК-транскрипт, полученный *in vitro* (для РНК-тестов), который содержит сайты отжига праймеров, идентичные таковым в целевой последовательности. Эти сайты фланкируют случайную последовательность, по нуклеотидному составу близкую к последовательности выявляемого вируса, а также сайт связывания зонда, позволяющий отличить продукты амплификации внутреннего контроля от продуктов амплификации целевой последовательности. Таким образом можно изготовить как единичный внутренний контроль, так и серию контролей для набора тестов [6, 7]. В отличие

от гомологичного контроля, гетерологичный контроль представляет другую амплификационную систему в том же реакционном объеме. Контроль должен иметь такие же, как у целевой последовательности, или близкие эффективности выделения нуклеиновой кислоты и амплификации. В качестве гетерологичного контроля удобно использовать стандартные референсные гены эукариот (гены «домашнего хозяйства», *housekeeping genes*) или плазмиды [8]. Как гомологичный, так и гетерологичный контроль вносят в пробу в небольшой концентрации во избежание конкуренции с целевой последовательностью за компоненты реакционной смеси. При разработке тестов, основанных на ПЦР, следует избегать количественного анализа по конечной точке; вместо этого можно использовать одну из точек логарифмической фазы амплификации.

Дополнительные этапы проверки точности результатов разработанных в лаборатории тестов или тест-систем

При проверке разработанного в лаборатории теста или тест-системы следует установить предел чувствительности или предел количественного анализа. Пределом чувствительности называют минимальную концентрацию аналита, которую при помощи метода можно достоверно определить как присутствующую в образце, а пределом количественного анализа — минимальную концентрацию, для которой возможно достоверное определение количества аналита в пробе. Определение этих пределов должно быть четко прописано в протоколе проверки точности системы. Ранее был опубликован частично непараметрический подход к определению таких пределов [9]. Если контрольного (референсного) материала не существует, определение этих пределов невозможно. Для таких случаев при внедрении теста в диагностическую практику предпочтительно применять его в формате ПЦР в реальном времени, позволяющем получить по крайней мере полуколичественные результаты [10, 11].

Помимо этого, следует проводить тесты на диагностическую правильность, особенно в случае если исходный тест был модифицирован или заменен. Тест на диагностическую правильность включает сравнение результатов, полученных с использованием проверяемого теста или тест-системы, с результатами эталонного метода. Для проверки диагностической правильности тоже должен быть исследован ряд параметров [12]. Диагностическая правильность подразумевает диагностическую чувствительность (способность выявлять пациентов с интересующим состоянием) и диагностическую специфичность (способность метода давать разные результаты при обследовании больных с интересующим состоянием и без него). В клинической вирусологии минимальное требование при проверке диагностической правильности — сравнение результатов проверяемого и эталонного методов. Такое сравнение должно быть проведено для 20 образцов (семь положительных, шесть слабоположительных и семь отрицательных).

Проверка достоверности выделения вирусов на клеточных культурах

Выделение вирусов с использованием клеточных культур представляет собой трудностандартизуемый метод, что делает его проверку особенно актуальной. Прежде всего нужно проверить, подходит ли культура клеток для выделения данного вируса. При внедрении клеточной культуры в качестве индикаторной системы ее необходимо протестировать на чувствительность как к эталонному вирусу из коллекции микроорганизмов, так и к штаммам дикого типа, взятым в двух концентрациях. После раститровки стока вируса инокуляты для проверки восприимчивости культуры должны содержать 0,1 (положительный контроль) и 0,01 (слабоположительный контроль) инфекционной дозы на клетку. Исследования должны быть проведены в трех повторах на каждую точку и воспроизведены в три разных рабочих дня. Определение разброса производят с использованием 20 штаммов дикого типа, тестируемых параллельно на классически используемой и внедряемой клеточных линиях (табл. 1.4). Жизнеспособность клеток и влияние материала пробы на развитие цитопатогенного действия тщательно отслеживают и фиксируют.

Таблица 1.4

Проверка методов выделения вирусов на клеточных культурах

Параметр	Тип образца	Необходимое количество образцов
Чувствительность	Положительный ^а	1
	Слабоположительный ^б	1
Разброс	Дикий тип	20

^а 0,1 инфекционной дозы на клетку.
^б 0,01 инфекционной дозы на клетку

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Внедрение нового теста или тест-системы в лабораторную практику требует тщательной проверки точности и достоверности получаемых с их помощью результатов на соответствие стандартам, заложенным в системе управления качеством, и соответствие требованиям ISO 15189 и/или FDA. Тест или тест-система, регламентированные IVD/CE и/или FDA, требуют только проверки точности результатов, тогда как для системы, разработанной в диагностической лаборатории, важна проверка и диагностической пригодности, и точности результатов. Тем не менее ни одна из этих процедур не дает полной гарантии постоянной корректности результатов, что обуславливает необходимость регулярного контроля качества непосредственно в диагностической лаборатории.

