

# Современная лабораторная диагностика TORCH-инфекций

*кафедра клинической лабораторной диагностики  
ГБОУ ДПО РМАПО МЗ РФ*

*доцент Ракова Наталья Геннадиевна*

*17 февраля 2016г.*

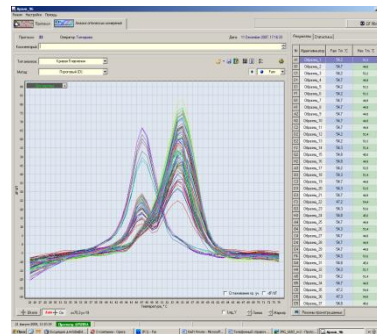
# Методы лабораторной диагностики инфекций

## Прямые:

- выявление **возбудителя** (микроскопия, паразитологический, вирусологический, бактериологический методы)



- **РНК/ДНК** возбудителя (ПЦР)



- **АГ** возбудителя (РИА, ИФА, ИХЛА и др.)



# Методы лабораторной диагностики инфекций

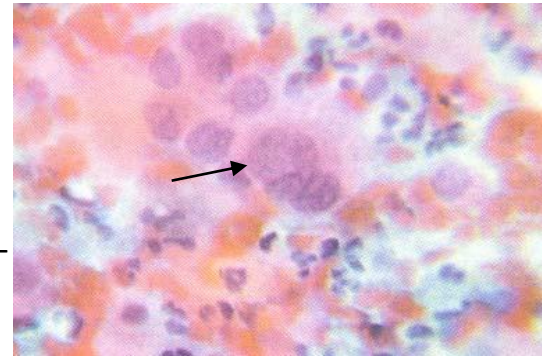
## Косвенные:

- выявление **АТ** в сыворотке крови, плазме и другом биологическом материале (РИА, ИФА, ИХЛА, иммуноблот и др.)



- Другие опосредованные методы, например, – морфологические исследования пораженных вирусом клеток

Признаки герпетической инфекции –  
многоядерные клетки  
(Шабалова И.П., 2001)



АГ и АТ определяют с помощью иммунохимических реакций:

**АГ+АТ=ИК**

- без специальных меток для выявления результата в реакциях:

*преципитации*

*агглютинации*

*РСК*

*лизиса*

- с применением специальных меток для выявления результата:

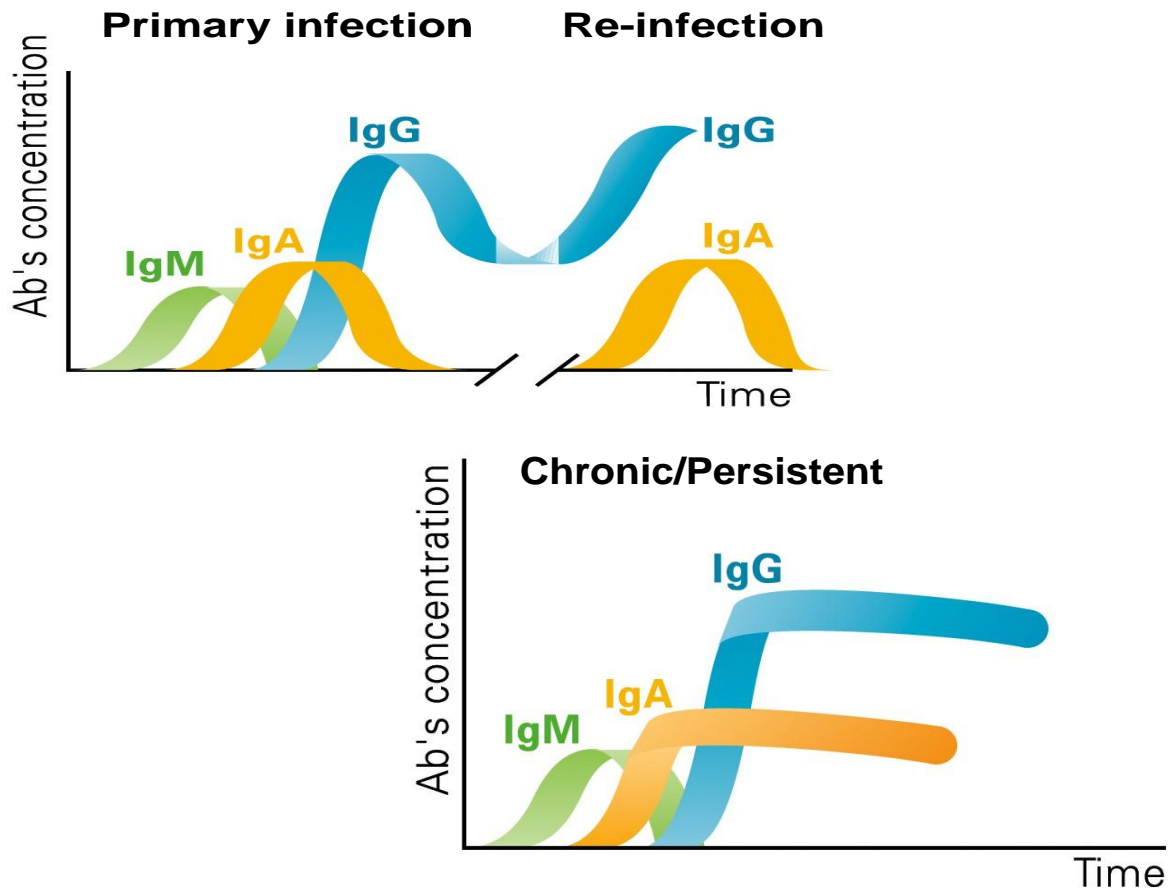
*Радиоиммунный анализ*

*Иммуноферментный анализ (ИФА)*

*Иммунофлюоресценция*

*Иммунохемилюминисценция (ИХЛА)*

# Динамика синтеза антител при инфекции.



# Иммуноглобулины IgM

- Образуются на ранних стадиях инфекционного процесса.
- могут находиться в крови длительное время: от **6 недель до 1-2 лет** (TORCH-инфекции)
- элиминируют возбудителя из кровеносного русла (агглютинируют бактерии, нейтрализуют вирусы, активируют комплемент)
- **не проникают через плаценту**
- **синтезируются у плода, относятся к собственным антителам новорожденных**
- присутствие указывает на заражение (в том числе и внутриутробное), свидетельствует об активном процессе
- Определяются в крови при реактивации, реинфицировании или суперинфицировании.

# Иммуноглобулины IgA (секреторный и сывороточный)

- IgA<sub>s</sub> участвует в местном иммунитете
- Синтез сывороточных IgA начинается с конца первого месяца заболевания и продолжается до тех пор, пока антиген доступен иммунокомпетентным клеткам
- обнаружение : острый или подострый процесс, реактивация и суперинфекция
- выявление показательно при диагностике врожденных форм инфекций, поскольку IgA не проходит через плаценту и нарабатывается в организме ребенка в ответ на воздействие инфекционного агента.

# Иммуноглобулины IgG

- играют основополагающую роль в гуморальном иммунитете при инфекционных заболеваниях, вызывая гибель возбудителя с участием комплемента и опсонизируя фагоцитарные клетки
- IgG проникают через плаценту и формируют антиинфекционный иммунитет у новорожденных.



# ИФА

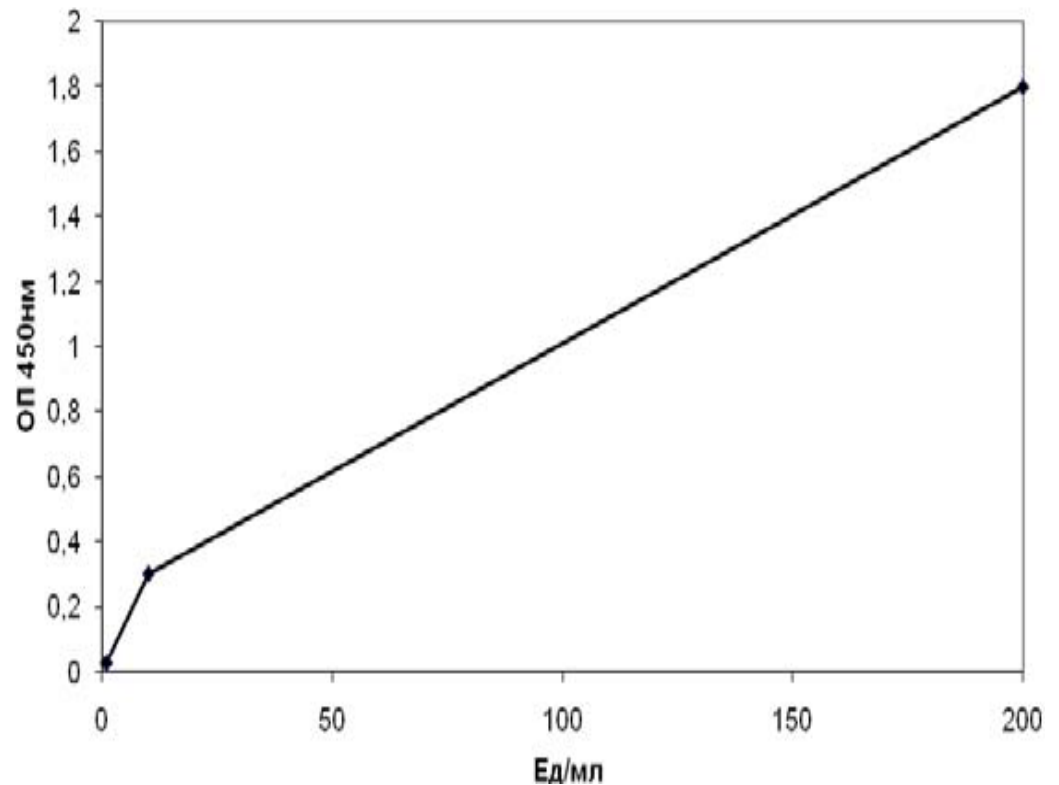
– вид иммунохимического анализа, основанный на высоко специфичной иммунологической реакции антигена с соответствующим антителом с образованием **иммунного комплекса**, для выявления которого используют в качестве метки фермент или фермент-зависимое вещество.



# Количественный анализ (IgG)

- Калибровка выполняется в международных единицах (МЕ)
- используется международная стандартная сыворотка человека, содержащая антитела IgG (ВОЗ)

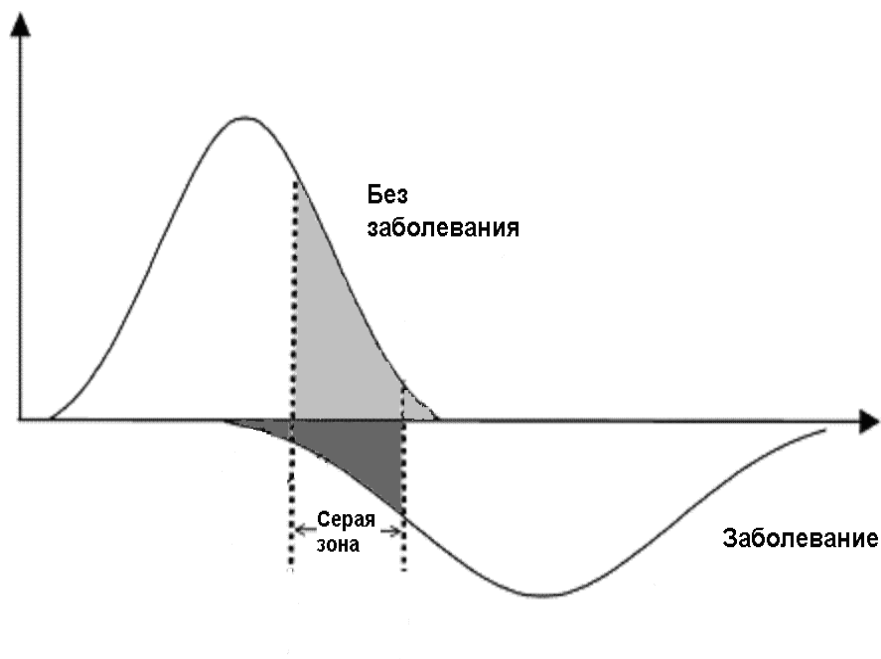
Стандартная калибровочная кривая



# Качественный ИФА-анализ

- Используется при проведении скрининговых исследований в диагностике инфекционных заболеваний.
- Результат исследования определяется при сравнении его оптической плотности с расчетной величиной **критической оптической плотности (ОП крит.)**. Для обозначения ОП крит. могут быть использованы другие термины - **Cut-Off** или «пороговое значение оптической плотности».
- Если оптическая плотность образца выше, чем Cut-Off, образец считается положительным на специфические антитела.

