

Клинико-лабораторная характеристика внутриутробной цитомегаловирусной инфекции у новорожденных детей

Н.С. Божбанбаева

Clinicolaboratory characteristics of intrauterine cytomegalovirus infection in newborns

N.S. Bozhbanbayeva

Научный центр педиатрии и детской хирургии Республики Казахстан, Алматы

Острое течение внутриутробной цитомегаловирусной инфекции верифицировано методами иммуноферментного анализа и полимеразной цепной реакции у 26 новорожденных детей. Контрольную группу составили 17 неинфицированных детей. Изучены особенности клинического течения цитомегаловирусной инфекции в раннем и позднем неонатальном периодах, а также исследован сывороточный уровень нейронспецифической енолазы, фактора некроза опухолей- α и γ -интерферона. Установлено, что определение нейроенолазы может быть использовано для ранней диагностики церебральных нарушений у детей с острым течением цитомегаловирусной инфекции.

Ключевые слова: новорожденные дети, внутриутробная цитомегаловирусная инфекция, фактор некроза опухолей- α , γ -интерферон, нейроенолаза.

The acute course of intrauterine cytomegalovirus infection (CMVI) was verified by enzyme immunoassay and polymerase chain reaction in 26 newborn infants. A control group comprised 17 noninfected babies. The early and late neonatal clinical features of CMVI and the serum levels of neuron-specific enolase, tumor necrosis factor- α , and γ -interferon were studied. It has been ascertained that the determination of neuron-specific enolase may be used for the early diagnosis of cerebral disorders in children with acute CMVI.

Key words: newborn infants, intrauterine cytomegalovirus infection, tumor necrosis factor- α , γ -interferon, neuron-specific enolase.

Внутриутробные инфекции продолжают занимать значительное место среди причин неонатальной смертности [1, 2]. Наиболее важная роль в структуре этих заболеваний отводится цитомегаловирусной инфекции. Выявление поражения нервной системы у новорожденных с внутриутробными инфекциями нередко бывает затруднено вследствие не всегда четкой и ясной неврологической симптоматики. В настоящее время перспективным для диагностики и прогнозирования течения внутриутробных инфекций представляется определение уровня провоспалительных цитокинов [3]. Их содержание в крови дает дополнительную информацию о патологических процессах в головном мозге [4]. Кроме того, в последние годы расширилось использование определения в сыворотке крови биохимических маркеров повреждения клеток мозга [5]. В этом плане представляет практический интерес исследование динамики нейронспецифической енолазы как маркера поражения ЦНС у инфицированных детей.

Целью исследования явилось изучение особенностей клинической картины и лабораторных критериев ранней диагностики острого течения внутриутробной цитомегаловирусной инфекции у новорожденных.

ХАРАКТЕРИСТИКА ДЕТЕЙ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследованы 500 новорожденных детей, находившихся на стационарном лечении в детской городской инфекционной больнице Алматы в период 2001—2008 гг. Верификация внутриутробной острой цитомегаловирусной инфекции проводилась методами иммуноферментного анализа и полимеразной цепной реакции путем определения специфических антител к антигенам *Herpes virus*, *Cytomegalovirus*, *Chlamydia trachomatis*, *Toxoplasma gondii*, *Mycoplasma hominis*, *Listeria monocytogenes* и детекции ампликонов возбудителя.

В 1-ю группу вошли 26 детей с верифицированной цитомегаловирусной инфекцией. С целью изучения активности и тяжести инфекционного процесса у 20 детей 1-й группы определяли сывороточную активность нейронспецифической енолазы, уровень провоспалительных цитокинов — фактора некроза опухолей- α и интерферона- γ . Контрольную группу (2-я группа) составили 17 детей с отрицательными

© Н.С. Божбанбаева, 2010

Ros Vestn Perinatol Pediat 2010; 1:107–111

Адрес для корреспонденции: Божбанбаева Нишангуль Сейтбековна — докторант Научного центра педиатрии и детской хирургии Республики Казахстан

050022 Алматы, просп. Аль-Фараби, д. 146

e-mail: nishan71.1@mail.ru

результатами иммуноферментного анализа и полимеразной цепной реакции на внутриутробные инфекции; дети находились на стационарном лечении в отделении инфекции новорожденных с острой респираторной вирусной инфекцией и ее осложнениями – бронхитом, пневмонией.

