



ПОВЫШЕНИЕ КВАЛИФИКАЦИИ

Клиническая лабораторная диагностика краснухи

Э.А. Домонова

канд. биол. наук, науч. сотр.

О.Ю. Шипулина

руководитель подразделения молекулярных методов диагностики отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва

Краснуха – повсеместно распространенная антропонозная острая вирусная инфекция с воздушно-капельным, контактно-бытовым и трансплацентарным механизмом передачи.

Широкая распространенность вируса краснухи, высокая восприимчивость человека, преимущественное поражение детей, подростков и молодых взрослых, в т. ч. женщин детородного возраста, риск возникновения врожденных патологий при инфицировании беременных определяют значение своевременной диагностики данного заболевания как актуальную проблему для здравоохранения многих стран мира. Согласно программе Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) краснуха отнесена к числу нозологий, ликвидация которых возможна в ближайшем будущем. Региональный комитет ВОЗ для Европы признал элиминацию краснухи и предотвращение случаев врожденной краснушной инфекции (ВКИ) приоритетной задачей программы “Здоровье для всех в XXI веке”, а также Стратегического плана Европейского региона ВОЗ 2005–2010 гг., продленного до 2015 г. [6, 8, 9, 11].

В настоящее время эпидемиологическая ситуация по краснухе в разных странах мира неодинакова. По мере того как борьба с краснухой становится все более эффективной, а страны Европейского региона ВОЗ достигают фазы элиминации данного заболевания, возрастает роль систем эпидемиологического надзора в выявлении, содействии расследованию и лабораторному подтверждению всех клинических случаев [10].

Возбудитель заболевания – РНК-содержащий вирус рода *Rubivirus* семейства *Togaviridae*. Вирион вируса краснухи представляет собой икосаэдрический нуклеокапсид диаметром около 70 нм с одонитевой геномной РНК положительной полярности, окруженный липопротеидной оболоч-

Повышение квалификации

кой. В состав вириона входят три структурных протеина: E1, E2, С. Известен только один серотип *Rubella virus* (*R. virus*). Филогенетический анализ, выполненный для E1 кодирующего региона, свидетельствует о существовании 10 различных генотипов [25].

Продолжительность инкубационного периода заболевания варьирует от 9 до 23 дней, составляя в среднем 21 день [14]. Источником и резервуаром инфекции является человек. При приобретенной (постнатальной) краснухе вирус начинается на 5–7-й день после инфицирования. Наибольших значений концентрация вируса в крови достигает через 10–14 дней с момента заражения и до появления первых клинических симптомов. В этот период вирус краснухи обнаруживается в крови, слюне, назофарингеальных мазках, смывах, соскобах. При формировании естественного иммунитета к вирусу краснухи специфические антитела класса IgM появляются на 14–18-й день после заражения одновременно с появлением сыпи. Вирусспецифические антитела класса IgG начинают выявляться в те же сроки и достигают максимальной концентрации через 3–4 недели (рис. 1). Специфический клеточный иммунитет формируется через неделю после гуморального. Заболевание краснухой обуславливает пожизненный иммунитет, однако случаи реинфекции, хотя и крайне редкие, возможны [9, 14]. Реинфекция характеризуется бессимптомным течением или слабовыраженной симптоматикой, диагноз подтверждается с помощью серологического обследования, когда наблюдается кратковременный подъем уровня вирусспецифических антител классов IgM и IgG. Вероятность реинфекции выше у ранее вакцинированных лиц, по сравнению с лицами, имеющими постинфекционный иммунитет [14].

Наиболее характерными клиническими проявлениями приобретенной (постнатальной) краснухи являются пятнисто-папулезная сыпь, генерали-

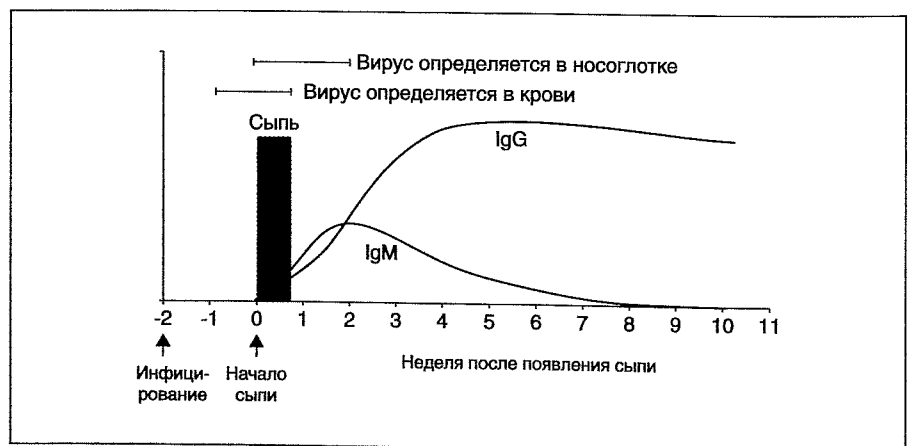


Рис. 1. Динамика маркеров краснухи при типичном течении первичной инфекции [21, 23, 24]

Таблица 1

**Риск врожденной инфекции и врожденных дефектов
при краснухе беременных в зависимости от срока беременности [14]**

Срок беременности (недели)	Число случаев врожденной инфекции/ Общее число случаев	Число случаев с врожденными дефектами/ Общее число случаев*
1–12	13/16 (81%)	11/13 (85%)
13–16	29/54 (54%)	9/26 (35%)
17–22	33/92 (36%)	–
23–30	19/63 (30%)	–
31–36	15/25 (60%)	–
>36	8/8 (100%)	–

* По данным Эндерс (1988), процент эмбриопатий при инфицировании плода на 18–38-й неделе беременности не превышает 3,5%.