## Качественный анализ. Серая зона



*Серая зона* – это диапазон концентраций специфических антител, в который с равной вероятностью могут попадать как положительные, так и отрицательные пробы.

# Понятие сероконверсии

Сероконверсия - (seroconversion) -  
выработка специфических антител в ответ  
на наличие какого-либо антигена

Пример:

IgG-

через 2 недели

IgG+

# Метод парных сывороток

Одномоментное исследование на АТ двух образцов сыворотки или плазмы пациента, взятых с интервалом в 2-3 недели.

Позволяет:

1. Выявить сероконверсию (seroconversion) - выработка специфических антител в ответ на наличие какого-либо антигена
2. Прояснить результаты «серой зоны» при качественном анализе
3. Подтверждение первичной инфекции (IgM и IgG)

# Полуколичественный анализ .

## Индекс позитивности.

В настоящее время не существует Международного стандарта (референтной сыворотки IgM ), результаты тестов выражаются в форме отношения (RATIO), которое позволяет оценить относительную концентрацию антител.

**Индекс позитивности** - это отношение между средней оптической плотностью образца и оптической плотностью Cut-Off.

Индекс позитивности =

$\frac{\text{ОП ср. образца пациента}}{\text{ОП крит.}}$

### Интерпретация результатов:

< 0,9 - отрицательный

≥ 0,9 до < 1,1 - пограничный (серая зона)

≥ 1,1 – положительный

# ИХЛА

- Хемилюминесцентная метка испускает фотон света в ответ на химическую реакцию (системы: люминол и люцефераз, акриловый эфир).
- Комбинация высокой чувствительности и короткого времени инкубации
- Широкий интервал измерения (сокращение частоты разведений)
- Возможность применения этой технологии для детекции любых аналитов
- Реализован в автоматических анализаторах, что позволяет еще больше увеличить его точность, за счет исключения ошибок, связанных с ручными манипуляциями персонала.

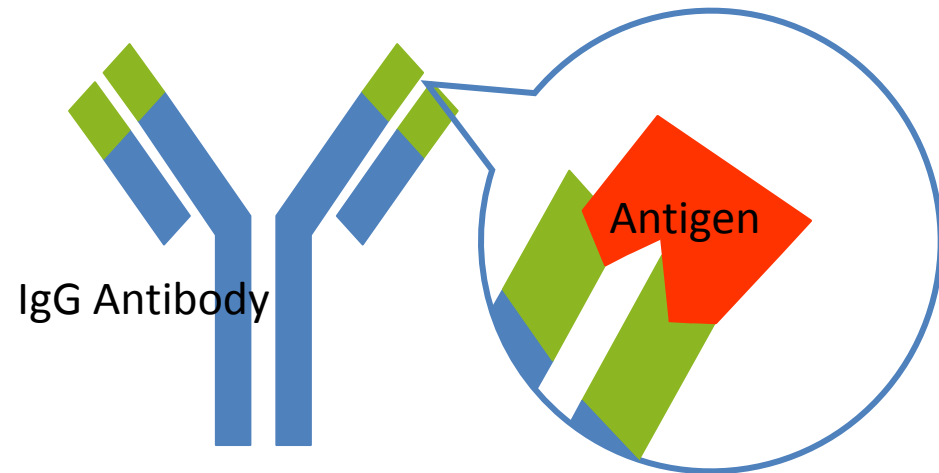
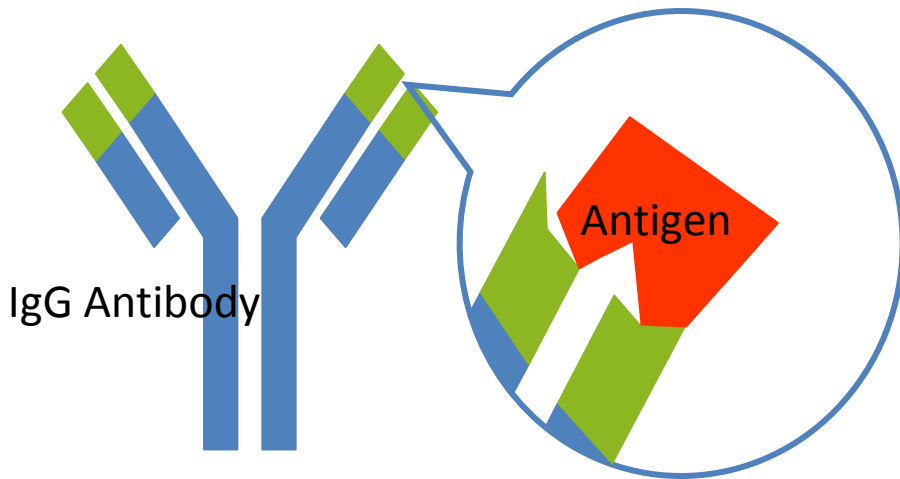
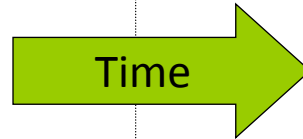




# Понятие авидности IgG

- Поначалу IgG обладают низкой аффинностью и авидностью, т.е. связь с антигеном у них достаточно слабая.
- В дальнейшем, В лимфоциты начинают продуцировать более совершенные антитела, которые способны связывать антиген крепче. При повторном заражении этим же инфекционным агентом, В клетки памяти продуцируют сразу высокоавидные антитела
- В последние годы появилась возможность определения так называемых "ранних" специфических IgG, которые обладают низкой авидностью и указывают на первичную инфекцию (данный тест используется при диагностике краснухи, ЦМВ-инфекции, ВПГ-инфекции и др.).
- Высокоавидные антитела являются показателем давнего инфицирования и ранее перенесенной инфекции
- Выявление ДНК/РНК или АГ («ранних белков») возбудителя на фоне высокоавидных антител указывает на персистирующую инфекцию и свидетельствует в пользу активности инфекционного процесса.
- Авидность антител в сыворотках оценивают по индексу авидности (ИА), который выражают в %

# АВИДНОСТЬ

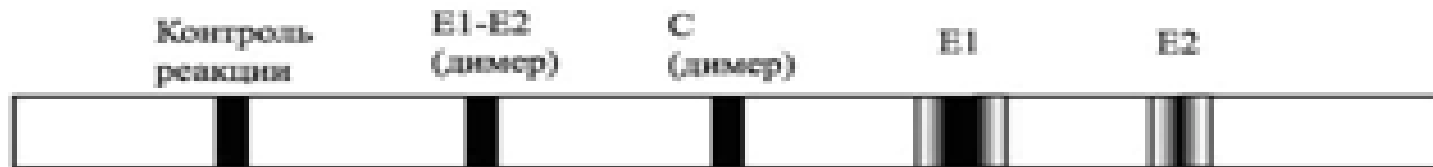




## Иммуноблотинг (подтверждающий тест)

- Вариант ИФА, повышающий чувствительность метода при изучении гетерогенной смеси антигенов
- Смесь антигенов подвергают диск-электрофорезу в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия
- Полученные таким образом индивидуальные полосы антигенов переносят на нитроцеллюлозные полоски с помощью специального аппарата для переноса
- В дальнейшем ход реакции сводится к гетерогенному ИФА для выявления специфических АТ

# recomBlot Rubella IgG



# recomLine Toxoplasma IgG, Avidity, IgM, IgA

**recomLine Toxoplasma**

**Art.Nr. 5971 / 5972 / 5973**

Art.No.

---



# recomBlot CMV IgG, Avidity, IgM

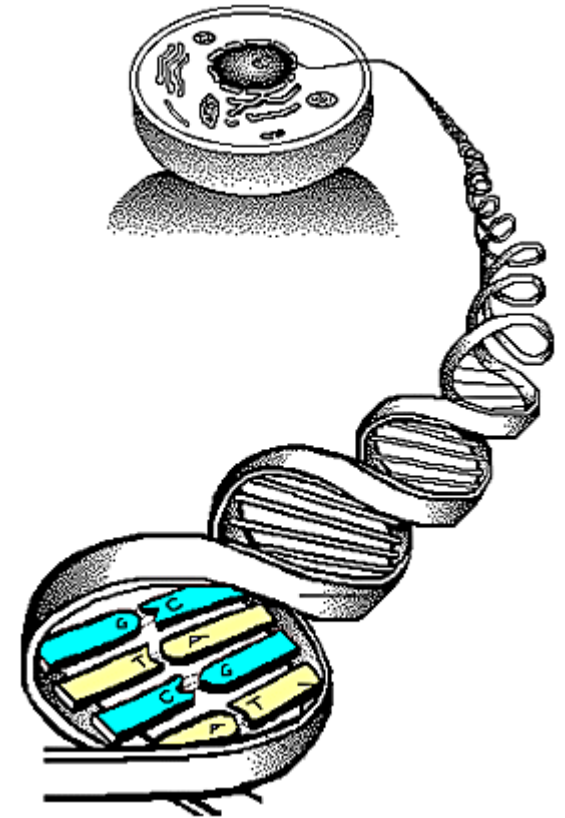
- **контр. реакции IE 1 p150 CM 2 p65 gB1 gB2**



# ПЦР

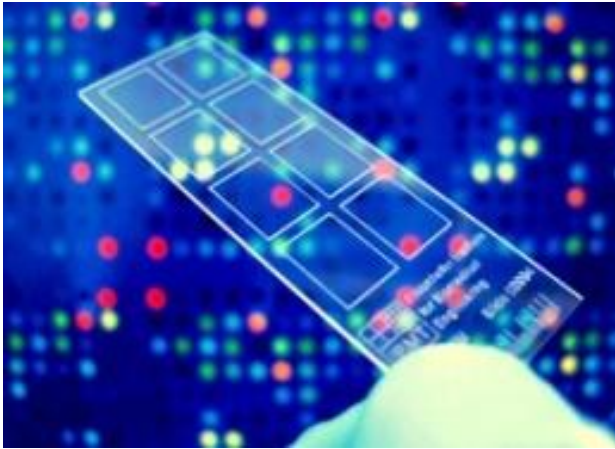
**ПЦР** основан на принципе естественной репликации ДНК.

- расплетение двойной спирали ДНК,
- расхождение нитей ДНК
- комплиментарное дополнение нитей



Используется в инфекционной диагностике для **качественного и количественного** определения **ДНК и РНК** возбудителя, его генотипирования или генотипирования пациента.

