

На правах рукописи

ЗАПАРИЙ
Наталья Сергеевна

**ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ И КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ
ХАРАКТЕРИСТИКА АКТУАЛЬНЫХ ОПОРТУНИСТИЧЕСКИХ
ИНФЕКЦИЙ В ГРУППАХ ВЫСОКОГО РИСКА**

14.00.30-эпидемиология
14.00.10-инфекционные болезни

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

ОМСК-2006

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Омская государственная медицинская академия» Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию

Научные руководители:

доктор медицинских наук
доктор медицинских наук, профессор

Долгих Татьяна Ивановна
Сафонов Александр Дмитриевич

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук
доктор медицинских наук, профессор

Ястребов Владимир Константинович
Карбышева Нина Валентиновна

Ведущая организация: ГУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи РАМН»

Защита состоится «___» _____ 2006 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.065.03. при Омской государственной медицинской академии по адресу: 644099 г. Омск, ул. Ленина, 12.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Омской государственной медицинской академии.

Автореферат разослан «___» _____ 2006г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат медицинских наук, доцент

Р.Н. Готвальд

Общая характеристика работы

Актуальность исследования. В последние годы на фоне повсеместного роста иммунодефицитных состояний оппортунистические инфекции приобрели характер глобальной медико-социальной проблемы вследствие их широкого распространения и крайне неблагоприятного влияния на уровень общего и репродуктивного здоровья населения (Г.Г. Онищенко, 2002; Л. Александер с соавт., 2005; Е.И. Архипова с соавт., 2006).

Конец XX века отмечен ростом иммунозависимых заболеваний с их реструктуризацией в сторону превалирования хронических патологических процессов, развивающихся на фоне дезадаптации иммунной системы и увеличения числа преморбидных состояний (Э.К. Айламазян, 2000; Е.И. Барановская, 2001; В.М. Гранитов, 2001; Т.Е. Белокрицкая с соавт., 2003; В.Н. Нелюбин с соавт., 2004).

К группе оппортунистических принято относить те инфекции, которые развиваются на фоне сниженной иммунорезистентности и манифестно проявляют себя у лиц с иммунодефицитными состояниями любой природы (А.Г. Рахманова, 2000; Б.В. Пинегин, 2001; В.В. Покровский, 2003; В.Н. Снопков, 2004; М.А. Стенина, 2004; F.X. Boseh, 2002; A. Horinez, 2002).

Наибольший интерес представляют токсоплазменная инвазия и цитомегаловирусная инфекции (Н.П. Омельченко, 2000; А.В. Сундуков, 2006). Это связано, прежде всего, с их широким распространением среди населения репродуктивного возраста, разнообразием клинических проявлений заболеваний и, как правило, хроническим течением. (А. Гриноу с соавт., 2000; В.А. Исаков, 2000; Е.П. Шувалова, 2001; Г.И. Кричевская с соавт., 2006). Актуальность исследования токсоплазмоза обусловлена широким распространением возбудителя в природе, высокой частотой инфицированности населения токсоплазмами и ролью этой инвазии в перинатальной патологии. Так, известно, что на планете инфицировано токсоплазмами более 1,5 млрд. человек (А.Я. Лысенко с соавт., 2002; Д.Б. Гончаров, 2006; М.Н. Кутарева, 2006). Показатели инфицированности населения в различных регионах России колеблются от 15 до 30%, а частота врожденного токсоплазмоза составляет в среднем 3-8 детей на 1000 рождений (Д.Б. Гончаров, 2005). Жители сельской местности инфицируются гораздо чаще, чем городское население. В Омском регионе пораженность токсоплазмами составляет 10-14% среди городского населения и 32-45% среди сельского населения и нарастает с возрастом (Т.И. Долгих, 2000). До настоящего времени нет данных о соотношении инфицированных и заболевших как взрослых, так и детей.

Европейское региональное бюро ВОЗ относит герпесвирусные инфекции к группе болезней, которые определяют будущее инфекционной патологии. Инфицированность и заболеваемость герпесом в общей популяции опережает скорость прироста населения Земли (Т.В. Тутушкина, 2004; А.А. Руденко, 2006). В настоящее время генитальный герпес считается

наиболее распространенной инфекцией, передаваемой половым путем (А.Г. Рахманова с соавт., 2000). Вирус простого герпеса является не только кофактором распространения, но и прогрессирования ВИЧ-инфекции и СПИДа (Ю.В. Лобзин, 2000; С.А. Масюкова, 2003; Г.И. Кричевская с соавт., 2005; О.В. Куценко, 2006). ВПГ 2 типа способен увеличивать восприимчивость к заражению гепатитом С половым путем. Участие вируса простого герпеса в развитии иммунодефицитных состояний позволяет считать герпесвирусные инфекции важной медико-социальной проблемой практического здравоохранения (Т.В. Тутушкина, 2004).

Цель работы. Совершенствование системы эпидемиологического надзора на основе установления эпидемиологических и клинко-иммунологических особенностей течения оппортунистических инфекций в группах высокого риска, оптимизации их диагностики, лечения и профилактики.

Задачи исследования:

1. Изучить распространенность токсоплазменной инвазии и цитомегаловирусной инфекций (ЦМВИ) в группах высокого риска заболевания.
2. На основе эпидемиологической и клинко-иммунологической характеристики оппортунистических инфекций, совершенствования лабораторной диагностики оптимизировать мониторинг оппортунистических инфекций в группах высокого риска и разработать предложения по совершенствованию информационного обеспечения системы эпидемиологического надзора.
3. Провести анализ первичной инвалидизации у лиц вследствие оппортунистических инфекций на примере детей со статусом «ребенок-инвалид» (с врожденной формой заболевания) и разработать мероприятия по снижению влияния факторов риска формирования детской инвалидности на региональном уровне.