ЛИТЕРАТУРА

1. U.S. Food and Drug Administration Website. <http://www.fda.gov>. Accessed August 25, 2009.
2. Directive 98/79/EC of the European Parliament and of the Council of 27 October 1998 on in vitro diagnostic medical devices. Official J Eur Communities 1998; L331:1–37.
3. Rabenau HF, Kessler HH, Kortenbusch M, et al. Verification and validation of diagnostic laboratory tests in clinical virology. J Clin Virol 2007; 40:93–98.
4. Linnet K, Boyd JC. Selection and analytical evaluation of methods — With statistical techniques. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. St. Louis, MO: Saunders, 2006:353–407.
5. Commission Decision of 7 May 2002 on common technical specifications for in vitro-diagnostic medical devices. Official J Eur Communities 2002; L131:17–30.
6. Raggam RB, Leitner E, Mühlbauer G, et al. Rapid detection of *Legionella* species in bronchoalveolar lavages and induced sputa by automated DNA extraction and real-time polymerase chain reaction. Med Microbiol Immunol 2002; 191:119–125.
7. Raggam RB, Leitner E, Berg J, et al. Single-run, parallel detection of DNA from three pneumonia-producing bacteria by real-time polymerase chain reaction. J Mol Diag 2005; 7:133–138.
8. Koidl C, Bozic M, Mossböck G, et al. Rapid diagnosis of adenoviral keratoconjunctivitis by a fully automated molecular assay. Ophthalmology 2005; 112:1521–1527.
9. Linnet K, Kondratovich M. Partly nonparametric approach for determining the limit of detection. Clin Chem 2004; 50:732–740.
10. Rasmussen R. Quantification on the LightCycler. In: Meuer S, Wittwer C, Nakagawara K, eds. Rapid Cycle Real-time PCR, Methods and Applications. Berlin: Springer-Verlag, 2001:21–34.
11. Koidl C, Bozic M, Berg J, et al. Detection of transfusion transmitted virus DNA by real-time PCR. J Clin Virol 2004; 29:277–281.
12. Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, et al. The STARD statement for reporting studies of diagnostic accuracy: explanation and elaboration. Clin Chem 2003; 49:7–18.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Краткое оглавление	3
Авторы	5
Посвящение Эдвину А. Леннету	9
Введение	11
1. Проверка точности и достоверности лабораторных вирусологических тестов в клинической диагностической лаборатории	13
Введение	13
Контроль качества и проверка результатов	14
Проверка точности и достоверности тестов или тест-систем, применяемых в диагностической лаборатории	14
Минимальные требования к проверке достоверности результатов регламентированных FDA и/или IVD/CE тестов и тест-систем, предназначенных для определения вирусспецифичных антител, вирусных антигенов и нуклеиновых кислот вирусов	18
Минимальные требования к проверке точности результатов разработанных в лаборатории тестов и тест-систем, предназначенных для определения вирусспецифичных антител, вирусных антигенов и нуклеиновых кислот	20
Процедуры, необходимые для внедрения разработанного в лаборатории теста для выявления нуклеиновых кислот в диагностическую практику	22
Дополнительные этапы проверки точности результатов разработанных в лаборатории тестов или тест-систем	23
Проверка достоверности выделения вирусов на клеточных культурах	24
Заключение	24
Литература	25
2. Статистический анализ результатов диагностических тестов	26
Введение	26
Статистический анализ бинарных тестов	27
Вероятности классификации	27
Прогностическая ценность	29
Другие показатели качества данных	31
Сравнение бинарных тестов	32
Статистический анализ непрерывных (параметрических) тестов	33
Кривая ошибок (ROC-кривая)	33
Суммарная оценка кривой ошибок	35
Другие способы оценки качества теста	36
Сравнение непрерывных тестов	36
Неоднозначные результаты теста	37
Рекомендации по планированию эксперимента	38
Стадии исследования	38

План исследования	38
Вопросы, не рассмотренные в главе	39
Литература	40
3. Методы молекулярной амплификации в диагностике вирусных инфекций	42
Введение	42
Циклические методы амплификации	43
Полимеразная цепная реакция	43
Методы регистрации результата ПЦР	44
ПЦР в реальном времени	45
Каскадная (вложенная) ПЦР	46
Мультиплексная ПЦР	48
Количественная ПЦР	48
Другие методы направленной амплификации	49
Амплификация, основанная на последовательности нуклеотидов	49
Амплификация, опосредованная транскрипцией	51
Амплификация с вытеснением цепи	51
Амплификация по типу катящегося кольца	54
Изотермическая амплификация, опосредованная петлей	54
Методы амплификации зондов	55
Лигазная цепная реакция	55
Технология зондового цикла	56
Методы амплификации сигнала	57
Разветвленная ДНК	57
Гибридный захват	59
Метод защиты гибридизацией	59
Выделение новых вирусов	61
Полиморфизм длины амплифицированных фрагментов кДНК, позволяющий обнаружить новые вирусы	62
ДНК-микрочипы широкой специфичности	63
Неспецифичная ПЦР-амплификация и высокопроизводительное секвенирование	63
Ограничения применения молекулярной амплификации в вирусологической диагностике	65
Заключение	66
Литература	68
4. Генотипирование вирусов и секвенирование вирусных геномов	73
Введение	73
Мутации вирусов	73
Определение генотипов	75
Рекомбинация	77
Филогенетический анализ	78
Методология генотипирования. Традиционные методики	79
Традиционные методы секвенирования	81
Полиморфизм длины рестрикционных фрагментов	81