# Биочипы и мультиплексный анализ



Иммуночип для  
диагностики TORCH,  
ФБУН ЦНИИ  
Эпидемиологии  
Роспотребнадзора



Набор реагентов  
«Биолюмикс-TORCH»  
(метод проточной  
цитометрии), «ЗИТЦ»,  
«МБС-технология)



# TORCH

Toxoplasmosis

Other (Другие)

Rubella (Краснуха)

Cytomegalovirus

Herpes

# Другие инфекции

Считаются абсолютно доказанными:

- сифилис
- хламидиоз
- гепатиты А и В
- гонококковая инфекция
- листериоз

Вероятно:

- Парвовирус В19
- Вирус ветрянки (*Varicella zoster*)
- Энтеровирусы

# Принципы объединения TORCH-инфекций в группу

Трансплацентарное заражение плода при первичной инфекции

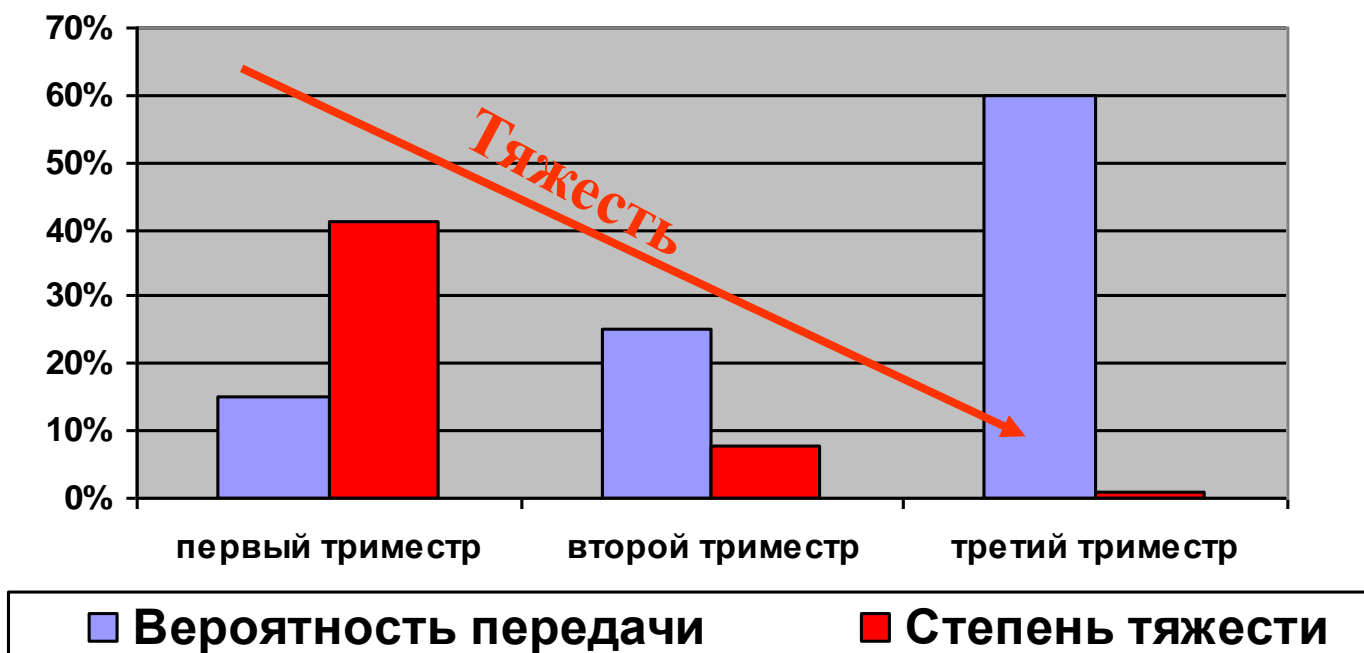
Тератогенный эффект в зависимости от срока беременности

Сходные клинические проявления при внутриутробном инфицировании у новорожденных детей (значение лабораторной диагностики)

Сходные принципы лабораторной диагностики

## Трансплацентарная передача - тяжесть поражения

Вероятность передачи наивысшая при инфицировании матери на поздних сроках беременности.  
Тяжесть поражения наивысшая при инфицировании на ранних сроках.



# Принципы объединения TORCH-инфекций в группу

Трансплацентарное заражение плода при первичной инфекции

Тератогенный эффект в зависимости от срока беременности

Сходные клинические проявления при внутриутробном инфицировании у новорожденных детей (значение лабораторной диагностики)

**Сходные принципы лабораторной диагностики**

# По значимости

Токсоплазмоз

Цитомегаловирус

Краснуха (???) - зависит от программ  
иммунизации детей

ВПГ1,2 (особенно, ВПГ2-тяжелые ВПР)

# Группы лиц, подлежащих обследованию на TORCH-инфекции

- Женщины, планирующие беременность
- Здоровые беременные с целью выявления риска инфицирования
- Беременные с подозрением на инфицирование, в т.ч. по контакту
- Новорожденные дети с клиническими проявлениями ВУИ
- Мужчины и женщины при подготовке к ВРТ

Официальные документы



# Приказ МЗ РФ № 572н от 01.11. 2012.

Приказ № 808 отменен; № 50 вошел в действующий №572.

Порядок оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)»

## *Приложение 5*

Базовый спектр обследования беременных женщин в амбулаторных условиях

### **Рубрика А (обследование всех беременных женщин)**

I триместр (первая явка)

- Краснуха
- токсоплазмоз

III триместр:

- краснуха
- токсоплазмоз
- ЦМВ

**Обследование женщин при патологической беременности:**

Обследование в соответствии с клиническими проявлениям

# Приказ МЗ РФ от 26.02. 2003. N 67

Объем обследования супружеской пары перед проведением ЭКО

Для женщины обязательное: ...анализ крови на сифилис, ВИЧ, гепатиты В и С (действителен 3 месяца);

- исследование на флору из уретры и цервикального канала и степень чистоты влагалища;

по показаниям: инфекционное обследование (хламидиоз, уро- и микоплазмоз, вирус простого герпеса, цитомегалия, токсоплазмоз, краснуха)

Для мужчины обязательное:

- анализ крови на сифилис, ВИЧ, гепатиты В и С (действителен 3 месяца),

- спермограмма.

по показаниям:

- определение группы крови и резус-фактора;

- консультация андролога;

- инфекционное обследование (хламидиоз, уро- и микоплазмоз, вирус простого герпеса, цитомегалия).

# Методы лабораторной диагностики диагностики **TORCH** -инфекций

Прямые (ДНК/РНК методом ПЦР):

## У матери

- для подтверждения инфекции
- для оценки вирусной нагрузки

количественные методы

## У плода

- подтверждение ВУИ (пуповинная кровь, амниотическая жидкость)

качественные и количественные методы

## У новорожденного (кровь, ЦМВ – моча)

подтверждение ВУИ

# Методы лабораторной диагностики **TORCH** - инфекций

Косвенные (чаще всего -- выявление специфических АТ методом ИФА, ИХЛА):

## У матери:

- При планировании беременности (Ig G)
- Скрининг во время беременности (Ig G и Ig M)

**Ig G- Ig M+**

**Ig G- Ig M-**

**ВЫСОКИЙ РИСК  
ИНФИЦИРОВАНИЯ  
ПЛОДА**

- Для подтверждения острой инфекции (Ig G и Ig M и Индекс авидности, метод парных сывороток).

## У плода

- Выявление инфекции (возможно с 22 гестации по Ig M пуповинной крови)

## У новорожденного

- Ig G дифференциация материнских и собственных Ig G методом парных сывороток

# Лабораторные методы в диагностике **TORCH** - инфекций

Скрининговые:

ИФА (IgG и IgM)

ИФА (авидность IgG)

Дополнительные

Иммуноблот

Диагностические

ПЦР (ДНК или РНК возбудителя в околоплодных водах или тканях плода, крови и моче новорожденного)

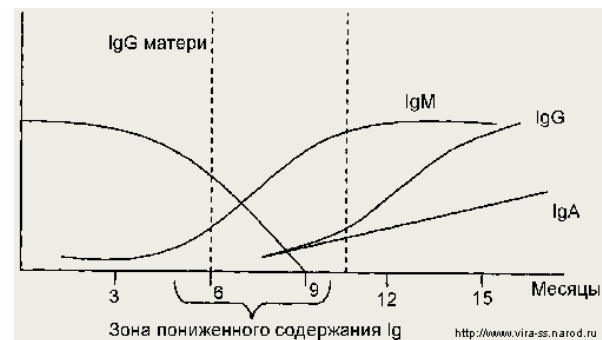
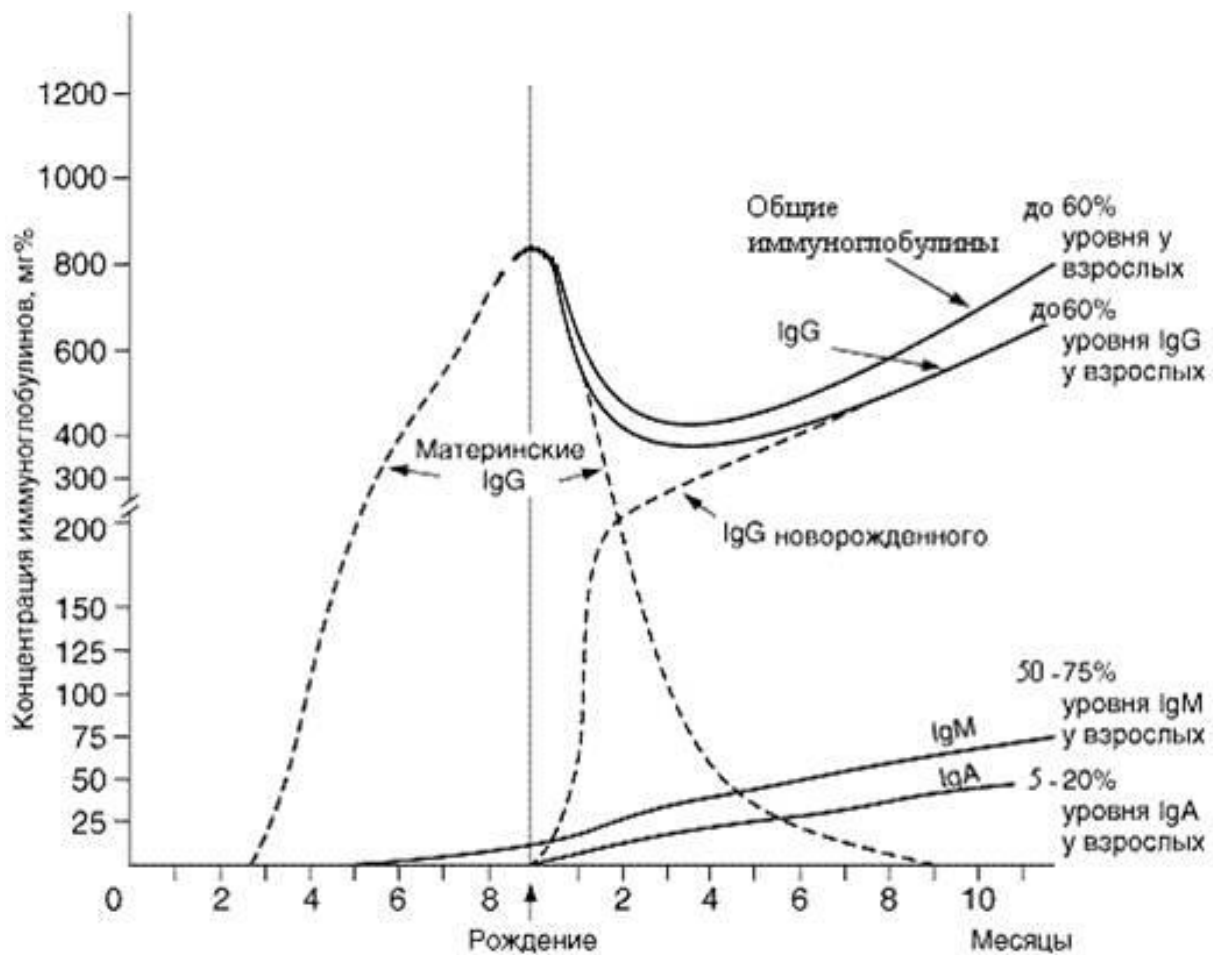
# Значение скрининга

- ✓ Выявление групп риска
- ✓ Выявление сероконверсии
- ✓ Профилактическое: создание осознанного отношения к риску инфицирования и выработка правильного поведения беременной женщиной

# ***О детях...***

1. Скрининг всех новорожденных не рекомендуется
2. Предпочтительны прямые методы (ПЦР, оптимально – количественные с исследованием нескольких биологических сред -кровь, моча, ликвор или др.).
3. При проведении ИФА у новорожденных:
  - исследование должно проводиться до введения препаратов крови (плазмы, иммуноглобулинов и др.);
  - одновременно с серологическим обследованием матери,
  - с обязательным определением авидности IgG.

