

На правах рукописи

КАДЦЫНА
Татьяна Владимировна

**ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ И КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ
АСПЕКТЫ ГЕРПЕСВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ У БЕРЕМЕННЫХ
ЖЕНЩИН
(ОПТИМИЗАЦИЯ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ)**

14.00.30-эпидемиология
14.00.01-акушерство и гинекология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

ОМСК-2007

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, профессор
доктор медицинских наук, профессор

Долгих Татьяна Ивановна
Бутова Елена Александровна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор
ГОУ Омской области «Медицинский колледж»

Боровский Игорь Владимирович

доктор медицинских наук, профессор
кафедра акушерства и гинекологии постдипломного образования ГОУ ВПО «ОмГМА Росздрава»

Безнощенко Галина Борисовна

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

Защита состоится «__» _____ 2007 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.065.03 при Омской государственной медицинской академии по адресу: 644043 г. Омск, ул. Ленина, 12.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Омской государственной медицинской академии.

Автореферат разослан «__» _____ 2007г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат медицинских наук, доцент

Р.Н. Готвальд

Общая характеристика работы

Актуальность исследования. Проблема внутриутробных инфекций (ВУИ) является одной из ведущих в акушерской практике в связи с высоким уровнем инфицирования беременных, опасностью нарушения развития плода и рождения больного ребенка (И.С. Сидорова, 2004). К группе риска по инфекционной патологии у матери, плода, новорожденного относится около 25% беременных, поступающих в акушерские стационары и перинатальные центры (В.Л. Тютюнник, 2004). Согласно результатам исследований отечественных ученых (Н.Е. Кан, 2004; В.И. Кулаков, 2003; О.И. Линева, 2004) частота ВУИ среди детей, рожденных живыми, колеблется от 27,4-36,6 до 65 % (в группе высокого инфекционного риска) и в структуре перинатальной смертности доля инфекции составляет 65,6%. В современных условиях происходит смена этиологически значимых инфекций перинатальной патологии, ведущая роль среди которых принадлежит цитомегаловирусной инфекции (ЦМВИ), инфекции, вызываемой вирусом простого герпеса (ВПГИ), хламидиозу, уреамикоплазмозу (Е.И. Боровкова, 2005). Европейское региональное бюро ВОЗ относит герпесвирусные инфекции в группу болезней, которые определяют будущее инфекционной патологии. Инфицированность и заболеваемость герпесом в общей популяции опережает скорость прироста населения Земли. В настоящее время отмечается значительный рост заболеваемости населения вирусными инфекциями, в том числе и женщин в период беременности (Э.К. Айламазян, 2000; А.В. Борисова, 1998; Н.В. Долгушина, 2004; Т.Б. Семенова, 2001). При этом острые (первичные) вирусные инфекции могут приводить как к потере беременности, так и к рождению детей с различными нарушениями в развитии. Хронические (латентные) инфекции, которые часто прогрессируют на фоне гестационной иммуносупрессии, редко приводят к порокам развития плода, однако частота патологии беременности (синдром потери плода, фетоплацентарная недостаточность, синдром задержки развития плода) коррелирует с таковой при острых вирусных заболеваниях (Н.В. Долгушина, 2004). Большая часть заболеваний беременных, приводящих к внутриутробному инфицированию плода, протекает без характерных клинических проявлений, что значительно затрудняет их диагностику в антенатальном периоде (Е.И. Боровкина, 2005; И.Н. Пасхина, 2004; L.G. Immergluck, 1998; J.D. Ross, 1993). Учитывая этот факт, важную роль приобретают результаты лабораторных методов диагностики. Несмотря на достаточное число методов, нет четких критериев диагностики активности вирусных (ЦМВ-, ВПГ-) инфекций, особенно во время беременности, что ведет к гипо- или гипердиагностике, к неадекватной этиотропной (антибактериальной, противовирусной), иммуномодулирующей терапии, а чаще к отсутствию какого-либо лечения. Результатом этого является высокое число случаев невынашивания беременности, рождение детей с проявлениями внутриутробных инфекций, сохранение показателя высокой младенческой смертности. В связи с этим, весьма актуальным для современного здравоохранения является оптимизация диагностики герпесвирусных инфекций у беременных с целью усовершенствования

тактики ведения женщин с данной патологией. Кроме того, мы не располагаем достаточными знаниями в области эпидемиологии и иммунологии герпесвирусных инфекций с учетом особенностей их течения при беременности, что и послужило основанием для проведения настоящего исследования.

