

Диагностика инфекционных заболеваний плода и новорожденного

Андосова Л.Д., Тихомирова Ю.Р., Шахова К.А.
Кафедра клинической лабораторной диагностики ФДПО

Инфекционные заболевания плода и новорожденного

ИППП

- Врожденный сифилис *Treponema pallidum*
- Хламидийная инфекция *Chlamydia trachomatis*
- Гонококковая инфекция *Neisseria gonorrhoeae*
- Микоплазменная инфекция *Mycoplasma genitalium*
- Трихомонадная инфекция *Trichomonas vaginalis*

Инфекционные заболевания плода и новорожденного

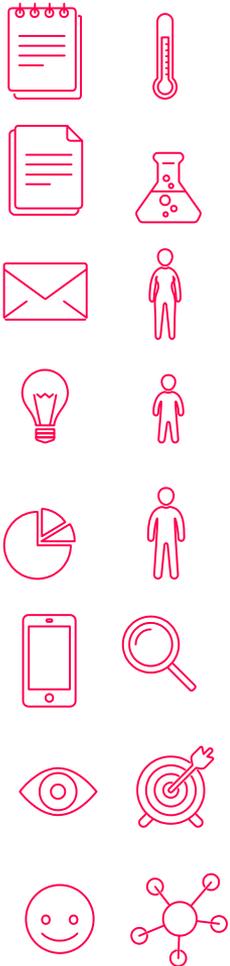
Другие перинатальные инфекции

- Герпес-вирусная инфекция HSV 1,2
- Цитомегаловирусная инфекция CMV 5
- Папилломавирусная инфекция HPV
- **Облигатно-анаэробные условно-патогенные микроорганизмы**
 - Bacteroides spp.
 - Clostridium spp.
- **Факультативно-анаэробные условно-патогенные микроорганизмы**
 - Стрептококк группы В Streptococcus agalactiae
 - Стрептококк группы А Streptococcus pyogenes

Инфекционные заболевания плода и новорожденного

Другие перинатальные инфекции

- Урогенитальные **микоплазмы** *Ureaplasma urealyticum*,
Ureaplasma parvum, *Mycoplasma hominis*
- **Кандидоз** новорожденных Грибы рода *Candida*
- **Токсоплазменная инфекция** *Toxoplasma gondii*
- **Листериоз** *Listeria monocytogenes*
- **Парвовирусная инфекция** *Parvoviridae*



В последнее время структура инфекционных заболеваний плода и новорожденного изменилась за счет увеличения доли ИППП, вирусных и грибковых инфекций

Внутриутробная инфекция не имеет выраженной клинической симптоматики, поэтому не диагностируется на начальных стадиях заболевания



Клиническая симптоматика

течения инфекций в неонатальном периоде зависит от:

- вирулентности патогена
- инфицирующей дозы
- путей проникновения патогена в организм беременной и новорожденного
- иммунологической реактивности женщины
- срока гестации на момент инфицирования

Врожденный сифилис

Treponema pallidum

Классификация по МКБ-10:

- A 50 Врожденный сифилис
- A 50.0 Ранний врожденный сифилис с симптомами
- A 50.1 Ранний врожденный сифилис скрытый
- A 50.2 Ранний врожденный сифилис неуточненный
- A 50.3 Позднее врожденное сифилитическое поражение глаз
- A 50.4 Поздний врожденный нейросифилис (ювенильный нейросифилис)
- A 50.5 Другие формы позднего врожденного сифилиса с симптомами
- A 50.6 Поздний врожденный сифилис неуточненный
- A 50.9 Врожденный сифилис неуточненный

Классификация

- **Ранний врожденный сифилис** – выделяют несколько подтипов: сифилис плода, грудного и раннего детского возраста. Признаки появляются непосредственно после рождения или в первые 2 года жизни.

Сифилис плода диагностируют, если заражение произошло в 1-2 триместрах беременности.

Сифилис грудного возраста выявляют, если инфицирование матери произошло в 3 триместре и на последних сроках беременности.

- **Поздний врожденный сифилис** – любое врожденное сифилитическое состояние, проявившееся через два года и более с момента рождения ребенка (МСКБ, 1992).
- **Скрытый сифилис** – симптомов нет, но в организме ребенка присутствуют бледные трепонемы.

