

Современные возможности лабораторной диагностики TORCH инфекций



Ротанов Сергей Владимирович

Профессор кафедры, д.м.н., доцент

ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, г. Москва

ФГБУ “ГНЦДК” Минздрава России, г. Москва



Актуальность

- В начале XXI веков демографическая ситуация в РФ характеризовалась постепенным старением нации и уменьшением абсолютного числа населения.
- Для поддержания семьи и стимулирования рождаемости Правительством России поддерживаются научные исследования, разрабатываются и финансируются социальные программы, направленные на:
 - повышение рождаемости,
 - снижение перинатальной смертности, путём контроля за воздействием факторов инфекционной природы на незрелые системы и органы плода, повышая риски развития выкидышей, мертворождений или формирования врожденных пороков развития и уродств ребенка.
- “Концепция демографической политики РФ на период до 2025 года”: с **2000** г. в России отмечается **рост** рождаемости, который ещё недостаточен для воспроизводства населения.

Внутриутробные инфекции (ВУИ) эмбриона, плода и новорожденного

- заражение происходит внутриутробно или в процессе родов;
- путь передачи - вертикальный (от матери к плоду);
- распространенность ВУИ в человеческой популяции может достигать **6 - 10 - 53%**;
- в нашей стране ВУИ занимают ведущее место в структуре младенческой смертности - почти **25 %**;
- трансплацентарное инфицирование плода считается одной из наиболее частых причин (до **80 %**) врождённых пороков развития, обуславливающих около **30 %** всех смертей детей в возрасте до 1 года.

TORCH СИНДРОМ

- Инфекционный процесс у плода могут вызывать самые разнообразные возбудители:
 - ▣ **вирусы** (ЦМВ, вирусы краснухи, герпеса, гепатита человека, парвовирус В19 и др.);
 - ▣ **бактерии** (сифилис, листериоз, туберкулёз, другие ЗППП);
 - **паразиты** (токсоплазмы);
 - **грибки** (рода кандиды),
 - **микст-инфекции**.
- ▣ В 1971 году **ВОЗ** выделила понятие **TORCH синдром** (впервые предложенный А.Ж. Nahmias):
 - T** - **toxoplasmosis** - токсоплазмоз,
 - O** - **other** – другие (микопlasма, сифилис, гепатиты, кандиды, стрептококки и прочие вирусные и бактериальные инфекции),
 - R** - **rubella** - краснуха,
 - C** - **cytomegalia** - цитомегаловирусная инфекция,
 - H** - **herpes simplex 1, 2** – герпес-вирусная инфекция.

ОБЩИЕ ПРИЗНАКИ TORCH ИНФЕКЦИЙ

- передаются от матери плоду трансплацентарно;
- особенности возбудителей - внутриклеточное развитие, при котором организм хозяина не может самостоятельно элиминировать патогены и это приводит к персистирующему медленному течению;
- поражение плода приводит к генерализации инфекции;
- в результате действия патогенов возникает комплекс условий, таких как: гипертермия, прямое цитопатическое действие микроорганизмов и их токсинов, приводящих к нарушению плацентации, закладки органов, нарушение обменных процессов;
- все возбудители тератогенны;
- заражение этими патогенами в постнеонатальный период протекает чаще в виде более лёгкого инфекционного процесса;
- для плода особенно опасны возбудители TORCH инфекций, с которыми мать впервые встретилась во время беременности, так как в этот период первичный иммунный ответ снижен, а вторичный не задействован;

ОБЩИЕ ПРИЗНАКИ TORCH ИНФЕКЦИЙ

- повреждающее воздействие на плод зависит от сроков гестации на момент инфицирования плода:
 - **0-2 недели** после зачатия — **бластопатия**, чаще заканчивается спонтанным абортом на очень раннем сроке;
 - **2-10 недели** беременности — **истинные пороки развития** вследствие поражений на клеточном уровне;
 - **10-28 недели** беременности — **ранние фетопатии** (плод может ответить генерализованной воспалительной реакцией в виде альтерации, пролиферации и фиброза; экссудация не выражена) вследствие чего формируются множественные пороки развития, например: фиброэластоз;
 - ▣ **28-40 неделю** беременности — **поздние фетопатии**, плод уже может ответить полноценной воспалительной реакцией и чаще всего в патологию вовлекаются несколько органов;
 - ▣ инфицирование **во время родов** — воспаление **чаще одного органа** (пневмония, гепатит);

ОБЩИЕ ПРИЗНАКИ TORCH ИНФЕКЦИЙ

- проявление TORCH синдрома:
 - задержка внутриутробного развития;
 - мертворождение;
 - преждевременные роды;
 - лихорадочные состояния в первые сутки жизни;
 - ранняя или прологнированная или интенсивная желтуха;
 - малая специфичность клинических проявлений;
 - поражение ЦНС (микроцефалия, гидроцефалия, внутримозговые кальцификаты и другое), проявляющееся тяжелыми неврологическими нарушениями;
 - кожные сыпи различного характера;
 - синдром дыхательных расстройств;
 - сердечнососудистая недостаточность;
 - гепатоспленомегалия;
 - малые аномалии развития (стигмы дисэмбриогенеза).

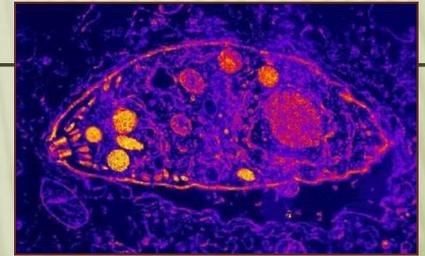
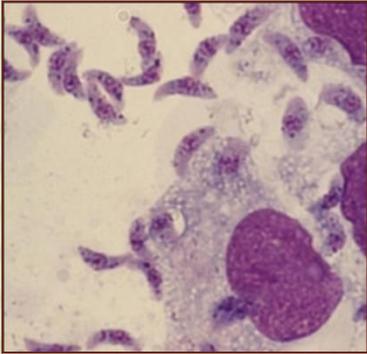
Исходы инфицирования плода

- развитие инфекционного заболевания с возможными вариантами исхода;
- санация с приобретением иммунитета;
- носительство инфекционного агента с возможностью развития заболевания в будущем.

Таким образом, наличие инфекции у инфекционного поражения последа инфицирование плода **не означают** 100% развитие ВУИ у плода и новорождённого, однако риск его развития и тяжесть последствий - **очень высоки**.



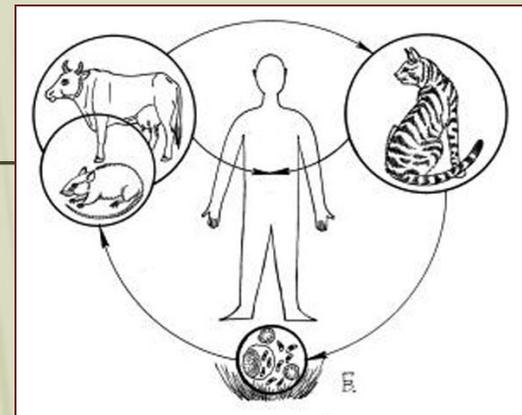
ТОКСОПЛАЗМОЗ



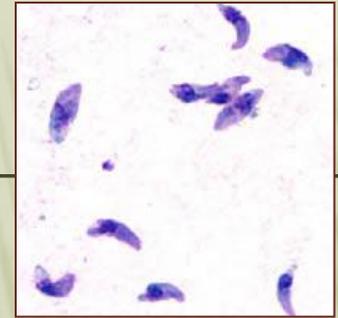
- возбудитель - внутриклеточный паразит *Toxoplasma gondii*;
- распространённость инфекции в человеческой популяции по данным серологического тестирования - **6-90%**;
- инфицированность женщин детородного возраста достигает **30%**;
- около **10-12%** женщин заражаются токсоплазмами во время беременности;
- риск передачи инфекции от матери плоду - до **30-40%**

ТОКСОПЛАЗМОЗ

- основным источником инфекции являются домашние и дикие **КОШКИ**, а также собаки, кролики и другие грызуны, травоядные, хищники, птицы;
- заражение происходит **алиментарным**, контаминационным и реже воздушно-капельным путем;
- токсоплазмы через микроразрывы кожи и слизистых оболочек попадают в лимфу и кровь, поражают различные органы и ткани (прежде всего: головной мозг, глаза, сердце, мышцы).



