

Особенности лабораторной диагностики урогенитальных инфекций у беременных женщин.



**II НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
«ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И
ПРИКЛАДНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В
ДЕРМАТОВЕНЕРОЛОГИИ И
КОСМЕТОЛОГИИ»**

**Е.Ю.ПЕЧЁРИНА
ЛАБОРАТОРИИ ЦИР
ЦЕНТР ИММУНОЛОГИИ И РЕПРОДУКЦИИ**

21 АПРЕЛЯ 2018

Цели скрининга и диагностики урогенитальных инфекций



- Выявление инфекции и лечение до развития осложнений
- Лечение обоих партнеров и предотвращение распространения инфекции в популяции
- Предотвращение осложнений, связанных с течением беременности и здоровьем плода и новорожденного

Опасность урогенитальных инфекций при беременности



- Невынашивание беременности
- Преждевременное излитие околоплодных вод и недонашивание
- Самопроизвольные преждевременные роды
- Хориоамнионит
- Мертворождение
- Низкая масса тела плода
- Инфицирование плода (сепсис, конъюнктивит, пневмония и др.)
- Послеродовые воспалительные осложнения (метроэндометрит)

Хламидии и гонококки



- У женщин часто бессимптомное течение
- Во многих странах - скрининг групп риска, в том числе, беременных

Осложнения хламидиоза во время беременности



- Преждевременное излитие околоплодных вод и недонашивание
- Самопроизвольные преждевременные роды
- Риск инфицирования новорожденного *Chl.trachomatis* - 50-70% (серологически), 20-50% (конъюнктивит), 5-30% (пневмония). Инфицирование возможно как при родах через естественные родовые пути, так и небольшой риск заражения новорожденных, рожденных при родах кесарева сечения, как с преждевременным разрывом плодного пузыря, так и без. Персистенция в носоглотке, урогенитальном тракте, прямой кишке до 2 лет и более.

Методы диагностики хламидиоза



- **НААТ – золотой стандарт. Высокая чувствительность и специфичность.**
- Значение уровня бактериальной нагрузки
- У женщин можно использовать самозабор, у мужчин – первая порция мочи без предварительного туалета

Методы диагностики хламидиоза



- Культуральный метод – дорогой, сложный, используется в науке, бактериологическая опасность
- Иммуноморфологические методы – ПИФ и нПИФ - сложные в интерпретации, низкая чувствительность, субъективны
- Иммунологические методы – неинформативны, так как хламидия – слабый иммуноген и воспаление происходит местно.
- Экспресс-тесты – дешевые, используются при недоступности NAAT

НААТ – максимальная чувствительность и специфичность



- PCR и RT-PCR – доступны российские и зарубежные реагенты
 - NASBA (доступны тесты для определения *Ch.trachomatis*, *N.gonorrhoeae*, *M.genitalium*, *T.vaginalis*)
 - ТМА (Transcription Mediated Amplification) – может улавливать единичные бактерии. Например, ТМА АРТМА Combo-2 Assay для *Ch.trachomatis*
 - SDA (Strand Displacement Amplification)
-
- Высокая чувствительность и специфичность.
 - Исследование неинвазивного материала.
 - Наличие в РФ зарегистрированных реагентов.
 - Оценка количества, жизнеспособности микроорганизмов и эффективности терапии.

Осложнения гонореи



- Спонтанные аборты
- Хориоамнионит
- Преждевременное излитие околоплодных вод и недонашивание
- Самопроизвольные преждевременные роды
- Низкий вес при рождении
- Передача *N. gonorrhoeae* от нелеченной матери к ребенку в 30-50% случаев (конъюнктивит, фарингит, артрит, гонококцемия).

Методы диагностики гонореи



- **НААТ – основной метод диагностики**
 - мазок из уретры у мужчин, эндоцервикальный мазок
 - возможно использование самосборного образца (влагалищный тампон у женщин или моча у мужчин)
- **Культуральный метод используется при наличии устойчивости к антибиотикам**
- **В случае невозможности проведения:**
 - Микроскопическое исследование с окраской по Граму
 - Обнаружение антигена
 - Метод генетических зондов

Трихомонады и беременность



- Преждевременное излитие околоплодных вод и недонашивание
- Самопроизвольные преждевременные роды
- Низкий вес при рождении
- Симптомы инфицирования новорожденного: лихорадка, респираторные проблемы, инфекция уrogenитального тракта, выделения из носа, у девочек – из влагалища.

Диагностика трихомониаза



- НААТ – ПЦР, РТ-ПЦР, NASBA
- Влажный мазок выявляет 60-70% культурально-подтвержденных случаев; сочетается с рН >4,5 и большое количество полиморфноядерных лейкоцитов
- Культивирование. Чувствительность и специфичность порядка 95 процентов.
- Экспресс-тесты используются при невозможности проведения основных анализов.
- Система культуры «InPouch» *T. vaginalis* имеет высокую чувствительность (более 80 процентов), занимает ≤3 дней для получения результатов, используется при признаках трихомониаза и недоступности НААТ.