- **Врожденный сифилис** возникает в результате внутриутробного инфицирования плода.

Источником инфекции является больная сифилисом мать.

Пути передачи – трансплацентарный.

Вероятность возникновения зависит от стадии сифилиса у матери и длительности течения инфекции.

- **Скрининговое обследование** беременных проводят во 2 и 3 триместрах беременности.
- Если женщина **не стояла на учете** в женской консультации, диагностику проводят **во врем родов**.
- **Новорожденных**, рожденных женщинами из группы риска, обследуют в роддоме.
- **Выписку из стационара** производят при отрицательных результатах исследования на сифилис.

Лабораторная диагностика сифилиса

Материал для исследования: кровь, ликвор, амниотическая жидкость, пунктат лимфатических узлов.

Темнопольная микроскопия	Обнаружение типичных форм трепонемы
Прямая реакция иммунофлюоресценции РИФ-Тр	Наличие флюоресцирующих трепонем
ПЦР	Обнаружение ДНК <i>T. pallidum</i>

Абсолютным доказательством наличия заболевания является **обнаружение бледной трепонемы** в образцах, полученных из очагов поражений, с помощью **микроскопического исследования в темном поле зрения, иммуногистохимического исследования** с использованием моноклональных или поликлональных антител, а также **выявление специфической ДНК и РНК** возбудителя молекулярно-биологическими методами
Критерии ВОЗ, 1999

Российское общество дерматовенерологов и косметологов. Федеральные клинические рекомендации по ведению больных сифилисом, 2015

Лабораторная диагностика сифилиса

Нетрепонемные серологические тесты

Определяют АТ класса IgG, IgM к липидам, фосфолипидам, высвобождаемым из поврежденных клеток больного сифилисом и к липидам, входящим в состав мембраны бледной трепонемы.

Макроскопический тест

Тест быстрых плазменных реагинов, **RPR**

«Тест быстрых плазменных реагинов, **RPR**
Применяется под названием «реакция
преципитации, **RPP** с кардиолипиновым АГ,
отборочная реакция на сифилис (**ОРС**), экспресс
диагностика сифилиса (**ЭДС**);
Микрореакция преципитации МРП.

Микроскопический тест **VDRL** (Venereal Disease
Research Laboratory)

Световая микроскопия для подсчета преципитатов
– реакция с инактивированной сывороткой крови.
При подозрении на нейросифилис при помощи
VDRL исследуют СМЖ.

Реакция связывания комплемента (реакция
Вассермана) **РСК**

Выполняется с двумя АГ – трепонемным и
кардиолипиновым.
Реакция с трепонемным АГ является трепонемным
тестом (подтверждающим сифилис), с
кардиолипиновым – нетрепонемным тестом.

С 2006 г. заменена на МРП!

Трепонемные серологические тесты

Обнаружение в сыворотке крови антител против антигенов бледной трепонемы.

Реакция пассивной гемагглютинации **РПГА**

Основана на определении агглютинации эритроцитов, на поверхности которых фиксированы АГ бледной трепонемы. **РПГА назначается для лабораторного подтверждения всех стадий сифилиса.**

Иммуноферментный анализ **ИФА** ELISA,
Иммунохемилюминесцентный анализ **ИХА**

ИФА, ИХА применяют для двух целей – определение АГ возбудителей, но чаще для определения АТ классов А, М, G к АГ различных возбудителей.

Иммуноблоттинг **ИБ**

ИБ является модификацией ИФА. Определяет АТ к АГ трепонемы, которые в виде дискретных фракций фиксируются на нитроцеллюлозных полосках и комплекс АТ+АГ проявляется так же как в ИФА. **Применяется для подтверждения диагноза.**

IgM – иммуноблот применяется как диагностический тест при врожденном сифилисе.