ТОКСОПЛАЗМОЗ



- острая приобретённая форма проявляется как тифоподобное заболевание: с высокой температурой, увеличением печени и селезёнки, либо с преимущественным поражением ЦНС (головная боль, судороги, рвота, параличи и др.);
- токсоплазмоз часто переходит в хроническую форму: с субфебрильной температурой, головной болью, увеличением лимфоузлов и печени, понижением работоспособности; может сопровождаться поражением глаз, сердца, нервной и других систем и органов.
- токсоплазмоз может протекать и в латентной форме.

ТОКСОПЛАЗМОЗ



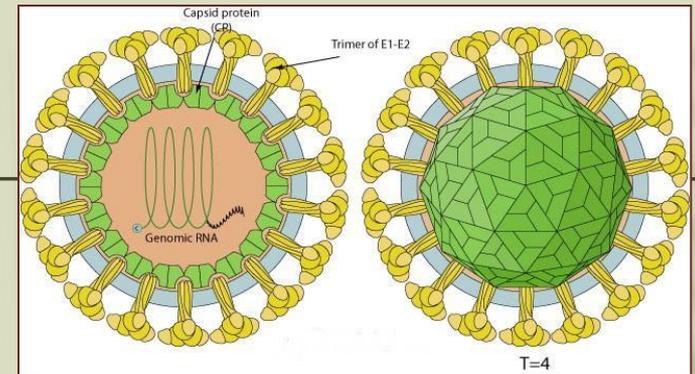
- при врождённом токсоплазмозе наблюдаются гибель плода в утробе матери, смерть новорождённого обусловлена генерализованной инфекцией, у оставшихся в живых - поражение нервной системы, глаз и других органов;
- заражение в **I и II триместрах** беременности - риск гибели плода и преждевременных родов достигает **10-15%**, врожденного токсоплазмоза - **15-25%** (с тяжёлыми фетопатиями: микроцефалия / гидроцефалия, хориоретинит, гепатоспленомегалия, очаговые кальцификаты в головном мозге, тромбоцитопения);
- заражении в **III триместре** - врожденный токсоплазмоз развивается значительно чаще - до **90 %**; при этом заболевание в большинстве случаев протекает бессимптомно;
- при эпидемиологическом обследовании **215** пациентов с токсоплазмозом было установлено, что **146 (68%)** человек имели приобретенную форму, а **69 (32%)** случаях заболевание имелось с рождения (врожденная форма).

ТОКСОПЛАЗМОЗ. ДИАГНОСТИКА

- Основным методом диагностики заболевания является серологический:
 - определение уровня антител с помощью ИФА или РИФ;
 - ИФА IgM является методом выбора: уже через 2 недели после инфицирования регистрируется рост концентрации IgM;
 - пик концентрации IgM достигается через 1 месяц, исчезают они обычно через 6-9 месяцев, но в отдельных случаях могут обнаруживаться в течение 2-х и более лет, затрудняя дифференциальную диагностику острой и хронической форм;
 - уровень IgG достигает максимума через 1-2 месяца после начала заболевания и регистрируется неопределённо долго;
 - у пациентов с сероконверсией или 4-кратным увеличением титра IgG определяют наличие и уровень специфических IgM для подтверждения острой инфекции;
- Молекулярно-генетический метод (ПЦР) выявления ДНК возбудителя *T. gondii* в структурных материалах плодного яйца (амниотическая жидкость, ворсинки хориона и др.).

КРАСНУХА

- возбудитель - *Rubella virus* - РНК-содержащий вирус семейства *Togaviridae*, рода *Rubivirus*;
- возбудитель краснухи был выделен в 1961 году несколькими учеными (П.Д. Паркманом, Т.Х. Уэллером и Ф.А. Невой);
- не стоек во внешней среде, быстро погибает при высушивании, изменениях рН (ниже 6,8 и выше 8,0), под влиянием УФО, воздействию эфира, формалина и других дезинфектантов;
- краснуха - обычно неопасное эпидемическое заболевание, затрагивающее в основном детей;
- благодаря применению специфической вакцинации болезнь становится более редкой в развитых западных странах; в США она почти исчезла с 2002 года; в 2004 году в мире было зарегистрировано всего 29 тыс. случаев К.;
- ВОЗ рассчитывала на искоренение краснухи к 2010 году.



КРАСНУХА

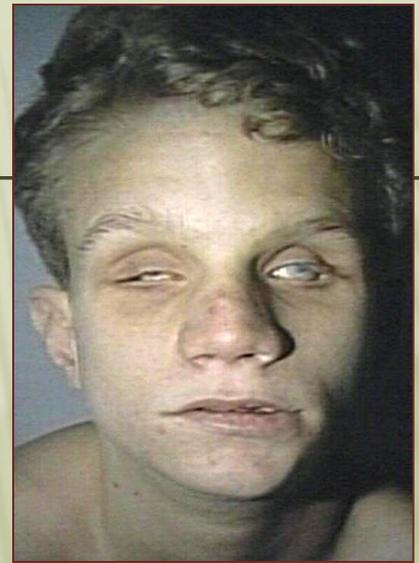


- при естественной инфекции вирус краснухи проникает в организм через слизистые оболочки дыхательных путей (аэрозольный путь),
- с развитием инфекции наступает вирусемия;
- после инкубационного периода (около 15-24 дней) появляется умеренная температура с головной болью, фарингитом, конъюнктивитом и шейной аденопатией;
- пятнистая не зудящая сыпь появляется через 48 часов на лице, в течение нескольких часов спускается на все тело, руки и ноги;
- сыпь держится 2-4 (редко 5-7) дней, исчезает без пигментации и шелушения;
- заразность начинается за неделю до появления сыпи и персистирует 2 недели после;
- довольно часты смягченные и малосимптомные формы клинического проявления

КРАСНУХА

- основным источником инфекции являются и вирусоносители (антропонозная инфекция);
- имея мягкое течение у детей, краснуха опасна для беременных вследствие развития ВУИ плода;
- вирус вызывает нарушения митотической активности клеток и хромосомные изменения,
- для детей, чьи матери болели краснухой во время беременности, характерны врождённые дефекты развития - “классический синдром врожденной краснухи” (триада Грегга):

поражение глаз (катаракта),
сердечнососудистой системы (пороки сердца)
и слухового аппарата (глухота),
кроме этого - поражение нервной системы;