Цель работы. Оптимизировать систему эпидемиологического надзора за герпесвирусными инфекциями у беременных на основе совершенствования лабораторной диагностики и тактики ведения женщин с данной патологией.

Задачи исследования:

1. Изучить распространенность герпесвирусных инфекций на модели цитомегаловирусной инфекции в Омской области и их возможное влияние на показатели перинатальной смертности и заболеваемости новорожденных.
2. Установить частоту первичного инфицирования цитомегаловирусом и реактивации у беременных женщин. Изучить иммунологические показатели у беременных с активным течением герпесвирусной инфекции. Оптимизировать диагностику герпесвирусных инфекций у беременных группы высокого перинатального риска и разработать критерии активности инфекционного процесса во время беременности.
3. Оценить в сравнительном аспекте эффективность стандартной терапии и комплексной терапии с использованием иммуномодулирующих препаратов у беременных с активным течением герпесвирусной инфекции. Установить частоту внутриутробных инфекций и характер проявлений у новорожденных.
4. Усовершенствовать информационное обеспечение системы эпидемиологического надзора за герпесвирусными инфекциями и построения программ вторичной и третичной профилактики.

Научная новизна работы.

Установлена распространенность и частота ЦМВИ у взрослого населения, в том числе у беременных. На основании комплексного обследования беременных разработаны рациональные методические приемы и алгоритмы комплексной лабораторной диагностики герпесвирусных инфекций во время беременности. Разработаны диагностические и прогностические критерии текущей внутриутробной герпесвирусной инфекции у женщин с рецидивирующей угрозой прерывания беременности, с острыми респираторными заболеваниями и с изменениями при ультразвуковом мониторинге. Доказано, что своевременная верификация диагноза и адекватная терапия позволяют улучшить исход беременности для матери и плода, снизить частоту перинатальной заболеваемости.

Практическая значимость исследования.

Проведенный эпидемиологический мониторинг ЦМВИ доказывает рост инфицированности герпесвирусными инфекциями населения Омской области в течение 15 лет, а также преобладание во время беременности реактивации над первичной инфекцией. Показана недостаточная эффективность перинатального скрининга на герпесвирусные инфекции (на примере ЦМВИ) с использованием общепринятых тестов (выявление специфических IgM и IgG методом ИФА) и подготовлены предложения по его оптимизации. Установлено, что при комплексной терапии угрозы прерывания,

ассоциированной с реактивацией ЦМВИ, ВПГИ, возможно значительное снижение осложнений беременности и родов, перинатальной заболеваемости.

Внедрение результатов исследования в практику.

Теоретические и клинические положения диссертационного исследования внедрены в учебный процесс подготовки студентов, интернов, ординаторов, а также курсантов на кафедрах эпидемиологии, акушерства и гинекологии, инфекционных болезней, детских болезней с курсом неонатологии, Академического центра лабораторной диагностики ГОУ ВПО «ОмГМА Росздрава», в работу МУЗ «Клинический родильный дом №4» и МУЗ «Клинический родильный дом №6». По результатам диссертации разработаны и внедрены методические рекомендации «Диагностика и лечение внутриутробных инфекций в акушерстве (хламидиоза, уреаплазмоза, микоплазмоза, герпетической инфекции, цитомегаловирусной инфекции) в акушерстве» – Омск, 2003. – 34 с; «Бактериальный вагинит и вагиноз, диагностика и лечение во время беременности» – Омск, 2004. – 20 с; «Герпесвирусные инфекции у беременных» - Омск, 2007. – 27 с.

Положения, выносимые на защиту.

1. В настоящее время на фоне роста инфицированности населения герпесвирусами у беременных чаще отмечается реактивация или суперинфекция ЦМВИ, чем первичная инфекция. На фоне снижения перинатальной смертности и ее составляющих отмечается рост заболеваемости новорожденных, в том числе внутриутробными инфекциями, увеличение числа врожденных пороков развития.
2. Комплексный подход к диагностике ЦМВИ и ВПГИ, включающий применение лабораторных методов, направленных на верификацию диагноза и оценку иммунореактивности у беременных, позволяет своевременно установить активность инфекционного процесса, что способствует проведению адекватной терапии. При реактивации герпесвирусной инфекции наблюдаются выраженные изменения в иммунной системе.
3. Улучшению исходов гестационного периода для матери и плода, снижению частоты перинатальной заболеваемости способствует применение иммуномодулирующих препаратов в комплексной терапии угрозы прерывания беременности, ассоциированной с реактивацией ЦМВИ, ВПГИ.
4. Представленные предложения по улучшению информационной базы обеспечивают разработку адекватных мероприятий, снижающих риск перинатального инфицирования, и повышают эффективность системы эпидемиологического надзора.