# Иммуноглобулины первого года жизни





# Важно

в лабораторной диагностике **TORCH**-инфекций

При обнаружении **IgM**, даже при наличии высоких **IgG** у беременных женщин **необходимо определить:**

- время инфицирования: **IgM** при **TORCH**-инфекциях могут находиться в крови длительное время (от 6 недель до 1-2 лет).
- острая это инфекция или реактивация. При о. инфекции риск для плода несравненно больше, поскольку антитела матери не уничтожают инфекционный агент и он проникает через плаценту и поражает плод (при патологии плаценты).
- Исходя из полученных данных уже определяться с выводами о ведении данной беременности

# Важно

в лабораторной диагностике TORCH-инфекций

## Наличие острой инфекции подтверждают:

- методом парных сывороток,
- определением индекса авидности (ИА),
- результатами ПЦР

# Важно

в лабораторной диагностике TORCH-инфекций

## Определение индекса авидности по IgG:

- позволяет дифференцировать первичную инфекцию и реактивацию: при первичной инфекции – низкоавидные антитела, при реактивации – высокоавидные
- определить сроки возникновения инфекции
- Кроме того, наличие высокоавидных антител с положительными результатами на IgM помогает определить более щадящую врачебную тактику.

# Важно

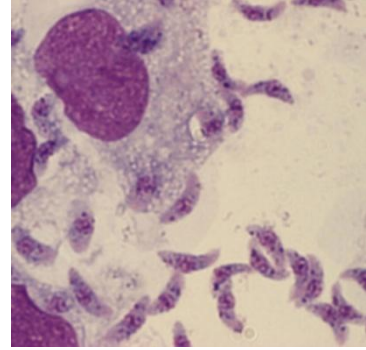
в лабораторной диагностике TORCH –инфекций:

## Ложно-положительные результаты -

наиболее часто встречаются при определении специфических антител класса IgM и могут быть обусловлены:

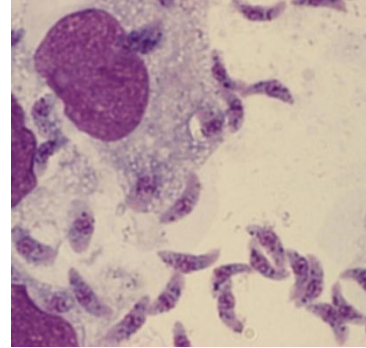
- наличием ревматоидного фактора
- гиперпродукцией IgM при беременности
- перекрестной реакцией с антигенами других возбудителей
- аутоиммунным процессом
- применением лекарственных препаратов содержащих моноклональные АТ, использующиеся в наборе реагентов.

# Токсоплазмоз



- Тенденция к падению инфицированности взрослых в течение последних 30 лет
- Процент инфицированности - от 10 до 50% в разных регионах и популяциях

# Инфицирование взрослых

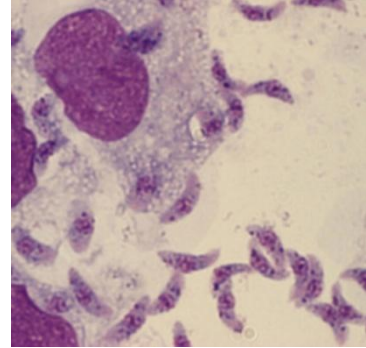


В большинстве случаев малосимптомно

В 1% случаев - хориоретинит вплоть до  
потери зрения

Исключение - некоторые районы Южной  
Америки (особо агрессивные штаммы,  
опасность для взрослых)

# Внутриутробная инфекция



В большинстве случаев - субклинические формы

Классическая триада: хориоретинит, гидроцефалия, кальцинаты мозга

# Субклинические формы внутриутробного инфицирования

Лихорадка

Сыпь (макулопапулезная)

Гепатоспленомегалия

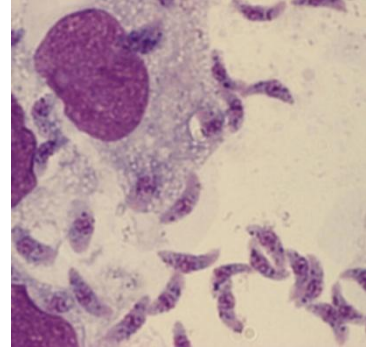
Микроцефалия

Судороги

Желтуха

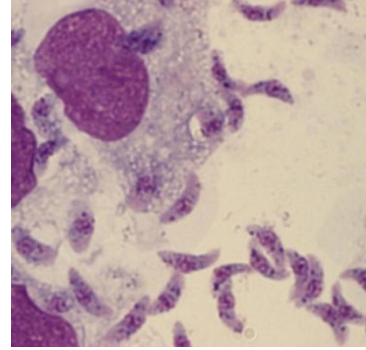
Тромбоцитопения

Генерализованная лимфаденопатия (редко)





# Субклинические формы



Если не лечить, возможно развитие  
поздних осложнений:

хориоретинит - ухудшение зрения вплоть до  
слепоты

умственная отсталость

глухота

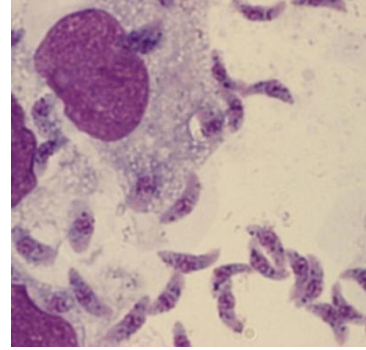
эпилепсия

# Источники инфицирования

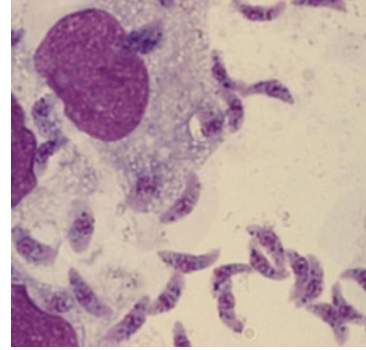
Мясо (термически недостаточно обработанное )

Земля

Вода из водоемов



# Частота инфицирования

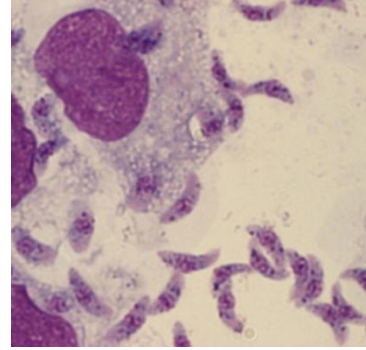


1-8 случаев на 1000 беременностей

При обычном иммунитете опасно только первичное заражение во время беременности

При иммунодефицитах (ВИЧ, иммуносупрессанты) - опасно и носительство токсоплазм

# Лабораторная диагностика:



## Выявление сероконверсии

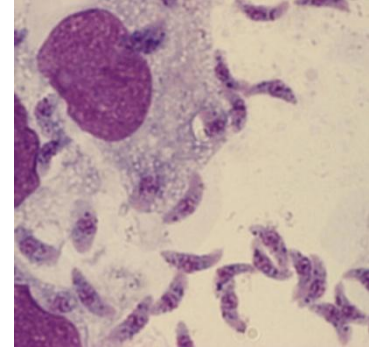
Поэтому, чем чаще проверять, тем больше  
возможность выявления

IgM+    IgG-

через 2 недели

IgM+    IgG+

# Лабораторная диагностика

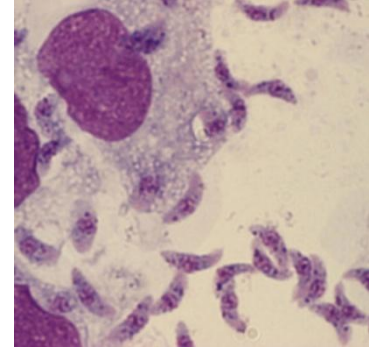


IgM - от 10 до 13 месяцев

Если при сроке до 13 недель IgM+ и IgG+ одновременно, вероятность инфицирования в I триместре - 1-3%

Низкоavidные IgG - в течение нескольких лет после первичного инфицирования

# Риск инфицирования плода при первичной инфекции во время беременности

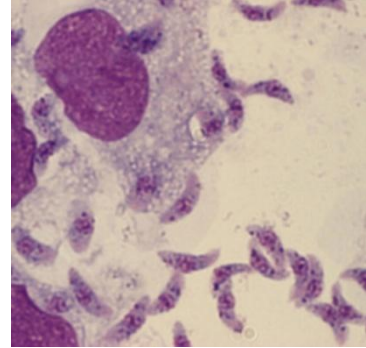


13 недель - 15%

26 недель - 44%

36 недель - 71%

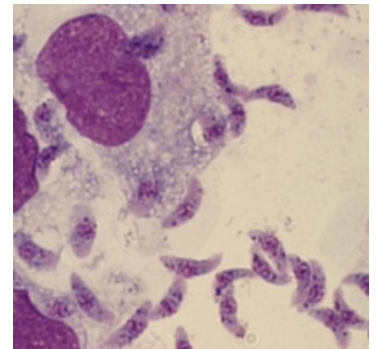
# Частота клинических проявлений



80% инфицированных живорожденных детей не имеют клинической симптоматики

# Сероконверсия

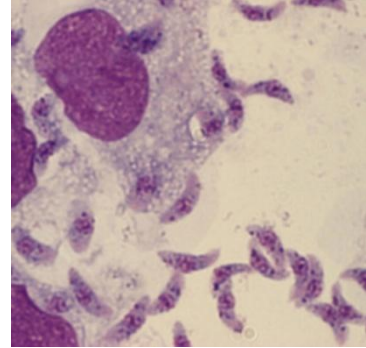
Лечение ребенка более эффективно, если начато в сроки до 3-х недель после сероконверсии



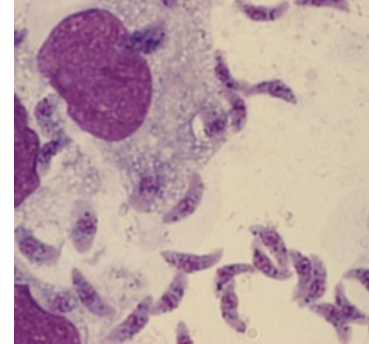


# Диагностика ВУИ

Real-time ПЦР на ДНК *T. gondii* в  
околоплодных водах (амниоцентез)