Положения, выносимые на защиту

1. В Омской области отмечается рост оппортунистических инфекций (токсоплазмоза, цитомегаловирусной инфекции) в группах высокого риска.
2. Комплексный подход к диагностике оппортунистических инфекций у лиц с иммунодефицитными состояниями, в том числе у ВИЧ-инфицированных, на этапах клинко-иммунологического мониторинга позволяет своевременно устанавливать реактивацию инфекционного процесса, степень которой зависит от выраженности вторичного иммунодефицита, и проводить адекватную терапию.
3. Анализ показателей первичной инвалидизации детского населения вследствие врожденных оппортунистических инфекций показал необходимость длительного мониторинга состояния их здоровья с

периодическим определением активности инфекционного процесса, установлением ведущего патогена на этапах обследования и оценки реабилитационного потенциала, что позволяет своевременно снизить риск манифестации основного и сопутствующих заболеваний и улучшить реабилитационный прогноз у детей с ограниченными возможностями.

4. Разработанные предложения по улучшению информационной базы повышают эффективность эпидемиологического надзора за актуальными оппортунистическими инфекциями в группах высокого риска.

Научная новизна работы. Для оценки эпидемиологической ситуации по оппортунистическим инфекциям в г. Омске при помощи иммуноферментного анализа (ИФА), реакции иммунофлюоресценции (РИФ), полимеразной цепной реакции (ПЦР), иммуноблотинга (ИБ) установлена распространенность и частота оппортунистических инфекций у взрослых и определены группы риска развития заболевания. На основании комплексного обследования взрослых выявлены особенности клинической картины оппортунистических инфекций, разработаны рациональные методические приемы и алгоритмы комплексной лабораторной диагностики оппортунистических инфекций у лиц с иммунодефицитными состояниями. Доказано, что ранняя верификация диагноза и своевременное начало адекватной терапии позволяют снизить риск развития последствий при ассоциированных формах инфекции у лиц с иммунодефицитными состояниями, включая инвалидность.

Практическая значимость исследования. Результаты исследований позволили разработать критерии прогнозирования течения оппортунистических инфекций у лиц с иммунодефицитными состояниями в остром периоде заболевания и обосновать необходимость диспансерного наблюдения для выявления активации инфекционного процесса и необходимости использования повторных и профилактических курсов противовирусного и иммуномодулирующего лечения.

Результаты исследования применяются в учебном процессе кафедр инфекционных болезней и эпидемиологии Омской государственной медицинской академии (ОмГМА), внедрены в работу Академического центра лабораторной диагностики ОмГМА и МУЗ «Городская инфекционная клиническая больница №1 им. Далматова Д.М.» г. Омска, территориальных центров по профилактике и борьбе со СПИД.

Апробация работы и публикации. Материалы диссертации доложены на форуме «Дни иммунологии в Санкт–Петербурге» (Санкт–Петербург, 2005; 2006), окружной научно–практической конференции «Диагностика ВИЧ-инфекции и СПИД-индикаторных заболеваний: проблемы и перспективы» (Омск, 2005), итоговой конференции «О состоянии и профилактике инвалидности в Омской области» (Омск, 2005), итоговой научной конференции инфекционной службы Омской области «Итоги работы инфекционной службы Омской области в 2004 году и задачи на 2005 год» (Омск, 2005), конференции, посвященной 75-летию кафедры

инфекционных болезней ОмГМА (Омск, 2005). По материалам диссертации опубликовано 20 работ, в том числе одна монография «Герпетическая инфекция: клиника, диагностика, некоторые аспекты терапии у ВИЧ-инфицированных» (Санкт-Петербург, 2005).

Диссертация апробирована на комиссии диссертационного совета при Омской государственной медицинской академии 23 октября 2006 года.

Структура и объем диссертации. Материал изложен на 145 страницах машинописного текста, иллюстрирован 22 таблицами, 10 рисунками. Работа состоит из введения, обзора литературы, трех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Исследования были выполнены на кафедре инфекционных болезней и в Центральной научно-исследовательской лаборатории Омской государственной медицинской академии, в инфекционной клинической больнице №1 им. Д.М. Далматова г. Омска и ФГУ «Главное бюро медико-социальной экспертизы по Омской области». Проведение настоящего диссертационного исследования предусматривало использование эпидемиологических, клинических, иммунологических, лабораторных и медико-статистических методов исследования. Для оценки распространенности оппортунистических инфекций были использованы результаты исследований за последние 15 лет (с 1992 по 2006 гг.) среди взрослого и детского населения Омской области. Моделями были выбраны токсоплазмоз (как паразитарная инвазия) и цитомегаловирусная инфекция.

Основным методом эпидемиологического мониторинга был иммуноферментный анализ (ИФА). С целью установления активности герпесвирусной и цитомегаловирусной инфекции применялся прямой метод диагностики – выявление антигенов в лейкоцитах крови по наличию «ранних белков» вирусов методом иммунофлюоресценции по методике Н.В. Каражас (2000) и ДНК ВПГ и ЦМВ методом полимеразной цепной реакции – ПЦР (реагенты и оборудование ООО «Интерлабсервис», г. Москва).

Для выявления специфических антител классов IgM, IgA и IgG, а также для установления (или исключения) первичной инфекции методом ИФА определяли низкоavidные «ранние» специфические антитела класса IgG в сыворотке крови с помощью тест-систем производства ЗАО «Лабдиагностика» (г. Москва) и фирмы «Euroimmun» (Германия). Avidность выражали в соответствии с прилагаемой к тест-системам инструкцией как индекс avidности (ИА) в процентном отношении. Для подтверждения диагноза использовали метод Western-blot (фирмы «Euroimmun» и «Immundiagnostik», Германия).

