

Додає
цінність діагнозу



ЕКСПЕРТ У ЛАБОРАТОРНІЙ
ДІАГНОСТИЦІ

В.С. Копча, А.М. Бондаренко, І.В. Ліпковська, Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського;
Центр діагностики і лікування інфекційних хвороб, м. Кривий Ріг; Одеський токсоплазмозний діагностичний кабінет

Діагностика токсоплазмозу вагітних і внутрішньоутробної інвазії плода *T. gondii*

Останнім часом істотно виріс рівень вродженої патології (майже на 30%), пов'язаної з внутрішньоутробним інфікуванням, яка сьогодні становить від 10 до 50% [1]. Одне з провідних місць у її структурі займають внутрішньоутробні TORCH-інфекції і передусім токсоплазмоз, рівень захворюваності на який у новонароджених може досягати більше 10-12 на 10 тис. населення, а летальність – 10% [2]. Актуальність проблеми підтверджується високою інфікованістю токсоплазмами (*T. gondii*) населення в різних регіонах світу – 30-90%, серед яких переважають жінки. Так, в Україні інфікованість жінок токсоплазмами досягає майже 50-70% [3]. Сьогодні ця інвазія залишається ще недостатньо вивченою, незважаючи на те що токсоплазмоз активно вивчається з початку минулого століття. Дотепер повною мірою ще не вирішені питання діагностики токсоплазмозу. Клінічною особливістю захворювання є те, що токсоплазмоз в більшості випадків у імунокомпетентних осіб перебігає безсимптомно або субклінічно й тільки в 1% з них має виразну клінічну симптоматику. Крім цього, суттєвою особливістю захворювання є те, що після первинного інфікування більше ніж у 95-98% випадків воно стає хронічним [3, 4].

Сьогодні має місце повсюдна гіпердіагностика хронічного токсоплазмозу, оскільки зазвичай такий діагноз базується тільки на серологічному методі дослідження – виявленні протитоксоплазмозних Ig G. Але для підтвердження діагнозу хронічного токсоплазмозу необхідний досить широкий комплекс клінічних, молекулярно-генетичних, паразитологічних та інструментальних методів дослідження, які вказували б на реактивацію цієї інвазії, її прогресування, що супроводжуються низкою відповідних клінічних чи/або параклінічних проявів [3, 5]. Без таких додаткових даних коректно говорити тільки про інфікування (свіже чи давнє) токсоплазмами.

Як правило, тільки в осіб з імунодефіцитами, рівень яких сьогодні неухильно росте, первинне інфікування токсоплазмами або реактивація хронічної інвазії нерідко призводять до генералізованих і тяжких форм токсоплазмозу. До імунодефіцитів варто також віднести й вагітність з огляду на механізми формування у матері імунної толерантності до плода, а також за рахунок зниження резервних і адаптаційних можливостей її організму задля захисту і забезпечення життєдіяльності плода. Тому очевидні ризик і висока вірогідність внутрішньоутробної інвазії плода при первинному ураженні вагітної *T. gondii* [6]. У разі хронічного латентного токсоплазмозу його реактивація в імунокомпетентних вагітних украй рідкісна та можлива, як правило, тільки за наявності вродженого або набутого імунодефіциту. Відомо, що при інфікуванні вагітної *T. gondii* в I-II триместрі вірогідність внутрішньоутробного ураження плода становить близько 35-40%, а в III триместрі – більше 60%. Поряд з цим інфікування плода *T. gondii* на ранніх термінах його розвитку (I триместр вагітності) призводить до його загибелі в 60-70% випадків. В II триместрі вагітності суттєве пошкодження плода відбувається в 25% випадків. В III триместрі інфікування плода токсоплазмами перебігає, як правило, безсимптомно [6-8]. Тому вкрай важливо виявити інфікування матері й плода якомога раніше для вирішення питання про необхідність переривання вагітності або призначення адекватної хіміотерапії.

