

Комплексная диагностика инфекционных болезней

Диагностика — процесс постановки диагноза. При инфекционной болезни он приобретает важнейшее значение, являясь основой для осуществления дальнейших противоэпизоотических мероприятий. При возникновении ИБ решающее значение имеет установление факта наличия определенной болезни и выявление всех потенциальных источников возбудителя инфекции. Эти вопросы решают с помощью методов и средств *диагностики*.

Эффективная диагностика есть первоочередная задача в борьбе с инфекционными болезнями.

При большинстве инфекционных болезней диагностика — это предварительный этап последующей вакцинопрофилактики. При этом учитываются следующие принципиальные положения.

Потребности эпизоотологии ставят задачу разработки новых высокочувствительных методов диагностики, технологий изготовления препаратов — (иммуно) диагностикумов, диагностических наборов с высокой специфичностью и чувствительностью.

Диагностика должна служить и служит (во многих случаях) инструментом активной профилактики инфекционных болезней. Под контролем ранней и точной диагностики иногда выгоднее проводить уничтожение источников возбудителей инфекций (убой больных и пр.), чем применять дорогостоящую вакцинопрофилактику. Но в большинстве случаев это нужно именно для последующей вакцинопрофилактики или специфической терапии.

Диагноз на ИБ устанавливается комплексно — с учетом результатов всех принятых в инфекционной патологии методов исследований (табл. 29).

Таблица 29

Комплексный метод диагностики инфекционных болезней

| Методы диагностики | Характер исследований |
|---------------------------|---|
| 1. Эпизоотологический | По результатам эпизоотологического обследования |
| 2. Клинический | По клиническим признакам |
| 3. Аллергический | По результатам аллергических исследований |
| 4. Патологоанатомический | По результатам патологоанатомического вскрытия |
| 5. Лабораторный | Микроскопический метод |
| | Микробиологический (культуральный) метод |
| | Биологический метод (биопроба) |

| | |
|--|---|
| | Патоморфологический (гистологический) метод |
| | Серологический (иммунологический) метод |
| | Гематологический метод |
| | Молекулярно-генетический метод |

Основные этапы эпизоотологического, клинического и патологоанатомического методов исследований представлены в таблице 30.

Таблица 30

Схема эпизоотологического, клинического и патологоанатомического исследований

| |
|---|
| ЭПИЗОТОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ |
| Восприимчивые виды животных |
| Источник возбудителя инфекции |
| Резервуар возбудителя инфекции |
| Механизм передачи |
| Ворота инфекции |
| Интенсивность проявления эпизоотического процесса |
| Сезонность и периодичность |
| Предрасполагающие факторы |
| Заболееваемость |
| Смертность |
| Летальность |
| КЛИНИЧЕСКИЙ МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ |
| Инкубационный период |
| Течение болезни |
| Формы клинического проявления |
| Клинические признаки: |
| — общее состояние, температура тела, аппетит |
| — слизистые оболочки, шерсть и кожа |
| — лимфатические узлы |
| — нервная система |
| — сердечно-сосудистая система |
| — дыхательная система |
| — пищеварительная система |
| — мочеполовая система |

| |
|---|
| — органы движения |
| Прогноз и исход |
| ПАТОЛОГОАНАТОМИЧЕСКИЙ МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ |
| Состояние трупа |
| Состояние кожи и слизистых |
| Лимфатическая система |
| Серозные покровы |
| Мускулатура и суставы |
| Органы дыхания |
| Сердце, сосуды и кровь |
| Печень, селезенка, почки |
| Глотка, пищевод, желудок |
| Тонкий отдел кишечника |
| Толстый отдел кишечника |
| Мочевой пузырь |
| Органы воспроизводства |
| Головной и спинной мозг |

Особенности диагностики инфекционных болезней. Основное внимание обращается при постановке диагноза на ИБ впервые. При этом применяется комплекс методов. Диагностику начинают с эпизоотологического исследования непосредственно в эпизоотическом очаге, так как с него в последующем определяют и организуют систему проведения мероприятий.

Особое внимание обращают на выполнение конкретных задач:

- изучение проявления эпизоотического процесса;
- выявление источника возбудителя;
- изучение особенностей возникновения и течения болезни;
- оценку целесообразности и эффективности противоэпизоотических мероприятий;
- разработку эпизоотологического прогноза.

Масштабы исследования могут широко варьировать от одного случая болезни (больного животного) до широкой заболеваемости в масштабах района, города, области, республики. В конечном итоге решение зависит от того, какой из двух видов диагностики (по назначению) требуется (табл. 31).