Изучались количественные и функциональные показатели клеточного, гуморального и фагоцитарного звеньев иммунитета, проводилась оценка системы комплемента и интерфероновой системы. С этой целью в

периферической крови определялось общее количество лейкоцитов, подсчитывалась лейкоцитарная формула. Функциональную активность нейтрофилов оценивали по величине фагоцитарного числа, фагоцитарного индекса и индекса завершенности фагоцитоза со стафилококком (В.М. Земсков, 1984). Анализ кислородного метаболизма нейтрофилов использовали с помощью НСТ-теста (Б.С. Нагоев, 1981). Гуморальное звено иммунитета оценивали по содержанию основных классов иммуноглобулинов IgM, IgA и IgG методом турбидиметрии. Иммунные комплексы выявляли методом селективной преципитации комплексов «антиген-антитело». Фенотипический состав лимфоцитов периферической крови оценивали по наличию мембранных дифференцировочных и активационных антигенов методом непрямой иммунофлюоресценции с использованием моноклональных антител к следующим детерминантам: CD3, CD4, CD8, CD16, CD19, HLA-DR (Е.А. Афримзон, 1996).

У всех больных диагноз был выставлен на основании эпидемиологических и клинических данных, подтвержден лабораторными методами и сформулирован в соответствии с международной классификацией болезней 10-го пересмотра (МКБ-10) и классификацией В.И. Покровского (2001).

Математическая обработка включала расчет средней арифметической (M), среднего арифметического отклонения. Статистическая обработка полученных результатов проведена с применением непараметрических методов статистики (Е.В. Гублер, 1973; С. Гланц, 1998; В.П. Боровиков, 2001; О.Ю. Реброва, 2002). Когда число наблюдений было не велико, применялся точный метод Фишера (Ртмф) и критерий Вилкоксона–Манна–Уитни (U). Значение Ртмф в ряде случаев позволяет сравнить статистическую значимость различий в парах распределений различной численности, что особенно важно для клинических наблюдений. При составлении прогностического алгоритма использовалась неоднородная последовательная процедура распознавания Вальда (Е.В. Гублер, 1973).

Клиническая характеристика больных и методы исследования. В работе представлены результаты обследования 533 пациентов с оппортунистическими инфекциями на фоне иммунодефицитных состояний, проходивших стационарное лечение в ГИКБ №1 им. Д.М. Далматова г. Омска; 237 ВИЧ-инфицированных больных, находящихся под диспансерном наблюдением в Омском областном центре по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями. Проведен анализ первичной инвалидизации у 83 лиц вследствие оппортунистических инфекций на примере детей со статусом «ребенок-инвалид» (с врожденной формой заболевания).

Результаты и обсуждение

Эпидемиологическая характеристика токсоплазмоза в Омской области

«Точкой отсчета» в наших исследованиях является 1992 г., когда уровень инфицированности токсоплазмами составил 14,4% случаев, и мы расценили его как «стартовый» для дальнейшего эпидемиологического надзора за данной инвазией. Была проведена сравнительная оценка состояния иммунореактивности к *T. gondii* в различных группах населения за три пятилетних периода: 1992-1996 гг. (I период наблюдения), 1997-2001 гг. (II период наблюдения) и 2002-2006 гг. (III период наблюдения). Результаты исследований представлены в табл. 1.

Эпидемиологические исследования распространенности во времени показали рост серопозитивности к токсоплазмам в 2,0 раза ($p < 0,001$) по сравнению с I периодом наблюдения, и в настоящее время она в целом составляет 31,6,0%. В I периоде наблюдений у женщин антитела к *T. gondii* выявлялись в 1,4 раза чаще, чем у мужчин, а на последнем этапе – в 1,7 раза чаще ($p < 0,01$).

Таблица 1

Частота выявления антител класса IgG к *T.gondii* методом ИФА в различных группах населения Омской области при случайной и целевой выборке в 1992-2006 гг. (в различные периоды наблюдения)

Группа	I период 1992-1996 гг.		II период 1997-2001 гг.		III период 2002-2006 гг.	
	n	ИФА(+)	n	ИФА(+)	n	ИФА(+)
	<i>Целевая выборка</i>					
Взрослые с подозрением на токсоплазмоз (I)	481	101 21,0±0,64% ***	689	219 31,8±1,77% ###,***,^^	795	316 39,7±1,27% ###,***,^^
Женщины с отягощенным акушерским анамнезом (II)	603	113 18,7±0,61% #,**	1033	368 35,6±1,49% ###,***,^^^	908	449 49,4±1,29% ###,***,^^^
Беременные (III)	1801	201 11,2±0,50%	4892	910 18,6±0,56% *,^	2672	670 25,1±0,96% *,^^^
Беременные с угрозой прерывания беременности (IV)	348	81 23,3±0,67% ##,**	1423	474 33,3±1,25% ###,***,^^	1245	482 38,7±0,80% ###,***,^^
Матери с детьми с внутриутробной инфекцией (V)	801	171 21,3±0,64% ##,**	1490	435 29,9±1,19% ###,***,^^	1362	503 36,9±0,76% ##,***,^^
Дети с подозрением на токсоплазмоз (VI)	2883	565 19,6±0,74% ###	608	179 29,4±1,85% ###,^^	1338	534 39,9±0,95% ###,^^^
<i>Контроль</i>						
Доноры (VII)	711	70 9,8±1,12%	812	119 14,7±1,05% ^	804	145 18,0±1,22% ^^^
<i>Случайная выборка</i>						
Дети (VIII)	322	16 5,0±1,21%	584	57 9,8±1,23%	559	65 11,6±0,98%

				^^		^^^
Взрослые (IX)	501	52 10,4±1,01%	930	148 15,9±1,20% ^^	880	177 20,1±1,05% ^^^
ВСЕГО	8451	1370 16,2±0,75%	12461	2909 23,3±0,60% ^^	10563	3341 31,6±0,56% ^^^

Примечание: *, **, *** - достоверные различия с контролем ($p < 0,05; 0,01; 0,001$); #, ##, ### - - достоверные различия с группой случайной выборки ($p < 0,05; 0,01; 0,001$); ^, ^^, ^^ - достоверные различия с соответствующими группами I периода наблюдения ($p < 0,05; 0,01; 0,001$).

