

І.В. Ліпковська

## ПАТОМОРФОЛОГІЧНА ДІАГНОСТИКА ТОКСОПЛАЗМОЗУ

Одеський обласний протитоксоплазмозний центр

*Шляхом посмертного дослідження на токсоплазмоз 28 плодів від замерлої вагітності встановлено, що ПЛР-діагностика тканин, а також пряма мікроскопія мазків-відбитків біоптатів внутрішніх органів є більш інформативними, порівняно з ІФА крові на імуноглобуліни різних класів до *T. gondii* загиблих ембріонів.*

*Особи з тривалою персистенцією протитоксоплазмозних антитіл класу А, а також з відповідними низькоавідними імуноглобулінами класу G, навіть за відсутності будь-яких клінічних ознак інвазії, складають групу ризику при плануванні вагітності, будучи, ймовірно, інфікованими низьковірулентними штамми токсоплазм.*

**Ключові слова:** *T. gondii*, вроджений токсоплазмоз, біологічна проба.

Поширеність токсоплазмозу повсюдна. Інфікованість населення земної кулі, за різними даними, становить до 1,5 млрд людей.

Відомо, що захворювання, пов'язане з безпосередньою первинною інфікованістю у період вагітності, може призводити до мертворожень, глухоти, сліпоти [1-5]. Допологовий скринінг, національні програми спрямовані на запобігання розвитку природженого токсоплазмозу дітей і щорічно економлять суспільству мільйони доларів. Щорічно 3-5 новонародженим виставляється діагноз природженого токсоплазмозу з летальним вислідом, що становить 3,07 % серед усіх інших вроджених інфекційних хвороб [6]. Внутрішньо-утробне інфікування токсоплазмами підтверджене в першому триместрі вагітності у 12,4 % плодів, у другому – в 17,5 %, у третьому – в 16,3 % [7].

Розроблені методи серологічного моніторингу, математичні моделі оцінки набутого і хронічного токсоплазмозу, ПЛР-діагностика амніотичної рідини далеко не завжди пояснюють причину загибелі плода при відносно невисоких рівнях антитіл класу G до токсоплазм і народження зовні здорової дитини в осіб, які мають у крові гострофазову реакцію крові до *T. gondii* впродовж прак-

тично всієї вагітності і в післяпологовому періоді [2-4].

Додатковим обстеженням для підтвердження діагнозу токсоплазмозу служать методи паразитологічного дослідження [8-10]. Вони ґрунтуються на можливості виявлення збудника або виділенні його при зараженні сприйнятливих лабораторних тварин. У таких випадках вдаються до прямої мікроскопії мазків-відбитків уражених органів і тканин – мигдаликів, лімфовузлів, головного мозку, інших внутрішніх органів загиблих ембріонів або до мікроскопії мазків з осаду спинномозкової рідини [7, 8, 11].

Серологію, біопробу на мишах, ПЛР плаценти і плода пропонують проводити після спаровування мишей для визначення спадкової передачі різних штамів при хронічній токсоплазмозній інвазії [1, 11].

При зараженні раніше імунізованих білих мишей цистами токсоплазм (100 DCL) трофозоїтами штаму RH в їх організмі можуть існувати 2 штами: вірулентний – у формі трофозоїта та авірулентний – у формі цист, тобто тварини перебуватимуть у стані нестерильного імунітету. При зараженні їх (носіїв цист) дозою в 1000 разів більшою – 1 млн трофозоїтів, настає прорив імунітету з гострим перебігом хвороби і смертельним вислідом. Відзначається різна патоморфологічна картина при зараженні лабораторних тварин штамми різної вірулентності. Зокрема, при введенні високовірулентних штамів розвивається гострий перебіг інвазії із загибеллю тварин на 7-10-у добу або хронічний з маловираженими проявами. Тварини перебували під спостереженням і були забиті в різний час – від 10 діб до 2,5 року з подальшим вивченням мазків-відбитків внутрішніх органів. У таких випадках пасаж не проводили [8].

Найчастіше з плаценти виділяють помірно небезпечний штам токсоплазм ME-49 і високовірулентний штам RH [1].