Таблица 31

Виды диагностики (по назначению)

| Вид диагностики | Первичная диагностика болезней | Диагностика при оздоровлении |
|--------------------------------------|---|--|
| Назначение | Установление достоверного диагноза в стаде | Выявление по возможности всех источников возбудителя |
| Количественная важность исследований | Количество положительных диагнозов не важно, главное подтвердить наличие любого количества (вплоть до 1) | Важно выявить каждое инфицированное животное |
| Приоритетные методы исследований | Проводится, как правило, полный комплекс диагностических исследований. Важнейшее значение имеют те методы исследований, по результатам которых диагноз считается установленным. | Значение имеют в основном методы массовой диагностики. Все положительно реагирующие считаются инфицированными. Чаще используются серологические и аллергические исследования |

Клиническое исследование. Клиническое исследование проводят непосредственно на отдельных (изолированных) животных по определенному плану. Вначале в нефиксированном состоянии осуществляют осмотр внешнего вида (габитус), обращая внимание на позу, реакцию на корм, воду, шум; дефекацию и мочеиспускание, конституцию и пр. Затем фиксируют (правила фиксации). Продолжают исследование с определения температуры тела. Изменение температуры тела — один из основных признаков инфекционных болезней. При инфекционных болезнях особое внимание обращают на меры личной безопасности. Температуру тела, пульс, дыхание, число сокращений рубца, продолжительность беременности, особенности полового цикла и тому подобное надо знать наизусть для каждого вида животных. Тщательное клиническое исследование позволяет правильно поставить клинический диагноз. Однако клиническое проявление не всегда является решающим. Нередко клинические признаки бывают атипичными, стертыми или общими для многих болезней (например, диарея, кашель, повышенная температура, истечения из носа, сыпь).

Патологоанатомическое исследование. Вскрытие трупов производят для

того, чтобы обнаружить изменения во внутренних органах и тканях, кроме того, правильно провести отбор проб патологического материала и направить его в лабораторию для исследования, когда это необходимо. Если нет павших животных, с этой же целью проводят вынужденный (диагностический) убой больных или подозрительных в заболевании животных. Патологоанатомическое вскрытие может быть полным или частичным. Разновидностью частичного патологоанатомического вскрытия можно считать биопсию. Биопсия — прижизненное взятие кусочков органа или тканей — дает возможность поставить ранний диагноз. Однако при инфекционных болезнях животных проводится редко. Результаты патологоанатомического вскрытия фиксируют в виде протокола, составляемого по установленным правилам.

Аллергическое исследование. Так же как и серологическое, аллергическое исследование проводят в благополучных хозяйствах для контроля благополучия, а в неблагополучных — для выявления скрытых больных и зараженных животных. Существует группа болезней, при которых фактор аллергизации организма имеет важное патогенетическое значение. Их иногда называют инфекционно-аллергическими болезнями. Многие из них диагностируют с помощью аллергических проб (сап, туберкулез, паратуберкулез, бруцеллез, туляремия и др.).

Аллергическая проба — диагностическая реакция (при инфекционных и паразитарных болезнях), выявляющая состояние аллергии, проявляющейся повышенной чувствительностью клеток и тканей организма после введения аллергена: в кожу, на кожу, на конъюнктиву (реже подкожно и внутривенно). Реакцию обычно учитывают через 1–2 сут. Она проявляется в виде местной реакции (воспаления, отека, гиперемии, болезненности). Аллергия при сенсибилизации может возникать быстро (3–7 сут), иногда раньше, чем вырабатываются антитела, сохраняется долго (месяцы или годы). Аллергическая реакция очень проста в выполнении и наглядна.

Возможны и неспецифические реакции (парааллергия, псевдоаллергия), также анергия — отсутствие реакции у больных и ослабленных животных.

Лабораторная диагностика. Лабораторные исследования должны осуществляться в ветеринарной лаборатории, размещенной в отдельном помещении. Для проведения диагностики инфекционных заболеваний лаборатории обычно имеют бактериологический, вирусологический и серологический отделы, отдел молекулярных исследований. В целом наличие отделов зависит от уровня лаборатории. Современные лаборатории являются испытательными центрами, аккредитованными в национальной системе аккредитации.