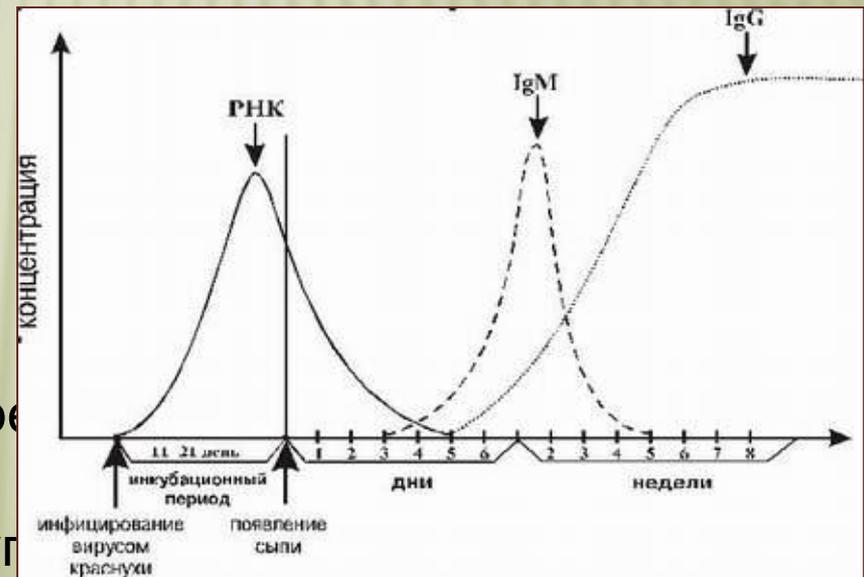
КРАСНУХА

- риск для зародыша тем более велик, чем раньше случается заражение во время беременности:
 - в **I триместре** риск повреждения зародыша - примерно **25%**:
 - на 1-й неделе - в **80%**,
 - на 2-4 неделях - в **60%**,
 - на 5-8 неделях - в **30%**
 - на 9-12 неделях - в **10%**);
 - после четвёртого месяца беременности риск поражения плода резко снижается, но даже на 5 месяце существует такая опасность для **1** из **10** детей;
 - первичная материнская инфекция проходит незамеченной в **50%** случаев;



КРАСНУХА

- антитела в сыворотке крови больного краснухой появляются через 1-2 дня после появления сыпи; в дальнейшем титр их нарастает;
 - после перенесенного заболевания антитела (особенно класса G) сохраняются в течение всей последующей жизни;
 - иммунитет стойкий пожизненный.
- При врожденной краснухе, несмотря на наличие в сыворотке крови антител возбудитель (до 31 мес) организме этого времени может быть источником инфекции для других



КРАСНУХА. ДИАГНОСТИКА

- вирус выделяют из носоглоточных смывов, крови, мочи и кала и выращивают в культуре клеток (амниона человека, почек кролика, почек обезьян Vero); вирус размножается в цитоплазме клеток, вызывая очаговую деструкцию клеточного монослоя и образование цитоплазматических эозинофильных включений;
- частота выделения вируса краснухи (в культуре клеток):
 - из носоглотки: на 0-2 день - **90%**; 5 день - **50%**
 - из крови: 5 день до сыпи – **90%**; 0-1 день сыпи – **50%**
- выделение и идентификация вируса довольно сложны и в практической работе почти не используются;
- в образцах биоматериала пациентов вирус выделяют и идентифицируют современными молекулярно-биологическими методами - в **ПЦР**.
- диагноз подтверждают определяя специфические антитела в различных реакциях: **РСК**, **ИФА**, **РИФ** (по нарастанию титров антител с исследованием парных сывороток, полученных с разницей 10-14 дней; по авидности IgG; по выявлению IgM).

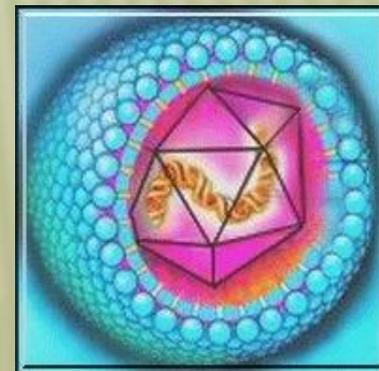
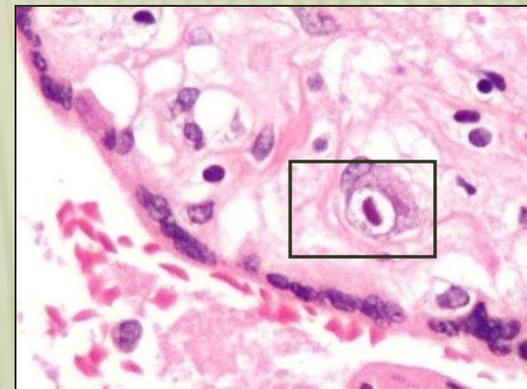
ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ

- Цитомегаловирусная инфекция (цитомегалия, вирусная болезнь слюнных желез, болезнь с включениями) относится к так называемым "болезням цивилизации", которые распространились в мире за последние десятилетия;
- возбудитель - ***Cytomegalovirus hominis* (CMV)** - относится к семейству герпесвирусов (*Herpesviridae*) - ***Human herpesvirus 5* (HCMV-5)**, или герпесвирус человека тип 5).
- CMV был открыт и выделен в 1956 году М.Г. Смит; по внешнему виду и строению сходен с другими вирусами простого герпеса;
- клетки, пораженные CMV, увеличены в размерах (25-40 мкм), содержат крупные внутриядерные включения, отграниченные от ядерной мембраны не воспринимающим окраску ободком - "совиный глаз"; вид пораженных клеток явился причиной названия болезни;



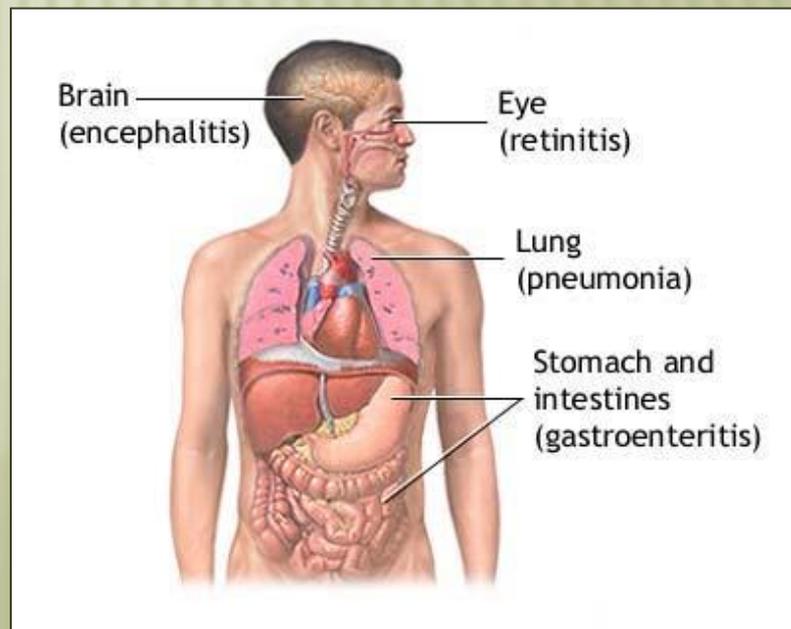
ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ

- CMV-инфекция широко распространена, но многие носители вируса не подозревают об этом;
- иногда инфекция проявляется в форме, сходной с обычной простудой; в этом случае носители могут передать CMV при близких контактах другим людям (со слюной, спермой, влагалищными выделениями), известны случаи заражения при переливании крови и пересадке органов и тканей;
- подавляющее большинство взрослых в популяции инфицированы (по данным серологических тестов серопозитивными являются **58,9%** лиц старше 6 лет и **90,8%** - в группе старше 80 лет);



ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ

- особенную опасность CMV может представлять для людей с заболеваниями, снижающими функции иммунной системы (при ВИЧ-инфекции, лучевой и химиотерапии, онкологических заболеваниях, приёме кортикостероидов, иммуносупрессоров, при пересадке органов);
- при ослаблении иммунитета CMV-инфекция может проявляться в форме тяжелого воспаления легких, почек, сетчатки и органов ЖКТ; типичным является поражение тканей мозга с развитием энцефалопатий, возможно поражение органов мочеполовой системы (кольпит, цервицит, эндометрит, оофорит, орхит, уретрит);



ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ

- опасно первичное заражение CMV при беременности, что наблюдается в популяции с частотой **1-4%**; при этом вероятность внутриутробного инфицирования плода - **46-50%** (тогда как при инфицировании до наступления беременности - **1-2%**);
- CMV передается плоду через плаценту в любой период беременности одинаково; сначала инфицируется плацента, затем при истощении её барьерных свойств вирус может попадать в кровь плода;



ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ

- **цитомегалия плода** проявляется по-разному в зависимости от срока беременности при инфицировании:
 - до **3 нед** от последней менструации - яйцо погибает и приходит обычная менструация;
 - на **3-10 неделе** беременности - возможны гибель эмбриона или появление тяжелых пороков развития многих органов;
 - на **11-28 неделях** возникает задержка внутриутробного развития, недоразвитие внутренних органов, поражение почек, гидроцефалия;
 - инфицирование после **28 недель** беременности сопровождается инфекционными процессами в органах плода при отсутствии пороков развития: гепатит, миокардит, внутриутробные пневмонии, менингоэнцефалит



плотное

ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ

- у **85%** инфицированных плодов признаки CMV-инфекции отсутствуют; **5-25%** инфицированных новорожденных имеют признаки CMV-инфекции после родов;
- **врожденная CMV-инфекция** характеризуется отставанием в росте и развитии, гепатоспленомегалией, гематологическими отклонениями (тромбоцитопения), кожными сыпями, желтухой;



- больше **50%** детей, заражаются CMV-инфекцией в первый год жизни с грудным молоком матери;
- мамам детей с врожденной цитомегалией рекомендуют планировать следующую беременность не ранее, чем через 2 года

CMV – ИНФЕКЦИЯ. ДИАГНОСТИКА

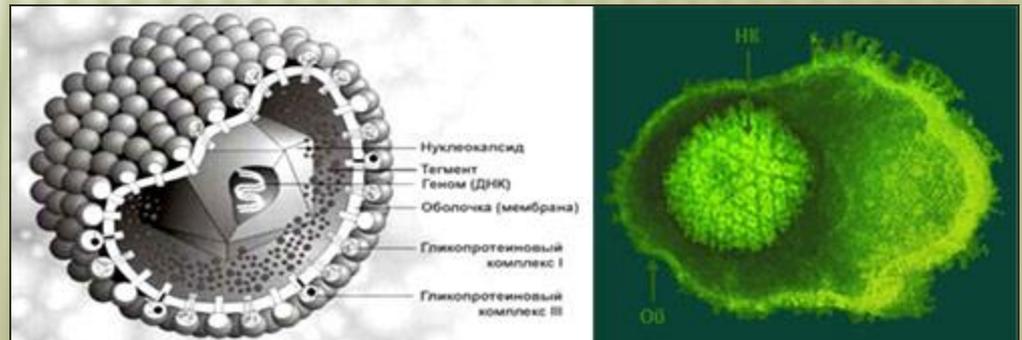
- для диагностики цитомегалии у беременных и планирующих беременность используют **ИФА** - исследование специфических антител к CMV классов **M** и **G**;
- определение в крови только **IgG** свидетельствует о контакте с возбудителем в прошлом
- присутствие в крови **IgM** указывает на свежее инфицирование, важно определить, произошло ли заражение во время беременности или ранее, т.к. IgM могут сохраняться в крови около года;
- женщины, у которых в крови вообще нет антител к CMV, являются наиболее уязвимыми по развитию у детей патологии, связанной с этим вирусом;
- для уточнения диагноза могут применяться и другие методы обследования: выделение вируса на клеточной культуре, цитологическое исследование, ПЦР - позволяет определять ДНК вируса в любых тканях

CMV – ИНФЕКЦИЯ. ДИАГНОСТИКА

- при выявлении CMV в первой половине беременности показано проведение амниоцентеза или кордоцентеза для диагностирования инфекции у плода;
- косвенные признаки инфицирования плода по УЗИ - внутриутробная задержка роста плода, маловодие, водянка плода, увеличение печени, желудочков мозга и пр.); при подтверждении инфицирования плода другими методами беременность рекомендуют прервать;
- при инфицировании плода CMV во второй половине беременности рекомендуют наблюдение и лечение в условиях обсервационного отделения;
- после родов проводят диагностику **врожденной CMV-инфекции** и дифференцируют её с возможным первичным инфицированием во время родов; с этой целью используют выделение вируса на клеточной культуре или молекулярно-биологические методы (ПЦР).

ГЕРПЕТИЧЕСКАЯ ВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ

- возбудители - *Herpes simplex virus I u II (HSV I и HCV II)* - относятся к семейству герпесвирусов (*Herpesviridae*) - *Human herpesvirus 1,2* (или герпесвирус человека тип 1 и 2), все они являются ДНК-геномными внутриклеточными возбудителями; **HSV** состоят из 3 компонентов: нуклеоида, представленного двунитчатой ДНК, капсида и белково-липидной оболочки;
- **ВПГ** оказывает выраженное цитопатическое действие, вызывая гибель инфицированных клеток, поражают преимущественно эпителиальной клетки, так как им свойственен наиболее высокий обмен веществ.



ГЕРПЕТИЧЕСКАЯ ВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ

- первичное инфицирование происходит в большинстве случаев (40%) в раннем детском возрасте воздушно-капельным путем;
- клинически герпесвирусная инфекция проявляется стоматитами, поражением гладкой кожи, слизистой оболочки дыхательных путей; часто протекает бессимптомно в персистирующей форме;



- наиболее тяжелые проявления наблюдаются при реактивации возбудителя на фоне стресса или иммунодефицита; в этих случаях клиника проявляется кератитом, конъюнктивитом, энцефалитом и другими генерализованными поражениями различных органов (очаговая пневмония, гепатиты печени, эрозии или язвы пищевода с перифокальным отёком)

ГЕРПЕТИЧЕСКАЯ ВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ

- герпетическая инфекция беременных относится к часто встречающимся заболеваниям в акушерской практике; по данным серологических исследований распространенность ВПГ-2 среди беременных в США - 36%, в России - 35%;
- герпетическая инфекция у беременных чаще протекает латентно, без клинических признаков болезни, титры антител низкие, что приводит к тому, что материнский иммунитет не препятствует реактивации вирусов в период беременности, а также не предохраняет от трансмиссии ВПГ к плоду;
- даже при латентной форме герпетической инфекции беременность может осложняться: невынашиванием, угрозой прерывания, ранними токсикозами, гипоксией и задержкой развития плода, преждевременными родами и их аномалиями, хориоамнионитом, эндометритом;

ГЕРПЕТИЧЕСКАЯ ВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ

- инфицирование в I триместре беременности приводит к развитию у плода микрогидроцефалии, пороков сердца, желудочно-кишечного тракта, мочеполовой системы, скелета; катаракты, глухоты;
- инфицирование во II и III триместрах вызывает у плода пневмонию, менингоэнцефалит, сепсис, анемию, гепатоспленомегалию, желтуху, гипотрофию;
- частой причиной антенатальной гибели новорожденных становится сепсис.



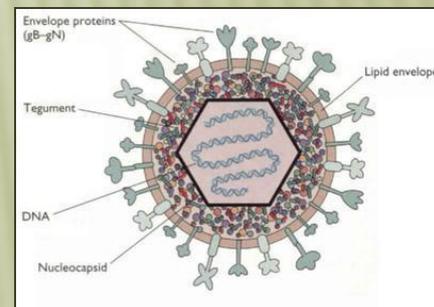
ГЕРПЕТИЧЕСКАЯ ВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ

- симптомы заболевания у новорожденных обычно появляются в течение первого месяца после рождения:
 - локализованные поражения нервной системы выявляются, в первые **10-12** дней, диссеминированные - в первые **14-16** дней;
 - у новорожденных развивается лихорадка, прогрессирует желтуха, отмечаются гепатоспленомегалия, церебральные симптомы, везикулярная сыпь, нередко регистрируются стоматит и кератоконъюнктивит.
- только кожные проявления в начале заболевания наблюдаются в **60-70%** случаев; при прогрессировании заболевания в процесс вовлекаются глаза, развивается дендритное изъязвление роговицы или хориоретинита; при диссеминации нередко поражается головной мозг (менингоэнцефалит) и герпетические поражения других органов;



ГЕРПЕТИЧЕСКАЯ ВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ

- признаками диссеминации инфекции: повышенная возбудимость, сонливость, кома, респираторные симптомы, склонность к кровотечениям, поражения глаз, нарушение функций печени, ЦНС; главный диагностический признак — герпетическая сыпь — отмечается лишь у трети больных;
- смертность при диссеминированной инфекции у новорожденных составляет около **50%**, а у **половины** тех, кто выжили, имеются выраженные глазные или неврологические осложнения.