Мета дослідження – провести пряму мікроскопію (мазки-відбитки) внутрішніх органів загиб-

## ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

лих ембріонів жінок з вагітністю, що завмерла, з метою виявлення *T. gondii*; порівняти дані ІФА крові, ПЛР-діагностики крові (посмертні дослідження); виявити особливості перебігу токсоплазмозної інвазії шляхом проведення біологічної проби на лабораторних тваринах у жінок з тривалою персистенцією протитоксоплазмозних антитіл класу А і низькою авідністю відповідних антитіл класу G за відсутності явних симптомів захворювання.

### Матеріали і методи

Обстежено 28 плодів пацієнток віком від 21 до 37 років, в яких вагітність завмерла.

Паразитологічні дослідження здійснювали шляхом прямої мікроскопії мазків-відбитків біоптатів внутрішніх органів загиблих ембріонів (печінка, селезінка, головний мозок, серцевий м'яз) з одночасним дослідженням крові (ІФА, ПЛР) загиблих ембріонів.

Матеріал для досліджень наданий Одеським обласним патологоанатомічним бюро.

Для діагностики токсоплазмозу використовували імуноферментний аналіз (ІФА) – ELISA-тест з орієнтацією на міжнародні стандарти ВООЗ (виявлення в крові антитіл класу А, М, G до *T. gondii*, визначення індексу авідності антитіл класу G), а також ПЛР-діагностику біологічних рідин.

Групу ризику склали жінки без клінічних проявів хвороби, у крові яких виявили антитіла класу А і низьку авідність антитіл класу G до токсоплазм тривалістю понад 1 міс.

Кінцевий діагноз – токсоплазмозна інвазія, спричинена паразитом *T. gondii*, встановлювали відповідно до переглянутої міжнародної класифікації інфекційних захворювань МКХ-2010 (неуточнений токсоплазмоз), на підставі даних епідеміологічного анамнезу, наявності або відсутності клінічних симптомів, об'єктивного огляду, загальноклінічних досліджень, спеціальних інструментальних методів і розгорненої діагностики токсоплазмозу за стандартами ВООЗ.

Для статистичної достовірності всі дослідження здійснювали на однотипних тест-системах (Вектор-Бест). Для математичної обробки даних результатів використана програма Statistika 3-6,0.

Біологічна проба полягала у внутрішньоочеревинному зараженні самок білих мишей кров'ю пацієнток з гострою формою токсоплазмозу і низькою авідністю антитіл класу G до *T. gondii* (n=4) з подальшим забоем і розтином загиблих тварин і дослідженням їх крові та органів методом ПЛР.

### Результати досліджень та їх обговорення

За клінічними даними, було проведено 28 обстежень трупного матеріалу (з 83), що включало ІФА-тестування крові, проведення ПЛР-діагностики крові, люмінесцентну мікроскопію трупного матеріалу (мозок, печінка, селезінка, нирки, серцевий м'яз, плацента).

У 14 взірцях тканин мозку, печінки, селезінки, серця і нирок виявлені позитивні результати (табл. 1).

Таблиця 1

Дані про результати посмертної діагностики токсоплазмозу (біоптати тканин шляхом прямої мікроскопії, ІФА крові)

№	Особа (мати), вік	Термін вагітності	Патологоанатомічний діагноз	Виявлення <i>T. gondii</i> у мазках-відбитках	ІФА крові	
					anti-toxo M	anti-toxo G
1	2	3	4	5	6	7
1	Т., 21 рік	39 тиж., пологи	Мертвонародження	плаценти, мозку	не визначали	не визначали
2	Д., 37 років	39 тиж., пологи	Мертвонародження	плаценти, легень, серця	не виявлені	100 МО/мл
3	Р., 26 років	16 тиж.	Внутрішньоутробна загибель плода, гідроцефалія, полікістоз нирок	мозку	не виявлені	100 МО/мл
4	С., 22 роки	16 тиж.	Внутрішньоутробна загибель плода	мозку, легень	не виявлені	160 МО/мл
5	Б., 24 роки	16 тиж.	Внутрішньоутробна загибель плода	легень	не виявлені	100 МО/мл
6	С., 28 років	38 тиж., пологи	Аntenatalна загибель плода	легень, плаценти	не виявлені	не виявлені
7	Ш., 31 рік	36 тиж.	Внутрішньоутробна загибель плода	плаценти	виявлені	80 МО/мл

## ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Продовження табл. 1

1	2	3	4	5	6	7
8	Д., 26 років	32 тиж.	Антенатальна загибель плода	плаценти, легень	не виявлені	не виявлені
9	І., 26 років	20 тиж.	Внутрішньоутробна загибель плода, множинні вади ЦНС	плаценти, печінки, селезінки	не виявлені	50 МО/мл
10	Н., 22 роки	22 тиж.	Внутрішньоутробна загибель плода	печінки, мозку	не виявлені	не визначали
11	М., 28 років	16 тиж.	Внутрішньоутробна асфіксія плоду	печінки, мозку, плаценти	не виявлені	125 МО/мл
12	Б., 22 роки	22 тиж.	Гідроцефалія, вади ЦНС	печінки, плаценти	не виявлені	не визначали
13	М., 32 роки	16 тиж.	Гідроцефалія, множинні вади розвитку	печінки, селезінки	не виявлені	>200 МО/мл
14	К., 22 роки	16 тиж.	Гідроцефалія, вади розвитку	мозку, печінки, плаценти	не виявлені	>200 МО/мл

Як видно з наведених даних, токсоплазмами частіше інвазувалися жінки віком від 21 до 30 років (12 з 14), і лише двоє – старші 30 років.

Інфікування в першому триместрі не спостерігалось в жодної пацієнтки. Внутрішньоутробна загибель плода в 16 тижнів настала у 6 вагітних, в 20-22 тижні вагітності – у 3, в 32-36 тижнів – у 3, мертвнонародження – у 2.

При посмертній діагностиці токсоплазмозу усіх 14 ембріонів встановили, що у 8 з них *T. gondii* була уражена плацента, у 6 – мозок, у 6 – печінка, у 5 – легені й лише в 1 – серце.

При імуноферментному дослідженні крові (по смертно) антитіла класу М були виявлені тільки в 1 ембріона. При цьому проведена ПЛР-діагностика крові плодів не виявила жодного позитивного результату.

Враховуючи недостатню інформативність ІФА крові (нестійкість антитіл при посмертному дослідженні), для з'ясування прогнозу розвитку хвороби вирішено було провести біологічну пробу на мишах з внутрішньоочеревинним введенням крові жінок, в яких, незважаючи на наявність антитіл класу А і низьку авідність антитіл до *T. gondii*, впродовж всієї вагітності й після пологів (від 3 міс. і до року) народилися здорові діти.

Групу ризику склали 20 осіб зі звичним невиношуванням вагітності. Всі ці жінки не мали жодних клінічних проявів токсоплазмозу, а також відхилень у гемограмі. Загальними для них були контакти з необстеженими тваринами (офіційне обстеження тварин в Україні не налагоджене), молодий вік (20-25 років), мимовільне переривання вагітності.

У крові цих пацієнток були виявлені протитоксоплазмозні (до *T. gondii*) антитіла класу А у

титрі (1,110±0,317) МО/мл, а також відповідні низькоавідні IgG у титрі (425,0±109,7) МО/мл, що достовірно (p<0,05) перевищувало норму (відповідно до стандартів ВООЗ). Примітно, що концентрація протитоксоплазмозних IgM характеризувалася лише тенденцією до підвищення (p>0,05, табл. 2).

Таблиця 2

Дані ІФА-дослідження крові жінок з повторним невиношуванням вагітності (M±m)

Титр, МО/мл	Пацієнти (n=20)	Норма, відповідно до стандартів ВООЗ
Anti-toxo A	1,110±0,317*	0,323±0,030
Anti-toxo M	0,727±0,277	0,243±0,031
Anti-toxo G	425,00±109,70*	25,00±16,04

Примітка. \* – достовірна різниця порівняно з нормою (p<0,05).

Важливо, що у 5 досліджених осіб зазначені anti-toxo A персистували близько 3 міс., а ще у 5 – протягом 3-6 міс. У 5 жінок виявляли ще й низькоавідні (<40 %) anti-toxo G, які утримувалися протягом 3 міс., а у 6 – аж до 6 міс.

Після внутрішньоочеревинного введення 4 лабораторним тваринам крові жінок, в яких відзначена тривала персистенція протитоксоплазмозних IgA і низькоавідних антитіл класу G, миші продовжували жити ще протягом 30 днів, після чого здійснили їх розтин з наступним дослідженням крові та біоптатів печінки, селезінки й мозку з метою виявлення генетичного матеріалу *T. gondii* методом ПЛР (табл. 3).