ПЦР и специфичные к генотипу праймеры	82
Обращенно-фазная гибридизация	82
Анализ подвижности гетеродуплексов	82
Новые методы генотипирования	83
Масс-спектрометрия	83
Микрочипы	84
Массовое высокопроизводительное секвенирование	84
Высокопроизводительное пиросеквенирование	88
Патогенез вирусных заболеваний	89
Ответ на лечение	90
Анализ квазивидов вирусов	90
Выявление устойчивости к терапии	91
Описание новых вирусов	94
Молекулярная эпидемиология	95
Заключение	95
Благодарности	95
Литература	96
5. Разработка молекулярных вирусологических тестов	103
Введение	103
Биологические причины вариации геномных последовательностей	103
Цели и методология тестирования	105
Основные проблемы молекулярных тестов	107
Стратегии отбора потенциальных целевых последовательностей	109
Источники данных о секвенированных вирусных геномах	110
Курируемые базы данных нуклеотидных последовательностей вирусов	110
Прочие открытые базы данных нуклеотидных последовательностей	111
Анализ последовательностей	114
Оценка качества определения последовательности	115
Построение множественных выравниваний	115
Создание репрезентативного набора последовательностей	117
Прочие инструменты биоинформатики	121
Разрешение проблем, связанных с неизбежной гетерогенностью целевых последовательностей	122
Заключение	123
Литература	124
6. Обнаружение вирусов при помощи микрочипов	127
Введение в метод микрочипов	127
Форматы микрочипов, используемые для диагностики	129
Методики амплификации и внесения метки	129
Подложки для микрочипов и синтез зондов	132
Выявление нуклеиновых кислот при помощи твердофазных микрочипов	133
Секвенирующие микрочипы	138

Проточные и 3D/4D микрочипы	140
Суспензионные микрочипы	140
Универсальные микрочипы	142
Юридические аспекты использования диагностических методов, основанных на применении микрочипов	142
Контроль качества и проверка получаемых результатов	143
Примеры использования микрочипов для обнаружения и диагностики вирусов	143
Скрининг вирусов в крови	144
Обнаружение респираторных вирусов	144
Вирусные инфекции центральной нервной системы	147
Выявление и дифференциация герпесвирусов	147
Выявление и дифференциация поксвирусов и герпесвирусов	148
Вирусные инфекции желудочно-кишечного тракта	148
Анализ серотипов, вариантов и генотипов вирусов при помощи микрочипов	148
Дифференциация типов папилломавируса человека	148
Анализ гематогенных вирусов при помощи микрочипов	149
Анализ и надзор за респираторными вирусами при помощи микрочипов	151
Идентификация штаммов вируса гриппа В	152
Серотипирование пикорнавирусов	154
Серотипирование ADV	154
Анализ вирусов желудочно-кишечного тракта при помощи микрочипов	155
Генотипирование вируса кори	156
Генотипирование VZV	157
Анализ вируса оспы	157
Заключение	157
Литература	158
7. Выделение вирусов	163
Введение	163
Традиционные культуральные методы	164
Типы клеточных культур	164
Отбор, транспортировка и обработка образцов	165
Инокуляция и инкубация	166
Микроскопические исследования монослоев клеточных культур	167
Гемадсорбция	168
Точная идентификация штамма вируса	169
Вирусы, выделенные в клеточных культурах	170
Случайная контаминация клеточных культур	174
Выявление неизвестных возбудителей инфекций	174
Преимущества и недостатки выделения вирусов с использованием традиционных клеточных культур	175
Ускоренные культуральные методы	176
Центрифугированные культуры (однослойные культуры клеток)	176

Смешанные клеточные культуры и смеси антител	178
Генетически модифицированные клеточные линии	181
Криоконсервированные клетки	182
Заключение	182
Литература	184
8. Диагностика при помощи обнаружения вирусных антигенов . .	189
Введение	189
Теоретические основы взаимодействия антител с антигенами	190
Антиген	190
Основы кинетики иммунных методов	191
Описание методик выявления вирусных антигенов	192
Выявление вирусных антигенов при помощи реакции иммунофлуоресценции	192
Выявление вирусных антигенов с использованием радиоиммунного анализа	194
Выявление вирусных антигенов при помощи иммуноферментных методов	195
Системы на основе авидина—биотина	199
Метод агглютинации латексных частиц	200
Выявление вирусных антигенов при помощи мембранного иммуноферментного анализа	200
Иммунофлуориметрия в реальном времени	203
Белковые чипы	203
Диагностические методики на основе нанотехнологий	204
Факторы, влияющие на работу иммунологических методов	205
Отбор образцов	205
Антитела	205
Конъюгаты	206
Флуоресцентная микроскопия	207
Твердые подложки	207
Ферменты	208
Субстраты	209
Неспецифические реакции	210
Фиксация и фиксирующие реактивы	213
Заливочная среда	213
Автоматизация	214
Отчеты о результатах диагностики при помощи иммунологических методов	215
Отказ от правовой ответственности	216
Литература	216
9. Серологические тесты в клинической вирусологии	222
Введение	222
Антительный ответ на вирусные инфекции	224
Процедуры обнаружения противовирусных антител	225
Сбор и обработка образцов	226