Mycoplasma genitalium



- **Микоплазма** — род бактерий класса Mollicutes, не имеющих клеточной стенки, их клетки примерно в 100 раз мельче средней бактерии.
- *M. genitalium* ассоциируется с такими осложнениями беременности как преждевременные роды, спонтанные аборты.

Диагностика *Mycoplasma genitalium*



- **НААТ (PCR и TMA)**
 - несколько исследований показывают, что тестирование образцов вагинальных мазков у женщин и первой мочевой мочи у мужчин дает наиболее точные результаты.
 - Первые 10 мл мочи, собранной без предварительной очистки половых органов, не мочиться за 2 часа до сдачи.
- Из-за высоких требований к росту и низкой скорости деления культивирование не используется
- Слишком маленькие для микроскопии
- Серологические тесты не используются, так как микоплазма обладает низкими иммуногенными свойствами и несёт родоые антигены.

M. hominis и *Ur. urealyticum* и осложнения беременности



- Самопроизвольные преждевременные роды
- Преждевременное излитие околоплодных вод
- Невынашивание беременности
- Мертворождение
- Низкая масса тела при рождении
- Метроэндометрит
- Бактериемия, пневмония, менингит, абсцессы у новорожденных
- Подозрения, но не достоверность

Диагностика *M.hominis* и *U.spp*



- Культуральный метод. При культивировании часто добавляется антибиотик для подавления роста других бактерий. Рост уреоплазмы виден через 1-2 дня, микоплазмы – до недели.
- NAAT – ПЦР, РТ-ПЦР

Кандидозный вульвовагинит



- Кандидозный вульвовагинит часто сопровождает ситуации, когда возрастает уровень эстрогенов, в том числе, беременность
- *Candida albicans* - 80 to 92% случаев кандидозного вульвовагинита
- *Candida glabrata* – 8-20% случаев
- Более мягкое течение *C. glabrata* и *C. parapsilosis*
- Распространение инфекций *C. glabrata* увеличивается: бесконтрольное применение препаратов, длительный приём азолов, короткие курсы антигрибковых препаратов.
- Не ассоциирован с уменьшением лактобацилл

Candida и беременность



- Лечение кандидоза направлено на избавление от симптомов
- Кандидоз не ассоциирован с осложнениями беременности
- Лечение: клотримазол/миконазол вагинально 7 дней
- Не используются азолы: не исключен риск выкидыша, риск тератогенного воздействия пока не исключается.
- В Германии лечение рекомендуется в третьем триместре, так как уровень орального кандидоза и пеленочного дерматита у здоровых новорожденных значительно снижается при лечении матери

Диагностика кандидоза



- Самодиагностика вульвовагинального кандидоза неточна
- у 95 женщин, которые предполагали у себя диагноз вульвовагинальный кандидоз: вульвовагинальный кандидоз - 34%, бактериальный вагиноз - 19%, смешанный вагинит - 21%, нормальная флора - 14%, трихомонадный вагинит - 2% и другие - 11%.
- Поскольку ни одно из клинических проявлений вульвовагинального кандидоза не патогномонично, предполагаемый клинический диагноз всегда должен подтверждаться лабораторными методами

Диагностика кандидоза: The office evaluation



- рН - 4 до 4,5, что отличает кандидоз от трихомониоза или бактериального вагиноза (при смешанных инфекциях более высокий уровень рН)
- Микроскопия влажного мазка: добавление 10% гидроксида калия разрушает клеточные элементы и облегчает распознавание почкующихся дрожжей, псевдогиф и гиф
- *C. glabrata* не легко распознается на микроскопии, поскольку он не образует гифы или псевдогифы
- Окраска Swartz-Lamkins для облегчения выявления
- Микроскопия отрицательна у 50% пациентов
- Микроскопия важна для диагностики микст-инфекции («ключевые» клетки, трихомонады)

Культуральное исследование и НААТ



- Образец получают с боковой стенки влагалища
- Для женщин с клиническими признаками вульвовагинального кандидоза, при нормальном вагинальном рН и отсутствии признаков инфекции при микроскопии
- Идентификация видов является существенной в устойчивых к терапии и рецидивирующих заболеваниях
- Методики на основе количественной ПЦР в режиме реального времени позволяют определять концентрацию ДНК *Candida albicans* и наиболее значимых в патогенезе кандидозного вульвовагинита *non-albicans* видов (*C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*)
- Панели: Affirm VPIII. Метод гибридизации с ДНК-зондами - *Trichomonas vaginalis*, *Gardnerella vaginalis*, and *Candida species*
- Молекулярный тест (BD MAX) Bacterial Vaginosis: *Lactobacillus spp.* *Gardnerella vaginalis* *Atopobium vaginae* BVAB-2 & *Megasphaera-1* Vaginitis: *Candida spp.* *Candida glabrata* *Candida krusei* *Trichomonas vaginalis*