Дані посмертної ПЛР-діагностики крові та біоптатів внутрішніх органів мишей

Миша	Патологоанатомічний висновок	Результат ПЛР крові	Позитивний результат ПЛР біоптату
№ 1	Нирки – перигломерулїт, дистрофія. Печінка – гіперплазія. Селезінка – гіперплазія. Мозок – набряк. Серце – дистрофія кардіоміоцитів.	негативний	печінки, селезінки, мозку
№ 2	Легені – вогнищевий набряк, субплевральні крововиливи. Мозок – проліферація гліальних клітин. Селезінка – гіперплазія.	негативний	легень
№ 3	Мозок – набряк, проліферація гліальних клітин, вузликівий енцефалїт. Серце – дистрофія м'язових волокон. Нирки – набряк клубочків, дистрофія. Легені – перибронхіальне запалення. Печінка – регенерація печінкових клітин.	негативний	мозку, легень
№ 4	Мозок – набряк і проліферація гліальних клітин. Легені – перибронхіальне запалення і ділянки емфіземи. Печінка – регенерація печінкових клітин.	негативний	мозку, печінки

Як видно з наведених даних, і в цьому випадку в крові лабораторних тварин *T. gondii* виявлено не було. Ураження *T. gondii* печінки, селезінки й мозку лабораторних тварин не відповідало зовнішній поведінці мишей. Усі тварини були активні й набирали у масі.

### Висновки

1. Посмертне дослідження на токсоплазмоз ембріонів може служити додатковим діагностичним критерієм при завмерлій вагітності.

2. ПЛР-діагностика тканин, а також пряма мікроскопія мазків-відбитків біоптатів внутрішніх органів є більш інформативними, порівняно з ІФА крові на імуноглобуліни різних класів до *T. gondii* загиблих ембріонів.

3. Особи з тривалою персистенцією антитіл класу А до *T. gondii*, а також з відповідними низькоавідними імуноглобулінами класу G, навіть за відсутності будь-яких клінічних ознак інвазії, складають групу ризику при плануванні вагітності, будучи, ймовірно, інфікованими низьковірулентними штамми токсоплазм.

4. Летальні висліди при токсоплазмозній інвазії можна пов'язати з інфікуванням матерів високовірулентними штамми токсоплазм.

5. Потрібне проведення подальших лабораторних досліджень щодо генотипування токсоплазм у регіоні з метою виявлення високо- і низьковірулентних штамів найпростіших, а також для запобігання інвазії мешканців регіону.

### Література

1. Evaluation of vertical transmission of *Toxoplasma gondii* in *Calomys Callosus* model after reinfection with heterologous and

virulent strain / [P.S. Franco, D.A. Silva, I.N. Costa et al.] // *Placenta*. – 2011. – Vol. 32, N 2. – P. 116-120.

2. European multicenter study of the Liaison automated diagnostic system for determination of *Toxoplasma gondii* – specific immunoglobulin G (IgG) and IgM and the IgG avidity index / [E. Petersen, M.Y. Borobio, E. Guy et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2005. – Vol. 43, N 4. – P. 1570-1574.

3. Васильев В.В. Токсоплазмоз / В.В. Васильев, И.С. Васильева // Избранные вопросы терапии инфекционных болезней: Руководство для врачей / под ред. Ю.В. Лобзина. – СПб: Фолиант, 2005. – С. 581-596.

4. Васильев В.В. Прогноз нарушенной репродуктивной функции у женщин, больных хроническим токсоплазмозом / В.В. Васильев, М.Н. Кутарева // *Сибирский мед. журн.* – 2008. – № 7. – С. 59-61.

5. Hill D.E. *Toxoplasma gondii* prevalence in farm animals in the United States / D.E. Hill, J.P. Dubey // *Int. J. Parasitol.* – 2012. – Vol. 120, N 9. – P. 112-118.

6. Недзьведь М.К. Частота и морфологическая диагностика токсоплазмоза в аутопсийном материале / М.К. Недзьведь, Т.М. Корнев, Т.М. Недзьведь // Достижения и перспективы развития современной паразитологии: Тр. V респ. науч.-практ. конф. – Витебск: ВГМУ, 2006. – С. 67-70.

7. Инфекционная перинатальная патология: разработка стратегии диагностики и клинико-лабораторного мониторинга / Т.И. Долгих, Е.Г. Проданчук, М.В. Шевелев, Е. Ю. Минакова // Медицинский алфавит. Современная лаборатория. – 2011. – № 1. – С. 17-19.