- **Актуальность проблемы герпетической инфекции в генезе нарушений развития плода определяется тем, что плод с его интенсивным клеточным делением и высоким метаболизмом является идеальной средой для репродукции вирионов и их деструктивного воздействия на ткани и органы.**

HSV – ИНФЕКЦИЯ. ДИАГНОСТИКА

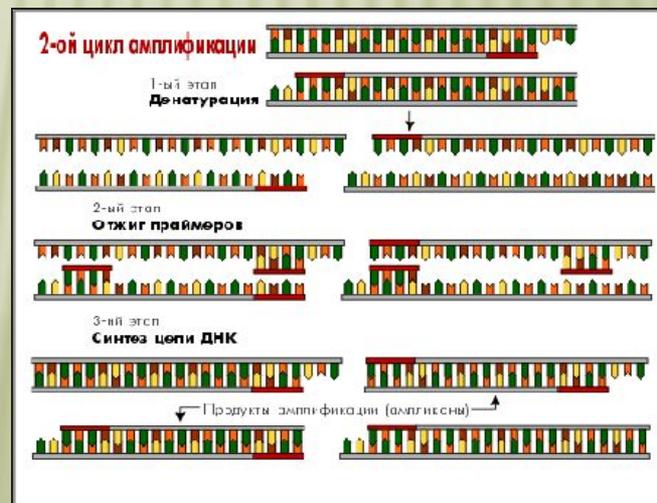
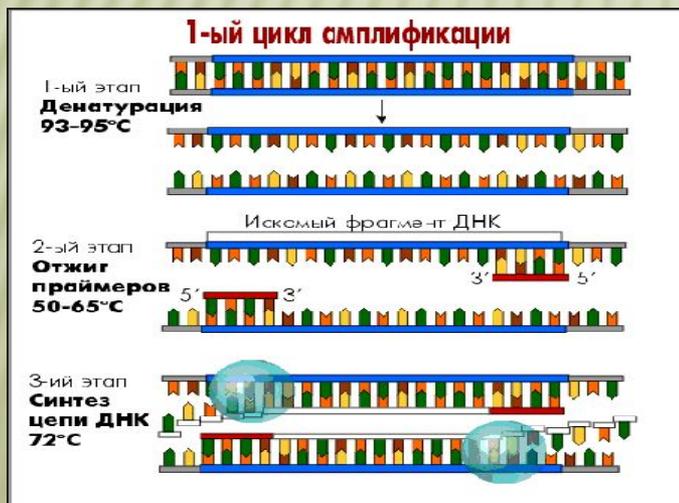
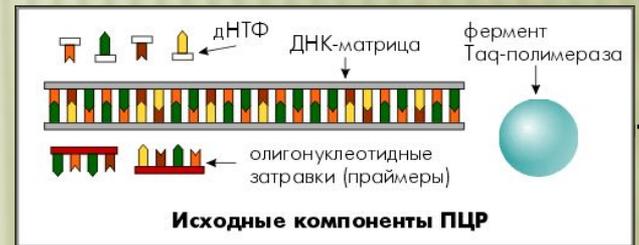
- прямое определение вируса включает методы исследования:
 - цитологическое мазков-соскобов (выявляются клетки, содержащие зернистую цитоплазму и крупные базофильные ядра, в которых обнаруживаются фуксинофильные или базофильные включения);
 - ПЦР с идентификацией типа вириона - материалом для исследования являются кровь, мазки из глотки, содержимое пузырьков, язв;
- **иммунофлюоресцентное** исследование участков плаценты выявляет в случае инфицирования вирусом герпеса наличие иммуноглобулинов разных классов (G, A, M);
- **иммуносерологическое** исследование с определением антител к специфичным антигенным детерминантам (IgG и IgM).

КОМПЛЕКСНОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ НА TORCH-ИНФЕКЦИИ

- обследование с целью выявления комплекса инфекционных заболеваний, обусловленных заражением:
 - внутриклеточным паразитом - *Toxoplasma gondii*;
 - РНК-содержащим вирусом - *Rubella virus*;
 - 3-мя ДНК-содержащими вирусами семейства герпесвирусов: *Cytomegalovirus hominis* (CMV), *Herpes simplex virus I u II* (HSV I и HCV II);
- применение единообразных методик обследования для:
 - прямого выявления возбудителей (в ПЦР);
 - выделение возбудителя на культуре клеток (для вирионов);
 - определения в ИФА и/или РИФ специфических антител к антигенам возбудителей (класса M и/или G) в крови или компонентах плодного яйца.

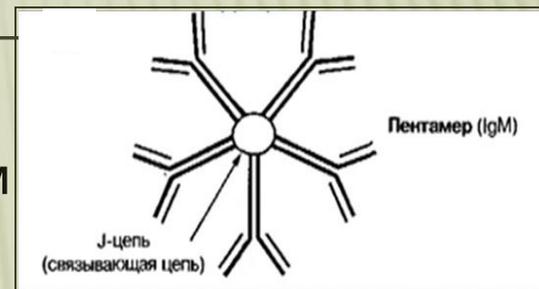
ИССЛЕДОВАНИЕ В ПЦР ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ТОРСЧ-ИНФЕКЦИИ

- выбор биологического материала для исследования;
- учет периода инфекции для эффективного выявления специфичных фрагментов нуклеотида возбудителей;
- применение разрешенных к применению наборов реагентов исследования;



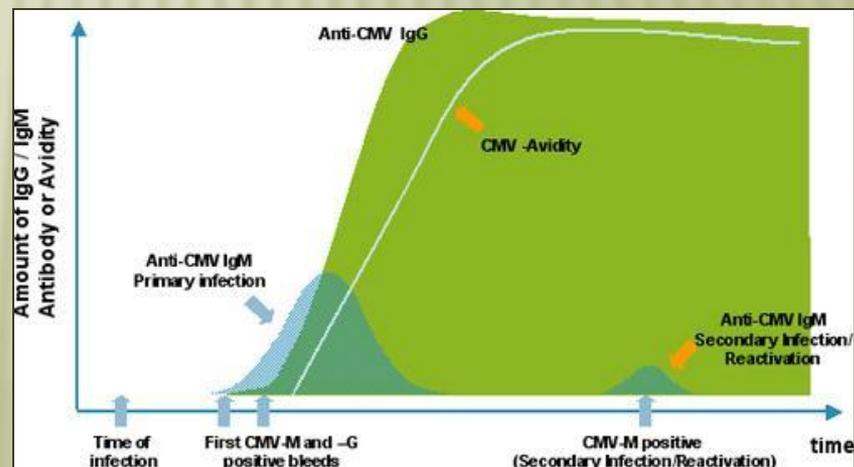
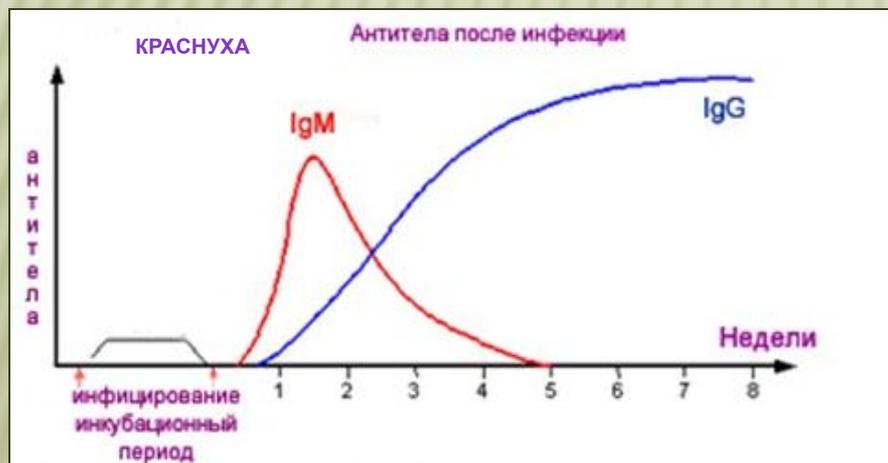
ГУМОРАЛЬНЫЙ ОТВЕТ ПРИ ИНФЕКЦИИ