Твердофазный иммуноанализ	227
Иммунофлуоресцентный анализ	230
Пробы агглютинации	232
Иммуноблотинг	233
Пробы avidности IgG	235
Пробы со сложными микросферами	236
Автоматизация	238
Интерпретация серологических результатов	240
Литература	242
10. Хирургическая патология и цитология вирусных инфекций . .	247
Введение	247
Подготовка и деление образцов	248
Сравнение гистопатологии и цитопатологии	248
Общий подход к выявлению вирусов в тканях	250
Гистологические и цитологические признаки инфекции специфическими вирусами	254
ДНК-вирусы	254
РНК-вирусы	264
Системные заболевания, связанные с различными группами вирусов	269
Благодарности	273
Литература	273
11. Электронная микроскопия вирусных инфекций	278
Введение	278
Методы	278
Негативное окрашивание	278
Изготовление тонких срезов	281
Клинические образцы	286
Стул	286
Моча	292
Жидкость волдырей	293
Кровь и сыворотка крови	295
Назофарингеальные жидкости, легочные смывы, плевральные выпоты	295
Спинномозговая жидкость	297
Другие жидкости	297
Ткани	298
ЭМ при новых вирусных болезнях и надзор за биотерроризмом	305
Клеточные культуры	306
Мониторинг	306
Процедуры	306
Структуры, которые можно принять за вирусы	307
Безопасность	307
Заключение	307
Литература	308

12. Лабораторная диагностика вирусов в условиях ограниченных ресурсов	312
Вирусы, передаваемые с кровью	313
ВИЧ	313
Вирусы гепатита В и С	315
Скрининг банка крови на вирусы	316
Респираторные вирусы	316
Вирус гриппа	318
Желудочно-кишечные вирусы	319
Вирусы, ассоциированные с гастроэнтеритом	319
Вирусы гепатитов А и Е	320
Вирус полиомиелита	320
Вирусы кожи и слизистых оболочек	320
Вирус простого герпеса	320
Вирус варицелла зостер	322
Онкогенные вирусы	322
Вирус Эпштейна—Барр	322
Вирус папилломы человека	322
Вирусные болезни детского возраста: корь, эпидемический паротит и краснуха	323
Вирусы, передаваемые членистоногими	324
Общие соображения о лабораторной практике	324
Выводы	326
Литература	326
13. Противовирусная терапия	332
Введение	332
Терапия респираторных вирусных инфекций	333
Грипп	333
Амантадин, римантадин: адамантаны	333
Занамивир, озелтамивир: ингибиторы нейраминидазы	334
Респираторно-синцитиальный вирус	335
Рибавирин	335
Терапия вирусного герпеса	336
Ацикловир, валацикловир	336
Пенцикловир, фамцикловир	338
Ганцикловир, валганцикловир	338
Цидофовир	339
Фоскарнет	340
Трифлуридин	341
Терапия вирусного гепатита	341
Ламивудин	341
Адефовир	342
Тенофовир	343
Энтекавир	343

Телбивудин	344
Интерфероны	344
Терапия пациентов, инфицированных вирусом иммунодефицита человека	346
Нуклеотидные и нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы: зидовудин, диданозин, ставудин, ламивудин, абакавир, тенофовир, эмтриктабин	347
Ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы: невирапин, делвирдин, эфавиренц, этравирин	347
Ингибиторы протеазы: саквинавир, ритонавир, индинавир, нелфинавир, лопинавир/ритонавир, атазанавир, фосампренавир, типранавир, дарунавир	348
Новые классы: энфувиритид, маравирок, ралтегравир	349
Заключение	349
Литература	350
14. Распространенные детские инфекции	357
Введение	357
Патогены и специфические синдромы	358
Врожденные вирусные инфекции	358
Парвовирус человека В19	368
Герпесвирусы человека	370
Корь	376
Эпидемический паротит	379
Краснуха	380
Литература	381
15. Респираторные вирусные инфекции	386
Введение	386
Клинические синдромы	386
Простуда (ОРВИ)	386
Фарингит	389
Острый отит среднего уха	389
Круп (острый ларинготрахеобронхит)	390
Трахеобронхит	391
Бронхиолит	391
Пневмония	391
Вирусы-возбудители респираторных инфекций	392
РНК-вирусы	392
ДНК-вирусы	394
Эпидемиология	395
Риновирус и другие пикорнавирусы	395
Вирус парагриппа	397
Респираторный синцитиальный вирус	398
Метапневмовирус человека	399
Вирус гриппа	399
Аденовирус	400

Дифференциальная диагностика	400
Лабораторные исследования	401
Типы образцов и методов исследования	401
Прямое исследование	402
Микроскопия	402
Обнаружение нуклеиновых кислот	409
Выделение вирусов	412
Серология	415
Исследование чувствительности к противовирусным препаратам	417
Выбор методов лабораторных исследований	418
Литература	419
16. Инфекции желудочно-кишечного тракта	428
Введение	428
Клинические проявления	428
Вирусы-возбудители	429
Ротавирус	429
Кальцивирус	429
Аденовирус	430
Астровирус	431
Эпидемиология	431
Лабораторное тестирование	432
Типы образцов и их обработка	432
Прямое выявление вируса	433
Выделение вируса	438
Тестирование противовирусной резистентности	441
Оценка результатов лабораторных исследований	441
Литература	442
17. Инфекции кожи и слизистых оболочек	447
Введение	447
ДНК-вирусы	447
Вирус папилломы человека	447
Вирусы оспы	448
Вирус натуральной оспы	448
Коровья оспа (вакциния)	450
Оспа обезьян	450
Контагиозный пустулезный дерматит	452
Вирусы герпеса человека (HSV)	452
Вирусы простого герпеса 1 и 2	452
Вирусологические исследования	453
Вирус варицелла зостер (HSV-3)	454
Вирус Эпштейна—Барр (HGV-4)	457
Цитомегаловирус (HGV-5)	459
Вирус герпеса человека-6 (HGV-6)	461
Вирус герпеса человека-7 (HGV-7)	462