При этом, если на первом этапе наблюдений у жителей сельской местности серопозитивность была выше в 1,4 раза, чем в городе, то в настоящее время отмечается рост показателя в 2,5 раза ($p < 0,001$) по сравнению с городскими жителями. Среди доноров антитела стали регистрироваться в 1,8 раза чаще ($p < 0,01$) по сравнению с I этапом исследований. При целевой выборке количество серопозитивных лиц регистрировалось в 1,7-1,8 раза чаще ($p < 0,01$), чем при случайной выборке. Представляет особый интерес достоверный рост серопозитивности среди детского населения - в 2,0 раза (II период наблюдений) и в 2,3 раза – за последние 5 лет (по сравнению с «точкой отсчета»), при этом при обследовании детей с подозрением на токсоплазмоз установлено, что этот показатель в 3,9 раза ($p < 0,001$) превышал показатель в группе сравнения в I периоде и в 3,4 раза ($p < 0,001$) – в III периоде наблюдения. Это, по нашему мнению, свидетельствует, с одной стороны, о росте распространенности токсоплазмоза в Омской области, а с другой стороны, - об эффективности диагностических мероприятий и настороженности врачей по отношению к токсоплазмозу. Среди взрослых, отобранных методом целевой выборки, на последующих этапах наблюдения также имел место рост показателя серопозитивности: антитела у них стали выявляться в 1,8 -2,3 раза чаще ($p < 0,01$) по сравнению со случайной выборкой в зависимости от выраженности иммунодефицита. В группе матерей, которые родили детей с симптомами врожденной инфекции, пороками развития, поражением ЦНС и глаз, IgG-антитела регистрировались у каждой пятой. На III этапе наблюдения в трех последних группах отмечается увеличение показателя: у женщин с угрозой прерывания - в 2,6 раза ($p < 0,001$); в группах IV и V - в 1,7 раза ($p < 0,01$).

В группе взрослых пациентов с клиническими проявлениями IgM выявлялись в 7,0%, среди беременных без патологии - в 5,2%, а среди беременных с угрозой прерывания они регистрировались в 2,2 раза чаще ($p < 0,001$) по сравнению с беременными без угрозы прерывания. Среди женщин с отягощенным акушерским анамнезом IgM-серопозитивных было также в 1,8 раза больше ($p < 0,01$); по сравнению с беременными, а при обследовании матерей достоверного различия показателя с III группой не установлено, что ориентирует на отдаленные сроки инфицирования. Результаты изучения авидности показали, что у беременных первичная

инфекция имела место в 4,2% случаев; признаки подострой формы отмечены в 6,09%. Во всех остальных случаях при наличии высокоавидных антител ситуацию расценивали как давнее инфицирование или хронический токсоплазмоз.

При оценке частота выявления специфических IgA у 550 человек из групп высокого риска установлено, что в 33% случаев при отсутствии специфических IgM были детектированы антитела этого класса иммуноглобулинов, что свидетельствовало в пользу активно текущей инфекции. У 22% пациентов из групп высокого риска в течение 7-10 месяцев этот тест оставался позитивным с некоторым снижением и даже повышением содержания токс-*IgA*: установлена средневыраженная положительная корреляционная связь ($r_s=+0,45$) с медленным нарастанием клинических проявлений (поражение ЦНС, офтальмопатология, гепатоспленомегалия, лимфаденопатия).

Результаты применения Western-blot показали, что для активной фазы инфекционного процесса наряду с наличием IgA характерно синтез антител к ROP1, MAG1, SAG1, GRA7 и GRA8 *T. gondii*. Сочетание этих показателей с низкоавидными IgG указывало на заболевание у 4 детей, а сроки заражения (до 3-х мес.) в трех случаях совпадали с эпидемиологическим анамнезом (контакт с кошками). При активации хронического процесса наличие IgA совпадало с присутствием белков ROP1, MAG1, SAG1, GRA7 и GRA8. При острой и подострой формах токсоплазмоза наличие IgA и белков ROP1 коррелировало с повышенным уровнем провоспалительных цитокинов TNF α и IL-1 β ($r=0,32$). Вместе с тем, хроническое течение сопровождалось низким содержанием изученных цитокинов.

Таким образом, проведенные нами исследования показали эффективность проводимого эпидемиологического и клинко-иммунологического мониторинга токсоплазмоза с использованием современных методов лабораторной диагностики.

Эпидемиологическая характеристика ЦМВИ в Омской области

Следующий фрагмент работы был посвящен изучению ЦМВИ. Для совершенствования системы эпидемиологического надзора за ней также проведен эпидемиологический мониторинг населения Омской области в течение 15 лет (с 1992 г. по 2006 г.) с «точкой отсчета» в 1992г., когда были получены положительные результаты на наличие антител к ЦМВ в 56,7% случаев. Результаты обследования 27 459 жителей Омской области представлены в табл. 2.

Эпидемиологические исследования распространенности во времени показали рост серопозитивности к ЦМВ в 1,3 раза ($p<0,01$) по сравнению с I периодом наблюдения, и в настоящее время она в целом составляет 88,8 %. Среди доноров антитела стали регистрироваться в 2,2 раза чаще ($p<0,001$) по сравнению с I этапом исследований. Отмечен рост серопозитивности при случайной выборке среди детского населения - в 1,5 раза (II период

наблюдений) и в 2,2 раза – за III период наблюдений (по сравнению с I периодом наблюдений). Обследование детей с подозрением на ЦМВИ показало, что среди детского населения этот показатель в 2,3 раза ($p < 0,001$) превышал показатель в группе сравнения в I периоде и в 1,5 раза ($p < 0,001$) – в III периоде наблюдения. Это, по нашему мнению, свидетельствует о росте инфицированности населения Омской области ЦМВ.

Среди взрослых, отобранных методом целевой выборки, на последующих этапах наблюдения также имел место рост показателя серопозитивности: антитела у них антитела стали выявляться в 1,2 раза чаще ($p < 0,05$). Учитывая, что уже на первом этапе наблюдений антитела в группах высокого риска выявлялись на достаточно высоком уровне (в 79,2-90,8%) и за 15-летний период произошел дальнейший рост инфицированности, то это заставляет изменить стратегию в отношении обследования взрослых, в том числе и беременных женщин, на данную инфекцию. С этих позиций, перинатальный скрининг на ЦМВИ с использованием общепринятых тестов (выявление специфических IgM и IgG методом ИФА) нельзя считать эффективным на данном этапе развития эпидемического процесса и экономически обоснованным.