Методология отбора проб биологического (клинического и патологического) материала. Качество диагностики (способность лаборатории подтвердить диагноз) зависит от количества и качества образцов, отправленных в лабораторию, для чего должны приниматься во внимание следующие условия:

- надлежащая стадия заболевания или эпизоотического состояния поголовья;
- достаточная свежесть трупа;
- достаточное количество образцов;
- асептический отбор проб (для предотвращения контаминации)
- правильная консервация и упаковка проб;
- сохранность проб.

Взятие биологического материала может осуществляться прижизненно (кровь, моча, кал, соскобы, носовая слизь, мокрота, молоко, экссудат, гной, сперма) или посмертно.

Вынужденный убой — практически всегда доступен ветеринарному специалисту для получения патологического материала, если нет прямой смерти.

Получение образцов при посмертной диагностике требует тщательного подхода к вскрытию и соответствующих процедур биобезопасности для предотвращения перекрестной контаминации, контаминации упакованного и пересылаемого материала, а также безопасности при утилизации трупов.

Образцы, взятые от трупа, могут быть отправлены в лабораторию в свежем или фиксированном виде от следующих органов и систем:

- наружные покровы;
- жидкости тела;
- органы грудной полости;
- органы брюшной полости;
- скелетно-мышечная система;
- органы головы.

Упаковка и транспортировка диагностических проб регулируются ветеринарным законодательством (Правила взятия и пересылки патологического материала для лабораторных исследований), а в случае пересылки в зарубежные страны — международными нормами.

К лабораториям, проводящим работы с патогенными биологическими агентами (ПБА) I–II или III–IV групп, объектами и материалами, содержащими или подозрительными на содержание микроорганизмов этих групп, в целях соблюдения безопасности предъявляются требования, указанные в соответствующих санитарно-эпидемиологических правилах (СП 1.3.3118-13 и

СП 1.3.2322-08). В них также содержатся требования по транспортировке ПБА.

Лабораторные методы исследований на отдельные группы возбудителей инфекционных болезней (вирусы, бактерии, микоплазмы, грибы) изложены в соответствующих справочниках и руководствах. Однако о современном методе молекулярной диагностики следует упомянуть вкратце.

Молекулярная диагностика. В настоящее время одним из ведущих методов лабораторной диагностики инфекционных болезней становится *молекулярная диагностика* — работа на генетическом уровне. За короткий период времени рутинными в диагностических лабораториях стали методы, основанные на выявлении нуклеиновых кислот возбудителя. Наиболее распространена *полимеразная цепная реакция (ПЦР)* или ее более технологичный вариант с возможностью количественного определения — *полимеразная цепная реакция в реальном времени (ПЦР-РВ)*. Фактическая чувствительность ПЦР — менее 100 единиц генома возбудителя, т. е. определение генетического материала в минимальном количестве за пределами возможностей других методов.

Методы с использованием ПЦР дополняют спектр традиционных методов диагностики инфекционных болезней. Являясь экспресс-методами, имеют особую ценность для диагностики особо опасных инфекций при исследовании патологического материала от больного (подозрительного по заболеванию) животного, в том числе при выполнении культурального и биологического методов для ускорения идентификации подозрительных колоний, для индикации биологических патогенов в объектах окружающей среды. По результатам анализа выдают предварительный ответ о наличии в пробе нуклеиновых кислот микроорганизма. При наличии инфекции в определенных случаях положительные результаты ПЦР в комплексе с данными других методов могут быть основанием для окончательного диагноза и проведения противоэпизоотических мероприятий.

В настоящее время разработаны тест-системы для обнаружения практически всех возбудителей инфекционных болезней, однако наибольшую ценность ПЦР представляет для трудно культивируемых в лабораторных условиях микроорганизмов, атипичных форм бактерий, а также внутриклеточных паразитов и микроорганизмов, способных длительно находиться в организме хозяина без проявления клинических симптомов (вирусы, микобактерии, риккетсии, хламидии, прионы).

Таким образом, лабораторные методы исследования являются наиболее важными при диагностике инфекционных болезней.

Без проведения лабораторных исследований окончательный диагноз на инфекционную болезнь не устанавливается.

Однако результаты лабораторных исследований требуют определенных интерпретаций как по обнаружению возбудителя, так и по обнаружению специфических антител, во избежание ложноположительных заключений.

Интерпретация обнаружения возбудителя:

- обнаружение возбудителя доказывает только то, что он присутствует в исследуемом материале;
- обнаружение возбудителя напрямую не доказывает, что именно он вызывает клиническую болезнь. Болезнь может быть результатом сложного взаимодействия между хозяином, потенциальным возбудителем и предрасполагающими факторами внешней и внутренней среды. *Интерпретация обнаружения антител:*
- обнаружение антител к предполагаемому возбудителю доказывает только то, что животное контактировало с возбудителем;
- оно не всегда доказывает наличие инфекции в данный момент или даже в недавнем прошлом.