Вирус герпеса человека-8 (HG V-8)	462
Парвовирус В-19	463
РНК-вирусы	466
Энтеровирусы	466
Резюме	467
Литература	467
18. Вирусные инфекции сердца и сосудов	471
Введение	471
Эпидемиология вирусных заболеваний сердца	472
Патогенез	473
Клиническое течение и прогноз хронических вирусных заболеваний сердца	475
Вирусологическая диагностика в кардиологии	479
Вирусная серология и прямое выделение вируса	479
Выделение вируса	479
Молекулярно-биологическое выявление вирусных геномов в миокарде	479
Гибридизация <i>in situ</i>	479
Качественное выявление вируса в каскадной полимеразной цепной реакции	480
Репликация вируса	480
Количественное выявление вируса с помощью ПЦР в реальном времени	480
Идентификация подтипов вируса методом секвенирования генома	482
Интерпретация молекулярно-биологических находок	483
Литература	484
19. Вирусные гепатиты	491
Введение	491
Клинические проявления	491
Возбудители	492
Эпидемиология	492
Дифференциальная диагностика	494
Лабораторная диагностика	494
Виды образцов и их обработка	495
Прямое изучение (микроскопия, выявление антигена и нуклеиновых кислот)	495
Изоляция вируса	498
Идентификация	498
Системы типирования	498
Серологическое исследование	499
Резистентность к противовирусным препаратам	503
Оценка и отчет о результатах лабораторных исследований	504
Литература	506

20. Вирусные геморрагические лихорадки	511
Введение	511
Эпидемиология	512
Аренавирусная геморрагическая лихорадка	512
Буньявирусные геморрагические лихорадки	514
Флавивирусные геморрагические лихорадки	515
Филовирусные геморрагические лихорадки	515
Клинические проявления	516
Лихорадка Ласса	516
Аренавирусные геморрагические лихорадки Нового Света	517
Конго-Крымская геморрагическая лихорадка	517
Геморрагическая лихорадка Алхурма, болезнь кьясанурского леса и омская геморрагическая лихорадка	518
Филовирусные геморрагические лихорадки	518
Молекулярные характеристики	519
Аренавирусы	519
Вирус Конго-Крымской геморрагической лихорадки	519
Флавивирусы	519
Филовирусы	520
Клиническая диагностика вирусных геморрагических лихорадок	520
Лабораторная диагностика вирусных геморрагических лихорадок	521
Опасности	521
Сбор клинических образцов	522
Лабораторная диагностика	523
Заключение	527
Литература	528
21. Инфекции центральной нервной системы	537
Введение	537
Клинические проявления	538
Острый вирусный менингит	538
Вирусный энцефалит	538
Эпидемиология	539
Вирусный менингит	539
Вирусный энцефалит	540
Дифференциальный диагноз	544
Клиническое диагностическое обследование	545
Сбор анамнеза и осмотр больного	545
Общая диагностическая оценка	546
Томография	546
Анализ спинномозговой жидкости	547
Прямое микроскопическое исследование СМЖ	548
Вирусные культуры СМЖ	548
Серология СМЖ	549
Молекулярные исследования СМЖ	549
Оценка и предоставление результатов лабораторного исследования	550

Молекулярно-диагностические исследования вне ЦНС	553
Биопсия мозга	554
Вирусы-возбудители	554
Вирусы герпеса	554
Арбовирусы	561
Энтеровирусы	566
Бешенство	568
Заключение	569
Литература	569
22. Инфекции, передающиеся половым путем	578
Введение	578
Вирус простого герпеса	578
Клинические проявления	578
Выделение вирусов	581
Эпидемиология	582
Лабораторные исследования и дифференциальный диагноз	584
Типоспецифические серологические тесты	585
Папилломавирус человека	589
Клинические проявления	589
Эпидемиология	590
Лабораторная диагностика	591
Контагиозный моллюск	595
Литература	596
23. Вирусы иммунодефицита человека: ВИЧ-1 и ВИЧ-2	601
Введение	601
Клиническая картина и лабораторная диагностика	601
Общие положения	601
Острая инфекция	603
Анализы на антитела к ВИЧ	604
Общие положения	604
Иммуноферментные анализы	606
Иммуноблот	606
Другие подтверждающие методы	607
Неопределенные иммуноблоты	608
Простое и быстрое серологическое тестирование	609
Обнаружение антител к ВИЧ-1 в слюне	610
Тест на антитела ВИЧ в условиях ограниченных ресурсов	610
Выявление подтипов ВИЧ-1	611
Выявление антител к ВИЧ-2	612
Выявление вируса иммунодефицита человека	614
Культура	614
Антиген р24 ВИЧ-1	614
Вирусная нуклеиновая кислота	615
Вирусные ДНК в мононуклеарных клетках периферической крови	615

