
Обмен опытом

УДК 616.523-022.6-002-078:618.2

О.В. Островская

ОСОБЕННОСТИ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ГЕРПЕС-ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН

*Хабаровский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» –
Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства,
680022, ул. Воронежская, 49, корп. 1, e-mail: iomid@yandex.ru*

Резюме

В работе показаны особенности жизненного цикла герпес-вирусов, взаимодействия их с клеткой, современные методы диагностики герпес-вирусных инфекций у беременных женщин.

Ключевые слова: герпес-вирусы, беременность, лабораторная диагностика.

O.V. Ostrovskaya

FEATURES OF LABORATORY DIAGNOSTICS FOR HERPES – VIRUS INFECTIONS IN PREGNANT WOMEN

*Research Institute of Mother and Child Health Care, Khabarovsk –
Khabarovsk Branch of the Far Eastern Research Center of Respiratory Physiology and Pathology, Khabarovsk*

Summary

This article describes the life cycle of herpes viruses and interaction of herpes viruses with cell, as well as modern methods of diagnostics for herpes – virus infections in pregnant women.

Key words: Herpesviridae, pregnancy, laboratory diagnostics.

При изучении влияния инфекций матери на течение и исходы беременности особый интерес представляют вирусы семейства Herpesviridae. Это связано с их убиквитарностью (широким распространением), способностью к пожизненной персистенции (англ. persistence – упорство, постоянство) с периодической активизацией при иммунодефицитных состояниях и переходом латентных форм в манифестные и генерализованные.

Первичная и возвратная инфекции при беременности могут оказать повреждающее воздействие на плаценту, плод и новорожденного, вызвать тяжелые врожденные заболевания.

Широкое распространение этих инфекций, недостаточность законодательной базы, стандартов обследования, недооценка врачами клинического профиля значимости современных лабораторных тестов в ряде случаев приводят к неправильному назначению и интерпретации анализов, необоснованному назначению терапии («по диагностическим титрам»), необоснованному прерыванию беременности, отсутствию контроля над группой риска (серонегативные). Для наилучшего понимания значения результатов диагностики герпес-инфекций важно представлять биологические свойства вирусов, особенности жизненного цикла, распространенность и характер вызываемых ими заболеваний.

Инфекции, вызванные вирусом простого герпеса 1-ого и 2-ого типов (HSV-1 и HSV-2), вирусом ветряной оспы (VZV), цитомегаловирусом (CMV) опасны для здоровья беременных и плода и отнесены к группе TORCH инфекций [3, 10, 13, 7, 8]. В последние годы расширено представление о патогенетическом значении вируса Эпштейна-Барр (EBV). Доказано, что EBV также может приводить к внутриутробному инфицированию плода с неблагоприятными исходами беременности и влиять на состояние здоровья детей раннего возраста. Установлено, что определенный вклад (особенно при микст-инфекции) в перинатальную патологию может вносить и вирус герпеса человека 6-го типа (ВГЧ-6) [4].

Первичное инфицирование герпес-вирусами в большинстве случаев протекает мягко или бессимптомно. Попадая в организм человека, герпес-вирусы адсорбируются на клетке, освобождаются от внешней оболочки, нуклеокапсид вируса проникает в цитоплазму, затем в ядро клетки, в ядре происходит транскрипция – считывание генетической информации с геномной ДНК. В цитоплазме клеток осуществляется трансляция (синтез вирус-специфических белков на матрице иРНК). Первыми синтезируются сверххран-ные белки (IE), которые координируют дальнейшую экспрессию вирусного генома, ряда клеточных генов и в дальнейшем не входят в структуру вируса. Выяв-

ление сверххранних белков (IEA) или антител к ним свидетельствует об активном размножении вируса, об активном инфекционном процессе. Затем появляются ранние белки (Е), способствующие репликации вирусной ДНК и образованию структурных вирусных белков (L), далее происходит биосинтез вирусных компонентов, сборка вирионов и выход их из клетки. Образуется новое поколение зрелых полноценных вирусных частиц, а сама клетка гибнет.