Таким образом, диагноз, установленный на основании различных методов исследования, без учета лабораторной диагностики считается *предварительным*. Диагноз с учетом результатов лабораторных исследований называется *окончательным*. При этом диагноз может быть установлен как *при жизни* животного, так и *после его смерти*. Результат диагностики желательно получить как можно *раньше*, однако нередко диагноз запаздывает из-за несовершенства методов исследования, неправильной методологии исследований или других причин. Такой диагноз называют *поздним*. При *ретроспективном диагнозе* делают вывод о закончившейся болезни, учитывая клинические, патологоанатомические изменения, лабораторные исследования (например, в основном существенное увеличение титров антител в сыворотке крови больных животных). *Дифференциальным диагнозом* называют метод, в котором максимально использованы сведения по болезням, имеющим сходство с исследуемым заболеванием. Если окончательный диагноз был установлен после применения тех или иных специфических препаратов, вызвавших выздоровление животного, то в этом случае говорят о диагнозе *по лечебному эффекту (действию)*.

Виды диагнозов:

- предварительный;

- прижизненный;
- ранний;
- окончательный;
- посмертный;
- поздний;
- ретроспективный;
- дифференциальный;
- по лечебному эффекту.

При комплексном методическом подходе в диагностике инфекционных болезней тем не менее должен быть использован основной (решающий) *метод* диагностики (показатели), *по которому диагноз считается установленным*. Чаще всего такими методами бывают обнаружение и идентификация возбудителя в *патологическом материале* (микробиологический или вирусологический метод); обнаружение и индикация *антигена возбудителя* (иммунологический метод); обнаружение *генома возбудителя* (молекулярно-генетический метод).

При ряде болезней это *воспроизведение заболевания* на лабораторных или естественно восприимчивых животных (когда чувствительные лабораторные модели отсутствуют), т. е. *биопроба*. При некоторых случаях достаточно бывает обнаружить *продукты жизнедеятельности возбудителя* (например, токсины) или проявляющиеся *иммунные реакции* (антитела, аллергия), т. е. получить результаты серологических и аллергических исследований, или *патологические реакции*, выявляемые, в частности, при патоморфологических исследованиях.

При каждой конкретной болезни перечень показателей, по которым диагноз на ИБ считается установленным, определяется соответствующими правилами и инструкциями.

Однако получение отрицательного результата при проведении диагностических исследований на ИБ не всегда дает право исключить предполагаемое заболевание. Следует иметь в виду, что диагностика болезней, а тем более инфекционных, — трудная и кропотливая задача, не исключая ошибок и неудач. Могут понадобиться повторные, длительные и сложные дополнительные исследования.

Поэтому стоит помнить следующий принцип:

ДА → есть ДА, НЕТ → не всегда есть НЕТ,

т. е. получение положительного результата дает право подтвердить болезнь, а получение отрицательного результата не дает права ее отвергнуть.

Окончательный диагноз на ИБ ставит именно эпизоотолог, суммируя все результаты исследований и другую максимально полезную информацию.

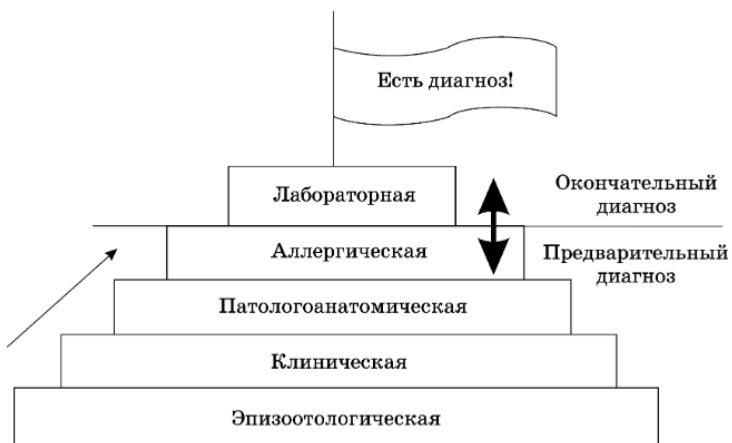


Рис. 19

Принцип комплексной диагностики инфекционных болезней