Вирусные РНК в плазме крови	616
Количественные анализы на ВИЧ-1 РНК	617
Рекомендации к количественному анализу образцов РНК на ВИЧ-1	617
Обнаружение подтипов ВИЧ-1	618
Обнаружение ВИЧ-2	618
Генотип и фенотип лекарственной чувствительности к антиретровирусным препаратам	619
Использование РНК ВИЧ-1 для мониторинга инфекции	621
Уровень РНК ВИЧ-1 у зараженных взрослых людей	621
Наблюдение за уровнями РНК ВИЧ-1 у беременных	622
Использование вирусной РНК в плазме для определения причин неудачи антивирусной терапии	622
Заключение	625
Благодарности	626
Литература	626
24. Полиомавирус. Диагностика, репликация вируса и ход болезни	632
Введение	632
Вирусологические аспекты	633
Полиомавирус. Эпидемиология, репликация вируса и течение болезни	636
Диагностические исследования ВКВ	637
Серология ВКВ	637
ВКВ-специфический клеточный иммунитет	640
Культура ВКВ-клеток	640
Выявление ВКВ-антигенов	641
Микроскопия ВКВ в моче	641
Молекулярно-генетическое исследование ВКВ	642
Диагностика полиомавирус-ассоциированной нефропатии	646
Диагностические тесты на JCV	648
Серология JCV	648
JCV-специфический клеточный иммунитет	649
Выделение JCV в клеточной культуре	649
Молекулярно-генетическое исследование JCV	650
Диагностика полиомавирус-ассоциированной многоочаговой лейкоэнцефалопатии	654
Диагностика полиомавирус-ассоциированной инфекции дыхательных путей	655
Молекулярно-диагностическое исследование KIV и WUV	656
Диагностика MCV-ассоциированных заболеваний	658
Молекулярно-диагностические исследования MCV	658
Диагностика SV40-ассоциированных заболеваний	658
Молекулярно-диагностические исследования SV40	660
Заключение	661
Литература	661

25. Вирусные заболевания глаз	670
Аденовирус	671
Глазные инфекции, вызванные аденовирусом	671
Диагностика и профилактика аденовирусной инфекции	673
Вирус простого герпеса	674
Герпесвирусная болезнь глаз человека	675
Диагностика и профилактика герпетической инфекции	676
Вирус ветряной оспы (герпес зостер)	678
Ветряная оспа	678
Болезни глаз, связанные с ветряной оспой	679
Синдром врожденной ветряной оспы	679
Диагностика и профилактика ветряной оспы	679
Болезнь опоясывающего лишая	680
Заболевания глаз, ассоциированные с опоясывающим лишаем	681
Диагностика и профилактика опоясывающего лишая	683
Вирус Эпштейна—Барр	684
Глазные болезни, вызванные вирусом Эпштейна—Барр	684
Диагностика и профилактика болезни, вызванной вирусом Эпштейна—Барр	685
Цитомегаловирус	685
Врожденные и перинатальные инфекции, вызванные CMV	686
Глазные болезни, вызванные цитомегаловирусом у больных с ослабленным иммунитетом	687
Лабораторная диагностика и профилактика цитомегаловирусной болезни	688
Вирус папилломы	689
Заболевания глаз человека, вызванные вирусом папилломы	689
Диагностика и предупреждение заболеваний, вызванных папилломавирусом человека	690
Вирус натуральной оспы	691
Заболевания глаз, вызванные натуральной оспой	691
Вирус коровьей оспы	692
Заболевание глаз, вызванное вирусом коровьей оспы	692
Лабораторная диагностика и профилактика инфицирования вирусом коровьей оспы	693
Вирус контагиозного моллюска	693
Болезни глаз, вызванные вирусом контагиозного моллюска	694
Диагностика и профилактика заболеваний, вызванных вирусом контагиозного моллюска	695
Вирус эпидемического паротита	695
Инфекции глаз, вызванные паротитом	695
Диагностика и профилактика заболеваний, связанных с вирусом эпидемического паротита	695
Вирус кори	696
Заболевания глаз, вызванные вирусом кори	696
Врожденные глазные заболевания, вызванные вирусом кори	697

Диагностика и профилактика заболеваний, вызванных вирусом кори	697
Вирус иммунодефицита человека	697
Глазные заболевания, вызванные вирусом иммунодефицита человека	698
Лабораторная диагностика и профилактика ВИЧ-инфекции	700
Энтеровирус	701
Глазные заболевания, вызванные энтеровирусом и вирусом Коксаки	702
Диагностика и профилактика заболеваний, вызванных энтеровирусом или вирусом Коксаки	702
Вирус денге	703
Глазные заболевания, вызванные вирусом денге	703
Диагностика и профилактика заболеваний глаз, вызванных вирусом денге	704
Вирус лихорадки Западного Нила	704
Глазные инфекции, вызванные вирусом лихорадки Западного Нила	704
Диагностика и профилактика инфекций, вызванных вирусом лихорадки Западного Нила	705
Вирус гепатита С	705
Заболевания глаз, вызванные гепатитом С	705
Диагностика и профилактика вирусных заболеваний, вызванных гепатитом С	706
Вирус краснухи	706
Заболевания глаз, связанные с вирусом краснухи	706
Врожденные заболевания, вызванные вирусом краснухи	707
Заболевания глаз, вызванные врожденной краснухой	707
Диагностика и профилактика заболеваний, вызванных вирусом краснухи	708
Вирус Чикунгунья	709
Заболевания глаз, вызванные вирусом Чикунгунья	709
Диагностика и профилактика заболеваний, вызванных вирусом Чикунгунья	709
Вирус бешенства	709
Заболевание глаз, вызванное вирусом бешенства	710
Диагностика и профилактика бешенства	710
Литература	710
26. Арбовирусы	714
Литература	725
27. Вирусные инфекции у пациентов с нарушениями иммунной системы	730
Введение	730
Иммуносупрессия у больных при трансплантации	731
Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток	731
Трансплантация паренхиматозных органов	733