Это подтверждает необходимость пересмотра алгоритма обследования детей и взрослых с использованием прямых методов выявления вируса (РИФ, ПЦР) и использование новых лабораторных тестов (определение авидности антител, иммуоблот).

Таблица 2

Частота выявления антител класса IgG к ЦМВ методом ИФА в различных группах населения Омской области при случайной и целевой выборке в 1992-2006 гг. (в различные периоды наблюдения)

Группа	I период		II период		III период	
	1992-1996 гг.		1997-2001 гг.		2002-2006 гг.	
	n	ИФА(+)	n	ИФА(+)	n	ИФА(+)
<i>Целевая выборка</i>						
Взрослые с подозрением на ЦМВИ (I)	937	757 80,8 ±1,29% ###,***	1348	1291 95,8± 0,55% ##,***	1130	1109 98,1±0,44% #,* , ^^
Женщины с отягощенным акушерским анамнезом (II)	634	544 85,8 ± ,39% ###,***	528	472 89,4 ± 1,34% ###,***	795	778 97,9±1,09% #,* , ^^
Беременные (III)	1953	1547 79,2 ±0,92% ###,***	2952	2548 86,3 ± ,63% ##,***	1010	902 89,3±1,44 ^

Беременные с угрозой прерывания беременности (IV)	508	446 87,8 ±1,45% ###,***	605	579 95,7 ± 0,82% ###,***	566	549 97,0±0,96% #,* ^
Матери детей с внутриутробной инфекцией (V)	458	416 90,8 ±1,35% ###,***	502	468 93,2 ± 1,12% ###,***	698	659 94,4±1,56%
Дети с подозрением на ЦМВИ (VI)	1144	658 57,5 ±1,46% ###	1710	1185 69,3 ± 1,16% ###,^^	946	760 80,3±1,98 ###,^^^
<i>Контроль</i>						
Доноры (VII)	852	328 38,5 ±1,68%	2170	1415 65,2 ± 1,02% ^^	780	671 86,0±2,24% ^^^
<i>Случайная выборка</i>						
Дети (VIII)	342	86 25,1±4,02%	517	196 37,9±3,74% ^^	450	248 55,1±2,98% ^^^
Взрослые (IX)	997	529 53,0±3,52%	1863	1397 75,0±1,96% ^^	1064	930 87,4±1,45% ^^^
ВСЕГО	7825	5311 67,9±1,90%	12195	9551 78,3±1,44% ^^	7439	6680 88,8±0,98% ^^^

Примечание: *, **, *** - достоверные различия с контролем ($p < 0,05; 0,01; 0,001$); #, ##, ### - достоверные различия с группой случайной выборки ($p < 0,05; 0,01; 0,001$); ^, ^^, ^^ - достоверные различия с соответствующими группами I периода наблюдения ($p < 0,05; 0,01; 0,001$).

Клиническая и лабораторная характеристика герпетической и цитомегаловирусной инфекции в группах высокого риска

Под наблюдением находились 241 пациент с оппортунистическими инфекциями, возникшими на фоне иммунодефицитных состояний, в том числе 58 мужчин и 183 женщины в возрасте от 16 до 52 лет (средний возраст $34,7 \pm 6,8$ года) с верифицированным диагнозом. Все пациенты были разделены на 3 группы. I группу составили 112 пациентов с герпесвирусными инфекциями, которые были подразделены на две подгруппы: IA – с ЦМВИ ($n=50$) и IB – с герпетической инфекцией ($n=62$). Во II группу вошли 32 пациента с токсоплазмозом. В III группу было включено 97 пациентов с микстинфекцией, у которых ЦМВИ и/или герпетическая инфекция сочеталась с токсоплазмозом или хламидиозом. Контрольную группу составили 35 доноров (средний возраст $29,2 \pm 2,9$ лет).

Анализ полученных данных показал, что герпесвирусные инфекции в 59,8% протекали в виде моно-инфекции и в 40,2% - в виде микстинфекции. Когортные исследования, проведенные в группе пациентов с ЦМВИ ($n=57$), показал различную частоту симптомов при моно- и микстинфекции.

Лимфаденопатия, субфебрилитет и астеновегетативные проявления встречались с одинаковой частотой в 80-96,9% случаев. При моноинфекции гепатомегалия регистрировалась в 1,8 раза чаще по сравнению с микстинфекцией, а при микстинфекции преобладала глазная форма, которая встречалась в 24,2% случаев – в 1,5 раза чаще, чем при моноинфекции и гораздо чаще (соответственно в 3,0 и в 3,8 раза;) отмечались признаки поражения урогенитального тракта и кожные проявления герпеса.

Во всех группах пациентов выявлены изменения со стороны моноцитарно-макрофагальной системы. В 52% случаев токсоплазмоза имела место эозинофилия, причем чаще в 2,2 раза она встречалась при моноинфекции во II группе. При смешанной инфекции иммунологические показатели были более выраженными, возможно, за счет дополнительной вирусной нагрузки на иммунную систему. Наиболее значимые изменения иммунореактивности установлены у пациентов с рецидивирующей герпетической инфекцией, особенно при микстинфекции, при этом лабораторные признаки вторичного иммунодефицита выявлены как в период обострения, так и в период ремиссии. Отмечалось существенное снижение содержания CD3+ и CD4+ (в 1,7-3,2 раза в зависимости от стадии заболевания ($p < 0,01$); на фоне повышения процентного и абсолютного содержания CD8-лимфоцитов. При микстинфекции в 1,8 раза ($p < 0,01$) чаще имело место снижение соотношения CD4/ CD8 – лимфоцитов. Установлено снижение фагоцитарного индекса: при микстинфекции в 2,8 раза ($p < 0,01$) чаще по сравнению с контролем страдало фагоцитарное звено.