зированная лимфаденопатия, артропатия. К осложнениям относят тромбоцитопению и энцефалит, в редких случаях – прогрессирующий краснушный панэнцефалит [16]. До 50% случаев краснухи протекают бессимптомно или в стертой форме [9, 10]. У беременных вирус, обладая тератогенными свойствами, проникает через плаценту и вызывает эмбрио- и фетопатии, приводящие к патологии развития, смерти плода, самопроизвольному выкидышу или мертворождению. Риск развития внутриутробной инфекции (ВУИ) с проявлениями тератогенного действия вируса очень высок при первичной инфекции. При вакцинации беременных женщин вакцинами на основе аттенуированного штамма вируса, реинфекциях в первом триместре беременности врожденных дефектов развития не наблюдалось ни в одном из описанных случаев краснухи [14]. Последствия внутриутробного инфицирования зависят в первую очередь от срока беременности, при котором оно произошло (табл. 1). При инфицировании в первые 12 недель беременности риск развития синдрома врожденной краснухи (СВК) достигает 80–90%, затем существенно снижается в период до 20-й недели. При инфицировании после 20-й недели беременности у новорожденных, как правило, выявляется ВКИ [22]. При СВК классическая триада дефектов включает катаракту, пороки сердца и нейросенсорную глухоту [20]. Все дети с ВКИ, и особенно с СВК, могут выделять вирус в постепенно снижающейся концентрации, по крайней мере на протяжении всего первого года жизни, и могут быть источниками инфекции [9, 19].

Стандартное определение случая краснухи, врожденной краснушной инфекции и синдрома врожденной краснухи согласно рекомендациям ВОЗ [9, 10]

Случай заболевания, подозрительный на краснуху, – больной любого возраста с клиническим подозрением на данную инфекцию, у которого имеются следующие симптомы: лихорадка, пятнисто-папулезная сыпь, уве-

Повышение квалификации

личение шейных, затылочных и (или) заушных лимфатических желез или артралгии (артриты).

Лабораторно подтвержденный случай краснухи – случай заболевания, подозрительный на краснуху, который подтвержден лабораторно.

Эпидемиологически подтвержденный случай краснухи – случай заболевания, подозрительный на краснуху, который лабораторно не обследован, но эпидемиологически связан с лабораторно подтвержденным случаем краснухи.

ВКИ – заболевание ребенка (новорожденного), у которого обнаружены специфические антитела класса IgM к вирусу краснухи, но отсутствуют клинические симптомы, характерные для СВК, мать ребенка в период беременности перенесла краснуху или заболевание, подозрительное на нее.

Случай, подозрительный на СВК, – любой младенец в возрасте до одного года, у которого медицинский работник заподозрил СВК, при этом:

- ~ у ребенка до одного года имеется заболевание сердца и (или) подозрение на наличие глухоты и (или) один или несколько симптомов поражения глаз (катаракта, снижение остроты зрения, нистагм, косоглазие, микрофтальмия или врожденная глаукома);
- ~ мать ребенка имеет в анамнезе в период беременности подтвержденную краснуху или подозрение на нее.

Клинический случай СВК – случай заболевания, при котором имеются два и более осложнений из группы А или одно из группы А и одно и более из группы Б:

Группа А	Группа Б
Нейросенсорные нарушения слуха	Пурпура
Врожденный порок сердца	Спленомегалия
Пигментная ретинопатия	Микроцефалия
Катаракта (катаракты)	Отставание в развитии
Врожденная глаукома	Менингоэнцефалит
	Повышенная рентгенопроницаемость костной ткани
	Желтуха, развившаяся в первые сутки после рождения

Лабораторно подтвержденный случай СВК – ребенок с клиническими проявлениями СВК, в сыворотке крови которого обнаружены вирусспецифические антитела класса IgM.

Диагностика краснухи основана на анализе клинико-эпидемиологических данных и проведении своевременных лабораторных исследований [1–5, 11–15]. Лабораторная диагностика включает косвенные (иммунологические) и прямые (вирусологические, молекулярно-биологические) методы исследования (табл. 2).

Таблица 2

Лабораторная диагностика краснухи

Методы исследования	Маркеры
Иммунологические (иммуноферментный анализ)	Вирусоспецифические анти- тела класса IgM Вирусоспецифические анти- тела класса IgG Авидность вирусоспецифи- ческих антител класса IgG
Вирусологические (выделение вируса краснухи в культуре клеток)	<i>R. virus</i>
Молекулярно-биологические (полимеразная цепная реакция со стадией обратной транскрипции)	PHK <i>R. virus</i>

В “Руководстве ВОЗ по лабораторной диагностике кори и краснухи” (2007) для лабораторного подтверждения диагноза краснухи рекомендуется применять методы, направленные:

- ~ на обнаружение специфических IgM антител к вирусу краснухи* в утвержденной или сертифицированной лаборатории;
- ~ определение сероконверсии или 4-кратного и более увеличения титра антител класса IgG в парных сыворотках периферической крови, исследованных одновременно в одном опыте (при условии, что второй образец был получен не менее чем через 10 дней после первого, собранного в острой фазе заболевания)*;
- ~ выявление генома *R. virus* в адекватном клиническом образце;
- ~ выделение вируса краснухи в культуре клеток [9].