Иммуносупрессорные препараты при трансплантации	733
Вирусные инфекции в трансплантологии	734
Цитомегаловирус (CMV)	735
Вирус Эпштейна—Барр (EBV)	739
Вирусы простого герпеса 1 и 2 и вирус опоясывающего лишая (VZV)	741
HHV-6	742
Герпесвирус, ассоциированный с саркомой Капоши (KSHV/HHV-8)	743
Респираторные вирусы	744
Аденовирус	745
Полиомавирусы	746
Папилломавирус человека (HPV)	747
Новые вирусные инфекции	747
Резюме	748
Литература	748

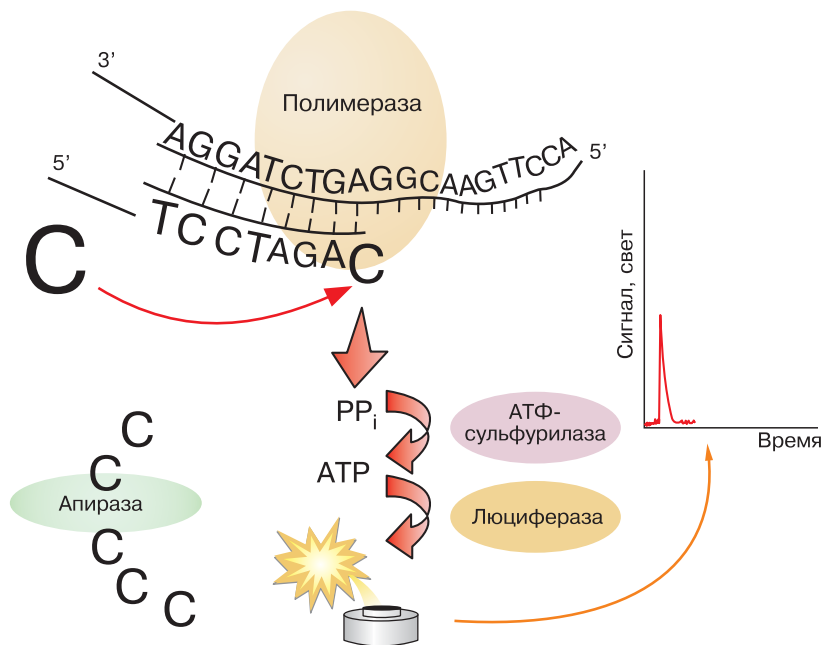


Рис. 4.3. Пиросеквенирование, в ходе которого высвобождается один остаток пирофосфата (PP_i) на каждый включившийся нуклеотид. Это приводит к синтезу АТФ, используемого люциферазой для генерации светового сигнала

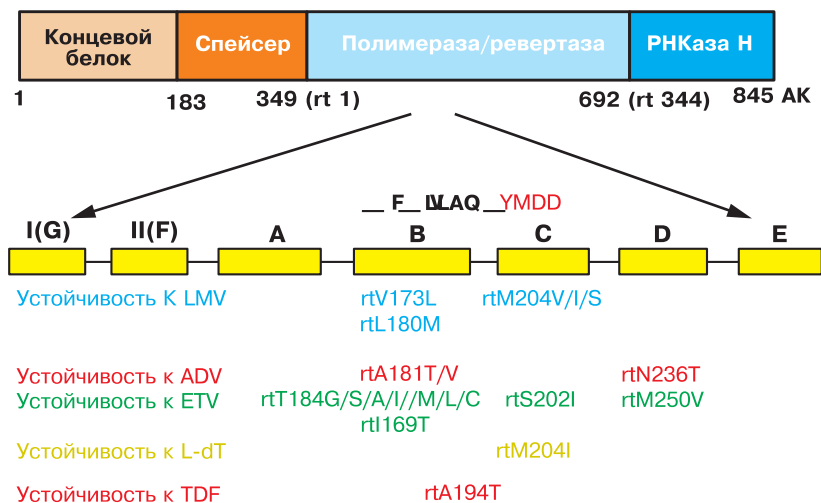
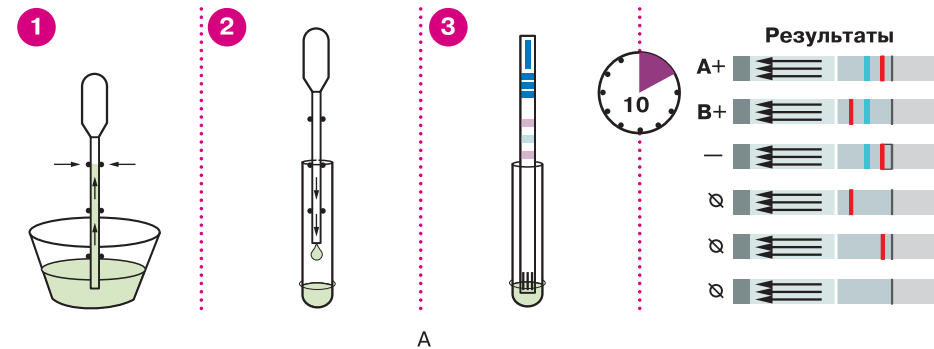