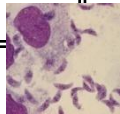
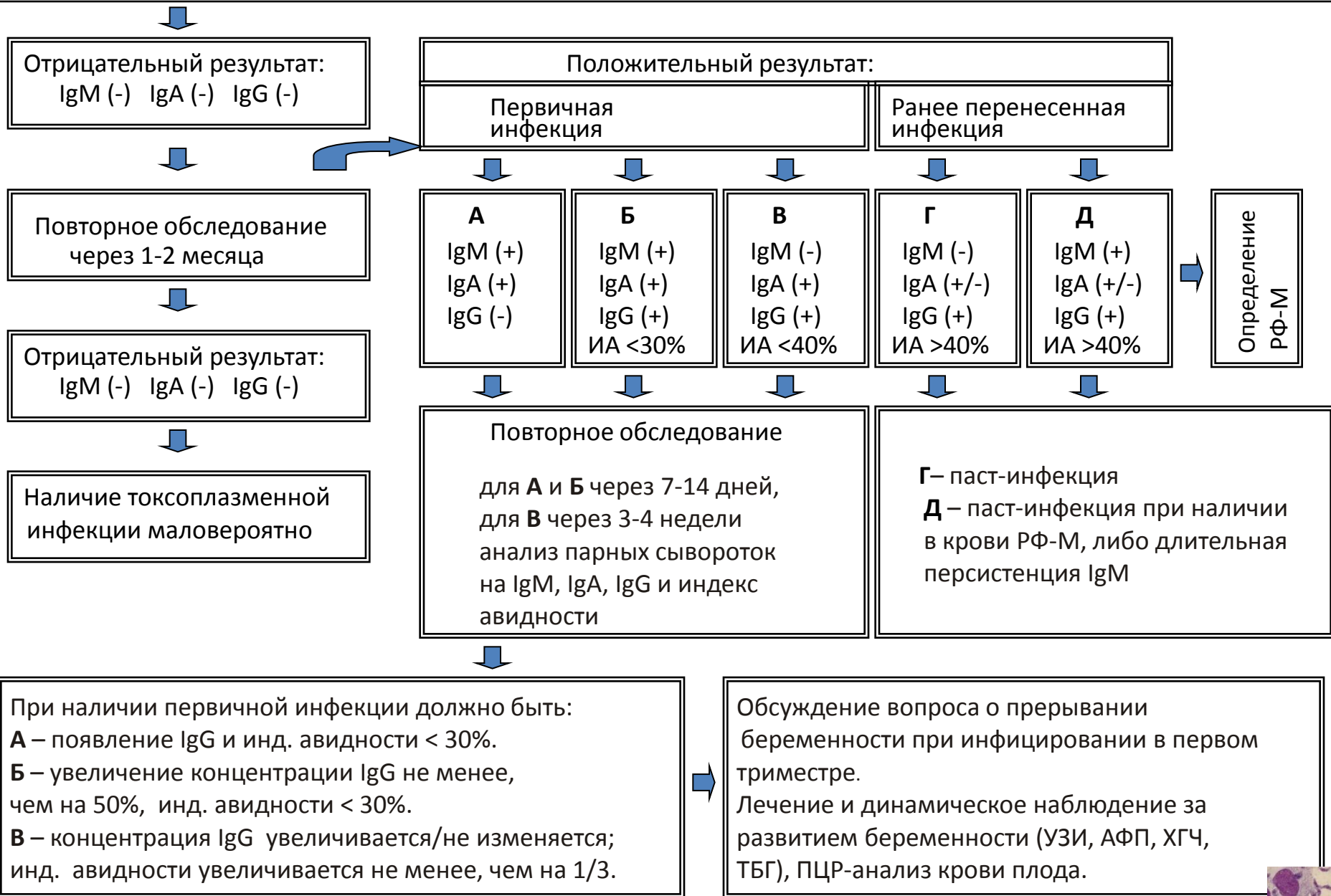


# Интерпретация результатов определения **ИА** IgG к токсоплазме

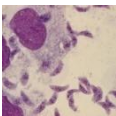
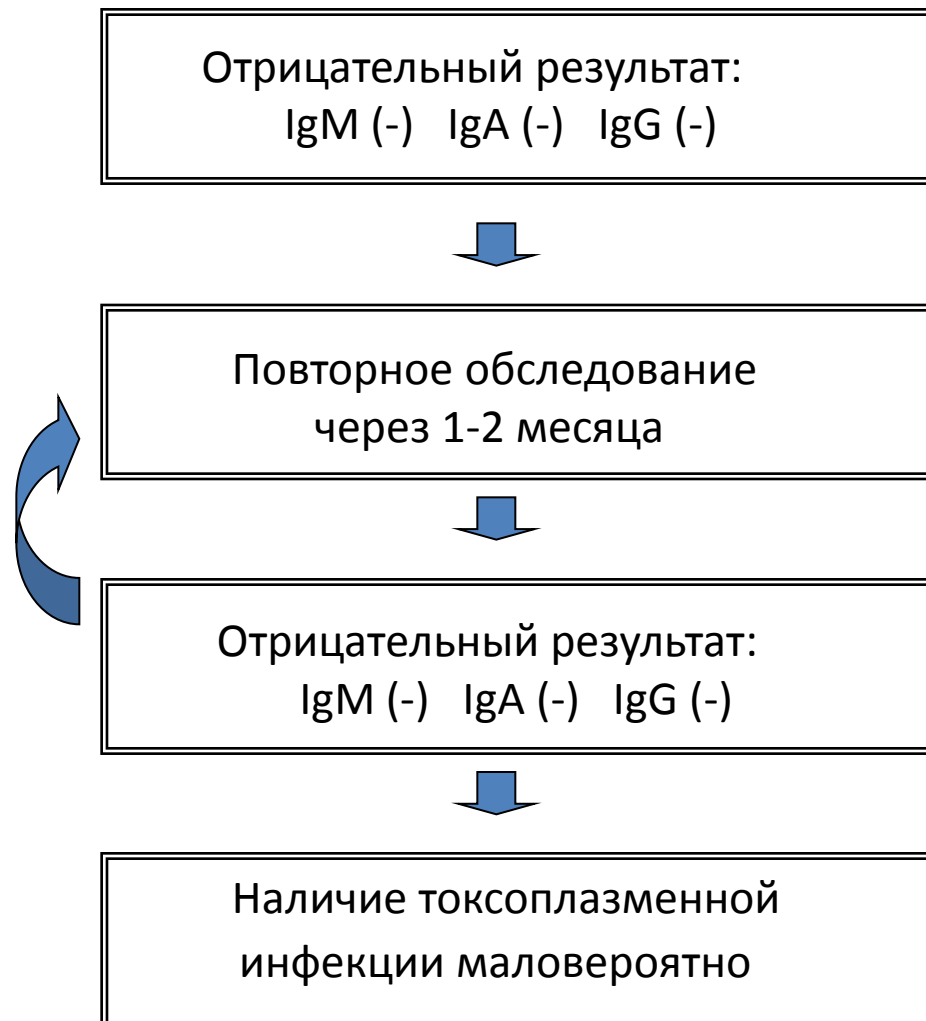


<b>ИА (%)</b>	<b>Сроки инфицирования</b>
<b>&lt; 30%</b>	<b>до 2 месяцев</b>
<b>30-40%</b>	<b>2 – 4 месяца</b>
<b>&gt; 40%</b>	<b>более 4 месяцев</b>

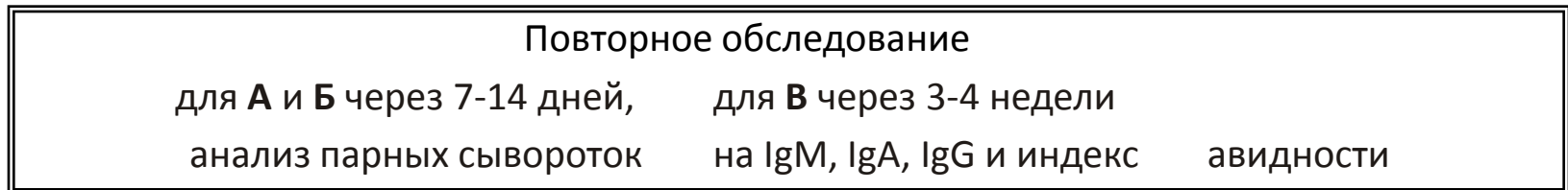
# Алгоритм обследования беременных женщин для диагностики токсоплазмоза



# Алгоритм обследования беременных женщин для диагностики токсоплазмоза



# Алгоритм обследования беременных женщин для диагностики токсоплазмоза

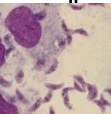


При наличии первичной инфекции должно быть:

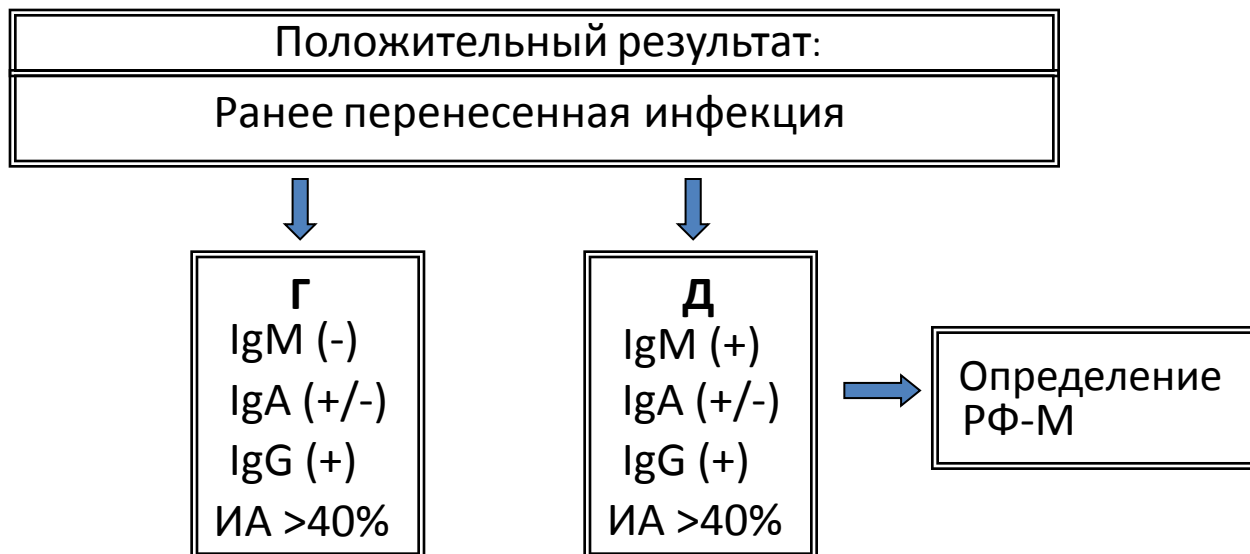
- А** – появление IgG и инд. авидности < 30%.
- Б** – увеличение концентрации IgG не менее, чем на 50%, инд. авидности < 30%.
- В** – концентрация IgG увеличивается/не изменяется; инд. авидности увеличивается не менее, чем на 1/3.



Обсуждение вопроса о прерывании беременности при инфицировании в первом триместре.  
Лечение и динамическое наблюдение за развитием беременности (УЗИ, АФП, ХГЧ, ТБГ), ПЦР-анализ крови плода.