Внутрішньоутробне ураження плода можливе при первинному інфікуванні жінки *T. gondii* або при реактивації хронічної токсоплазмозної інвазії під час вагітності. Також інфікування плода у вагітної можливе в разі, якщо первинне інфікування жінки токсоплазмами або

реактивація у неї хронічної інвазії сталися протягом 6 міс до настання вагітності. Як правило, в імунокомпетентних жінок, інфікованих *T. gondii* за 6 міс до вагітності, реактивація токсоплазмозу не відбувається. Навпаки, наявність хронічної латентної форми токсоплазмозу в імунокомпетентної жінки до вагітності є сприятливим фактором відносно практичної неможливості внутрішньоутробної інвазії плода *T. gondii*. Навіть у випадку первинної інвазії імунокомпетентної вагітної і внутрішньоутробного зараження її плода *T. gondii* наступні вагітності вже через 6-8 міс можна вважати практично безпечними відносно виникнення вродженого токсоплазмозу в дитини [7, 9]. Однак це стосується тільки імунокомпетентних жінок, але не є абсолютним, тому що в низці випадків при хронічному токсоплазмозі можлива реактивація інвазії, а отже й внутрішньоутробна інвазія плода *T. gondii*, хоча це і малоймовірно.

Тактика діагностики токсоплазмозу у вагітних включає наступні етапи:

1 – встановити наявність або відсутність інфікування *T. gondii* (оптимально при плануванні вагітності до її настання);

2 – у разі інфікування визначити клінічну форму паразитозу – гострий (первинна інвазія) або хронічний;

3 – при хронічній формі токсоплазмозу встановити або виключити її реактивацію;

4 – за наявності первинного інфікування *T. gondii* або реактивації хронічної форми токсоплазмозу у вагітної встановити або виключити внутрішньоутробне інфікування плода *T. gondii* [3].

Останнє є найважливішим у діагностиці токсоплазмозу вагітних, тому що від цього залежить подальша терапевтична тактика стосовно вагітної та її майбутньої дитини.

При первинній інвазії чи реактивації хронічного токсоплазмозу під час вагітності або за 6 міс до неї, у випадку доведеної відсутності інфікування плода призначається специфічна етіотропна терапія вагітної препаратами, що практично не проходять через плаценту (спіраміцин), які кумулюються в ній, унеможливаючи вертикальний шлях передачі *T. gondii* від матері до плода. Таку терапію можна вважати щадною, тому що вона практично не впливає на плід, що розвивається, однак і її призначення має бути суворо обґрунтованим, оскільки зазначене антипаразитарне лікування повинно тривати до кінця вагітності. Ще суворішим має бути обґрунтування наявності

інфікування плода *T. gondii*, тому що в такій ситуації необхідно вирішувати питання про внутрішньоутробну антипаразитарну терапію або переривання вагітності, якщо йдеться про значні вади розвитку плода чи ушкодження, несумісні з подальшою життєдіяльністю дитини. Варто відразу наголосити, що в такому випадку остаточне рішення про переривання вагітності залишається за самою жінкою [3, 10].

У разі необхідності антипаразитарної терапії плода її проводять етіотропними препаратами, що проникають через плаценту. На жаль, практично всі ці препарати мають тератогенні й токсичні властивості (хлоридин, сульфонаміди, метронідазол, тетрацикліни, макроліди). Зазначена терапія повинна тривати не тільки до кінця вагітності, але й пролонгуватися вже і новонародженій дитині (призначатися немовляті) [3].

У більшості (>95%) первинно інфікованих *T. gondii* вагітних паразитоз перебігає безсимптомно або субклінічно. Украй рідко (в 1-3%) в інфікованих вагітних мають або мали місце протягом останніх 6 міс гарячка, лімфаденопатія, збільшення печінки і селезінки, міалгії, ознаки міокардиту, хоріоретиніту. Отже, клініцистові при вирішенні питання про первинне інфікування або реактивацію хронічного токсоплазмозу вагітної, а також при діагностиці вродженого токсоплазмозу здебільшого доводиться опиратися тільки на дані лабораторних досліджень (переважно імунологічних), рідше – висновки сонологічного дослідження плода та ще рідше – на дані досліджень суміжних фахівців (окуліста і кардіолога).

Та все ж за будь-яких обставин основою діагностики токсоплазмозу вагітних і внутрішньоутробного інфікування плода є лабораторне дослідження, на вірогідність даних якого впливає чимало факторів, передусім якість діагностичних тест-систем, обладнання і професійний рівень лаборантів.