Лабораторная диагностика сифилиса

Трепонемные серологические тесты

<p>Реакция иммунофлюоресценции РИФ</p>	<p>Принцип метода РИФ заключается в образовании специфического комплекса АГ+ АТ с иммунной сывороткой, меченной флюорохромом, и выявлении его с помощью люминесцентного микроскопа. Чувствительна на всех стадиях сифилиса. Применяется для дифференциации скрытых форм сифилиса и ложноположительных результатов исследований на сифилис</p>
<p>Реакция иммобилизации бледных трепонем (РИБТ)</p>	<p>Заключается в потере подвижности бледными трепонемами в присутствии иммобилизинов испытуемой сыворотки и активного комплемента. Трудоемкий и сложный для постановки тест. Сфера применения РИБТ сужается, однако она сохраняет свои позиции как «реакция – арбитр» при дифференциальной диагностике скрытых форм сифилиса с ложноположительными результатами серологических реакций на сифилис</p>

Обследование новорожденных с целью выявления врожденного сифилиса

Нетрепонемный тест

(РМП, РПР и др. аналоги)

**в количественном
варианте**

+

сравнение с титрами,
полученными в
аналогичных тестах у
матери

+

Трепонемный тест

(РПГА, ИФА IgM, ИФА
IGM+IgG, РИФ, ИБ
IgM)

Хламидийная инфекция *Chlamydia trachomatis*

Классификация по МКБ-10:

Р 23.1 Врожденная пневмония, вызванная хламидиями

Р 39.1 Конъюнктивит и дакриоцистит у новорожденного. Неонатальный конъюнктивит, вызванный хламидиями

Материал для исследования: кровь, соскобы уретры, ротоглотки, трахео-бронхиальный аспират, моча, отделяемое из глаз

Лабораторная диагностика

ИФА	Для установления диагноза – одновременно IgA, IgG, при неясном результате IgA – дополнительно IgM. Серологическая диагностика: проведение и контроль лечения хламидийной инфекции.
ПЦР	Обнаружение специфических фрагментов ДНК. Верификация диагноза
ПИФ, Микроскопия	Недопустимы ! ФКР РОДВК, 2015

Гонококковая инфекция

Neisseria gonorrhoeae

Классификация по МКБ-10

A 54 Гонококковая инфекция

A 54.3 Гонококковая инфекция глаз. Гонококковая офтальмия новорожденных

A 54.8 Другие гонококковые инфекции

- **Путь передачи преимущественно интранатальный** – при прохождении ребенка через родовые пути
- Болезнь протекает **остро**, клинические **симптомы** проявляются **на 2-5 сутки** после рождения:
 - поражения глаз (наиболее часто офтальмобленорея),
 - слизистых оболочек гортани и мочеполовых путей (вагинит, уретрит, ринит).
 - У недоношенных новорожденных может развиваться диссеминированная инфекция с клиникой специфического артрита, менингита и сепсиса.

Лабораторная диагностика гонореи

включает микроскопический, культуральный и молекулярно-биологический методы исследований.

- Приказ МЗ СССР от 22 апреля 1985г. № 535 «Об унификации микробиологических методов исследования, применяемых в клинической лабораторной диагностике ЛПУ»,
- Приказ МЗ СССР от 12 июля 1985г. № 936 «Об унификации лабораторных методов исследования в диагностике гонореи и трихомониаза»,
- Приказ Минздрава РФ от 20 августа 2003г. № 415 «Об утверждении протокола ведения больных «Гонококковая инфекция»,
- Приказ Минздрава РФ от 12 февраля 2000г. № 64 «Об утверждении Номенклатуры клинических лабораторных исследований»,
- Клинические рекомендации РОДВК 2010, 2011, 2012гг.

<p>Микроскопический метод</p>	<p>Основан на обнаружении грамотрицательных диплококков вне и/ или внутриклеточно, морфологически сходных с гонококками, а также степени выраженности воспалительной реакции. Используется окраска по Граму.</p>	<p>Мазок (соскоб эпителиальных клеток) из ротоглотки, прямой кишки, конъюнктивы, кровь</p>
<p>Культуральная диагностика</p>	<p>Основана на выделении и идентификации <i>N. gonorrhoeae</i>, а также определении чувствительности к антибиотикам. Может применяться для диагностики стертых и асимптомных форм гонореи, а также для детей, беременных и женщин в постменопаузе.</p>	<p>Мазок из ротоглотки, прямой кишки, конъюнктивы, кровь</p>
<p>ПЦР</p> <p>Приказ МЗ РФ № 64 от 2000г.</p>	<p>Диагноз гонореи устанавливается при получении положительного результата культуральным методом или методом ПЦР (ФКР Россия). При выявлении гонококковой инфекции методами амплификации нуклеиновых кислот без клинической симптоматики результаты обязательно должны подтверждаться бактериологическим методом.</p>	<p>Мазок из ротоглотки вульвы, конъюнктивы, кровь моча</p>