Такой тип взаимодействия вируса и клетки называется продуктивным (синонимы: активная инфекция, размножение, активизация, репликация или репродукция). Но инфекционный процесс может остановиться на любой стадии. Так, герпес-вирусы могут существовать в форме латентной (скрытой) инфекции, когда неинфекционный вирус (нуклеокапсид без внешней оболочки) присутствует в какой-либо ткани, не размножается и его практически нельзя обнаружить. При иммунодефицитных состояниях вирус снова начинает размножаться – активизация или реактивация. Активная и латентная стадии персистирующей инфекции не являются стабильными, в течение жизни человека они сменяют одна другую.

Активизация инфекции может привести к развитию клинически выраженных форм, но чаще протекает бессимптомно. На протяжении «здоровой жизни» хозяина появляются новые вирусные генерации, незначительные для того, чтобы быть замеченным хозяином, но достаточные для продукции инфекционного потомства, способного инфицировать других лиц или плод у беременной женщины. Иллюстрацией бессимптомной активизации является обнаружение анти-CMV IgM у 7-8 % доноров крови, определение ДНК CMV вируса у 10 % здоровых детей раннего возраста в моче, выявление ДНК CMV в генитальном тракте и сперме у практически здоровых женщин и мужчин [11].

В случае первичного заражения герпес-вирусами при нормально функционирующей иммунной системе запускаются последовательные реакции, индуцирующие формирование специфического иммунитета в течение 14-28 дней. Происходит стимуляция В-лимфоцитов. Они вырабатывают сначала IgM с небольшой специфичностью и большой контактирующей поверхностью. Затем появляется клон В-клеток, способных вырабатывать высокоспецифичные IgG. В начале первичной инфекции обнаруживаются низкоавидные (непрочно связывающиеся с антигеном) IgG, а в дальнейшем продуцируются более совершенные высокоавидные IgG. Далее формируются В-клетки памяти, которые при повторном контакте с антигеном способны за короткое время активировать другие клоны вырабатывать IgG [6].

IgM и низкоавидные IgG при первичной инфекции обнаруживают от 4-6 дней с начала клинических проявлений до 2 месяцев с пиком на 2-й неделе. Концентрация высокоавидных IgG нарастает, достигает максимума на 4-6-й неделе первичной инфекции, затем в более низких титрах высокоавидные IgG обнаруживают многие годы. Низкоавидные IgG – можно обнаружить только при первичной инфекции. Рецидив не всегда сопровождается появлением антивирусных IgM и приростом титров G-антител.

В результатах лабораторных анализов соотношение низко- и высокоавидных IgG выражается в виде индекса авидности (ИА).

Если ИА не превышает 35-40 %, существует значительная вероятность протекания острого первичного инфекционного процесса с серьезной угрозой для плода.

При ИА от 40 до 60 % говорить уверенно об остроте процесса нельзя (серая зона). Необходимо повторное исследование индекса через 1-2 недели.

ИА более 60-70 % говорит о том, что у пациента выявлены высокоавидные IgG, пациент ранее был инфицирован цитомегаловирусом, вирус пожизненно находится в его организме. Риск заражения плода относительно низкий.

Таким образом активная стадия как при бессимптомной, так и при манифестной форме инфекции может быть обнаружена лабораторными методами. Лабораторные маркеры активизации – это антитела к сверххранним белкам (анти CMV – IEA-антитела), IgM к структурным белкам (L), низкоавидные IgG, нарастание титров IgG антител, появление сероконверсии (т. е. появление положительной реакции на антитела в ранее отрицательных образцах), увеличение частоты выявления вирусов в различном клиническом материале.

При герпес-инфекциях вирус не элиминируется из организма. Вирус находится в организме одновременно со специфическими IgG после заражения пожизненно. Поэтому специфические IgG к герпес-вирусам являются косвенным показателем инфицированности. Неэффективность специфического гуморального и клеточного иммунитета связана с тем, что вирус существует в виде субвирусных структур – ДНК-белкового комплекса (латенция), а не в виде полных, неповрежденных частиц. В этом состоянии вирус недоступен действию вируснейтрализующих антител и Т-киллеров – «иммунное ускользание» [6].