8. Инфекционные болезни: Руководство для врачей / под ред. В.И. Покровского, М.Н. Мельник. – М.: Медицина, 1996. – 528 с.

9. Diagnosis of congenital infection / A.S. Martinez, L.A. Martinez, P.M. Teatino, J. Rodriguez-Grandier // *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* – 2011. – Vol. 5. – P. 15-20.

10. Врожденные, перинатальные и неонатальные инфекции / под ред. А. Гриноу, Дж. Осборн. – М.: Медицина, 2000. – 288 с.

11. Significant performance variation among PCR systems in diagnosing Congenital toxoplasmosis in Sao Paulo, Brasil: analysis of 467 amniotic fluid samples / [T.S. Okay, L. Yamamoto, L.G. Oliveira et al.] // *Clinics. Sao. Paulo*. – 2009. – Vol. 64, N 3. – P. 171-176.

## PATHOMORPHOLOGICAL DIAGNOSTICS OF TOXOPLASMOSIS

I.V. Lipkovska

**SUMMARY.** By post-mortem studies on toxoplasmosis 28 fetuses from missed abortion it was found out that PCR tissue diagnosis, direct microscopy of internal organs smears biopsies are more informative than the blood IFA on immunoglobulins of dead embryos by different classes to *T. gondii*.

*Individuals with long-term persistence of immunoglobulin A against *T. gondii* and relevant low-avidity immunoglobulin G, even in the absence of any clinical signs of infestation, are at risk of pregnancy planning, being probably infected low-virulence strains of *Toxoplasma*.*

**Key words:** *T. gondii*, congenital toxoplasmosis, biological sample.

Отримано 25.01.2013 р.

© Кучма І.Ю., 2013  
УДК 618.15-002.3:616.992.282

І.Ю. Кучма

## ГЕТЕРОГЕННІСТЬ ЗА КРИТЕРІЯМИ БІОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ТА ЧУТЛИВОСТІ ДО ПРОТИМІКРОБНИХ ЗАСОБІВ БАКТЕРІЙ РОДУ STREPTOCOCCUS, ВЕГЕТУЮЧИХ У ДИХАЛЬНІЙ СИСТЕМІ ХВОРИХ НА ПНЕВМОНІЮ ДІТЕЙ

Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМН України

Мікробіологічна діагностика пневмонії, особливо у дітей, пов'язана з достатньо вагомими перепонами: складність отримання матеріалу для дослідження, наявність в мокротинні секрету верхніх дихальних шляхів та ротової порожнини, призначення емпіричної антибактерійної терапії. Загальновідома роль бактерій роду *Streptococcus* в етіології пневмоній, та не завжди вдається чітко віддиференціювати стрептококи, що постійно вегетують у біотопах ротоглотки і легень, від збудників захворювання з притаманними їм вираженими патогенними властивостями, полірезистентністю до протимікробних засобів, селективними перевагами, які частіше за все і викликають гострий патологічний процес у легеневій системі. З масиву бактерій роду *Streptococcus spp.*, ізольованих від хворих на пневмонію дітей, вибірково досліджено фактори патогенності у полірезистентних ізолятів: лізоцимну та антилізоцимну активність, антикомплементарну активність, продукцію гіалуронідази.

**Ключові слова:** стрептококи, біологічні властивості, патогенність, чутливість до протимікробних засобів.

Концептуальною основою запобігання та боротьби з хворобами мікробного ґенезу є наукове пізнання їх суті, закономірностей виникнення, патогенезу, перебігу та реабілітації, підступів до раціонального та ефективного лікування і профілактики [1]. Наша увага була акцентована на проблемі запалень легень у педіатричній практиці. Мікробіологічна діагностика пневмонії, особливо у дітей, пов'язана з достатньо вагомими перепонами. Насамперед, це складність отримання у дітей біологічного матеріалу для дослідження, по можливості не контамінованого супутньою мікрофлорою. Наявність у мокротинні секрету верхніх дихальних шляхів, ротової порожнини та носоглотки різко знижує інформативність отриманих результатів. Призначення лікарем емпіричної антибактерійної терапії також призводить до сумніву в плані вилучення саме клінічно значущого патогену. Серологічні тести теж не завжди високоспецифічні, дають перехресні антигенні реакції, суттєво затримані в часі. Тяжкий та нерідко атипичний перебіг пневмонії у дітей на тлі наяв-