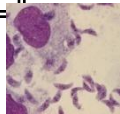
# Алгоритм обследования беременных женщин для диагностики токсоплазмоза



**Г** – перенесенная инфекция

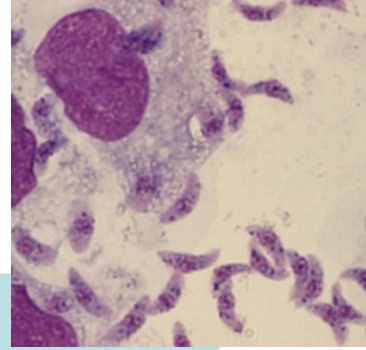
**Д** – перенесенная инфекция при наличии в крови РФ-М,

либо длительная персистенция IgM

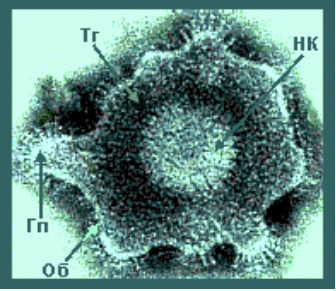


# Серологическая диагностика

## Рекомендации ВОЗ



Рез-т IgG	Рез-т IgM	Интерпретация (за исключением детей)
-	-	Нет серологического подтверждения инфекции. Если есть симптомы, необходимо повторно забрать образец через 3 недели
-	+/-	Возможно, начальная стадия острой инфекции или ложно-положительный результат IgM. Необходимо повторно забрать образец через 3 недели и исследовать IgG и IgM антитела. Если результаты во второй пробе остаются прежними, возможно пациент инфицирован, но это не Токсоплазма
-	+	Возможно, недавняя инфекция или ложно-положительный IgM результат. Необходимо повторно забрать образец через 3 недели и исследовать IgG и IgM антитела. Если результаты во второй пробе остаются прежними, возможно, реакция IgM – ложно-положительная.
+/-	-	Неопределенный: возьмите новый образец или проведите исследование этой же пробы на антитела IgG с помощью другой методики
+/-	+/-	Неопределенный: возьмите новый образец и проведите повторное исследование антител IgG и IgM
+/-	+	Возможно, недавняя инфекция (Токсоплазма). Необходимо повторно забрать образец через 3 недели и исследовать IgG и IgM антитела. Если результаты во второй пробе остаются прежними, или антитела IgG становятся положительными, оба образца должны быть переданы в референсную лабораторию, специализирующуюся на диагностике Токсоплазмоза для последующих исследований.
+	-	Инфицирование (Токсоплазмоз) произошло более 6 мес. назад
+	+/-	Инфицирование (Токсоплазмоз). Сомнительный результат IgM антител может свидетельствовать о недавней инфекции или это может быть ложно-положительный результат. Необходимо повторно забрать образец через 3 недели и исследовать его. Если результаты во второй пробе остаются прежними, оба образца должны быть переданы в референсную лабораторию, специализирующуюся на диагностике Токсоплазмоза для последующих исследований.
+	+	Возможно, недавняя инфекция. Образец должен быть передан в референсную лабораторию, специализирующуюся на диагностике Токсоплазмоза для последующих исследований.



# ЦМВ

Самая частая внутриутробная инфекция

0,2% - 2% всех новорожденных (в среднем 0,5%)

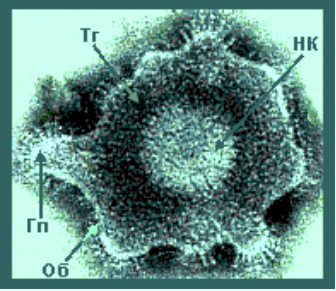
Частота сероконверсии 2-2,5% всех беременностей

Внутриутробное инфицирование у серопозитивных матерей: 0,2-1,5%

При сероконверсии: 40%

При заражении в течение полугода до беременности риск внутриутробного инфицирования - 1%





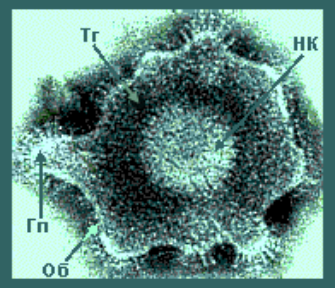
## ЦМВ - риск инфицирования плода при сероконверсии

I триместр - 36%

II триместр - 45%

III триместр - 78%

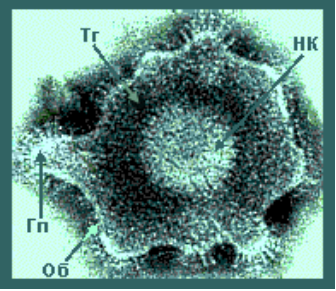
Однако степень поражения плода тем выше, чем ранее произошло инфицирование



# ЦМВ - передача

Через жидкости тела: слюна, моча,  
женское молоко, половой путь

Наиболее опасны дети до 3-х лет жизни



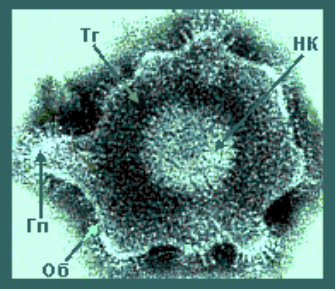
# ЦМВ - проявления при внутриутробном заражении

90% - нет симптомов при рождении

Однако до 15% этих детей имеют риск развития в дальнейшем нарушений:

- психомоторные
- нарушения слуха
- нарушения зрения
- нарушения зубов

Степень нарушения слуха коррелирует с концентрацией антигена ЦМВ в моче и крови



# ЦМВ

10% зараженных - есть симптомы:

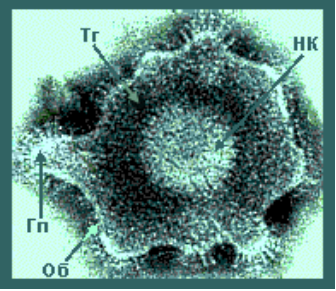
желтуха - 67%

гепатоспленомегалия - 60%

петехии - 76%

Мультиорганные поражения (микроцефалия, моторные нарушения, респираторный дистресс, судороги)

Поздние осложнения - потеря слуха, потеря зрения, снижение обучаемости

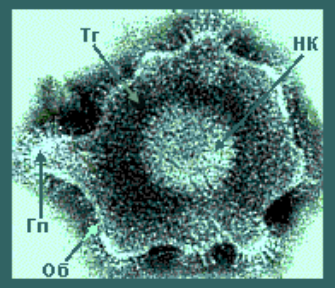


# ЦМВ

## Диагностика у беременных

### Скрининг: серологические тесты на IgG и IgM антитела:

- Ранее полученный отрицательный результат по IgG антителам и недавно полученный положительный результат по IgM антителам может указывать на первичную инфекцию, но не на реактивацию - требуется повторное исследование IgG во втором образце
- Низкая авидность IgG свидетельствует о первичной инфекции
- Высокая авидность IgG исключает первичную инфекцию
- Для дальнейшего подтверждения можно использовать метод ПЦР(кровь или моча)



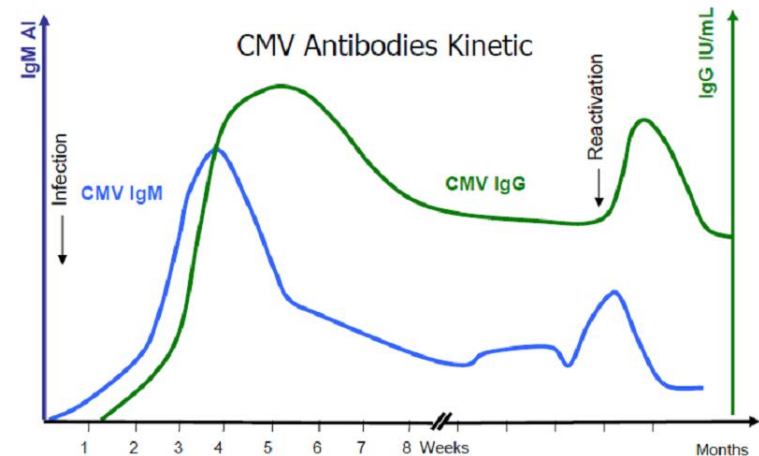
# Серологическая диагностика

Сероконверсия:

IgG-

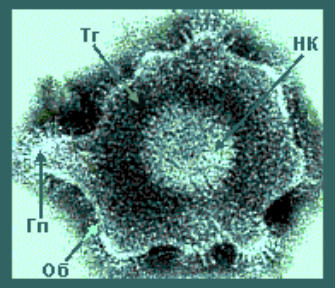
через 2 недели

IgG+



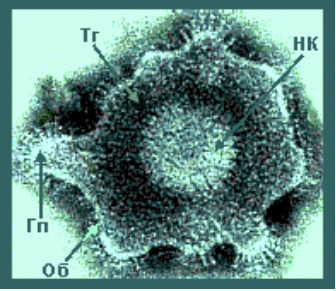
IgM появляются у 75-90% женщин с острой первичной инфекцией и **существуют до года**, поэтому имеют малое значение для установления сероконверсии

IgM могут вновь появляться у иммунных женщин после встречи с новым штаммом вируса



# Интерпретация результатов определения **ИА** IgG к ЦМВ

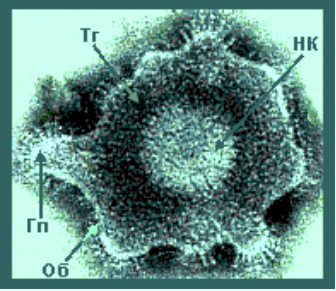
<b>индекс авидности, %</b>	<b>сроки инфицирования</b>
<b>&lt;30%</b>	<b>до 3 месяцев</b>
<b>30-50%</b>	<b>3-5 месяцев</b>
<b>&gt;50%</b>	<b>более 5 месяцев</b>



# Диагностика (дети):

- Выделение антигена из мочи или слюны в первые 3 недели жизни
- IgM в пуповинной крови - вспомогательное значение



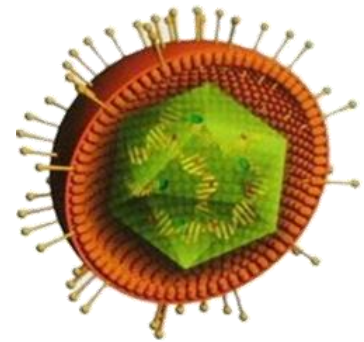


# Пренатальная диагностика

Амниоцентез - ДНК ЦМВ методом ПЦР

Отрицательный результат не исключает  
возможности инфицирования

# Краснуха



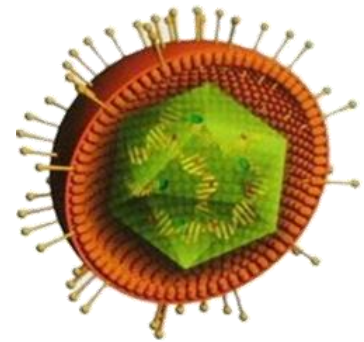
Врожденная краснуха - не имеет серьезного значения в развитых странах (5-6 случаев ежегодно в США)

Серьезная проблема в странах, где были поздно приняты программы иммунизации детей

Россия - промежуточное положение (программа иммунизации детей с середины 1990-х годов, активное анти-прививочное «лобби»)

Россия - 3,5 случая на 1000 родов

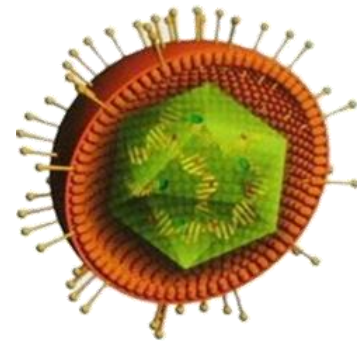
# Краснуха



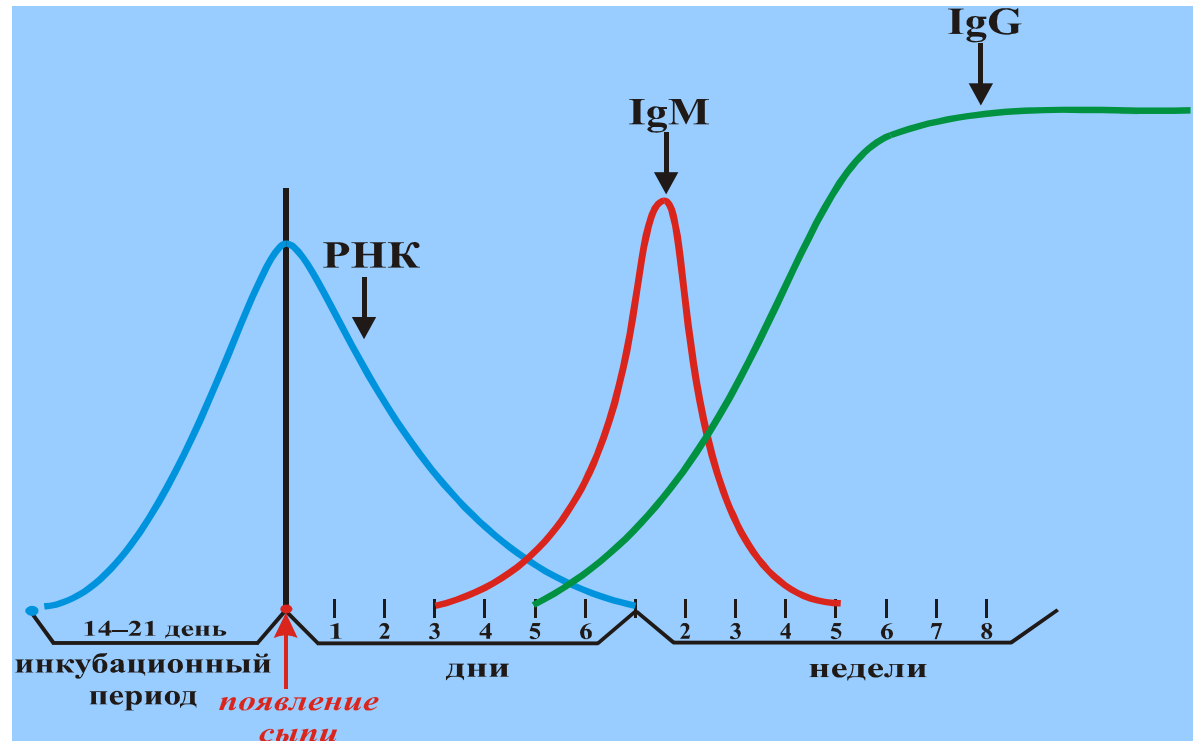
Внутриутробная инфекция - все случаи передачи вируса плоду, включая выкидыши и мертворождение