Всем детям методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-системы «Вектор Бест» (Новосибирск) исследовали сыворотку крови для детекции специфических антител IgG, IgM к 6 возбудителям TORCH-инфекций (*Toxoplasma*, *Rubella*, *Cytomegalovirus*, *Herpes simplex virus* и др.). Определение низкоавидных антител к цитомегаловирусу выполняли с помощью тест-систем «ЦМВ-IgG-авидность». Полимеразная цепная реакция проводилась в трех отдельных помещениях (зонах), согласно «Методическим рекомендациям по проведению работ в диагностических лабораториях, использующих метод ПЦР» и инструкции по применению ПЦР-тест-систем «АмплиСенс тм 380», разработанных Центральным НИИ эпидемиологии (Москва). Концентрацию фактора некроза опухолей- α и интерферона- γ определяли с помощью соответствующих наборов реагентов для иммуноферментного анализа произ-

водства ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск). Диагностическая значимость енолазы изучена согласно четырехпольной таблице «2×2».

Для обработки данных использовались общепринятые методы вариационной статистики с вычислением средних величин (M) и ошибки средней (m), показателя достоверности различий при сравнении между группами (p). Для выявления взаимосвязей применяли метод корреляционного анализа, включающий как оценку коэффициента корреляции Спирмена (r), так и уровень его значимости (p). Статистическая обработка проведена на персональном компьютере Pentium IV в операционной системе Windows-Word 2000 с помощью приложения Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Острая цитомегаловирусная инфекция была диагностирована у 26 новорожденных детей (1-я группа). Методом полимеразной цепной реакции (качественный анализ) ампликоны цитомегаловируса были обнаружены у всех детей 1-й группы в крови, моче, слюне и у 2 детей с тяжелым поражением ЦНС — в ликворе.

Таблица 1. Течение настоящего гестационного периода и исходы родов у матерей детей сравниваемых групп

Патологические состояния	1-я группа		2-я группа	
	абс.	%	абс.	%
Анемия	15	57,6±9,7*	5	29,4±11,0
Ранний токсикоз	7	26,9±8,7	4	23,5±10,3
Острые респираторные вирусные инфекции	13	50,0±9,8**	2	11,7±7,8
Угроза невынашивания	16	61,5±9,5**	3	17,6±9,2
Поздний гестоз	12	46,1±9,7**	2	11,7±7,8
Синдром задержки развития плода	4	15,4±7,0	1	5,8±5,6
Хроническая фетоплацентарная недостаточность	12	46,1±9,7*	3	17,6±9,2
Хроническая внутриутробная гипоксия плода по данным ультразвукового исследования	16	61,5±9,5**	4	23,5±10,3
Обострение хронического пиелонефрита	6	23,0±8,2*	1	5,8±5,6
Обострение хронического кольпита	4	15,4±7,0	1	5,8±5,6
Многоводие	3	11,5±6,2	1	5,8±5,6
Маловодие	4	15,4±7,0	1	5,8±5,6
Преждевременное старение плаценты	1	3,8±3,7	0	—
Преэклампсия	5	19,2±7,7*	0	—
Преждевременные роды	6	23,0±8,2**	0	—
Оперативные роды	4	15,4±7,0	1	5,8±5,6
Преждевременное излитие околоплодных вод	5	19,2±7,7*	0	—
Родостимуляция	11	42,3±9,7**	1	5,8±5,6
Преждевременная отслойка плаценты	1	3,8±3,7	0	—
Зеленые околоплодные воды	3	11,5±6,2	1	5,8±5,6

Примечание. Здесь и в табл. 2 и 3: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$; # — $p < 0,001$ — статистически значимые различия в сравниваемых группах.