Частота выявления IgG к HSV и CMV или показатель инфицированности этими вирусами женщин репродуктивного возраста г. Хабаровска составляет 97,2-97,6 %, значит только 2-3 % беременных женщин в г. Хабаровске не инфицированы герпес-вирусами, и только у части этих женщин во время беременности может произойти первичное заражение с высоким риском трансплацентарной передачи (для CMV 40-50 %, для HSV – до 70 %) [9, 10, 13]. Из сказанного следует, что у беременных г. Хабаровска передача инфекции плоду может происходить, главным образом, при возвратной инфекции или реактивации уже существующего в организме персистирующего вируса или при суперинфекции (заражение новым штаммом уже инфицированной женщины). Риск передачи вируса плоду при возвратной инфекции снижается (CMV 0,2-2 %, HSV 2-5 %). Серологические маркеры активизации или реактивации персистирующей герпетической и цитомегаловирусной инфекции – анти-HSV IgM к структурным белкам, анти-CMV IgM к структурным и сверххранним белкам – нами выявлены у беременных женщин г. Хабаровска в 3,2 %, 2,4 % и 2,9 % случаев соответственно. Низкоавидные IgG и к HSV и к CMV – в 2,0 %) [9].

В целом у иммунокомпетентных пациентов высота титров специфических IgG коррелирует с наличием острой инфекции, но в каждом случае титр IgG зависит не столько от количества вируса, сколько от состояния иммунной системы конкретного пациента и даже от используемой для диагностики тест-системы. Более того, часто при острой и тяжелой инфекции на фоне иммунодефицита наблюдается низкая концентрация IgG. Высокие титры анти-HSV IgG выявляли у 71 % женщин репродуктивного возраста, высокие титры анти-CMV IgG – у 53 [9]. Антитела способствуют противовирусной защите. Поэтому проводить диагностику на основании высоты титров антител или ставить целью снижение титров антител при беременности – ошибочно.

Таким образом, выявление высоты титров антител имеет относительное диагностическое значение. Простой серологический тест на наличие специфических IgG, свидетельствующих об инфицированности, или выявление титра IgG не может быть использованы для постановки диагноза.

Уровень анти-CMV и анти-HSV IgG в сыворотке крови матери не имеет диагностического значения для новорожденного. Уровень анти-CMV или анти-HSV IgG в сыворотке крови ребенка в неонатальном периоде не имеет диагностического значения [10].

Клинические и лабораторные данные должны быть рассмотрены в совокупности.

Методы лабораторной диагностики герпес-вирусных инфекций подразделяют на две группы: прямые и непрямые.

Прямые методы, направленные на выявление *возбудителя* (на культуре тканей, лабораторных животных), выявление его *антигенов, ранних белков* (реакция иммунофлюоресценции – РИФ, биочиповая технология) и/или выявление вирусного генома – ДНК (методом ПЦР) в разном клиническом материале (продолжительность выявления вируса при первичной инфекции составляет до 1 месяца, при рецидиве – 7-10 дней).

Культуральный метод не применяется в учреждениях практического здравоохранения в настоящее время из-за его длительности, трудоемкости, большой стоимости. Цитологическое исследование, метод электронной микроскопии также не применяются из-за низкой чувствительности и специфичности. По чувствительности, специфичности, доступности, относительно невысокой стоимости и скорости получения результатов ПЦР предпочтительнее других методов для использования в диагностических целях.

Диагностически значимым является выявление ДНК герпес-вирусов в аутопсийном материале в случаях гибели плодов и новорожденных, при этом относительно CMV, EVB, HHV-6 важен количественный метод [14, 13].

Непрямые серологические методы: иммуноферментный (ИФА) и РИФ направлены на выявление антител в сыворотке крови, плазме, спинно-мозговой жидкости; с помощью этих методов можно установить форму и стадию инфекции.

В диагностически сложных случаях используется референтный метод иммуноблот и биочиповые технологии. Иммуноблот позволяет отдельно детектиро-

вать IgM и IgG к отдельным белкам герпес-вирусов, следить в динамике за сменой белков, что имеет высокое диагностическое и прогностическое значение.