Для уточнения срока давности развития инфекционного процесса, дифференциации первичной и вторичной краснухи проводится определение авидности вирусоспецифических антител класса IgG, выявляющей силу взаимодействия антитела с мультивалентным антигеном [10, 14]. В начале формирования иммунного ответа антитела класса IgG являются низкоавидными и характеризуются низкой константой связывания с вирусным антигеном. В дальнейшем образуются специфические антитела, сохраняющие прочную связь с антигеном, и авидность возрастает. При обнаружении высокоавидных антител класса IgG можно предполагать, что инфекционный процесс вышел за пределы ранней стадии. При первичной краснухе низкоавидные вирусоспецифические антитела класса G выявляются до 25-го дня с момента появления сыпи, а при реинфекции отсутствуют [9].

При выполнении только серологического тестирования нередко возникают затруднения в интерпретации результатов. Это может быть свя-

* За исключением случаев, когда пациент получал вакцину против краснухи в период от 8 дней до 6 недель, предшествующих забору образца, и при этом не было очевидной передачи вируса краснухи на данной территории и больной никуда не выезжал.

Повышение квалификации

зано с парадоксально ранним появлением антител класса IgG к антигенам вируса, возможностью персистирования антител класса IgM в периферической крови в течение многих месяцев и даже лет, наличием перекрестных реакций при их выявлении [10, 14, 17, 18]. Применение молекулярно-биологического (идентификация РНК *R. virus* методом полимеразной цепной реакции со стадией обратной транскрипции (ОТ-ПЦР)) и вирусологического (выделение вируса в культуре клеток) методов в значительной степени способствует корректной интерпретации данных и верификации диагноза заболевания [9]. Для рутинной диагностики краснухи вирусологические методы не применяются ввиду низкой эффективности, трудоемкости и длительности исполнения. Напротив, молекулярно-биологические методы успешно используются в различных диагностических и научно-исследовательских центрах развитых стран мира для ранней диагностики данного заболевания в короткие сроки, а также в качестве подтверждающего теста [1–5, 9–11, 15]. В соответствии с рекомендациями ВОЗ, отрицательный результат ОТ-ПЦР и изоляции вируса не отменяет диагноз краснухи, в то время как положительные результаты указанных тестов однозначно указывают на этиологическую природу заболевания и подтверждают диагноз [9].

Алгоритм лабораторного обследования беременной при подозрении на краснуху представлен на рис. 2. Динамическое обследование беременной

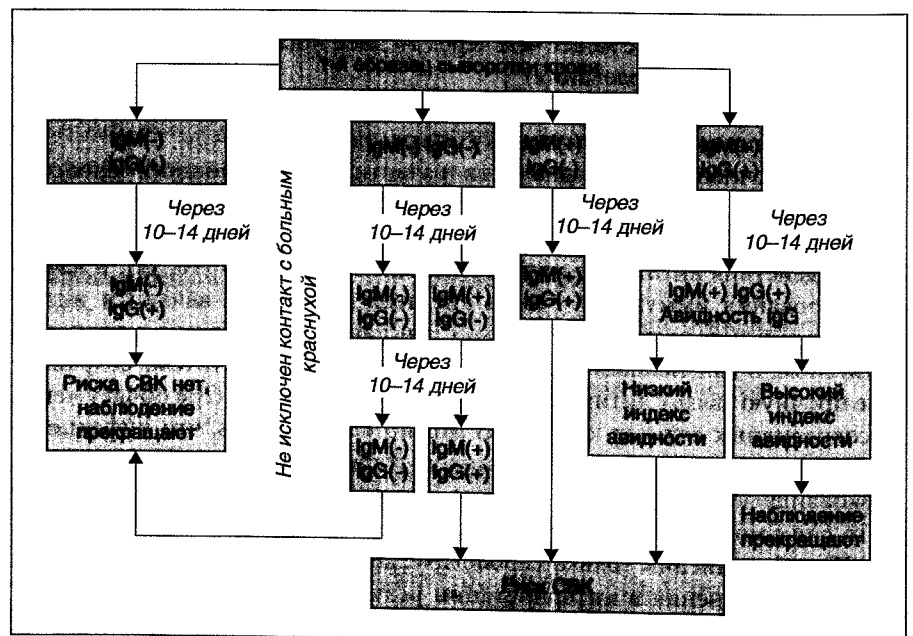


Рис. 2. Алгоритм лабораторного обследования беременной при подозрении на краснуху [14]

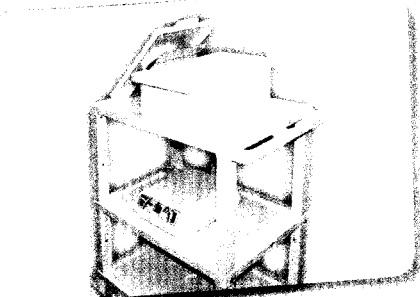
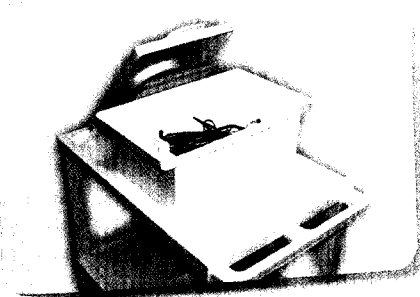
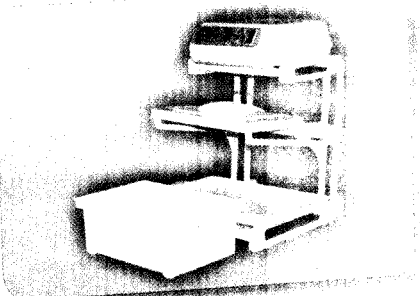
Все для здоровья. Здоровье для вас.

Установки УЗО



Для ультразвуковой предстерилизационной очистки медицинских инструментов

Чисто. Просто. Безопасно.