Как следует из табл. 1, течение беременности и родов у матерей детей 1-й группы сопровождалось по сравнению с группой женщин, родивших неинфицированных детей, статистически значимыми различиями по частоте таких патологических состояний, как гестоз (46,1%*, $p<0,01$), преэклампсия (19,2%; $p<0,05$), угроза самопроизвольного выкидыша (61,5%; $p<0,01$), острые респираторные вирусные заболевания (50%; $p<0,01$), наличие хронической фетоплацентарной недостаточности (46,1%; $p<0,05$) и хронической внутриутробной гипоксии плода (62,5%; $p<0,01$) по данным ультразвукового исследования, анемия (57,6%; $p<0,01$), обострение хронического пиелонефрита (23,0%; $p<0,05$), преждевременные роды (23%; $p<0,01$), преждевременное излитие околоплодных вод (19,2%; $p<0,05$), стимуляция родовой деятельности (42,3%; $p<0,01$). Необходимо подчеркнуть, что в большинстве случаев (86,5%) отмечались

* Здесь и далее % вычислен условно, так как количество обследованных меньше 100.

различные сочетания перечисленных факторов, что, по-видимому, связано с вторичным иммунодефицитным состоянием беременных на фоне ассоциированной латентной инфекции. Высокая частота вышеуказанных осложнений свидетельствует о несомненной роли инфекции как отягочающего фактора в течении гестационного периода и родов.

Состояние при рождении 46,1% инфицированных новорожденных было тяжелым и оценивалось по шкале Апгар на 5-й минуте жизни 5—6 баллов и ниже, что свидетельствовало об острой гипоксии и соответствовало IV варианту адаптации по М.И. Антиповой [6]. Преждевременно рожденных детей в 1-й группе было в 4 раза больше, чем в контрольной (табл. 2).

В раннем неонатальном периоде (0—7 дней) у детей с цитомегаловирусной инфекцией наблюдались симптомы интоксикации в виде серого колорита кожных покровов, выраженной мышечной гипотонии, признаков угнетения ЦНС, большой первоначальной потери массы тела, синдрома рвоты и сры-

Таблица 2. Клинические проявления в неонатальном периоде у детей двух групп

Клинические проявления	1-я группа		2-я группа	
	абс.	%	абс.	%
Тяжелое состояние при рождении	12	46,1±9,7**	0	—
Асфиксия	12	46,1±9,7**	0	—
Недоношенность	6	23,0±8,2*	0	—
Обвитие пуповины	4	15,4±7,0*	0	—
Задержка внутриутробного развития	4	15,4±7,0*	1	5,8±5,6
Гипоксически-ишемическая энцефалопатия	26	100,0±0,2#	15	39,5±7,9
Синдром угнетения	14	53,8±9,7#	0	—
Гипертензионно-гидроцефальный синдром	9	34,6±9,3**	0	—
Судорожный синдром	9	34,6±9,3**	0	—
Гипервозбудимость	12	46,1±9,7**	1	3,6
Патологическая гипербилирубинемия	15	57,6±9,7**	2	5,3
Гепатоспленомегалия	10	38,5±9,5*	0	—
Кардиореспираторная депрессия	9	34,6±9,3**	0	—
Поражение сердца	9	34,6±9,3**	0	—
Тромбогеморрагический синдром	6	23,0±8,2*	0	—
Фетальный гепатит	4	15,4±7,0*	0	—
Менингоэнцефалит	4	15,4±7,0*	0	—
Синдром дыхательных расстройств	3	11,5±6,2*	0	—
Внутриутробная пневмония	4	15,4±7,0*	0	—
Поражение почек	6	23,0±8,2*	0	—
Постнатальная пневмония	18	69,2±9,0	2	5,3
Анемия	19	73,0±8,7	2	5,3
Энтероколит	6	23,0±8,7*	2	5,3
Сепсис	6	23,0±8,7*	0	—
Локальные инфекции	4	15,4±7,0*	1	2,6

гиваний. Наиболее частым клиническим синдромом была гипоксически-ишемическая энцефалопатия (100%; $p < 0,01$), которая более чем у половины детей проявлялась синдромом угнетения (53,8%; $p < 0,001$), а также гипертензионно-гидроцефальным (34,6%; $p < 0,01$), судорожным синдромом (34,6%; $p < 0,01$), синдромом вегетативно-висцеральных нарушений (25%; $p < 0,05$). В 15,4% случаев был диагностирован внутриутробный менингоэнцефалит, проявлявшийся выраженным беспокойством, гиперестезией, выбуханием родничка, запрокидыванием головы, генерализованными судорогами.