Рис. 4.4. Основные мутации полимеразы HBV (домены с А по G), ассоциированные с устойчивостью к противовирусным препаратам при хронической инфекции HBV. LMV — ламивудин, ADV — адефовир, ETV — энтекавир, L-dT — телбивудин, TDF — тенофовир. Мотив YMDD, ассоциированный с устойчивостью к ламивудину и телбивудину, включает остатки с 203 по 206



A

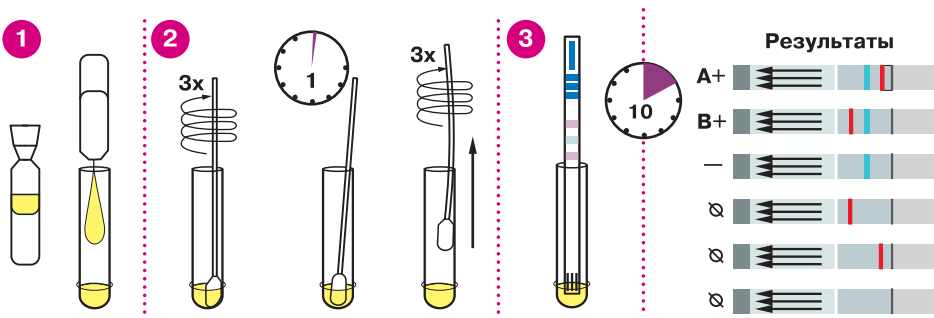
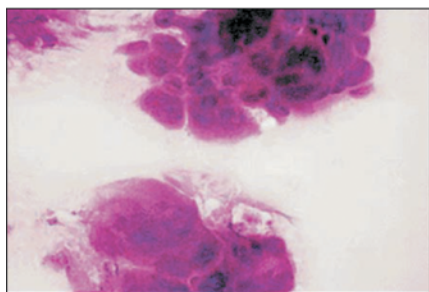
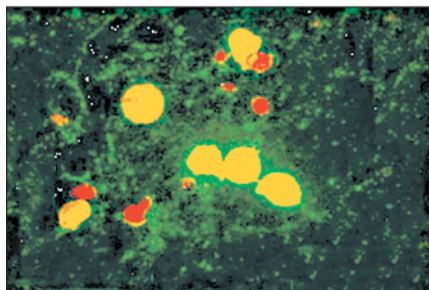


Рис. 8.6. Использование системы QuickVue для выявления присутствия антигенов вирусов гриппа А и В в мазках или смывах из носоглотки

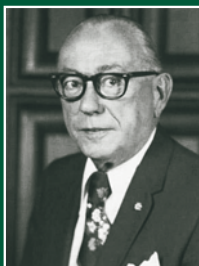


A



Б

Рис. 17.2. Диагностика герпеса зостер. На панели **A** показан положительный мазок Цанка ($\times 400$). Окрашивание по Райту позволяет выявить гигантские многоядерные клетки. На панели **Б** показана положительная проба прямой иммунофлуоресценции ($\times 400$). Клетки окрашены моноклональными антителами к вирусу варицелла зостер, конъюгированными с флуоресцеином; зеленая флуоресценция указывает на наличие антигенов вируса варицелла зостер. Источник: [27]



Эдвин Леннет — автор, редактор и идейный вдохновитель первых англоязычных изданий этой книги, разработчик столь удобного практикующему врачу синдромного подхода к диагностике вирусных инфекций. Более 30 лет возглавлял лабораторию вирусных и риккетсиозных заболеваний в Беркли. Автор множества научных статей, редактор классических книг, посвященных вирусным заболеваниям. Был председателем Калифорнийского фонда здравоохранения, директор Центра клеточной биологии им. Алтона Джонса в Лейк-Плэсиде, США.



Кит Джером — известный вирусолог, директор отделения диагностической молекулярной вирусологии Университета Вашингтона и Центра изучения рака имени Фреда Хатчинсона в Сиэтле, США. Лауреат нескольких премий в области вирусологических исследований, автор 53 монографий, редактор классических книг по медицинской микробиологии и вирусологии.

Читателю предлагается перевод четвертого английского издания, ставшего бестселлером в США. На русском языке публикуется впервые.

Книга содержит исчерпывающую информацию о возбудителях вирусных инфекций и методах вирусологической лабораторной диагностики на основе синдромного подхода. Подробно описаны теоретические основы уже используемых в вирусологии молекулярно-генетических методов (серологические, ПЦР и другие) и технологически новых, только входящих в медицинскую практику (микрочипы и электронно-микроскопические исследования). Достаточное внимание уделено проверке результатов исследований, а также их правильной статистической обработке. Предложены способы адаптации некоторых методов диагностики при ограниченных финансовых возможностях лабораторий.

Для специалистов-вирусологов научных и практических диагностических центров, повышающих квалификацию врачей-инфекционистов, эпидемиологов, педиатров и врачей общей практики, а также студентов-медиков, ординаторов и аспирантов.