Назначение:

Ультразвуковые мойки УЗО ЕЛАМЕД приборного завода предназначены для предстерилизационной очистки инструментов и изделий медицинского назначения из металла, стекла и пластмассы от белковых (кровь, ткани, жир и т.д.) и других загрязнений.

Преимущества установок УЗО по сравнению с мойками традиционного типа:

- Практически исключают влияние осадка (загрязнений), выпадающего на дно ванны в ходе УЗ-обработки, на качество очистки.
- Позволяют без ухудшения качества очистки снизить в два-три раза подводимую УЗ-мощность, так как на пути УЗ-волн к объектам обработки отсутствует затрудняющая (экранирующая) доступ металлическая сетка-контейнер для инструментов. При этом помимо экономии энергии и повышения надежности изделия:
 - значительно уменьшаются размеры кавитационных пузырьков, что приводит к увеличению их проникающей способности и, следовательно, **более качественной очистке**, — они способны «пролезть» даже в глухие отверстия, щели сложных шероховатых поверхностей, ушко иглы и т.п.;
 - создается **щадящий режим очистки**, который не приводит к порче (затуплению) инструментов.
- Обеспечивают постоянную интенсивность излучения УЗ-колебаний. В результате объем (количество) загружаемых инструментов при заданной продолжительности обработки не влияет на качество очистки.

Абсолютно новое решение – введение ультразвука в раствор сверху!

ПАТОМСКИЙ ПРИБОРНЫЙ ЗАВОД

Все для здоровья. Здоровье для вас.

Россия, 391351, Рязанская область, город Елатьма, ул. Янина, 25

Тел.: (49131) 2-04-57, 4-38-29 admin@elamed.com www.elamed.com

Патомский приборный завод – торговая марка ЕЛАМЕД





Заботись о главном...

Наборы реагентов для диагностики TORCH-инфекций методом ПЦР в реальном времени



AmpliSens
biotechnologies

Выявление вируса краснухи в клиническом материале

- Чувствительность 400 копий/мл
- Формы выпуска с гибридационно-флуоресцентной и электрофоретической детекцией
- Адаптировано для приборов RG 3000/6000/Q, iQ iCycler/iQ5, Mx3000P/Mx3005P
- Возможность использования клинического материала разных типов при едином протоколе выделения

Серия «МультиПрайм»

- Одновременное выявление и количественное определение ДНК вирусов Эпштейна-Барр, цитомегаловируса и вируса герпеса 6-го типа
- Чувствительность 400 копий/мл (ликвор, слюна, смывы, мазки из ротоглотки) и 5 копий ДНК на 10^5 клеток (цельная кровь, лейкоциты крови, биоптаты внутренних органов)
- 100% специфичность

АмплиСенс® Toxoplasma gondii-FL

Серия «МультиПрайм»

- Чувствительность 400 копий/мл ДНК Toxoplasma gondii
- Возможность пренатальной диагностики путем исследования амниотической жидкости
- Адаптировано для приборов RG 3000/ 6000/Q, iCycler/ iQ5, Mx3000P/Mx3005P, ДТ-96
- Возможность использования клинического материала разных типов при едином протоколе выделения



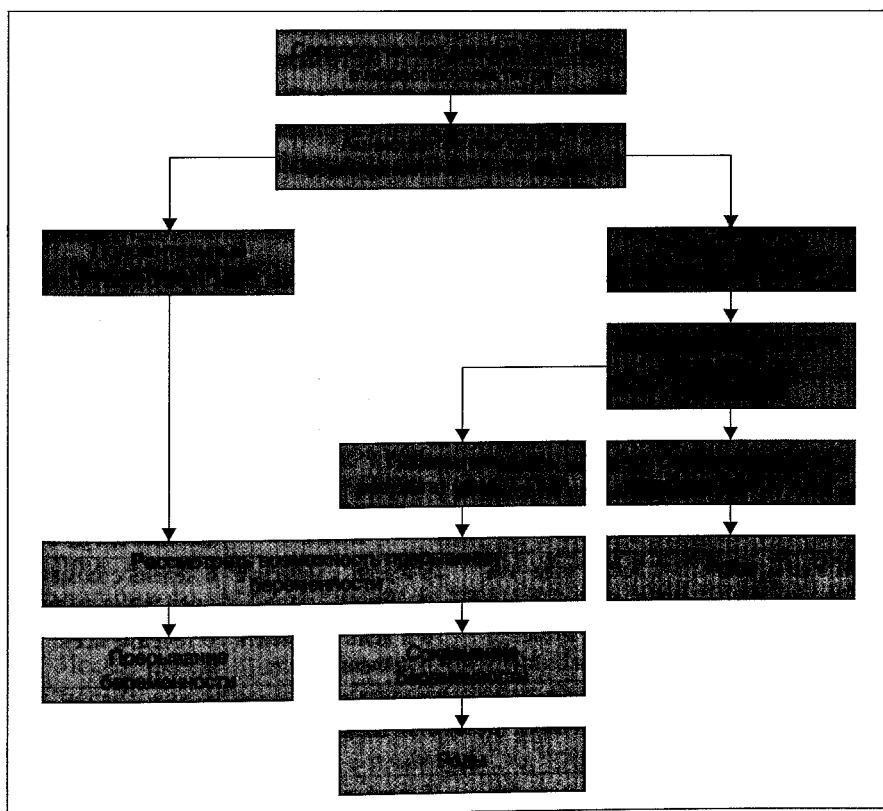


Рис. 3. Лабораторная диагностика краснухи во время беременности [11, 12]

женщины, больной краснухой или контактировавшей с больным данной инфекцией, является обязательным.