Усе це зумовлює найвищий ступінь відповідальності лікаря, якому доводиться вирішувати комплекс вкрай складних проблем, пов'язаних з діагностикою токсоплазмозу у вагітних. У такій ситуації значна частина відповідальності клініциста лягає й на лікаря-лаборанта, який проводив необхідні дослідження і відповідає за їх вірогідність. Питання про відповідальність лікаря в цьому випадку обумовлене можливістю серйозних наслідків його дій щодо вагітної та її майбутньої дитини. Передусім це стосується необ-

ґрунтованого переривання вагітності, немотивованого призначення тератогенної і токсичної антипаразитарної хіміотерапії або, навпаки, відмови лікарів від неї у разі її потреби. У більшості наукових і практичних робіт, присвячених токсоплазмозу, не розглядаються складності діагностики токсоплазмозу вагітних, жорстка залежність терапевтичної тактики від діагностики, а також відповідальність лікаря за наслідки такого лікування. Підтвердженням цьому є те, що, незважаючи на високу технічну оснащеність медичних лабораторій, навіть у США на сьогодні немає референс-лабораторії з діагностики внутрішньоутробного і вродженого токсоплазмозу. У разі потреби така діагностика проводиться в Канаді [11].

Вирішальне значення у лабораторній діагностиці токсоплазмозу сьогодні належить імунологічним методам, серед яких провідні позиції займає імуноферментний аналіз (ІФА). Використовуючи ІФА, у крові пацієнтки можна виявити антитіла різних класів. На практиці використовують визначення Ig M, Ig G і рідше – Ig A не тільки якісно, але й кількісно, а також досліджують ступінь авідності Ig G та рівень високо- і низькоавідних специфічних Ig G. Це дає можливість визначити гостроту процесу, термін інфікування і динаміку перебігу токсоплазмозу. Відомо, що наявність у крові пацієнтки специфічних Ig M та Ig A свідчить про недавнє інфікування або реактивацію хронічної інвазії. Однак динаміка рівня специфічних Ig A при токсоплазмозі вивчена недостатньо [12].

Суттєву роль відіграє динаміка рівня Ig G. Так, при гострому інфікуванні в ранній період вагітності (2-3 тиж) Ig G можуть не визначатися, але це не означає, що при гострому інфікуванні у крові й тканинах їх немає. Це зумовлено межею рівня чутливості методу і його діагностичною можливістю. Так, для ІФА-тест-систем різних виробників чутливість може коливатися від 5 до 20 МО/мл [3, 13]. Через 2-3 тиж при гострому інфікуванні *T. gondii* відмічається поява Ig G до антигенів *T. gondii*, а ще через 2-4 тиж – істотний ріст їх рівня. При хронічному токсоплазмозі протягом 2-4 тиж після реактивації також відмічається ріст рівня специфічних Ig G. Діагностично значущим вважають підвищення рівня Ig G в 2-4 рази, але не менше ніж в 2 рази. Початковий рівень Ig G до *T. gondii* при одноразовому дослідженні не має суттєвого діагностичного значення. Найбільш важлива динаміка їх рівня [3]. Відповідно до рекомендацій ВООЗ, рівень Ig G до *T. gondii* більше 200 МО/мл є одним з критеріїв первинного інфікування *T. gondii* або реактивації хронічного токсоплазмозу. Але варто відмітити діагностичну обмеженість згаданих рекомендацій ВООЗ з огляду на низький рівень можливих варіантів (йдеться тільки про 9 варіантів рівня Ig G) і динамічних комбінацій, так як вони складені тільки з урахуванням динаміки рівнів Ig M та Ig G до *T. gondii*, без оцінки авідності

Продовження на стор. 44.

Додає
цінність діагнозу



ЕКСПЕРТ У ЛАБОРАТОРНІЙ
ДІАГНОСТИЦІ

В.С. Копча, А.М. Бондаренко, І.В. Ліпковська, Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського;
Центр діагностики і лікування інфекційних хвороб, м. Кривий Ріг; Одеський токсоплазмозний діагностичний кабінет

Діагностика токсоплазмозу вагітних і внутрішньоутробної інвазії плода *T. gondii*

Продовження. Початок на стор. 43.

Ig G, наявності Ig A, а також без урахування даних паразитологічної діагностики і генетичних методів дослідження, про які йтиметься далі.