Тромбгеморрагический синдром отмечен у 23% детей 1-й группы ($p < 0,05$) и характеризовался петехиями, кровотечением из желудка, экхимозами, гемартрозом, меленой и рвотой «кофейной гущей».

Анализ клинических проявлений острой цитомегаловирусной инфекции в позднем неонатальном периоде (от 7 дней до 1 мес) выявил поражение многих органов и систем, указывающих на генерализованный характер инфекционного процесса и отражающих полигистиотропность вируса. Так, у всех детей 1-й группы была констатирована гипоксически-ишемическая энцефалопатия с трансформацией синдрома угнетения в синдром гипервозбудимости. Нейросонографическое обследование позволило выявить высокую частоту геморрагий (у 65,3% детей). Постнатальная пневмония была отмечена в 69,2% случаях — достоверно чаще, чем в контрольной группе ($p < 0,001$).

В подавляющем большинстве (73%) наблюдений в 1-й группе регистрировалась анемия (достоверные различия с контрольной группой, $p < 0,001$). У детей с тромбгеморрагическим синдромом отмечалась постгеморрагическая анемия II степени. В 2 случаях была диагностирована гемолитическая анемия.

Патологическая гипербилирубинемия в 10 раз чаще выявлялась у инфицированных пациентов 1-й группы, чем у неинфицированных детей контрольной группы ($p < 0,001$). Причем у половины пациентов желтуха носила пролонгированный характер. Причиной желтушного синдрома у 4 детей явился специфический цитомегаловирусный гепатит. У каждого третьего инфицированного ребенка фиксировалось увеличение печени на 2—5 см ниже края реберной дуги, реже — на 5—6 см, определялось увеличение селезенки на 1—2 см, реже — на 3—4 см.

Таблица 3. Среднее значение активности нейронспецифической енолазы (НСЕ), уровня фактора некроза опухолей- α (ФНО- α) и γ -интерферона (γ -ИФН) у обследованных детей

Показатель	1-я группа	2-я группа
НСЕ, пг/мл	24,2 $\pm$ 9,6*	5,7 $\pm$ 5,6
ФНО- α , пг/мл	10,3 $\pm$ 5,5*	0,8 $\pm$ 2,2
γ -ИФН, пг/мл	18,0 $\pm$ 8,6	4,5 $\pm$ 5,0

Примечание. * — $p < 0,05$ — статистически значимые различия между группами.

В группе новорожденных с цитомегаловирусной инфекцией у 34,6% детей было отмечено поражение сердца и у 26% — почек, что достоверно чаще, чем у детей контрольной группы ($p < 0,05$).

Анализ данных литературы свидетельствует, что вирус оказывает иммунодепрессивное действие, следствием которого является наложение вторичной бактериальной флоры [7, 8]. У каждого четвертого ребенка 1-й группы были констатированы бактериальный сепсис, энтероколит и у каждого пятого — локальные гнойно-септические заболевания в виде флебита пупочной вены, конъюнктивита, омфалита, при этом установлены статистически значимые различия с детьми контрольной группы ($p < 0,05$).

Таким образом, широкий спектр нарушений, отражающих вовлеченность разных систем в патологический процесс, характеризует острое течение цитомегаловирусной инфекции. Отсутствие врожденных аномалий у детей с острым течением цитомегаловирусной инфекции еще раз доказывает поздние сроки инфицирования плода (незадолго до родов или во время родов).

Согласно данным литературы, спектр антител и их avidность наиболее полно характеризуют иммунный ответ организма на вирусную инфекцию и позволяют судить об активности инфекционного процесса и его продолжительности [9]. В связи с этим помимо выявления антицитомегаловирусных антител класса IgG и IgM в сыворотке крови у 20 детей был изучен спектр специфических иммуноглобулинов с определением индекса avidности IgG. В результате проведенных исследований во всех случаях диагностированы низкоавидные «ранние» антитела с индексом avidности от 0 до 36%, присутствие которых является показателем острой активной инфекции.