Постановка диагноза на основе однократного выявления специфических антител класса IgM к вирусу краснухи методом иммуноферментного анализа (ИФА) недопустима. **Внимание!**

Лабораторное обследование беременных женщин, больных краснухой, направлено главным образом на подтверждение или опровержение факта трансплацентарной передачи *R. virus* от матери к плоду (рис. 3). Установление факта инфицирования плода осуществляется методом ОТ-ПЦР, при этом выбор биологического материала определяется с учетом срока гестации, обуславливающего возможность проведения того или иного метода инвазивной пренатальной диагностики: ворсинки хориона – 10–12 недель, образцы плаценты – 13–18 недель, амниотическая жидкость – 16–23 недели; пуповинная кровь – 20–24 недели.

Лабораторная диагностика ВКИ, СВК основана на серологическом выявлении вирусоспецифических антител класса IgM, антител класса IgG с исследова-

Повышение квалификации

дованием авидности в тот период, когда пассивно полученные материнские антитела уже исчезают, или выявления РНК *R. virus* методом ОТ-ПЦР [9, 14].

Данные о диагностической значимости маркеров инфекции при исследовании клинических образцов, собранных в разные сроки при приобретенной (постнатальной) краснухе и СВК, представлены в табл. 3 и 4 соответственно.

Таблица 3

Диагностическая значимость маркеров инфекции при приобретенной (постнатальной) краснухе для клинических образцов, собранных в разные сроки развития инфекционного процесса [14]

Маркер	Время сбора образца, при котором вероятность положительного результата теста $\geq 50\%$	Время сбора образца, при котором вероятность положительного результата теста $\geq 90\%$	Время сбора образца, при котором вероятность положительного результата теста снижается до 50%
IgM в сыворотке крови (ИФА)	1-й день с момента появления сыпи (50%)	5-й день с момента появления сыпи	6 недель с момента появления сыпи
IgG в сыворотке крови (ИФА)	3-й день с момента появления сыпи (50%)	8-й день с момента появления сыпи	В течение всей жизни
Вирус в носоглоточных мазках	1-й день с момента появления сыпи (90%)	2 дня до появления сыпи	4-й день с момента появления сыпи
Вирус в крови	1-й день с момента появления сыпи (50%)	5 дней до появления сыпи	1-й день с момента появления сыпи

Таблица 4

Диагностическая значимость маркеров инфекции при синдроме врожденной краснухи для клинических образцов, собранных в разные сроки развития инфекционного процесса [14]

Маркер	Время сбора образца, при котором вероятность положительного результата теста $\geq 50\%$	Время сбора образца, при котором вероятность положительного результата теста $\geq 90\%$	Время сбора образца, при котором вероятность положительного результата теста снижается до 50%
IgM в сыворотке крови (ИФА)	При рождении (80%)	1-й месяц после рождения	3 месяца после рождения
IgG в сыворотке крови (ИФА)	100% в течение первого года жизни в высоком, часто нарастающем титре		
Вирус в носоглоточных мазках	При рождении (до 100%)	2 недели после рождения	3 месяца после рождения

Диагностическая значимость маркеров инфекции и корректная интерпретация результатов лабораторных исследований в значительной степени зависят от типа и сроков сбора исследуемого образца. Выбор типа клинического образца определяется как методом исследования, так и особенностями патогенеза заболевания. Достоверность полученных результатов во многом зависит от соблюдения условий транспортирования и хранения образца [2, 9, 14].

Дифференциальная диагностика проводится с такими заболеваниями как токсикодермия, дерматит, аллергическая сыпь, корь, псевдотуберкулез, иерсиниоз, скарлатина, ветряная оспа, инфекционная эритема, экзантема внезапная.

Выявление специфических антител класса IgM к антигенам вируса краснухи

Специфические антитела класса IgM к антигенам вируса краснухи – маркеры острой фазы заболевания – появляются первыми в ответ на внедрение возбудителя и исчезают в течение 1–2 месяцев с момента инфицирования. Выработка вирусспецифических антител в ответ на внедрение инфекционного антигена зависит от иммунного состояния и общей реактивности организма.

Исследование проводится методом ИФА. Биологическим материалом для исследования служат сыворотка или плазма периферической крови, сыворотка или плазма пуповинной крови. Допускается хранение образцов при комнатной температуре в течение 6 ч, при температуре 2–8 °С – в течение 5 суток.

Показаниями к исследованию являются:

- ~ пятнисто-папулезная сыпь (экзантема) и/или лимфаденопатия во время беременности, если иммунитет к вирусу краснухи ранее отсутствовал или не исследовался;
- ~ признаки ВУИ, фетоплацентарная недостаточность;
- ~ увеличение затылочных, заднешейных и/или околоушных лимфатических узлов;
- ~ пятнисто-папулезная сыпь (экзантема) в сочетании с лимфаденопатией;
- ~ лабораторное подтверждение ВКИ, СВК (в сочетании с ОТ–ПЦР);
- ~ установленный или предполагаемый контакт с больным краснухой или с подозрением на данную нозологию.

Результаты определения антител класса IgM к вирусу краснухи методом ИФА имеют качественный формат:

- ~ при выявлении специфических антител класса IgM к антигенам вируса краснухи выдается ответ: “Положительно”, “anti–Rubella IgM – ОБНАРУЖЕНО”;
- ~ при выявлении специфических антител класса IgM к антигенам вируса краснухи в низкой концентрации – “Сомнительно”;

Повышение квалификации

~ в случае их отсутствия – “Отрицательно”, “anti-Rubella IgM – НЕ ОБНАРУЖЕНО”.