Трихомонадная инфекция

Trichomonas vaginalis

Классификация по МКБ-10:

P 36.8 Сепсис новорожденного, обусловленный другими бактериальными агентами

P 23.8 Врожденная пневмония, вызванная другими возбудителями

P 37.8 Другие уточненные врожденные инфекционные и паразитарные болезни

- Инфицирование плода возможно **анте- и интранатально**
- Наиболее распространенный **путь передачи восходящий**: возбудитель проникает в матку или в сформированную полость амниона
- **В плаценту проникает гематогенно** из крови матери через спиральные артерии
- При внутриутробном инфицировании у новорожденных могут развиваться
 - неонатальный сепсис
 - врожденные пневмонии
 - другие поражения респираторного тракта

Лабораторная диагностика трихомоноза

Микроскопия мазка	Нативные препараты. Окраска анилиновыми красителями. Заключение о наличии трихомонад может быть сделано только на основании обнаружения типичных особей	Соскоб, мазок: зев, носоглотка, прямая кишка моча
Культуральный метод	Применяется в случаях атипичной клинической картины, при хроническом течении заболевания, выявлении носителей и для установления выздоровления больных	Соскоб, мазок: зев, носоглотка, прямая кишка моча
ПЦР ФКР РОДВК, 2015	Позволяет выявлять в одном образце и другие микроорганизмы, т.к. в фагосомах трихомонад могут персистировать хламидии, микоплазмы, уреоплазмы и др.	Соскоб, мазок: зев, носоглотка, прямая кишка моча
ИФА	Трихомонадная инфекция не приводит к развитию выраженного гуморального ответа, <u>метод используется как вспомогательный</u>	Кровь

Микоплазменная инфекция

Mycoplasma genitalium

Классификация по МКБ-10:

Р 37.8 Другие уточненные врожденные инфекционные и паразитарные болезни

Р 23.6 Врожденная пневмония, вызванная другими бактериальными агентами (Haemophilus influenza, Klebsiella pneumonia, Mycoplasma, Streptococcus, за исключением группы В)

- При **антенатальном инфицировании** плода существует вероятность развития генерализованного процесса, а также поражение дыхательной и центральной нервной систем, органов зрения, почек, кожных и слизистых покровов
- При **интранатальном заражении** поражаются слизистые глаз, дыхательной системы, ротовой полости, половых органов

Лабораторная диагностика *Mycoplasma genitalium*

Метод ПЦР РОДВК	Обнаружение ДНК возбудителя	Соскоб, мазок: зев, носоглотка моча
ИФА	Обнаружение АТ к <i>Mycoplasma genitalium</i> не используется в силу их малой информативности	Кровь
Культуральный метод	Метод позволяет провести детекцию микоплазм в количествах, достаточных для развития патологии, титр, КОЕ, а также назначить лечение с учетом антибиотикорезистентности	Соскоб, мазок: зев, носоглотка моча

Герпес-вирусная инфекция ВПГ-1,2 HSV-1, 2

Классификация по МКБ-10

P35.2 Врожденная инфекция, вызванная вирусом простого герпеса (herpes simplex)

- Плоду инфекция может передаваться восходящим и/или гематогенным путем
- **Наиболее часто**, 80% случаев, инфицирование происходит **интранатально**, в процессе прохождения ребенка через родовые пути матери (ВПГ-2)
- Заражение может происходить **антенатально**, 5% случаев (ВПГ-2)
- **Постнатальное заражение**, 10% случаев, при наличии активной герпетической инфекции у матери, ухаживающей за ребенком, или у медицинского персонала (ВПГ-1)

Лабораторная диагностика ВПГ1,2

ПЦР

Идентификация ДНК возбудителя

в биоматериале с
последующим определением
типа вируса (качественно,
количественно).