Как представлено в табл. 3, сравнительная оценка уровня нейронеолазы позволила установить статистически значимое повышение ее активности у детей, инфицированных цитомегаловирусом, по сравнению со 2-й группой ($p < 0,05$). Кроме того, обнаружено статистически значимое повышение сывороточного уровня фактора некроза опухолей- α в 1-й группе детей по сравнению с контрольной ($p < 0,05$). Этот показатель был более высоким у детей с тяжелым поражением ЦНС.

Следует отметить, что в сыворотке крови у детей 1-й группы не выявлено достоверного повыше-

го содержания γ -интерферона, имела место лишь тенденция к увеличению данного показателя у инфицированных детей до $18,0 \pm 8,6$ пг/мл в отличие от $4,5 \pm 5,0$ пг/мл в контроле. Выявленная сильная прямая корреляционная связь между показателями сывороточной активности нейронеолазы и уровнем фактора некроза опухолей в группе детей с верифицированной цитомегаловирусной инфекцией свидетельствует об острой системной воспалительной реакции организма в ответ на инфекционный фактор на фоне тяжелого поражения ЦНС. С помощью метода четырехпольной таблицы [10] мы изучили чувствительность и специфичность теста определения нейронеолазы, которые составили 69 и 82% соответственно; положительная прогностическая ценность теста — 0,8; отношение правдоподобия — 5,3. Таким образом, тест определения нейронеолазы является высокоспецифичным и может быть использован для ранней диагностики тяжелых неврологических нарушений у детей с цитомегаловирусной инфекцией. Комплексное обследование различными методами дает возможность врачу получить более полную информацию как о наличии инфекционного агента, так и об иммунном статусе пациента. Это позволяет более точно ставить диагноз и назначать соответствующее лечение с последующим его контролем.

ЛИТЕРАТУРА

1. Remington J.S. Infectious disease of the fetus and newborn infant. Philadelphia, PA: WB Saunders Co., 2001. P. 389—424.
2. Гриноу А., Осборн Дж., Сазерленд Ш. Врожденные перинатальные и неонатальные инфекции. Перев. с англ. М.: Медицина, 2000. 288 с.
3. Seghaye M.-C., Heyl W., Grabitz R.G. et al. The Production of Pro- and Anti-Inflammatory Cytokines in Neonates Assessed by Stimulated Whole Cord Blood Culture and by Plasma Levels at Birth // Biol. Neonate. 1998. Vol. 73. № 4. P. 220—227.
4. Ветлугина Т.П., Семке В.Я. Клиническая психонейроиммунология на современном этапе // Сиб. вестн психиат. и наркол. 2001. № 3. С. 34—36.
5. Баканов М.И., Алатырцев В.В., Подкопаев В.Н., Яцык Г.В. Диагностическое и прогностическое значение нейроспецифических ферментов креатинкиназы и енолазы при гипоксически-ишемических поражениях мозга у новорожденных детей // Медицинский научный и учебно-методический журнал. 2003. № 15. С. 129—131.
6. Антипова И.И., Аксенов А.Н., Кузьменко М.В. Течение раннего неонатального периода и прогностические критерии нарушения адаптации у новорожденных группы высокого инфекционного риска / Сб. науч. тр. Пленума Российской ассоциации акушеров-гинекологов «Инфекции в акушерстве, гинекологии и перинатологии». V Поволжская научно-практическая конференция «Современные методы диагностики и лечения в акушерстве и гинекологии». Саратов, 1999. С. 28—31.
7. Лутошкин И.С. Персистирующая герпесвирусная инфекция у детей с гломерулонефритом // Рос. вестн. перинатол. и педиат. 2005. № 4. С. 32—36.
8. Санталова Г.В. Формирование соматической патологии у детей с персистирующими инфекциями. Самара, 2005. 85 с.
9. Blackburn N.K., Besselaar T.G., Schoub B.D., O'Connell K.F. Differentiation of primary cytomegalovirus infection from reactivation using denaturation test for measuring antibody avidity // J. Med. Virol. 1991. Vol. 33. P. 6—9.
10. Власов В.В. Введение в доказательную медицину. М.: Медиа Сфера, 2001. 392 с.

Поступила 20.04.09