Синдром внутриутробной краснухи - типичный набор признаков поражения плода (нарушения слуха, пороки сердца, катаракта, глаукома, ретинопатия)

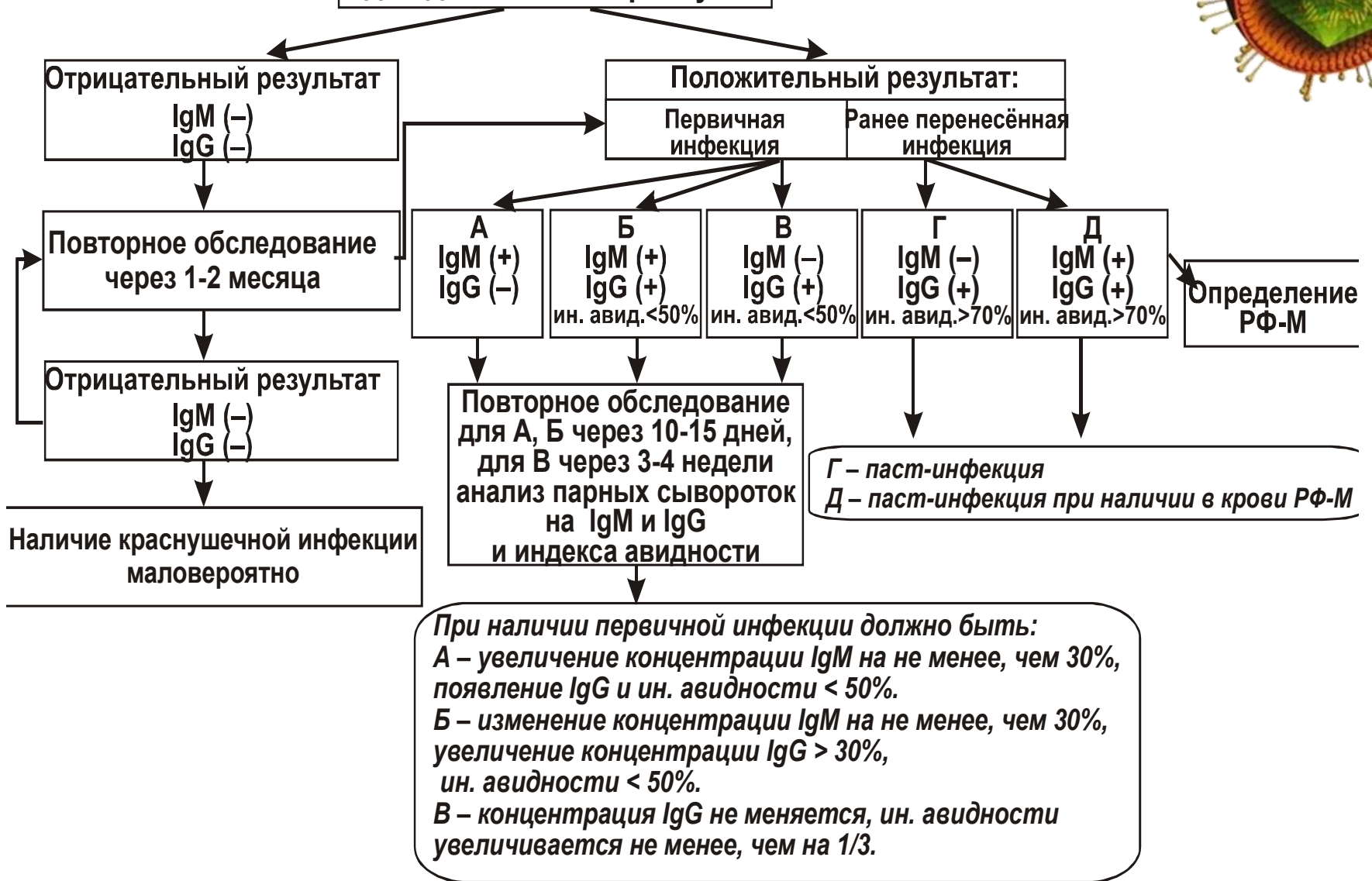
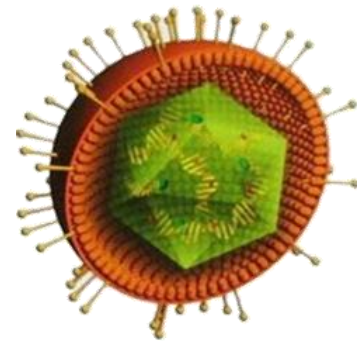
# ИФА-диагностика



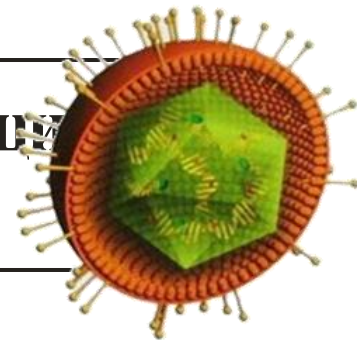
- Четырехкратное повышение титра IgG
- Появление IgM
- ПЦР



# Алгоритм обследования беременных женщин для диагностики краснухи



# Алгоритм обследования беременных женщин для диагностики краснухи



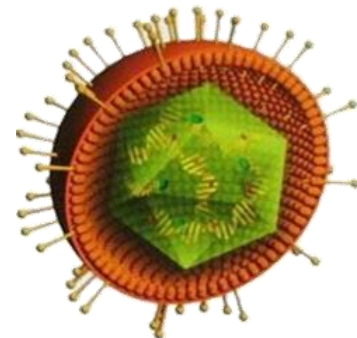
Отрицательный результат  
IgM (-)  
IgG (-)

Повторное обследование  
через 1-2 месяца

Отрицательный результат  
IgM (-)  
IgG (-)

Наличие краснушечной  
инфекции маловероятно

# Алгоритм обследования беременных женщин для диагностики краснухи



Положительный результат

Первичная инфекция

**А**  
IgM (+)  
IgG (-)

**Б**  
IgM (+)  
IgG (+)  
ин. авид. <50%

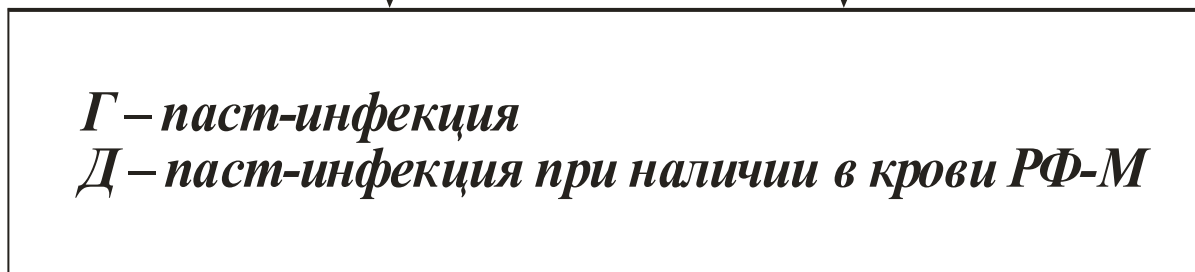
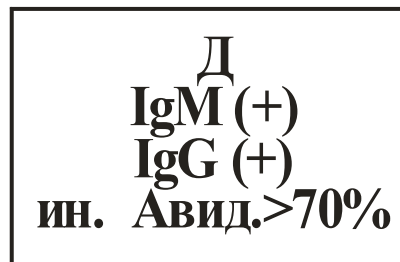
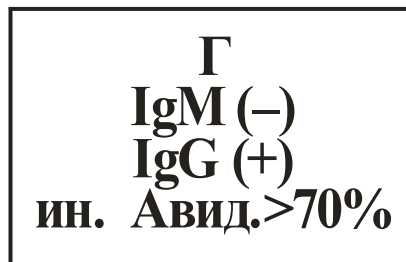
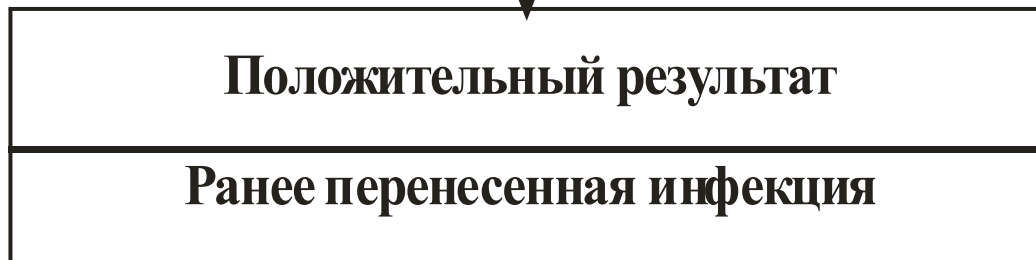
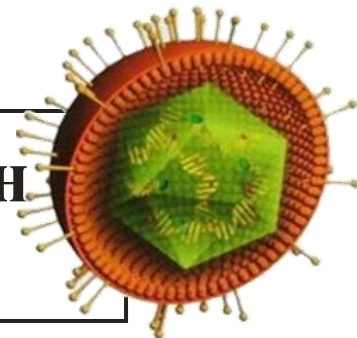
**В**  
IgM (-)  
IgG (+)  
ин. авид. <50%

Повторное обследование для А, Б через 10-15 дней,  
для В через 3-4 недели анализ парных сывороток  
на IgM и IgG и индекс авидности

*При наличии первичной инфекции должно быть:*  
**А** – увеличение концентрации IgM на не менее, чем 30%,  
появление IgG и ин. авидности < 50%.  
**Б** – изменение концентрации IgM на не менее, чем 30%,  
увеличение концентрации IgG > 30%,  
ин. авидности < 50%.  
**В** – концентрация IgG может не меняться,  
ин. авидности увеличивается не менее, чем на 1/3.