Апробация работы.

Основные положения диссертации и полученные результаты представлены на областной конференции «Профилактика гнойно- септических инфекций в акушерстве и гинекологии» (г. Омск, 2003), Российском конгрессе «Генитальные инфекции и патология шейки матки» (г. Москва, 2004), Российской научно-практической конференции «Инфекционные болезни: проблемы здравоохранения и военной медицины» (г. Санкт-Петербург, 2006), на заседании кафедры эпидемиологии ОмГМА (г. Омск, 2006); на совместном заседании проблемной комиссии «Гигиена, экология, эпидемиология, общественное здоровье и здравоохранение населения Омской области»

сотрудников кафедр эпидемиологии, акушерства и гинекологии №1 ГОУ ВПО ОмГМА Росздрава (г. Омск, 2007).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 7 научных работ, в которых отражены основные положения диссертации, в том числе 1 в издании, рекомендованном ВАК.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 169 страницах машинописного текста, содержит 31 таблицу и 12 рисунков. Состоит из введения, обзора литературы, главы материалов и методов исследования, 3 глав собственных исследований, заключения, выводов и списка литературы. Список литературы включает 238 источников, из них отечественных-163 и зарубежных-75.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Исследования были выполнены на базе Клинического родильного дома №4 и в Центральной научно-исследовательской лаборатории Омской государственной медицинской академии. Проведение настоящего диссертационного исследования предусматривало использование эпидемиологических, клинических, иммунологических, лабораторных и медико-статистических методов исследования. Для установления эпидемиологических особенностей перинатальных потерь для Омского региона был проведен анализ основных показателей по родовспоможению в сравнении с общероссийскими данными. При проведении анализа были использованы данные, предоставленные Министерством здравоохранения Омской области, Государственным учреждением «Научным центром акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН». Для оценки распространенности герпесвирусных инфекций использованы результаты исследований за последние 15 лет (с 1992г по 2006 г) среди взрослого и детского населения Омской области. Моделью была выбрана ЦМВИ. Основным методом эпидемиологического мониторинга был иммуноферментный анализ (ИФА). Проводили определение специфических антител классов IgM и IgG, для установления (или исключения) первичной инфекции определяли низкоavidные «ранние» специфические антитела класса IgG в сыворотке крови с помощью тест-систем производства ЗАО «Лабдиагностика» (г. Москва) и фирмы «Euroimmun» (Германия). Aвидность выражали в соответствии с прилагаемой к тест-системам инструкцией как индекс avidности (ИА). Для подтверждения диагноза использовали метод Western-blot (компании «Euroimmun» и «Microgen», Германия). С целью установления активности ВПГИ и ЦМВИ 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 «Литех» и ООО «Интерлабсервис», г. Москва). Содержание общих IgM, IgA, IgG, C₃- и C₄- компонентов комплемента проводили на автоматическом анализаторе белков «Turbox» (Финляндия). Иммунные комплексы выявляли методом селективной преципитации комплексов «антиген-антитело», а цитокины методом ИФА

(тест-системы производства ООО «Протеиновый контур», г. Санкт-Петербург).