- гуморальный ответ при бактериальных и вирусных инфекциях дебютирует появлением **IgM** против наиболее иммуногенных и специфичных антигенов возбудителя;
- антитела класса **M** имеют молекулярную массу **970 кДа**;
- молекула **IgM** - пентамер, состоящий из **5** одинаковых субъединиц, каждая из которых сформирована двумя тяжелыми (μ) и двумя легкими (κ или λ) аминокислотными цепями;
- в крови человека **IgM** составляют **5-10%**;
- биологическая функция **IgM** состоит в **максимальном связывании** чужеродного антигена и подготовке его для последующего удаления из организма с привлечением фагоцитирующих клеток;
- величина молекулы и особенности структуры Fc-участков препятствуют проникновению **IgM** через тканевые барьеры и сосудистые мембраны (в том числе через плаценту);



ГУМОРАЛЬНЫЙ ОТВЕТ ПРИ ИНФЕКЦИИ

- **Ig** класса **M** определяются в крови уже на **10-15** день после проникновения возбудителей **TORCH-инфекции** в организм человека, максимальное их содержание у больных приходится на **6-9** неделю заболевания;
- после выздоровления или излечения специфические **IgM** могут относительно быстро (через **3-12** месяцев) элиминироваться из кровотока;



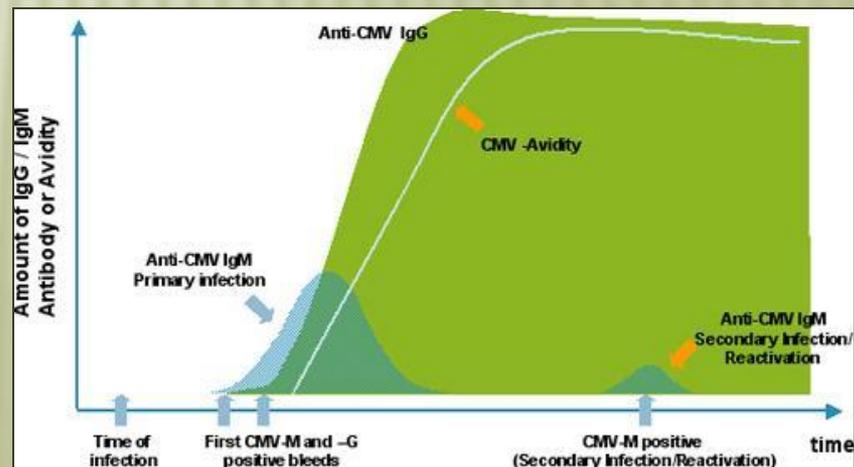
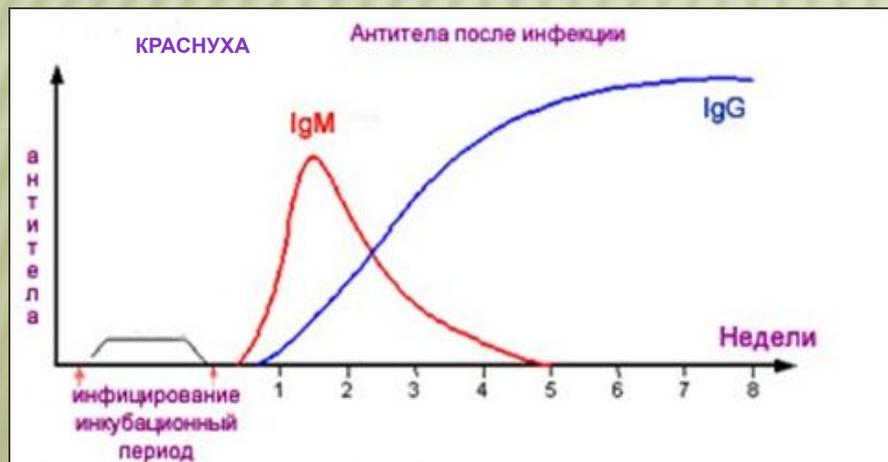
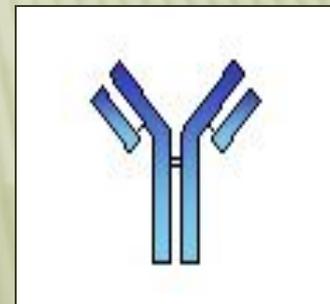
ГУМОРАЛЬНЫЙ ОТВЕТ ПРИ ИНФЕКЦИИ

- **иммуноглобулины G** - более мелкие белки с молекулярной массой **150 kDa** ;
- по строению они соответствуют одной из субъединиц **IgM**, в которой тяжелые цепи представлены **γ-формами**;
- каждая молекула **IgG** имеет по 2 активных сайта;
- за счет меньшей величины и свободного **Fc-фрагмента IgG** являются более мобильными, и хорошо проникают через сосудистые мембраны, тканевые барьеры и плаценту;
- **IgG** составляют до **75%** общего пула иммуноглобулинов крови, их биологическая функция заключается в специфическом связывании антигена в труднодоступных для других крупных молекул **Ig** участках макроорганизма;
- специфичность **IgG** с течением времени повышается;



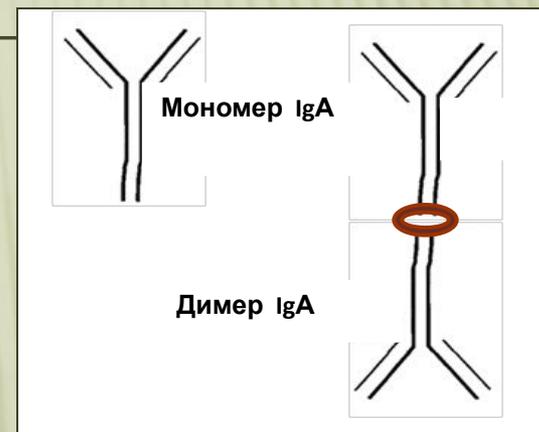
ГУМОРАЛЬНЫЙ ОТВЕТ ПРИ ИНФЕКЦИИ

- специфические **IgG** в кровотоке больных TORCH-инфекциями появляются более поздно, в конце 3 или на 4 неделе после заражения;
- содержание их постепенно увеличивается, достигает максимальной выраженности;
- количество специфических **IgG** в циркулирующей крови после выздоровления или адекватно проведенного лечения понижается медленно и они продолжают определяться в течение десятков лет или пожизненно;



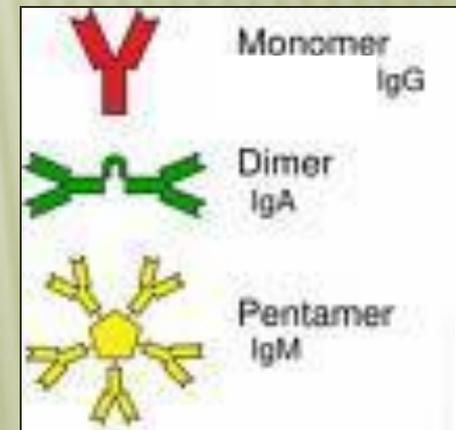
ГУМОРАЛЬНЫЙ ОТВЕТ ПРИ ИНФЕКЦИИ

- при паразитарных и вирусных инфекциях TORCH комплекса принимают участие и **иммуноглобулины А**, представленные в крови в виде мономеров и димеров), в которых тяжелые цепи представлены **α-формами**;
- в крови содержание IgA может достигать **15-20%** от общего пула иммуноглобулинов,
- **антитела** класса **А** секретируются на поверхность слизистых оболочек пищеварительного тракта, дыхательных, половых и мочевыделительных путей в виде четырехвалентных димеров;
- **IgA** усиливают защитные функции слизи;
- **IgA** не способны проникать в кровоток ребенка через систему плацентарного кровообращения и также могут быть использованы для диагностики врожденных форм TORCH-инфекций.



ОПРЕДЕЛЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ ПРИ TORCH-ИНФЕКЦИЯХ

- для выявления специфических антител применяют:
 - иммуноферментный анализ (**ИФА** -IgG и -IgM);
 - реакцию непрямой иммунофлюоресценции (**РИФ**);
 - реакция связывания комплемента (**РСК**);
- по нарастанию содержания антител в ИФА при исследовании парных сывороток, полученных у пациентов с разницей в 10-14 дней (не менее чем в 4 раза);
- оценка в **ИФА** авидности **IgG** к соответствующим антигенам возбудителя **TORCH-инфекции**;



ОПРЕДЕЛЕНИЕ АВИДНОСТИ СПЕЦИФИЧЕСКИХ IgG



- выявление в сыворотке одновременно IgG и IgM может свидетельствовать о недавнем первичном инфицировании, т.к. исчезновение IgM обычно происходит через срок около 3 месяцев от начала заболевания;
- но период циркуляции специфических IgM может значительно варьировать в зависимости от возбудителя инфекции и индивидуальных особенностей иммунного ответа организма; следовые количества IgM иногда выявляют до 1-2 лет;
- специфические IgM могут также появляться при реактивации хронической инфекции;
- Таким образом, **присутствие в крови беременной женщины специфических IgM** к антигенам возбудителей TORCH-инфекции не всегда является подтверждением первичного инфицирования в период беременности;
- специфичность даже лучших коммерческих тест-систем для обнаружения IgM-антител не абсолютна.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АВИДНОСТИ СПЕЦИФИЧЕСКИХ IgG



- **авидность** - характеристика прочности связи антиген-антитело в иммунных комплексах, которая зависит от:
 - количества образующихся связей (валентности антител);
 - сродства антител к антигену (аффинитета антител);
- в ходе развития иммунного ответа после инфицирования (это могут быть недели или месяцы) **IgG-антитела** постепенно эволюционируют: увеличивается их стерическое соответствие антигенным структурам возбудителя, повышается эффективность их связывания - наблюдается повышение авидности антител;
- в комплексе иммуносерологических исследований тест на авидность IgG применяют для оценки вероятности недавнего первичного инфицирования, что имеет важное значение при обследовании беременных;

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АВИДНОСТИ СПЕЦИФИЧЕСКИХ IgG



- в основе **теста на авидность** антител класса **G** лежит метод дифференциации высоко- и низкоавидных антител с помощью обработки комплексов антиген-антитело, образующихся в лунках иммунологических планшетов при **ИФА**, диссоциирующим раствором (раствором мочевины, вызывающим денатурацию белка);
- после такой обработки связь **низкоавидных** антител с антигеном нарушается, а **высокоавидных** – сохраняется;
- авидность IgG-антител в пробе оценивают с помощью расчетного показателя – **индекса авидности**, который представляет собой отношение результата определения IgG после обработки диссоциирующим раствором, к результату измерения содержания IgG без обработки;

Формула подсчета индекса авидности (ИА)
$$\text{ИА (\%)} = \frac{\text{ОПобразца(+ДР)}}{\text{ОПобразца(+ПР)}} \times 100\%$$

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АВИДНОСТИ СПЕЦИФИЧЕСКИХ IgG



- выявление в крови **высокоавидных IgG** в этой ситуации позволяет исключить недавнее первичное инфицирование;
- **низкоавидные IgG-антитела**, в среднем, выявляются в течение 3-5 месяцев от начала инфекции, но иногда вырабатываются и более длительный срок;
- само по себе выявление низкоавидных IgG не является безусловным подтверждением факта свежего инфицирования, но служит дополнительным подтверждающим свидетельством в ряду остальных серологических тестов.
- Следует иметь в виду, что у **новорожденных и грудных детей до полугода** и более в крови присутствуют пассивно приобретенные **IgG** материнского происхождения, поэтому интерпретация результатов исследования IgG и их авидности в этом возрасте затруднительна.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АВИДНОСТИ СПЕЦИФИЧЕСКИХ IgG



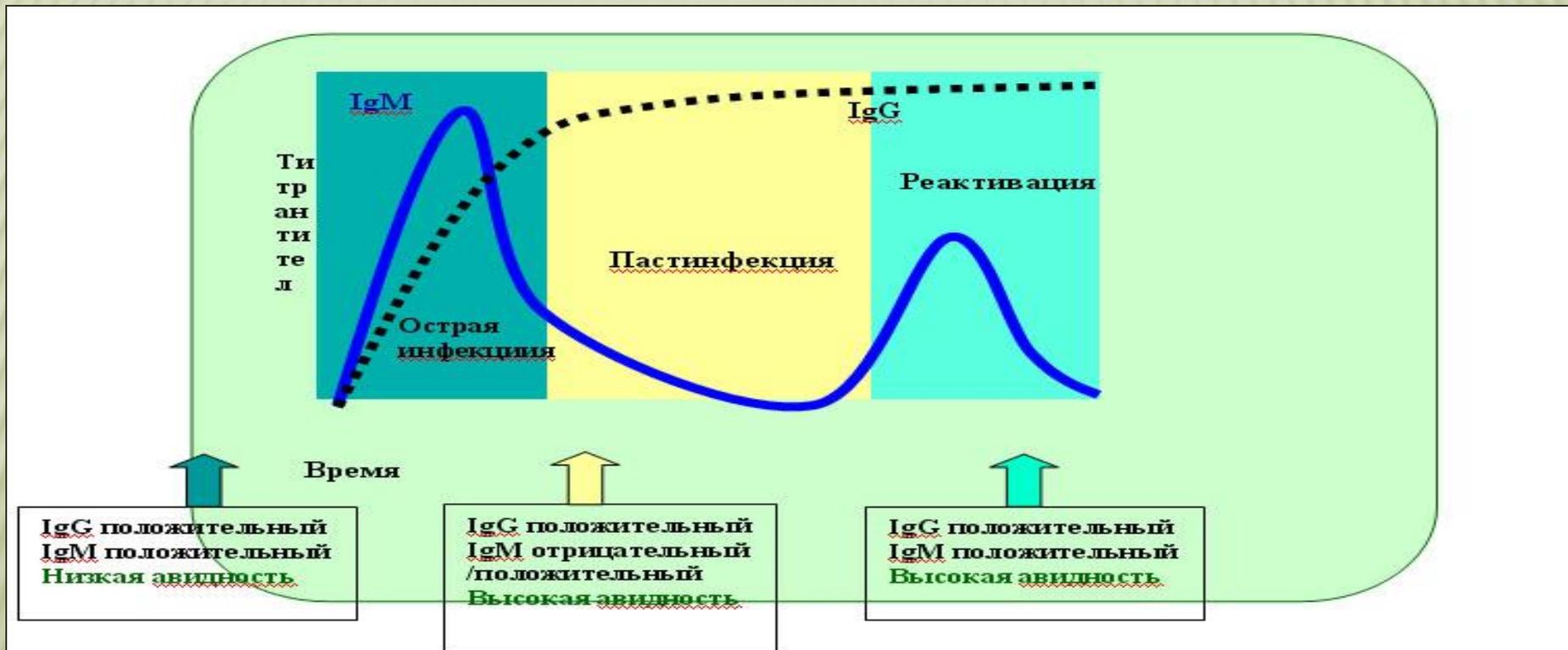
Интерпретация теста определения авидности антител к вирусу краснухи