Положительный результат исследования указывает на первичное инфицирование вирусом краснухи. У беременных – возможна ВУИ. У ребенка в течение года после рождения – возможны ВКИ, СВК. Положительный результат тестирования подтверждается сероконверсией или 4-кратным и более увеличением титра вирусоспецифических антител класса IgG в парных сыворотках периферической крови, исследованных одновременно в одном опыте (при условии что второй образец был получен не менее чем через 10 дней после первого, собранного в острой фазе заболевания) или определением авидности, или выявлением РНК *R. virus* методом ОТ-ПЦР в адекватном клиническом образце. При получении сомнительного результата рекомендуется повторить исследование через 14 дней. Отрицательный результат показывает, что первичного инфицирования вирусом краснухи нет. Образцы крови, полученные на ранней или поздней стадиях заболевания, не исключают наличия инфекции.

Результаты исследования должны интерпретироваться в совокупности с клинической картиной и информацией, полученной в других диагностических процедурах (см. интерпретацию положительного результата тестирования). Образцы крови, полученные ранее 5-го или позднее 28-го дня с момента появления сыпи при приобретенной (постнатальной) краснухе и позднее трех месяцев после рождения при СВК, ввиду низкого содержания антител класса IgM к вирусу краснухи могут обуславливать ложноотрицательные результаты тестирования.

Причиной получения ложноположительных результатов может быть присутствие в образцах ревматоидного фактора, специфических перекрестно реагирующих антител класса IgM к вирусу кори, вирусу Эпштейна – Барр, цитомегаловирусу, парвовирусу B19, неспецифических антител класса IgM при поликлональной стимуляции В-клеток.

к сведению

Положительные результаты тестирования пуповинной крови должны быть подтверждены выявлением РНК *R. virus* методом ОТ-ПЦР вследствие возможности контаминации пуповинной крови материнскими вирусоспецифическими антителами класса IgM.

Выявление специфических антител класса IgG к антигенам вируса краснухи

Специфические антитела класса IgG к антигенам вируса краснухи появляются на 14–18-й день после инфицирования, практически одновременно с появлением сыпи, и сохраняются в течение нескольких лет, обеспечивая длительный иммунитет. Выработка вирусоспецифических антител в ответ

на внедрение инфекционного антигена зависит от иммунного состояния и общей реактивности организма.

Исследование проводится методом ИФА. Биологическим материалом для исследования служат сыворотка или плазма периферической крови. Допускается хранение образцов при комнатной температуре в течение 6 ч, при температуре 2–8 °С – в течение 5 суток.

Показаниями к проведению исследования являются:

- ~ скрининговые исследования для определения наличия иммунитета к вирусу краснухи и необходимости вакцинации;
- ~ оценка постинфекционного или поствакцинального иммунитета к вирусу краснухи;
- ~ пятнисто-папулезная сыпь (экзантема) в сочетании с лимфаденопатией;
- ~ увеличение затылочных, заднешейных и/или околоушных лимфатических узлов;
- ~ прегравидарная подготовка;
- ~ беременность;
- ~ пятнисто-папулезная сыпь (экзантема) и/или лимфаденопатия во время беременности, если иммунитет к вирусу краснухи ранее отсутствовал или не исследовался;
- ~ имевший место контакт с больным краснухой или с подозрением на данную нозологию.

Результаты определения антител класса IgG к вирусу краснухи методом ИФА имеют качественный и количественный формат*.

Качественные результаты:

- ~ результат оценивается как “Положительный” – “anti-Rubella IgG ОБНАРУЖЕНО” – если отношение между средней оптической плотностью образца и оптической плотностью уровня отсечения “cut off” превышает 1,3;
- ~ как “Сомнительный” – если отношение между средней оптической плотностью образца и оптической плотностью уровня отсечения “cut off” составляет 0,7–1,3;
- ~ как “Отрицательный” – “anti-Rubella IgG НЕ ОБНАРУЖЕНО” – если отношение между средней оптической плотностью образца и оптической плотностью уровня отсечения “cut off” составляет менее 0,7.

Степень иммунизации интерпретируется следующим образом (**количественные результаты**):

- ~ концентрация вирусоспецифических антител класса IgG превышает 13 МЕ/мл – “Иммунный образец”;

* Интерпретация результатов согласно инструкции набора реагентов для определения IgG-антител к вирусу краснухи “Rubella IgG” производства “BCM Diagnostics LLC” (США), регистрационное удостоверение ФСЗ № 2010/08699 от 17.12.2010.

Повышение квалификации

- ~ концентрация вирусоспецифических антител класса IgG в диапазоне 7–13 МЕ/мл – “Неопределенный результат”, “Сомнительно”;
- ~ концентрация вирусоспецифических антител класса IgG менее 7 МЕ/мл – “Неиммунный образец”.

Положительный результат указывает на наличие постинфекционного или поствакцинального иммунитета к вирусу краснухи.

Острая инфекция подтверждается сероконверсией, или 4-кратным и более увеличением титра антител класса IgG в парных сыворотках периферической крови, исследованных одновременно в одном опыте (при условии что второй образец был получен не менее чем через 10 дней после первого, собранного в острой фазе заболевания), или определением авидности, или выявлением РНК *R. virus* методом ОТ-ПЦР в адекватном клиническом образце.

При получении сомнительного результата рекомендуется повторить исследование через 14 дней.

Отрицательный результат исследования указывает на то, что инфицирования вирусом краснухи нет. Образцы крови, полученные на ранней стадии заболевания, не исключают наличия инфекции.