Одним з найважливіших діагностичних критеріїв первинного інфікування *T. gondii* або реактивації хронічного токсоплазмозу є сероконверсія — при динамічному дослідженні зникнення з крові Ig M до *T. gondii*, поява специфічних Ig G та ріст їх рівня в динаміці. За даними літератури, які підтверджуються і нашими дослідженнями, специфічні Ig M та Ig G з'являються в достатньому для визначення в ІФА рівні тільки через 1-2 тиж після інфікування *T. gondii*, далі протягом 1 міс Ig M досягають максимуму, а потім протягом 3 міс після інфікування зникають у 70% пацієнтів [3]. Варто зазначити, що низка авторів стверджують про неможливість повторного виявлення Ig M при реактивації хронічного токсоплазмозу, за винятком осіб, хворих на ВІЛ-інфекцію [14, 15]. Рівень Ig G досягає максимуму через 1-2 міс після інфікування *T. gondii*. Після цього він поступово знижується до індивідуального для кожного пацієнта рівня, зберігається довільно (в імунокомпетентних осіб) і надалі може хвилюватись в невеликих межах, що не є показником активності хронічного токсоплазмозу, а відображає формування нестерильного імунітету.

Оцінка імунологічних методів дослідження коректна тільки в імунокомпетентних осіб і пов'язана зі значними труднощами при діагностиці токсоплазмозу у плода й дитини в перші місяці життя. Це зумовлено недосконалістю імунної системи плода і немовляти (здатність до синтезу специфічних Ig G з'являється тільки на 3-6 місяці життя дитини), а також можливістю проходження Ig G матері через плаценту.

Слід зазначити і можливість розвитку у вагітних імунних реакцій із синтезом антитіл, що мають перехресну специфічність. Це істотно ускладнює діагностику токсоплазмозу і визначення строків інфікування токсоплазмами. Передусім це стосується високої вірогідності синтезу у вагітних низькоспецифічних Ig M і ревматоїдного фактора, які забезпечують одержання в ІФА несправжньо-позитивних результатів виявлення Ig M до *T. gondii*. Це істотно обмежує діагностичну цінність ІФА, призводить до гіпердіагностики та, що особливо небезпечно, — до необгрунтованої етіотропної терапії. Тому виявлення у крові ревматоїдного фактора і його рівня має бути обов'язковим дослідженням при лабораторній діагностиці токсоплазмозу у вагітних. Сьогодні існують етапні тест-системи для визначення в ІФА Ig M до *T. gondii*, що забезпечують видалення з досліджуваної сироватки крові ревматоїдного фактора до початку визначення специфічних Ig M. Однак широкого застосування цей метод не знайшов. Незважаючи на запобігання несправжньо-позитивним результатам визначення Ig M до *T. gondii*, пов'язаних з ревматоїдним фактором, ця тест-система не забезпечувала їх негативацію, обумовлену неспецифічними Ig M. Ця проблема була вирішена за допомогою

впровадження в діагностику різновиду ІФА — імуноблотингу, який забезпечує високу селективність і детекцію саме специфічних до *T. gondii* антитіл [1, 16]. Але, зважаючи на високу ціну, цей метод діагностики токсоплазмозу сьогодні практично не застосовується.

Попри це, провідним у діагностиці інфікування вагітної і плода все-таки досі залишається виявлення в їх крові саме Ig M. Однак у деяких осіб антитіла класу Ig M з'являються і зберігаються до 18-24 міс від моменту інвазії, що значно утруднює визначення часу інфікування пацієнтки. У такій ситуації при підозрі на сероконверсію раціонально було б порівняти з визначенням рівня Ig G до *T. gondii* визначати і рівень специфічних Ig M. Але діагностичні ІФА-тест-системи з кількісним визначенням Ig M до *T. gondii* сьогодні не виробляються. За необхідності можна використати існуючі ІФА-тест-системи, титруючи (за розведеннями) досліджувану сироватку й одержуючи кількісні (логарифмічні) показники рівня Ig M, які можна порівнювати в динаміці. У цій ситуації конче потрібно проводити динамічні дослідження з отриманою первинною (замороженою) сироваткою.

Вирішити наявність первинного інфікування можна також шляхом виявлення у крові вагітної рівня низької та високоавідних антитіл, а також їх співвідношення (індексу авідності — відношення рівня високоавідних до токсоплазм Ig G, до загального рівня специфічних антитоксоплазмозних Ig G). Відомо, що

на початкових етапах розвитку інвазії в макроорганізмі синтезуються Ig G з низькою специфічністю (авідністю) до антигену, а через декілька місяців після закінчення активного інфекційного процесу відбувається активний синтез високоспецифічних Ig G, а рівень низькоавідних антитіл різко знижується [17].