ИФА

- Определение АТ IgM, IgG, **качественный ИФА**
- Концентрация АТ, **количественный ИФА**
- При **первичной** герпетической инфекции, **при обострении** высоко содержание IgM, а в **хронической стадии** – IgG
- **IgM** появляются спустя 5-6 дней после заражения, указывают на первичное инфицирование или рецидив инфекции
- **IgG** обнаруживают спустя 3-4 недели, эти АТ при отсутствии высыпаний – признак латентного состояния
- **Метод дает возможность установить фазу болезни**

Лабораторная диагностика ВПГ1,2

Материал для исследования ВПГ1,2

мазки (соскобы) со
слизистых оболочек,
кровь, СМЖ

- **ПЦР** (выявление ДНК)

содержимое пузырьков/
везикул со слизистых
оболочек и кожи

- **ПЦР** (выявление ДНК)
- микроскопическое исследование
- культуральный метод
- РИФ

сыворотка крови

- **ИФА** (выявление АТ)



«Золотым стандартом» диагностики у новорожденных является ПЦР-диагностика

Серологические методы ИФА имеют более низкую ценность в силу сниженной продукции иммуноглобулинов класса М у новорожденных, в особенности у глубоко недоношенных детей

Цитомегаловирусная инфекция ЦМВ CMV ВГЧ 5 типа

Классификация по МКБ-10

P35.1 Врожденная цитомегаловирусная инфекция

- Врожденная ЦМВИ передается **трансплацентарно** – при первичном заражении неиммунной беременной, реактивации ранее приобретенной инфекции во время беременности или при заражении иммунной беременной другим штаммом ЦМВ от матери к плоду.
- Возможно заражение плода **интранатально** (при наличии цитомегаловирусного поражения родовых путей).
- В период новорожденности заболевание может протекать в манифестной и субклинической форме.

Лабораторная диагностика ЦМВ

Методы

Биоматериал

- слюна
- кровь
- моча
- отделяемое цервикального канала и влагалища
- СМЖ
- сперма
- амниотическая жидкость
- грудное молоко

- **ПЦР** – определение ДНК вируса – количественно.
- ДНК-гибридизация
- **ИФА** – выявление АТ М, G, А к ЦМВ – определение фазы инфекционного процесса (репликативная или латентная)
- Определение АТ с использованием **иммуоблота**
- **Определение avidности АТ.** Выявление низкоавидных АТ IgG подтверждает наличие инфекции

- !** **Диагностика врожденной ЦМВИ** основана на обнаружении **ДНК вируса** и выявлении в сыворотке крови **АТ IgM, А, G в течение первых 7 дней после рождения.** Проведение исследования в более поздние сроки не позволяет дифференцировать врожденную и приобретенную инфекцию.



- Выявление ДНК или АГ ЦМВ в крови, моче, соскобах со слизистой ротовой полости **через 4-6 недель жизни ребенка** при отсутствии вируса в первые 2 недели говорит об **интранатальном или раннем постнатальном заражении**.
- Подтверждением **манифестной ЦМВИ** у детей первых месяцев жизни является наличие ДНК ЦМВ в крови.
- **Выявление АТ IgG в сыворотке крови новорожденного без сопоставления с уровнем АТ в крови матери не является диагностически значимым.** Если титры АТ IgG у ребенка при рождении равны материнским, а при повторном исследовании через 3-4 недели **снижаются в 1,5-2 раза**, то АТ, выявленные у ребенка, являются материнскими.



**Своевременная и адекватная
диагностика инфекций плода и
новорожденного
позволит значительно уменьшить
случаи возникновения
акушерских осложнений,
снизить
перинатальную заболеваемость и
смертность**

**Учебное пособие
Инфекции,
передаваемые**

**Л.Д. Андосова, Ю.Р.
Тихомирова, К.А. Шахова.**

Кафедра клинической лабораторной диагностики ФДПО

Нижний Новгород, 2020



+7 904 903 46 43

**Кафедра клинической
лабораторной
диагностики ФДПО**

kontclin@mail.ru