Результаты исследования должны интерпретироваться в совокупности с клинической картиной и информацией, полученной в других диагностических процедурах (см. интерпретацию положительного результата тестирования). Образцы крови, полученные в инкубационный период или в острой фазе заболевания, когда присутствуют только вирусоспецифические антитела класса IgM, могут быть отрицательными в этом методе.

Положительные результаты выявления специфических антител класса IgG к вирусу краснухи в сыворотке крови новорожденных нужно трактовать с осторожностью, поскольку антитела класса IgG передаются плоду от матери через плаценту.

Определение индекса относительной авидности антител класса IgG к антигенам вируса краснухи

Определение авидности специфических антител класса IgG к антигенам вируса краснухи позволяет оценить сроки инфицирования и дифференцировать острую инфекцию от инфекции, перенесенной в прошлом (от первых дней до 1,5 месяцев и более). Исследование проводится методом ИФА. Биологическим материалом для исследования служат сыворотка или плазма периферической крови. Допускается хранение образцов при комнатной температуре в течение 6 ч, при температуре 2–8 °С – в течение 5 суток.

Показаниями к исследованию являются:

- ~ установление периода развития инфекционного процесса;
- ~ дифференциация острой инфекции от инфекции, перенесенной в прошлом;

- ~ дифференциация первичной и вторичной инфекции;
- ~ выявление острой формы краснухи, особенно у IgM-отрицательных пациентов с недавно перенесенной инфекцией и тех, у кого обнаруживают персистирующие вирусспецифические антитела класса IgM.

Результаты определения avidности антител класса IgG к вирусу краснухи методом ИФА имеют количественный формат*. Для получения объективных результатов рассчитывается индекс относительной avidности (в процентах), интерпретация данных осуществляется следующим образом:

- ~ индекс относительной avidности менее 40% – “Низкоавидные антитела”;
- ~ индекс относительной avidности 40–60% – “Пограничный результат”;
- ~ индекс относительной avidности свыше 60% – “Высокоавидные антитела”.

Наличие низкоавидных антител свидетельствует о первичной инфекции, пограничный результат – о поздней стадии первичной инфекции или недавно перенесенной инфекции, при обнаружении высокоавидных антител исключается вероятность протекания острого инфекционного процесса в последние 4–6 недель.

Внимание!

Однако достоверные данные определения avidности могут быть получены только в том случае, если в клиническом образце сыворотки или плазмы периферической крови пациента содержится диагностически значимое количество вирусспецифических антител класса IgG. Результаты теста должны интерпретироваться в совокупности с данными, полученными другими лабораторными методами.

Выявление РНК вируса краснухи (*R. virus*)

Выявление специфического фрагмента РНК *R. virus* в различном клиническом материале методом ОТ–ПЦР позволяет при однократном тестировании установить факт внутриутробного инфицирования плода, лабораторно подтвердить диагноз краснухи в первые дни заболевания и ВКИ, СВК, если исследование выполнено ребенку в течение года после рождения.

Биологическим материалом для исследования служат периферическая и пуповинная кровь, плазма периферической и пуповинной крови, сухая капля периферической и пуповинной крови, слюна, назофарингеальные мазки, смывы, соскобы, спинномозговая жидкость, амниотическая жидкость, ворсинки хориона, плацента.

Преаналитические условия должны отвечать требованиям, изложенным в Методических указаниях “Организация работы лабораторий,

* Интерпретация результатов согласно инструкции иммуноферментного набора для определения avidности антител класса IgG к вирусу краснухи в сыворотке или плазме крови человека “Вирус краснухи IgG Аvidность” производства “Euroimmun” AG (ФРГ), регистрационное удостоверение ФС № 2009/04988 от 31.08.2009.

Повышение квалификации

использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности” [7].

Показания к исследованию:

- ~ контакт с больным краснухой или с подозрением на данную нозологию, до 5-го дня от момента появления сыпи;
- ~ дифференциальная диагностика экзантемных заболеваний;
- ~ пренатальная диагностика краснухи при выявлении признаков ВУИ, фетоплацентарной недостаточности;
- ~ дети (новорожденные) с ВКИ;
- ~ новорожденные, дети до одного года с СВК или подозрительные на СВК;
- ~ лабораторное подтверждение выявленных случаев ВКИ, СВК;
- ~ идентификация вируса краснухи для последующей генетической характеристики вирусных изолятов.

Результаты выявления РНК *R. virus* методом ОТ–ПЦР имеют качественный формат*:

- ~ при выявлении специфического фрагмента РНК *R. virus* выдается ответ “РНК *Rubella virus* ОБНАРУЖЕНА”;
- ~ при невыявлении – “РНК *Rubella virus* НЕ ОБНАРУЖЕНА”.

Положительный результат исследования указывает на наличие заболевания краснухой; ВКИ, СВК (если исследование выполнено ребенку в течение года после рождения). Отрицательный результат – инфицирования вирусом краснухи нет. Следует принимать во внимание, что достоверность полученных результатов в значительной мере зависит от типа и сроков сбора исследуемых клинических образцов (см. табл. 3 и 4). При приобретенной (постнатальной) краснухе ложноотрицательные результаты могут быть получены при тестировании биологических образцов, взятых ранее 7 дней после предполагаемого контакта с больным краснухой и позднее 5-го дня с момента появления сыпи, при СВК – позднее трех месяцев после рождения ввиду низкой концентрации РНК *R. virus*.