Во всех группах отмечались однонаправленные изменения по сравнению с донорской группой в отношении продукции IgM, которая была увеличена в I группе в 1,8 раза ($p < 0,05$), во II группе – в 1,5 раза ($p < 0,05$) и в III группе – в 2,5 раза ($p < 0,01$). При этом в группе пациентов с вирусными инфекциями имело место увеличение концентрации общего IgA в 1,8 ($p < 0,005$); в группе больных токсоплазмозом и микст - инфекцией - в 1,5 ($p < 0,05$) раза и в 2,7 раза ($p < 0,01$), что коррелировало с продукцией специфических IgA и тяжестью заболевания ($r_s = 0,64$). Уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) превышал контрольное значение в 3,2; 2,4 и 4,5 раза соответственно по группам ($p < 0,01$).

Выявлена дискордантность изменений цитокинового профиля. Так, нами показано, что у 82% пациентов с оппортунистическими инфекциями содержание IL-1 β было снижено в 3,6 раза ($p < 0,01$), а у остальных пациентов отмечено его увеличение в 8,6–17,3 раза по сравнению с контрольными значениями ($p < 0,001$). В группе пациентов с токсоплазмозом содержание TNF α было повышено по сравнению с контролем в 2,1 раза ($p < 0,05$), при вирусных моноинфекциях - в 4,7 раза ($p < 0,001$), а при микстинфекциях – в 5,6 раза ($p < 0,01$).

При хронической вирусной инфекции (как при моно -, так и при микстинфекции) на фоне выраженной активности вирусов имел место дисбаланс системы интерферона, при этом сывороточный IFN γ определялся на уровне контрольных значений или ниже их на фоне резкого снижения

продукции $IFN\gamma$, что свидетельствовало о глубокой депрессии системы интерферона. Установлена сильная положительная корреляционная связь ($r_s=0,84$) между вирусемией и содержанием $IFN\gamma$ (рис.4)

Полученные результаты клинико-лабораторных исследований свидетельствуют о наличии иммунной дисфункции у больных токсоплазмозом и герпесвирусными инфекциями, наиболее выраженной при смешанной инфекции, а также о дискордантности изменений цитокинового профиля у данной категории пациентов.

Клиническая и лабораторная характеристика герпетической и цитомегаловирусной инфекции у ВИЧ-инфицированных лиц

При углубленном обследовании 237 ВИЧ-инфицированных пациента были разделены на 2 группы в зависимости от путей передачи I группа (151 человек) - пациенты с парентеральным путем передачи инфекции, и II группа (86 человек) - ВИЧ-инфицированные с половым путем передачи. Среди оппортунистических инфекций по распространенности первые два ранговых места занимают герпетическая и цитомегаловирусная инфекции. Серопозитивность по указанным инфекциям составляла в I группе ВИЧ-инфицированных - 100% случаев, во II группе у 90,69±3,13%, что указывало на их широкое распространение среди населения (табл. 3).

Таблица 3

Распространенность оппортунистических инфекций среди ВИЧ-инфицированных в Омской области за 1996-2006 гг.

Нозологические формы	Интенсивный показатель (на 1000 ВИЧ-инфицированных)	1 группа (с парентеральным путем передачи) n=151	2 группа (с половым путем передачи) n=86
Цитомегаловирусная инфекцией	966,24	151 100%	78 90,69 ±3,13%
Герпетическая инфекция	966,24	151 100%	78 90,69 ±3,13%
Токсоплазмоз	405,06	61 40,39 ± 3,99 %	35 40,69 ± 5,29 %
Хламидиоз	324,89	48 31,78 ±3,78%	29 33,72 ± 5,09 %
Кандидоз кожно-слизистых покровов	185,65	31 20,52 ± 3,28 %	13 15,1 ±3,86%
Микоплазмоз	92,82	19 12,58 ±2,69%*	3 3,48 ±1,97%

Примечание: * достоверность различий между 1-ой и 2-ой группами (U, $p<0,05$)

Нами установлено, что определение в крови антител класса IgM или существенное увеличение титров антител класса IgG к ЦМВ недостаточно для подтверждения диагноза манифестной ЦМВ-инфекции. Для констатации активности инфекционного процесса более информативным и достоверным является исследование лейкоцитов крови на наличие антигена ЦМВ с использованием РИФ, а также детекция ДНК ЦМВ методом ПЦР.

Антигенемия методом РИФ в I группе выявлялась в 3,9 раза чаще (χ^2 ; $p < 0,01$), чем во II группе. В наших наблюдениях у ВИЧ-инфицированных, у которых заражение ВИЧ происходило при реализации полового пути передачи обнаружение антиген/ДНКемии не сопровождалось манифестацией инфекции в виде клинических проявлений. Однако факт обнаружения ДНК ЦМВ в крови ВИЧ-инфицированных больных является неблагоприятным прогностическим признаком, свидетельствующим о возможности развития у них уже в течение последующего года манифестной ЦМВИ.

В связи с этим, следует признать целесообразность использования прямых методов диагностики (РИФ и ПЦР) в качестве основных диагностических и прогностических признаков.

Медико - социальные аспекты и критерии инвалидности вследствие токсоплазменной инвазии, герпетической и цитомегаловирусной инфекциях

Нами были отобраны акты освидетельствования 83 детей, направленных на медико-социальную экспертизу (форма 080У - 97), при углубленном обследовании которых был подтвержден диагноз токсоплазмоза, герпетической и/или цитомегаловирусной инфекции. Анализ показал, что 48 детей (57,9%) – это дети в возрасте от 0 до 3 лет, а дети в возрасте от 4 до 7 лет составляли 37,4%. При анализе материнских факторов риска установлено наличие неблагоприятного акушерско-гинекологического анамнеза у 92,8% детей. Обращал на себя внимание тот факт, что у 94% детей отмечались нарушения со стороны ЦНС, у 69,9% - нарушения со стороны органов зрения, у каждого четвертого ребенка - лимфаденопатия, у каждого второго – гепатомегалия (54,3%) и спленомегалия (42,2%). При этом у детей раннего возраста эти показатели были более выраженными: нарушения ЦНС встречались чаще в 1,6 раза ($p < 0,05$), патология глаз – в 1,5 раза ($p < 0,05$), патологические размеры головы вследствие прогрессирования гидроцефального синдрома – в 2,1 раза ($p < 0,01$), гепатомегалия – в 1,7 раза ($p < 0,5$).