Сравнение методов лабораторной диагностики кандидозного вульвовагинита

Параметры/ Метод лабораторной диагностики	АЧ	ДЧ, %	ДС, %	Количественная оценка	Видовая идентификация	Определение чувствительности к антимикотикам	Продолжительность исследования
Микроскопия [8, 12, 18–20]	105 МК/мл	40–70	98	-	-	-	3–4 ч
Культуральное исследование [8, 18, 21–25]	6–10 КОЕ/мл	90–96	89	+	+	+	До 7 дней
ПЦР, выявление <i>S. albicans</i> , (качественный формат) [19, 26]	103 ГЭ/мл	70–95	90	-	-	-	6–8 ч
Мультиплекс-ПЦР, определение вида, количественный формат [8, 18, 26–28]	50 ГЭ/мл	100	90	+	+	-	6–8 ч

Herpes simplex virus



© 2018 UpToDate, Inc. and/or its affiliates. All Rights Reserved.

Clinical designation of genital herpes simplex virus infection (HSV)

Direct viral test result*	Type-specific serologic status [†]		Classification of genital HSV infection
	HSV-1 antibodies	HSV-2 antibodies	
HSV-1 detected	-	-	Primary HSV-1 infection
	-	+	Nonprimary first episode HSV-1 infection ^Δ
	+	- or +	Recurrent HSV-1 infection
HSV-2 detected	-	-	Primary HSV-2 infection
	+	-	Nonprimary first episode HSV-2 infection
	- or +	+	Recurrent HSV-2 infection

* Testing of the ulcerative lesion with culture, polymerase chain reaction, or direct fluorescent antibody.

[†] Performed at the time of initial presentation with the ulcerative lesion.

^Δ Nonprimary first episode genital HSV-1 infection is rare.

Основные методы диагностики Herpes simplex virus



- Серологическое исследование (IgM, IgG, типирование, выявление сероконверсии)
- NAAT - РТ-ПЦР с типированием ВПГ
- Культивирование вируса
- Экспресс-тесты, флюоресцентный анализ при недоступности других тестов

Herpes simplex virus и беременность



- У большинства матерей новорожденных с перинатально приобретенной инфекцией HSV не было клиники генитального герпеса
- Наибольший риск развития неонатальной инфекции наблюдается у женщин с первичным генитальным герпесом незадолго до родов (40-44%)
- Риск неонатальной инфекции несколько ниже у женщин с первым эпизодом непервичного герпеса (24-31%) и значительно снижается у женщин с рецидивирующим ВПГ (1-3%)
- Это связано как с отсутствием антител против HSV, так и с более высоким уровнем вирусного воздействия
- Антитела появляются через 12 недель после заражения и сохраняются пожизненно
- У женщин с первичной инфекцией или первым эпизодом непервичного герпеса на ранних сроках беременности, у которых развиваются специфичные антитела к ВПГ до начала родов, по-видимому, наблюдается такой же низкий риск передачи новорожденных, как у женщин с рецидивирующей инфекцией.
- Были сообщения о трансплацентарной или трансцервикальной передаче вируса плоду при первичной инфекции с развитием осложнений: выкидыш, врожденные аномалии, преждевременные роды и/или внутриутробная задержка роста плода.

Скрининг Herpes simplex virus



- Не везде является обязательным
- Обязательно раздельное тестирование на разные типы вируса и антитела IgG и IgM
- Оптимально тестирование до беременности для исключения ложноположительных реакций во время беременности
- Если женщина является серонегативной по ВПГ-2, а партнер серопозитивный или статус неизвестен, должны использоваться презервативы в первом и втором триместрах. В третьем триместре следует избегать полового акта, поскольку презервативы не обеспечивают абсолютную защиту от передачи инфекции половым путем.
- Если женщина является серонегативной по ВПГ-1, а партнер является серопозитивным, следует избегать как полового акта, так и орально-генитального контакта во время третьего триместра.
- Дополнительным вариантом является введение валацикловира (500 мг / сут) инфицированному партнеру-мужчине для снижения риска передачи инфекции половым путем.
- В настоящее время разрабатывается вакцина против ВПГ.

Профилактика неонатального заражения



- Использование инвазивного мониторинга состояния плода, вакуума, щипцов и преждевременные роды увеличивает риск неонатальной инфекции
- Операция кесарева сечения при активном процессе и продромальных симптомах (боль, зуд, жар)
- Операция кесарева сечения не гарантирует отсутствие заражения
- При рецидиве герпеса риск неонатального ВПГ является слишком низким (2/10 000)
- У женщин с активными экстрагенитальными поражениями ВПГ (например, спина, ягодиц, бедра) используются защитные повязки.



Спасибо за внимание!