Диагностика герпетической инфекции во время беременности

При генитальном герпесе диагноз ставят по клинической картине, учитывая продромальную болевую симптоматику и типичные мелкие везикулярные высыпания у беременной. При сомнении в диагнозе из этих везикул можно выявить ДНК HSV методом ПЦР.

Формы активной стадии герпетической инфекции

1. *Первичная инфекция.* Развивается после заражения вирусом неинфицированного ранее лица. У неинфицированных пациентов антитела не определяются, первичная инфекция сопровождается сероконверсией, появлением специфических IgM, низкоавидных IgG, нарастанием титров антител, выявлением ДНК вируса в клинических образцах. Первичная инфекция может развиваться с выраженными клиническими проявлениями в виде везикулярных высыпаний или с бессимптомной секрецией вируса. При первичной генитальной герпетической инфекции у беременной женщины особенно высок риск передачи инфекции плоду, поэтому для врача акушера-гинеколога важна целенаправленная работа по выявлению случаев первичной инфекции [13, 15, 16].

2. *Рецидив герпеса:* повторно регистрируемые клинические проявления герпеса. Обнаруживаются следующие лабораторные маркеры: высокоавидные анти-HSV IgG+, анти-HSV IgM ± выявление ДНК вируса в клинических образцах.

3. *Первый эпизод герпеса:* впервые выявленные клинические проявления у ранее инфицированных лиц. Лабораторные маркеры: высокоавидные анти-HSV IgG+, анти-HSV IgM ± выявление ДНК вируса в клинических образцах.

4. *Бессимптомная герпетическая инфекция.* У беременных с генитальным герпесом в анамнезе или у больного герпесом партнера выявляются серологические маркеры активизации и/или ДНК вируса в клинических образцах [6].

Неактивная стадия герпетической инфекции – латентная инфекция. Инфекционный вирус не обнаруживается в клинических пробах. Вирус сохраняется в виде ДНК – белкового комплекса в корешковых ганглиях сакральных нервов. Обнаруживаются высокоавидные анти-HSV IgG.

Диагностика цитомегаловирусной инфекции (ЦМВИ) во время беременности

Рутинный серологический скрининг в настоящее время не рекомендуется. Диагностику ЦМВИ проводят в случаях, когда беременная перенесла гриппоподобное заболевание или заболевание, сходное с инфекционным мононуклеозом, а также при появлении подозрительных эхо-графических данных. При ЦМВИ различают активные и неактивные стадии. Неинфицированная женщина, у которой нет ни клинических, ни лабораторных маркеров инфекции, представляет группу риска, так как она может быть инфицирована во время беременности. Поэтому необходимо таких

женщин повторно исследовать раз в 3 месяца для выявления опасной для плода первичной инфекции [13, 16, 17].

Активные формы ЦМВИ

1. Первичная ЦМВИ. Инкубационный период составляет 2-12 недель. Процесс размножения вируса медленно нарастает, продолжительность активной стадии первичной инфекции от 2 до 6-8 месяцев. Лабораторные маркеры, указывающие на размножение CMV: выявление ДНК CMV в клинических пробах (крови, в генитальных мазках, моче, слюне, ликворе), обнаружение анти-CMV IgM и IgG к сверхчужбым белкам EIA, анти- CMV IgM к структурным белкам L, низкоавидных анти-CMV IgG, 4-кратный прирост титров G- антител в парных сыворотках, сероконверсия [16, 17].

Титры анти-CMV IgG могут колебаться, их повышение или падение не всегда позволяет оценить активность вируса. Анти-CMV IgM могут отсутствовать у больных с выраженной цитомегалией и, наоборот, определяться при отсутствии других признаков активации вируса. Анти-CMV IgM могут выявляться при наличии ревматоидного фактора, активной репликации других вирусов герпеса. Низкоавидные анти-CMV IgG выявляются только при первичной инфекции. По мере развития иммунного ответа размножение вируса прекращается. Инфекция переходит из активной стадии в неактивную.