Таким образом, приведенные данные свидетельствуют о необходимости комплексного подхода в клинической лабораторной диагностике краснухи. В ранние сроки развития приобретенной (постнатальной) краснухи, включая период разгара заболевания (до 5-го дня с момента появления сыпи), а также при установлении факта внутриутробного инфицирования плода, выявлении и подтверждении ВКИ, СВК у детей в течение года после рожде-

* Интерпретация результатов согласно инструкции единственного зарегистрированного в Российской Федерации набора реагентов для выявления РНК *R. virus* в клиническом материале методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией результатов анализа в режиме реального времени “АмплиСенс *Rubella virus*-FL” производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, ТУ 9398–090–01897593–2009, регистрационное удостоверение ФСР № 2009/05501 от 14.08.2009. Аналитическая специфичность – 100%, аналитическая чувствительность – 400 копий РНК *R. virus*/мл.

ния целесообразно использовать высокочувствительные и специфичные прямые молекулярно-биологические методы (ОТ-ПЦР). В дальнейшем, при приобретенной (постнатальной) краснухе в периоды реконвалесценции и клинического выздоровления (с 4-го по 28-й дни с момента появления сыпи) при элиминации РНК вируса и появлении серологических маркеров инфекции в концентрации, достаточной для проведения исследования, чувствительность ОТ-ПЦР снижается и возрастает ценность применения косвенных иммунологических методов (ИФА).

Список использованной литературы

1. Десяткова Р.Г., Заргарьянц А.И., Степанов А.В. и др. Авидность иммуноглобулина G к вирусу краснухи при поствакцинальном и постинфекционном иммунитете // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2007. № 4. С. 6–11.
2. Домонова Э.А., Дарвина О.В., Шипулина О.Ю. и др. Значение серологических и молекулярно-биологических методов диагностики краснухи // Инфекционные болезни. 2010. № 3. С. 29–33.
3. Кицак В.Я. Вирусные инфекции беременных: патология плода и новорожденных. Кольцово, 2004. 81 с.
4. Кузьмин В.Н., Адамян Л.В. Вирусные инфекции и беременность. М., 2005. С. 105–117.
5. Кузнецова Э.А., Гнетецкая В.А., Шипулина О.Ю. и др. Иммунологические и молекулярно-биологические методы диагностики краснухи у беременных женщин, плодов и новорожденных // Акушерство и гинекология. 2007. № 4. С. 37–41.
6. Обновленная приверженность достижению к 2015 г. целей элиминации кори и краснухи и профилактики синдрома врожденной краснухи в Европейском регионе ВОЗ. М., 2010. 11 с.
7. Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности: методические указания. МУ 1.3.2569–09 М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, 2010. 31 с.
8. О совершенствовании мероприятий по выявлению кори и краснухи, повышению качества лабораторной диагностики этих инфекций в городе Москве: приказ Департамента здравоохранения г. Москвы от 29.04.2010 № 694. М., 2010. 11 с.
9. Руководство по лабораторной диагностике кори и краснухи. Вторая редакция. Женева, 2007. 115 с.
10. Руководство по эпидемиологическому надзору за корью, краснухой и синдромом врожденной краснухи в Европейском регионе ВОЗ. Копенгаген, 2010. 54 с.

11. Техническое консультативное совещание ВОЗ по эпиднадзору за корью, краснухой и синдромом врожденной краснухи. Копенгаген, 2005. 36 с.
12. Фризе К., Кахель В. Инфекционные заболевания детей и новорожденных: пер. с нем. М.: Медицина, 2003. 424 с.
13. Эпидемиологический надзор за корью, краснухой и эпидемическим паротитом: методические указания. МУ 3.1.2.1177-02 М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2003. 22 с.
14. Эпидемиологический надзор за врожденной краснухой: методические указания. МУ 3.1.2.2356-08 М, 2008. 29 с.
15. Юминова Н.В. Диагностика краснухи в Российской Федерации // Вакцинация. Информ. бюллетень. 2004. Ноябрь – декабрь.
16. Banatvala J.E. Clinical features: post-natally acquired rubella. In: Banatvala J.E., Peckham C., eds. Perspectives in medical virology. Vol. 15. Rubella viruses. Amsterdam, Elsevier, 2007. P. 19–37.
17. Best J.M., O'Shea S., Tipples G. et al. Interpretation of rubella serology in pregnancy-pitfalls and problems. BMJ. 2002. Vol. 325 (7356). P. 147–148.
18. Best J.M., Enders G. Laboratory diagnosis of rubella and congenital rubella. In: Banatvala J.E., Peckham C., eds. Perspectives in medical virology. Vol. 15. Rubella viruses. Amsterdam, Elsevier, 2007. P. 39–78.
19. Control and prevention of rubella: evaluation and management of suspected outbreaks, rubella in pregnant women, and surveillance for congenital rubella syndrome. MMWR. 2001. Vol. 50 (No. RR-12). P. 1–23.
20. Epidemiology and prevention of vaccine-preventable diseases. Atlanta, 2004. P. 145–158.
21. Feigin R.D., Cherry J.D. Textbook of Pediatric Infectious Diseases. 4 ed, ed. Feigin R.D., Cherry J.D. 1997: Saunders W.B.: P. 2054–2074.
22. Miller E., Cradock-Watson J.E., Pollock T.M. Consequences of confirming maternal rubella at successive stages of pregnancy. Lancet, 1982. Vol. 2. P. 781–784.
23. Murray P.R., Rosenthal K.S., Kobavashi G.S., Pfaller M.A. (editors): Medical microbiology, 3 ed; 1998, Mosby-Year book, Inc.
24. Rubella Vaccines. WHO position paper. Wkly Epidemiol Rec, 2000. Vol. 75(20). P. 161–169.
25. Standardization of the nomenclature for genetic characteristics of wild-type rubella viruses. Wkly Epidemiol Rec, 2005. Vol. 80 (14). P. 126–132.