В возрастной группе от 4 до 7 лет чаще отмечалась лимфаденопатия (в 64,7%) – в 2,2 раза ($p < 0,01$), спленомегалия регистрировалась практически с такой же частотой – в 51,5% случаев. Клинико-лабораторный мониторинг свидетельствовал о персистирующем характере токсоплазмоза, герпесвирусной и цитомегаловирусной инфекций с периодической реактивацией инфекционного агента, что обосновывает включение в стандарты реабилитации детей с врожденными формами оппортунистических инфекций методов оценки иммунного статуса и лабораторных методов, направленных на установление активности инфекционного процесса (детекция IgA к токсоплазмам и ВПГ, ИА IgG к ЦМВ и ВПГ, антигенов или ДНК методом РИФ или ПЦР соответственно).

ВЫВОДЫ:

1. В Омской области за последние 15 лет отмечается рост инфицированности населения возбудителями оппортунистических инфекций: токсоплазмами в 2 раза (31,6%) и ЦМВ в 1,3 раза (88,8%). При этом в группах высокого риска антитела к токсоплазмам стали выявляться чаще у детей в 2,1 раза, а у взрослых - в 1,7- 2,7 раза. Инфицированность ЦМВ у взрослых пациентов возросла в 1,1-1,3 раза и составило 89,3-98,2%, что обосновывает изменение стратегии перинатального скрининга на ЦМВИ.

2. Для оперативной верификации диагноза и клинико-лабораторного мониторинга целесообразно применять следующие методы диагностики: прямые методы (РИФ, ПЦР), направленные на детекцию антигена или ДНК возбудителя, определение низкоавидных антител и Western-blot, а при токсоплазмозе дополнительно IgA.

3. У ВИЧ-инфицированных лиц интенсивный показатель по распространенности токсоплазмоза составил 405,06; ЦМВИ и ВПГ-инфекции - 966,24 на 1000 ВИЧ-инфицированных. Использование прямых методов показало, что факт обнаружения ДНК или антигенов возбудителей в крови больных ВИЧ-инфекций является неблагоприятным прогностическим признаком, несмотря на отсутствие клинических проявлений и свидетельствует о возможной манифестации, как при половом, так и при парентеральном пути передачи.

4. Установлено влияние токсоплазм, ЦМВ и ВПГ на формирование персистирующей инфекции у детей с врожденными формами оппортунистических инфекций, имеющих статус «ребенок-инвалид», что обосновывает необходимость комплексного лабораторного обследования детей на этапах мониторинга здоровья с целью установления активности инфекционного процесса, реабилитационного прогноза и своевременной коррекции индивидуальных программ реабилитации.

5. Предложенный эпидемиологический и клинико-иммунологический мониторинг позволяет оптимизировать систему эпидемиологического надзора за токсоплазмозом и герпесвирусными инфекциями, оценить эпидемиологический риск и своевременно принять адекватные меры. На настоящем этапе ведущими уровнями профилактики оппортунистических инфекций являются вторичный и третичный уровни, позволяющие снизить частоту осложнений, улучшить исходы и прогноз.

Практические рекомендации

1. Для адекватной оценки эпидемиологической ситуации по оппортунистическим инфекциям в Омской области, оптимизации скрининга и диагностики целесообразно изменить стратегию и тактику обследования детского и взрослого населения на ЦМВИ и включить в алгоритм их обследования прямые методы диагностики (ПЦР, РИФ), а также выявление антител к отдельным белкам ЦМВ и токсоплазм методом Western-blot.

2. Диспансеризацию детей со статусом «ребенок-инвалид» вследствие ВУИ в Омской области следует проводить в течение длительного времени по месту стационарного лечения в консультативно-диагностическом кабинете инфекционного стационара с осмотрами необходимых

специалистов, проведением лабораторно-инструментальных исследований и реабилитационной терапии.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Запарий Н.С. Клинико-лабораторные аспекты моно- и микст-герпетической инфекции у взрослых больных в г. Омске / Н.С. Запарий, Т.И. Долгих // Актуальные проблемы обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения : материалы IV межрегион. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 60-летию каф. эпидемиологии и 80-летию каф. микробиологии ОмГМА. – Омск, 2003. – Т. 2 : Региональные проблемы обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения. – С. 183-187.
2. РИФ при офтальмогерпесе / А.В. Суров, Н.С. Запарий, С.В. Уманская, О.И. Лебедев, Т.И. Долгих // Избранные вопросы офтальмологии. – Тюмень, 2004. – С. 78.
3. Суров А.В. Особенности лабораторной диагностики при офтальмогерпесе / А.В. Суров, Н.С. Запарий, С.В. Уманская // Воспалительные заболевания органа зрения : материалы межрегион. науч.-практ. конф. – Челябинск, 2004. – С. 151-152.
4. Запарий Н.С. Особенности клинического течения ЦМВИ / Н.С. Запарий // Развитие международного сотрудничества в области изучения инфекционных заболеваний. – Новосибирск, 2004. – С. 179.
5. Иммунореактивность и цитокиновый профиль у больных токсоплазмозом / Т.И. Долгих, А.В. Калитин, Э.Ф. Зайкова, Н.С. Запарий, Н.Г. Гордиенко // «Мед. иммунология». – 2004. – С. 304-305.
6. Герпесвирусные инфекции и токсоплазмоз: эпидемиологические особенности и клинико-лабораторные параллели при моно- и микст-патологии / Т.И. Долгих, Н.С. Запарий, А.В. Калитин, Э.Ф. Зайкова, Н.В. Комарова // Актуальные проблемы здоровья населения Сибири: гигиенические и эпидемиологические аспекты : материалы 5 межрегион. науч.-практ. конф. с междунар. участием. – Омск, 2004. – Т. 2. – С. 212-219.
7. Запарий Н.С. Опыт применения ликопида при лечении офтальмогерпеса / Н.С. Запарий // Молодежь и медицинская наука в 21 веке : материалы 9 итоговой науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых с междунар. участием. – Киров, 2004. – С. 63-64. – (Прил. к журн «Вятский мед. вестн.»).
8. Токсоплазмоз: оптимизация диагностики на основе оценки иммунореактивности и интерферонового статуса / Т.И. Долгих, Н.С. Запарий, А.В. Калитин, Н.В. Комарова // «Мед. иммунология». – 2005. – С. 156-157.
9. Диагностическое значение определения низкоавидных JgG и JgA к *Toxoplasma gondii* в перинатологии / Т.И. Долгих, Н.С. Запарий, А.В. Калитин, Т.В. Кадцина, Н. Комарова // Иммунология репродукции : материалы конф. – «Рос. журн. Иммунологии» ; 2005. – С. 221-222. Т. 9, № 2).