2. Реактивация латентной инфекции. При возвратной инфекции под влиянием различных экзогенных и эндогенных факторов (интеркуррентные инфекции, беременность, применение иммунодепрессантов, облучение, онкогематологические заболевания, диабет, СПИД) происходит снижение клеточного иммунитета. При этом персистирующий вирус переходит из неактивной (латентной) в активную фазу (активизация, реактивация, размножение). Появляются маркеры активизации (кроме низкоавидных IgG). Активизация может происходить как бессимптомно, так и с клиническими проявлениями.

Неактивная форма ЦМВИ

Латентная инфекция. На этой стадии вирус не размножается, персистирует в эпителиальных клетках протоков и паренхиме слюнных желез, лимфотических клетках почек, лейкоцитах периферической крови. Маркеры репликации вируса не определяются. Выявляются только анти-CMV IgG, последние циркулируют в крови в течение всей жизни и имеют тенденцию к снижению титра.

Эффективность противовирусных препаратов может реализоваться только в фазе репликации вируса, при активных формах. Программа ведения и лечения беременных женщин составляется с учетом форм и стадий герпес-инфекций. Основные положения о диагностике герпес-инфекций были сформулированы комитетом ВОЗ в 1985–1986 гг. и используются с тех пор в мировой литературе [1, 2, 13, 14, 15, 16, 17].

Литература

1. Бюллетень ВОЗ. Профилактика герпес-вирусных болезней и борьба с ними. – 1985. – № 2. – С. 1-16.
2. Бюллетень ВОЗ. Профилактика герпес-вирусных болезней и борьба с ними. – 1986. – № 3. – С. 10-15.
3. Гриноу А., Осборн Дж., Сазерленд Ш. Врожденные, перинатальные и неонатальные инфекции. – М.: Медицина, 2000. – 288 с.
4. Долгих Т.И. Современная стратегия лабораторной диагностики герпес-вирусных инфекций, ассоциированных с перинатальной патологией // Справочник заведующего КДЛ. – 2011. – № 4. – С. 21-34.
5. Кандрушина М.П., Гришаев М.П., Загоруйко Т.Ю. Дифференциальная диагностика генитального герпеса. – <http://www.terra-medica.spb.ru/ld2-2005/kandrusch.Htm>.
6. Кицак В.Я. Вирусные инфекции беременных: патология плода и новорожденных: информационно-методическое пособие. – Кольцово, 2004. – 70 с.
7. Кузьмин В.Н., Адамян Л.В. Вирусные инфекции и беременность: монография. – М.: Дипак, 2005. – 176 с.
8. Орехов К.В. Внутриутробные инфекции и патология новорожденных: монография. – Ставрополь: Изд. СтГМА, 2006. – 307 с.
9. Островская О.В. Внутриутробные инфекции, клинко-морфологическая оценка современной специфической диагностики: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Хабаровск, 2009. – 44 с.
10. Протоколы диагностики, лечения и профилактики внутриутробных инфекций у новорожденных детей: протоколы. – М.: ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ, 2001. – 94 с.
11. Современные аспекты герпес-вирусной инфекции. Эпидемиология, клиника, диагностика, лечение и профилактика: метод. рекомендации. – Правительство Москвы, Департамент здравоохранения / сост. Каражас Н.В. и др. – М.: Спецкнига, 2012. – 128 с.
12. Способ выявления возбудителей внутриутробных инфекций в аутопсийном материале от погибших плодов и новорожденных: метод. рекомендации / сост. Островская О.В. и др. – Хабаровск, 2012. – 23 с.
13. Фризе К., Кахель В. Инфекционные заболевания беременных и новорожденных: монография, пер. с нем. – М.: Медицина. – 2003. – 424 с.
14. Barkai G., Barzilai A., Mendelson E., et al. New born screening for congenital cytomegalovirus using real – time polymerase chain reaction in umbilical cord blood // Isr. Med. Assoc J. – 2013. – № 15 (6). – P. 279-83.
15. Kimberlin D.W., Jill Batey M.D. Guidance in Management of Asymptomatic Neonates Born to Women with Active Genital Herpes lesions // J. Am. Academy of Pediatrics. – 2014. – P. 635-645.
16. Viron V., Farine D., Yudin M., Cytomegalovirus infection in Pregnancy: SOGC Clinical Practice Guideline // J. Prenat. Med. – 2011. – № 5 (1). – P. 1-8.
17. Wang C., Zhang X., Bialek S., Cannon M.J. Attribution of congenital cytomegalovirus infection primary versus non-primary maternal infection // Clinical Infectious Diseases. – 2011. – Vol. 52 (2). – P. 1-13.