У гострому періоді токсоплазмозу виявляється низький рівень високоавідних Ig G — до 30-40%, а при хронічних формах і перенесеній інвазії більше 6 міс тому їх рівень перевищує 50%. Рівень авідності 40-50% входить у так звану сіру зону і в ІФА означає сумнівний результат.

Індекс авідності менший ніж 0,2 свідчить про гострий активний токсоплазмоз з тривалістю інвазії, яка не перевищує 4 міс. При індексі в межах 0,2-0,3 тривалість інвазії становить 4-6 міс, а при показнику більше 0,3 — свідчить про давнє інфікування, оскільки тривалість інвазії, як правило, перевищує півроку. Однак і низька авідність Ig G не може інтерпретуватися як однозначний показник недавнього інфікування *T. gondii*, тому що в окремих осіб Ig G мають постійну низьку авідність протягом багатьох місяців після інфікування [3].

Слід зазначити, що діагностичну цінність ІФА обмежує необхідність обов'язкового визначення рівнів специфічних антитіл у динаміці з інтервалом не менше 2-3 тиж. Але такий тривалий час очікування результатів приховує в собі загрозу пізньої діагностики гострого токсоплазмозу, а отже — пізнього призначення етіотропної терапії. Вкрай важливе значення це має в інфікованих вагітних, особливо в I триместрі вагітності, коли

пізно розпочата етіотропна терапія може призвести до інфікування плода з фатальними для нього наслідками.

Динамічні повторні дослідження (через 2-3 тиж) сироватки крові в ІФА для підвищення вірогідності отриманих результатів і можливості їх зіставлення з початковими показниками необхідно проводити обов'язково одночасно з використанням первинних зразків сироватки від конкретної пацієнтки в одній і тій же постановці ІФА. Первинні зразки сироватки необхідно заморожувати при температурі не вище «мінус 18-24 °C» і зберігати до наступної постановки ІФА. При такому зберіганні зразків припустимий рівень зниження рівня антитіл не перевищує 5-10%.

Ще однією практично нерозв'язною проблемою імунологічної діагностики токсоплазмозу є відсутність уніфікованого підрахунку результатів ІФА (особливо для кількісних методик). Результати тестів ІФА видаються лабораторіями у вигляді: рівнів оптичної щільності, титрів антитіл, МО/мл тощо. Досі в низці лабораторій ще використовують низькоінформативні та низькочутливі реакції зв'язування комплексу, непрямой гемаглютинації та імунофлюоресценції. Не враховується початкове розведення сироватки в різних тестах ІФА (різна чутливість ІФА різних виробників). Окремі виробники ІФА-тест-систем взагалі зазначають так звані норми і референсні рівні або «межі» специфічних імуноглобулінів і «норми» оптичної щільності. Однак про які «норми» може йти мова при виявленні антитоксоплазмозних антитіл, адже імунні реакції в кожній людини індивідуальні? Багато лабораторій видають результати у титрах, рівень яких залежить від розведення. У результаті насправді невисокий абсолютний рівень антитіл у конкретної пацієнтки (у МО/мл) відповідає високим титрам антитіл, що призводить до небезпечних діагностичних помилок. Нерідко при дослідженні однієї й тієї ж сироватки з використанням наборів для ІФА різних виробників виявлялося, що результати тестів досить сильно розрізнялися. У цих випадках не було об'єктивних причин для таких розбіжностей (тест-набори мали достатні терміни придатності, з «працюючими» вбудованими контролями і достатньою «повторюваністю» досліджень тощо). Швидше за все, розбіжності пов'язані з різними початковими антигенами *T. gondii*, які використовують виробники ІФА-тестів. З другого боку, набори деяких виробників ІФА-тестів для діагностики токсоплазмозу мають низький рівень повторюваності.

Найбільш вдала з погляду послідовності, логіки, простоти сприйняття і лаконічності тактика діагностики токсоплазмозу розроблена американським Центром контролю хвороб [19], в яку ми, з урахуванням проведених досліджень, внесли деякі доповнення, що раніше не були враховані розробниками (рис. 1).

Однак у такій розробці чітко не відображені умови діагностики, пов'язані з рівнем Ig G та їх динамікою.