10. Запарий Н.С. Интерфероновый статус при герпетической инфекции / Н.С. Запарий, К. Волкова, Р. Сабитов // Наука и образование : материалы междунар. науч.-тех. конф. – Мурманск, 2005. – Ч. 6. – С. 109-113.
11. Запарий Н.С. Иммунологические показатели при цитомегаловирусной инфекции / Н.С. Запарий, Е.П. Мельникова // Наука и образование : материалы междунар. науч.-тех. конф. – Мурманск, 2005. – Ч. 6. – С. 114-117.
12. Клинико-лабораторные параллели при герпесвирусных инфекциях, ассоциированных с токсоплазмозом и хламидиозом / Т.И. Долгих, Э.Ф. Зайкова, Н.С. Запарий, С.В. Уманская, А.В. Калитин // Оппортунистические инфекции: проблемы и перспективы / под ред. Ю.В. Редькина, О.А. Мирошника. – Омск, 2005. – Вып. 2. – С. 28-35.
13. Оппортунистические микст-инфекции в урогенитальной патологии женщин / Э.Ф. Зайкова, Л.И. Цыганкова, А.Д. Сафонов, Ю.В. Редькин, Н.С. Запарий, Т.Н. Редькина, О.А. Мирошник // Оппортунистические инфекции: проблемы и перспективы / под ред. Ю.В. Редькина, О.А. Мирошника. – Омск, 2005. – Вып. 2. – С. 43-46.
14. Герпетическая инфекция: клиника, диагностика, некоторые аспекты терапии у ВИЧ-инфицированных / А.Д. Сафонов, А.В. Краснов, А.А. Матущенко, Л.Д. Арсененко, Н.С. Запарий. – СПб. : Лисс, 2005. – 91 с. : 8 ил.
15. Клинико-лабораторные критерии диагностики и эффективности терапии герпеса у больных ВИЧ-инфекцией / А.Д. Сафонов, А.В. Краснов, Л.Д. Арсененко, А.А. Матущенко, Н.С. Запарий, Г.И. Климкина, Э.Ф. Зайкова, И.И. Пахунова // Материалы юбилейной конференции, посвященной 75-летию кафедры инфекционных болезней ОмГМА. «Омский науч. вестн.». – 2005. – № 4 – С. 118-122.
16. Долгих Т.И. Влияние токсоплазмоза и герпесвирусных инфекций на иммунореактивность организма // Т.И. Долгих, А.В. Калитин, Н.С. Запарий // Иммуитет и болезни: от теории к терапии : материалы междунар. конгр. – М., 2005. – С. 193.
17. Иммунодиагностика офтальмогерпеса при поражении заднего отдела глаза / А.В. Суров, Т.И. Долгих, О.И. Лебедев, Н.С. Запарий // Новые лабораторные технологии в диагностике и лечении заболеваний человека : материалы конф., посвящ. 25-летию ЦНИЛ ЧелГМА. – Челябинск, 2006. – С. 168-169.
18. Долгих Т.И. Токсоплазмоз: иммуноглобулин А к *Toxoplasma gondii* как диагностический и прогностический критерий / Т.И. Долгих, Ф.В. Носкова, Н.С. Запарий // Инфекционные болезни: проблемы здравоохранения и военной медицины : науч.-практ. конф., посвящ. 110-летию кафедры инфекц. болезней Воен.-мед. акад. им. С.М. Кирова. – СПб., 2006. – С. 98.
19. Запарий Н.С. Изучение терапевтической эффективности препарата аллокин-альфа при лечении рецидивирующей герпесвирусной инфекции / Н.С. Запарий // Проблемы инфекционной патологии в регионах Сибири, Дальнего Востока и Крайнего Севера : (тез. докл.). – Новосибирск, 2006. – С. 85-86.

20. Долгих Т.И. Опыт применения WESTERN – BLOT в комплексной диагностике токсоплазмоза / Т.И. Долгих, Ф.В. Носкова, Н.С. Запарий //«Медицинская иммунология». – 2006. – С. 418-419.

На правах рукописи

ЗАПАРИЙ
Наталья Сергеевна
**ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ И КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ
ХАРАКТЕРИСТИКА АКТУАЛЬНЫХ ОПОРТУНИСТИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЙ В
ГРУППАХ ВЫСОКОГО РИСКА**
14.00.30-эпидемиология
14.00.10-инфекционные болезни

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

ОМСК-2006

Подписано в печать 23.11.06
Формат 60*84/16
Бумага офсетная
П.л. – 1,0
Способ печати – оперативный
Тираж 100
Полиграфический центр Printa
644099, Омск, ул. Фрунзе 52; тел. 23-36-51