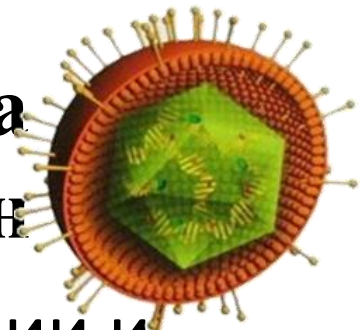
*Обсуждение вопроса о прерывании  
беременности при инфицировании в первом тр  
иместре. Лечение и динамическое наблюдение за  
развитием беременности  
(УЗИ, АФП, ХГЧ, ТБГ)  
ПЦР-анализ крови плода.*

# Алгоритм обследования беременных женщин для диагностики краснухи



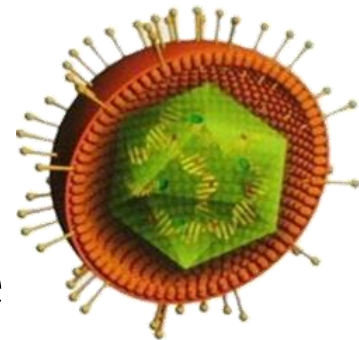


# Необходимость дополнительного теста на **авидность** для беременных женщин



- Возможность наличия IgM при реактивации и реинфекции.
- Возможная длительная персистенция IgM после сероконверсии.
- Возможное отсутствие IgM при острой первичной инфекции.
- Поздние сроки проведения анализа.
- Снятие ложнопозитивных результатов при определении IgM.

# Интерпретация результатов определения **ИА** IgG к краснухе

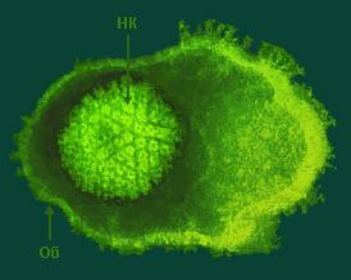


<b>ИА (%)</b>	<b>Сроки инфицирования</b>
<b>&lt; 50%</b>	<b>до 3 месяцев</b>
<b>50-70%</b>	<b>3-5 месяцев</b>
<b>&gt;70%</b>	<b>&gt; 5 месяцев</b>

# Краснуха

## Рекомендации ВОЗ

Рез-т	Ур-ни IU/ml	Интерпр-ия	Комментарии
IgG	≤4.99	-	Велика вероятность заболеть Краснухой. Нет значительного уровня IgG. Вакцинация рекомендована для всех, кроме беременных женщин.
IgG	5 - 9.99	+/-	Велика вероятность заболеть Краснухой. Уровень IgG низкий и не достаточен для защиты.
IgG	≥10	+	Иммунитет к вирусу Краснухи есть. Согласно ВОЗ cutoff для IgG антител к вирусу Краснухи – 10 IU/ml. Результат ≥10 IU/ml считается положит. Уровень IgG от 10 до 20 IU/ml считается низким. Ревакцинация рекомендована для небеременных женщин.
IgM		-	Антител IgM к вирусу Краснухи нет
IgM		+/-	Низкий, неопределенный, уровень IgM антител. Показаны дальнейшие исследования.
IgM		+	Обнаружены IgM антитела, это может свидетельствовать о первичной инфекции, рецидивной инфекции или об ответе при ревакцинации. Могут потребоваться дополнительные исследования.
IgG<4.99 IgM нег			Велика вероятность заболеть Краснухой. Вакцинация рекомендована для небеременных женщин.
IgG>10 или IgG 5-9.99 IgM отриц			Иммунитет к вирусу Краснухи. Согласно ВОЗ cutoff для IgG антител к вирусу Краснухи – 10 IU/ml. Результат ≥10 IU/ml считается положительным. Уровень IgG антител от 10 до 20 IU/ml считается низким. Ревакцинация рекомендована для небеременных женщин.
IgG<4.99 или 9,9 IgM сомн или поз и IgG≥10 IU/ml и IgM поз Или 4-кратное увеличение уровня IgG за последние 10- 21 дней.			Краснуха. IgM определяются в острой фазе первичной инфекции, после вакцинации и во время рецидивной инфекции у некоторых людей. При рецидивной инфекции уровни IgM ниже и более кратковременно присутствуют. И не связаны с синдромом врожденной краснухи. IgM в пуповинной крови или крови новорожденного могут свидетельствовать о наличии синдрома врожденной Краснухи. Для того чтобы определить на сколько давно произошло инфицирование, рекомендован тест на авидность. В дальнейшем, для подтверждения, могут понадобиться другие виды исследований, например ПЦР.
IgG 5-9.99 или >10 и IgM сомнит или позит			Повторное заражение. Повторное заражение может произойти у людей, у которых уже есть антитела IgG к вирусу Краснухи, выработанные после перенесенного заболевания или после вакцинации. Наличие IgG и IgM антител свидетельствует о повторном заражении или о поздней стадии первичной инфекции. Для дифференцировки между двумя возможными формами заболевания, рекомендуется тест на авидность. Требуется доп. консультация со специалистами.

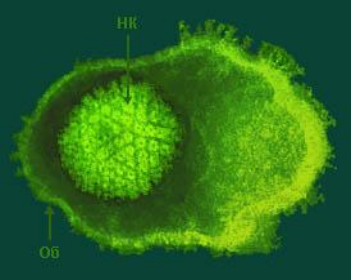


# Внутриутробный герпес

Группа риска - беременные, не имеющие иммунитета к ВПГ (IgM-, IgG-)

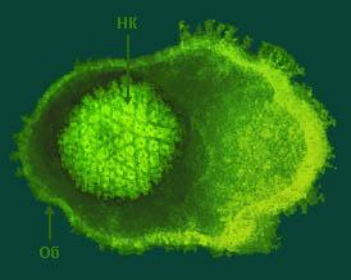
Внутриутробное поражение только при первичной инфекции

Частота - около 5 случаев на 10000 родов



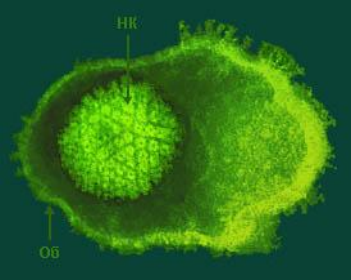
# Внутриутробный герпес

Заражение - только контактным путем,  
поэтому эффективны меры профилактики



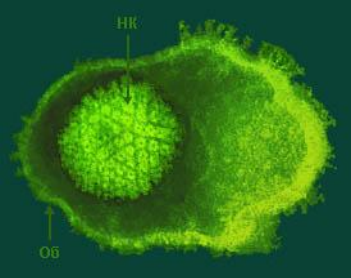
# Новорожденный

Заражение обычно контактным путем во время родов



# Герпес у беременных

- Периодический мониторинг мазков на бессимптомное выделение вируса (ПЦР-диагностика)
- Авидность IgG к ВПГ-1,2

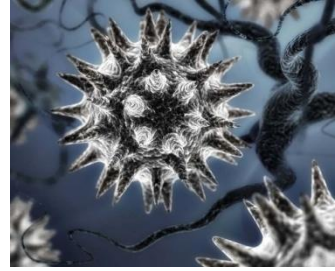


# Интерпретация результатов определения ИА IgG к ВПГ-2

<b>Индекс авидности, %</b>	<b>Сроки инфицирования</b>
<b>&lt;40%</b>	<b>До 50 дней</b>
<b>40 – 60%</b>	<b>50 – 100 дней</b>
<b>&gt;60%</b>	<b>более 100 дней</b>



# Вирус ветрянки (*Varicella zoster*)



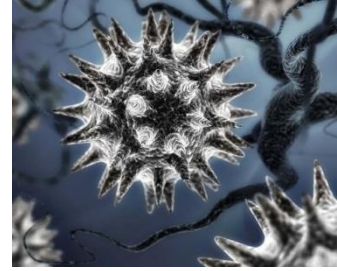
Ветрянка

*Herpes zoster*

Частота: 1-5 случаев на 10000  
беременностей

Высокая вирулентность при отсутствии  
иммунитета

# Внутриутробное поражение

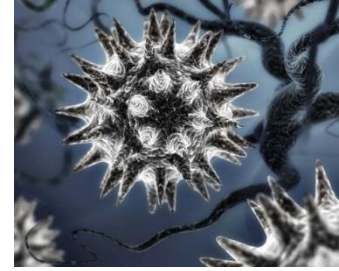


Гранулемы плаценты

Острый плацентит

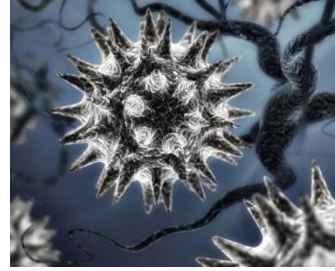
Поражение нервной ткани плода  
(энцефалит)

# Varicella zoster у беременной



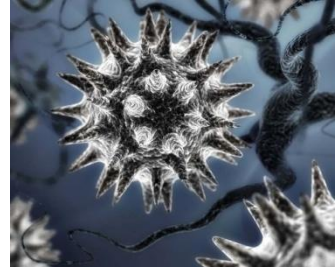
Вирусная пневмония - состояние, опасное  
для жизни

# Течение беременности



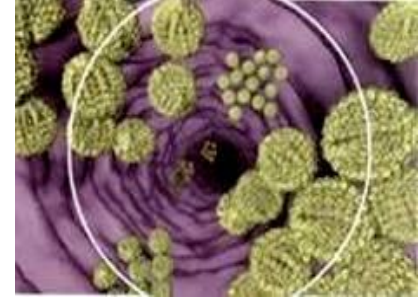
- Повышение частоты выкидышей и преждевременных родов
- Врожденный ветряночный синдром - риск при внутриутробном инфицировании от 0,4 до 2% (рубцовые изменения кожи, ретинопатия, водянка)

# Вирус ветрянки



Главное направление - профилактика:  
скрининг до беременности и проведение  
прививки при отсутствии иммунитета

# Парвовирус В19



Антитела - у 30-60% взрослых

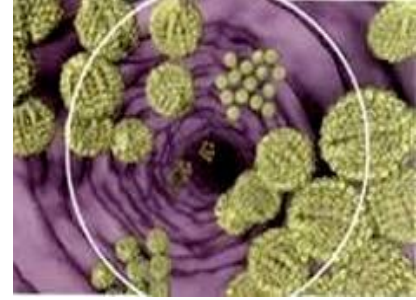
Острая инфекция при беременности - 3-3,5%:

- Выкидыши
- Мертворождение
- Водянка плода

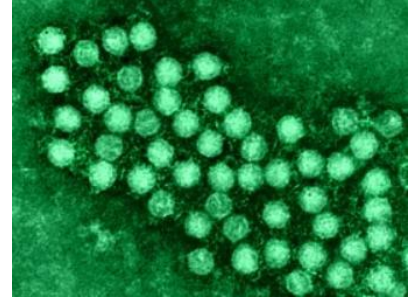
В 90% случаев острой инфекции поражение плода не возникает

# Парвовирус В19

Мониторинг: ИФА (IgM и IgG)



# Энтеровирусы



Описаны случаи острой инфекции

эховирусами

вирусами Коксаки,

приводящими к синдрому острой боли в животе, с симптомами, идентичными отслойке плаценты

Могут быть причиной антенатальной смерти плода



# Рекомендуемая литература:

1. Приказ МЗ РФ № 572н от 01.11. 2012
2. Приказ МЗ РФ от 26.02. 2003. N 6
3. Национальное руководство по лабораторной медицине ГОЭТАР-Медиа, М., 2013г.
4. Национальное руководство. Гинекология. ГОЭТАР-Медиа, М., 2013г.
5. Национальное руководство. Акушерство. ГОЭТАР-Медиа, М., 2013г.
6. Лабораторная диагностика инфекционных болезней. Справочник. БИНОМ, М., 2014г.
7. Клиническая интерпретация лабораторных исследований для практикующего врача. Учебно-методическое пособие. С-Пб., 2013г.
8. Иммунохимический анализ в КДЛ. Под ред. Долгова В.В., Триада, М., 2015г.
9. Материалы XX международной научно-практической конференции «Достижения и перспективы развития лабораторной службы России», Москва, 24-26 марта 2015г.

*Спасибо за внимание!*