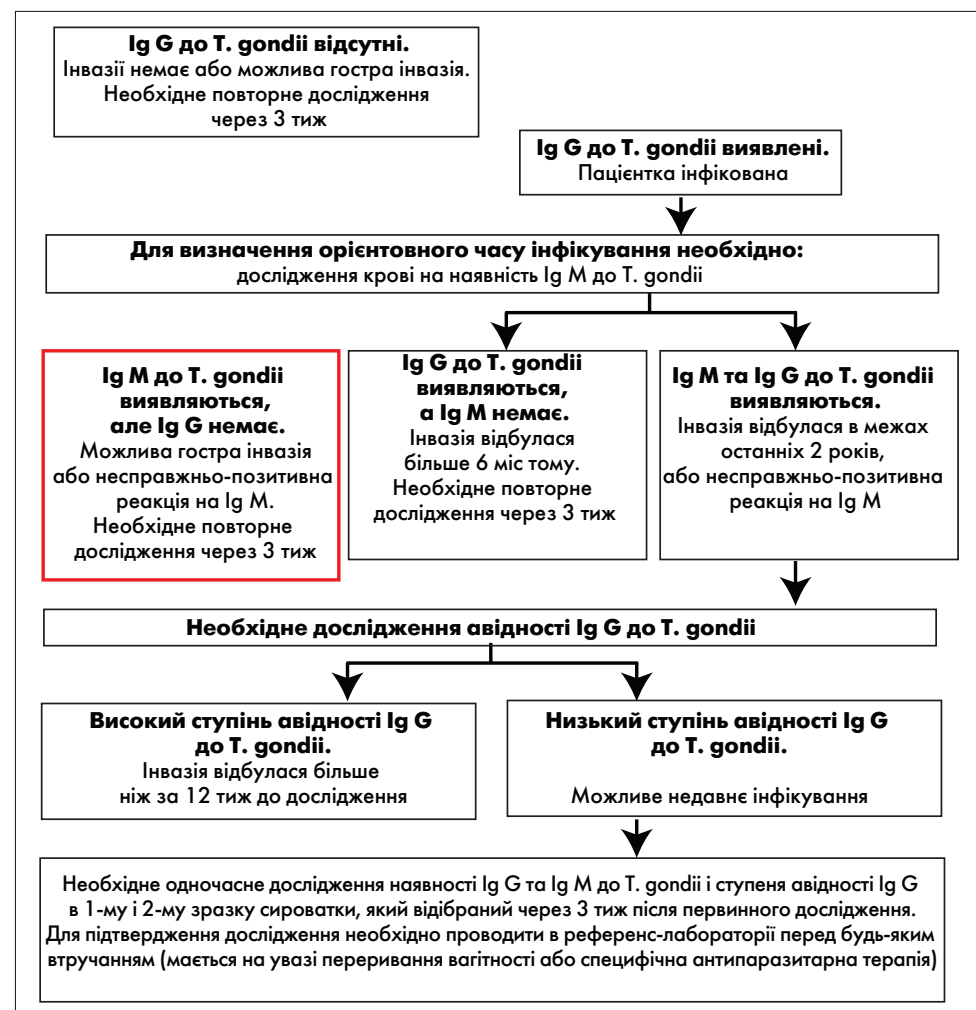


Рис. 1. Імунологічна діагностика токсоплазмозу в імунокомпетентних осіб

Примітка: червоною лінією в таблиці виділений фрагмент, доданий авторами

Продовження в наступному номері.

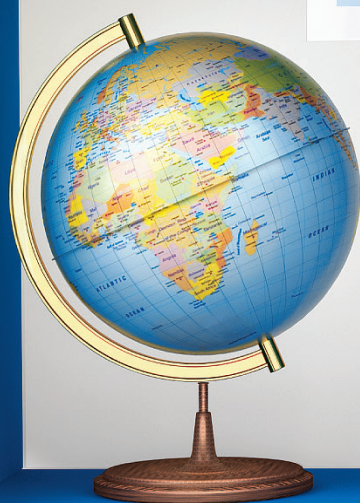


СПІВПРАЦЯ З «СІНЕВО» — СУЦІЛЬНИЙ ПЛЮС ДЛЯ ЛІКАРЯ

Повний спектр
досліджень
на кращому
світовому
обладнанні



Міжнародний контроль
якості досліджень
і довіра понад 20 тисяч
лікарів в Україні



72 медичні
лабораторії
у 16 країнах Європи



Інформаційна підтримка
та зручні онлайн сервіси
для лікарів і пацієнтів

0 800 50 70 30 безкоштовно зі стаціонарних телефонів по території України

044 20 500 20

www.synevo.ua

 [synevolab](https://www.facebook.com/synevolab)