Literature

1. Bulletin of the World Health Organization. Herpesviral Diseases Prevention and Control. – 1985. – № 2. – P. 1-16.
2. Bulletin of the World Health Organization. Herpesviral Diseases Prevention and Control. – 1986. – № 3. – P. 10-15.
3. Greenough A., Osborne J., and Sutherland Sh. Congenital, Perinatal and Neonatal Infections. – M.: Medicine, 2000. – 288 p.
4. Dolgikh T.I. Modern strategy of laboratory diagnostics of herpesviral infections associated with perinatal pathology // Reference book of Clinical Diagnostics Laboratory Manager. – 2011. – № 4. – P. 21-34.
5. Kandrushina M.P., Grishayev M.P., Zagoruiko T.Yu. Differential diagnostics of genital herpes – <http://www.terra-medica.spb.ru/ld2-2005/kandrusch.htm>.
6. Kitsak V.Ya. Viral infections in pregnancy: pathology of the fetus and newborn: Information and methodological manual. – Koltsovo, 2004. – 70 p.
7. Kuzmin V.N., Adamyan L.V. Viral Infections and Pregnancy: monograph. – M.: Dipak, 2005. – 176 p.
8. Orekhov K.V. Intrauterine Infections and Pathologies of the Newborn: monograph. – Stavropol: StGMA, 2006. – 307 p.
9. Ostrovskaya O.V. Intrauterine infections, clinical and morphological assessment of modern specific diagnostics: Synopsis of a thesis ... of a Doctor of med. science. – Khabarovsk, 2009. – 44 p.
10. Guidelines for diagnosis, treatment and prevention of intrauterine infections in newborn: guidelines. – M.: State Educational Institution All-Russia educational, scientific and methodological center for continuous medical education of the Russian Federation Ministry of Health. – 2001. – 94 p.
11. Modern aspects of herpes virus infection. Epidemiology, clinical course, diagnostics, treatment and prevention: Methodological Guidelines / Public health department of Moscow city government / compiler: Karazhas N.V., et al. – M.: Spetskniga, 2012. – 128 p.
12. The ways of detection of intrauterine and postnatal infection agents in autopsy material of lost low-weight children: Methodological Guidelines / compiler: Ostrovskaya O.V., et al. – Khabarovsk, 2012. – 23 p.
13. Frize K., Kakhel V. Infectious diseases of pregnant women and newborn: Monograph, translated from German. – M., Medicine. – 2003. – № 424. – P. 14.
14. Barkai G., Barzilai A., Mendelson E., et al. New born screening for congenital cytomegalovirus using real – time polymerase chain reaction in umbilical cord blood // Isr. Med. Assoc J. – 2013. – № 15 (6). – P. 279-83.
15. Kimberlin D.W., Jill Batey M.D. Guidance in Management of Asymptomatic Neonates Born to Women with Active Genital Herpes lesions // J. Am. Academy of Pediatrics. – 2014. – P. 635-645.
16. Viron V., Farine D., Yudin M., Cytomegalovirus infection in Pregnancy: SOGC Clinical Practice Guideline// J. Prenat. Med. – 2011. – № 5 (1). – P. 1-8.
17. Wang C., Zhang X., Bialek S., Cannon M.J. Attribution of congenital cytomegalovirus infection primary versus non-primary maternal infection // Clinical Infectious Diseases. – 2011. – Vol. 52 (2). – P. 1-13.

Координаты для связи с авторами: *Островская Ольга Васильевна* – д-р мед. наук, руководитель научной группы молекулярно-генетической диагностики, тел. +7-924-107-99-61, e-mail: olrom41@mail.ru.