Результат	Значение	Интерпретация
< 40%	низкоавидные	Подтверждает факт первичной инфекции в интервале до 6-8 месяцев
40-45%	переходные	Неопределенные значения, рекомендуется исследовать повторно, при повторении результата установить давность инфекции невозможно.
> 45%	высокоавидные	Первичная инфекция в пределах 3-4 месяцев исключена

Интерпретация теста определения авидности антител к *Toxoplasma gondii*

Результат	Значение	Интерпретация
< 45%	низкоавидные	Подтверждает факт первичной инфекции в интервале до 6-8 месяцев
45-50%	переходные	Неопределенные значения, рекомендуется исследовать повторно, при повторении результата установить давность инфекции невозможно.
> 50%	высокоавидные	Первичная инфекция в пределах 4 месяцев исключена

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ЛАБОРАТОРНОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ НА TORCH-ИНФЕКЦИИ



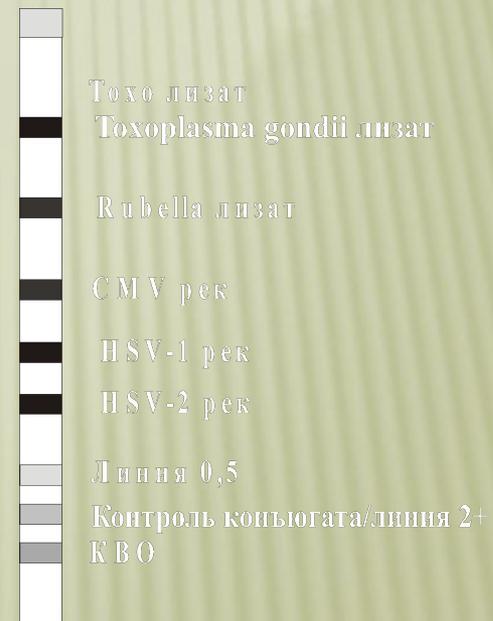
<u>IgG</u>	<u>IgM</u>	<u>Авидность</u>	<u>Диагноз</u>
Отрицательный	Отрицательный		Нет инфекции
Положительный	Положительный	Низкая	Острая инфекция
Положительный	Положительный	Высокая	Реактивация
Положительный	Отрицательный	Высокая	Пастинфекция

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ ПРИ TORCH-ИНФЕКЦИЯХ

- одним из новых направлений в диагностике является разработка и применение наборов для ЛИБ TORCH-профиля:



Комплект №1 (IgG)



Комплект №2 (IgM)

схема расположение антигенов и контрольных линий
на стрипе в наборе «Лайн-блот-TORCH-профиль»

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ ПРИ TORCH-ИНФЕКЦИЯХ

Антиген или контрольная линия	Функция
Toxoplasma gondii нативный	Обнаруживает наличие или отсутствие специфических антител к инфекционному агенту (иммунный статус пациента)
Toxoplasma gondii p 30 SAG1 рекомбинантный	Позволяет исключить первичную инфекцию в течение последних 3 месяцев, при условии наличия положительного результата по основной полосе
Citomegalovirus рекомбинантный	Обнаруживает наличие или отсутствие специфических антител к инфекционному агенту (иммунный статус пациента)
Rubella нативный	Обнаруживает наличие или отсутствие специфических антител к инфекционному агенту (иммунный статус пациента)
RU-Cut off соответствует титру антител в концентрации 15-20 МЕ/мл	Позволяет производить оценку защитного или не защитного иммунитета против краснухи (полоса вакцинации)
HSV-1 рекомбинантный	Обнаруживает наличие или отсутствие специфических антител к инфекционному агенту (иммунный статус пациента)
HSV-2 рекомбинантный	Обнаруживает наличие или отсутствие специфических антител к инфекционному агенту (иммунный статус пациента)
Контрольные линии	Линии 0,5+, 2+ - для оценки интенсивности окрашивания антигенных линий, контроль внесения образца и конъюгата.

АЛГОРИТМ СКРИНИНГОВОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ БЕРЕМЕННЫХ НА TORCH-ИНФЕКЦИИ

Проведение скринингового
серологического исследования
(в ИФА с определением IgM и IgG)

Отрицательный
результат
IgM- / IgG-

Отсутствие
инфекции

- рекомендации по уменьшению инфекционного риска
- повторное обследование в следующем триместре по показаниям

Положительный
результат
IgM- / IgG+

Пастинфекция

- риск реактивации инфекции
- риск реинфекции
- контроль клинических и лабораторных данных по показаниям

Сероконверсия IgM,
4-х увеличение титров IgG,
выявление возбудителя

Положительный
результат
IgM+ / IgG+

Установление
давности инфекции

- определение индекса avidности IgG
- контроль клинических и лабораторных данных (по титру IgG)
- установление реактивации или реинфекции (выявление возбудителя)

Пренатальная диагностика

РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

- обследование при планировании беременности;
- обследование беременных.



ДИАГНОСТИКА TORCH-ИНФЕКЦИИ. НОРМАТИВНАЯ БАЗА

- **Приказ Минздрава России № 50** «О совершенствовании акушерско-гинекологической помощи в амбулаторно-поликлинических учреждениях» от 10.02.2003 г. (**отменен**)
- **Приказ Минздрава России № 572н** «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю "акушерство и гинекология" (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)» от 01.11.2012 г.

АЛГОРИТМ ОБСЛЕДОВАНИЯ МАТЕРИ И РЕБЕНКА НА TORCH-ИНФЕКЦИИ

Обследование
беременной



Обследование
плода

Положительные результаты скринингового серологического исследования беременной (в ИФА с определением IgM и IgG)

Подтверждение факта первичной инфекции, реактивации инфекции или реинфекции:
- прямые методы (ПЦР) и
- иммуносерологические (определение IgM и IgG)
дополняют друг друга

Прямое обнаружение возбудителя TORCH-инфекции:
исследование компонентов плодного яйца (ворсин хориона, амниотической жидкости, пуповинной крови)
Инструментальное выявление признаков нарушения развития плода.

Принятие решения:

- о сохранении или прерывании беременности,
- о тактике ведения беременной,
- о назначении этиотропного лечения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

- TORCH – инфекции - реальный фактор опасности для жизни и здоровья эмбриона, плода, новорожденного и беременной;
- у акушеров и гинекологов имеются медицинские обеспечение и стандарты для проведения наблюдения над состоянием здоровья беременных женщин;
- необходимо систематическое ведение санитарно-просветительной работы по разъяснению беременным необходимости проведения обследования на TORCH-инфекции;
- врачи клинической лабораторной диагностики в настоящее время имеют достаточно инструментальное обеспечение для проведения необходимых лабораторных исследований.

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!



**ФГБУ «Государственный научный центр
дерматовенерологии и косметологии»
Минздрава России**

**ГБОУ ВПО «Российский
научно-исследовательский
медицинский университет
им. Н.И. Пирогова»
Минздрава России**



**ЗАО «ЭКОлаб»
(г. Электрогорск
Московской обл.)**

**ВОПРОСЫ
и ОТВЕТЫ** по
e-mail: svrotanov@mail.ru