Для оценки качества ведения беременных высокой степени перинатального риска проведен ретроспективный анализ 130 историй родов, дети которых входили в группу риска по внутриутробной инфекции и были переведены из родильного дома №4 г. Омска на второй этап выхаживания в отделение реанимации и интенсивной терапии Городского клинического перинатального центра. Для разработки методических подходов диагностики герпесвирусных инфекций у беременных, установления клинико-лабораторных и иммунологических параллелей за период 2004-2006 г. проведено обследование 60 беременных женщин и их 63 новорожденных. Все женщины исследуемых групп имели рецидивирующую угрозу прерывания беременности, ассоциированную ЦМВИ и ВПГИ, и были взяты под наблюдение во втором триместре беременности. Установление признаков активного течения вирусной инфекции проводилось в соответствии с предложенными критериями (Т.И. Долгих, 2005; В.И. Козлова, 2003; В.Н. Кузьмин, 2002; О.В. Макаров, 2006; А.П. Никонов, 2003; И.Н. Пасхина, 2004; Г.Т. Сухих, 1997; S.C. Munro, 2005). С целью оптимизации лечения женщины были разделены на основную и сравнимую группы. В комплексном лечении женщин с рецидивирующей угрозой прерывания, ассоциированной с ЦМВИ и ВПГИ, основной группы применялась иммуномодулирующая терапия (человеческий иммуноглобулин нормальный для внутривенного введения (РН№001594/012002), препарат «Виферон-1» (РН№000017/01)). Анализировалось течение адаптационного периода, показатели антропометрии, заболеваемость новорожденных, проводилось исследование крови новорожденных на ЦМВИ, ВПГИ с целью верификации диагноза. Наличие уреоплазмоза, микоплазмоза, хламидиоза, токсоплазмоза служили критериями исключения из данного исследования.

При анализе полученных данных были использованы приемы альтернативного анализа и описательной статистики (среднее арифметическое M , среднее квадратическое отклонение σ и средняя ошибка m). Применению вариационной статистики предшествовала проверка распределения индивидуальных значений на нормальность с помощью критериев Лиллиефорса или Шапиро - Уилса, оценка статистической значимости различий в группах при таких распределениях проводилась с помощью t -критерия Стьюдента. В случаях альтернативного распределения для оценки значимости различий в сравниваемых группах был использован критерий соответствия (χ^2 -квадрат), при малых числах наблюдений - с поправкой Йетса, а также критерий Вилкоксона-Манна-Уитни (U). Для идентификации связи между активностью течения герпесвирусной инфекции и результатами иммунологических исследований использован тетрафорический показатель связи между качественными признаками. Проведен информационно-энтропийный анализ сравниваемых групп с вычислением фактической (H факт.), максимальной (H макс.), относительной энтропии (h), избыточности (R). Математическая обработка полученных результатов проведена с применением соответствующих модулей ППП Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение Общей закономерностью последних лет для России, в том числе и для Омской области, является тенденция к увеличению рождаемости на 17,2 % и 25 % соответственно, со снижением перинатальной смертности (рис.1) и ее составляющих: ранней неонатальной смертности (рис.2), мертворождаемости (рис.3).

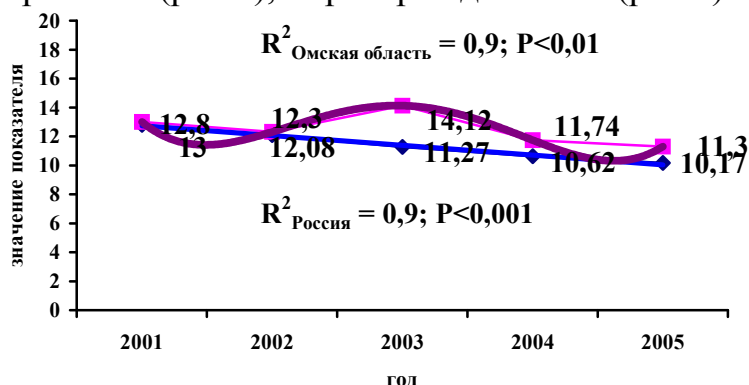


Рис.1 Перинатальная смертность в России и Омской области в 2001-2005 гг.

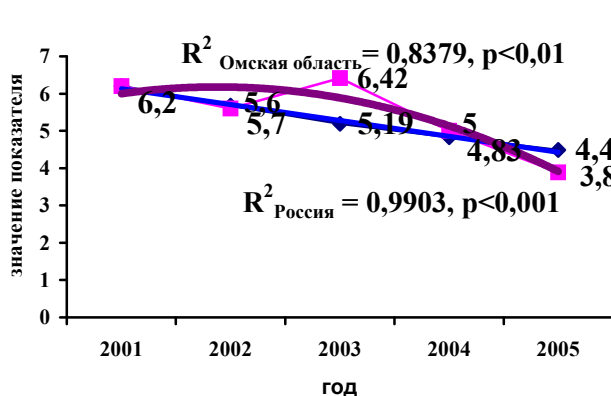


Рис.2 Ранняя неонатальная смертность в России и Омской области в 2001-2005гг

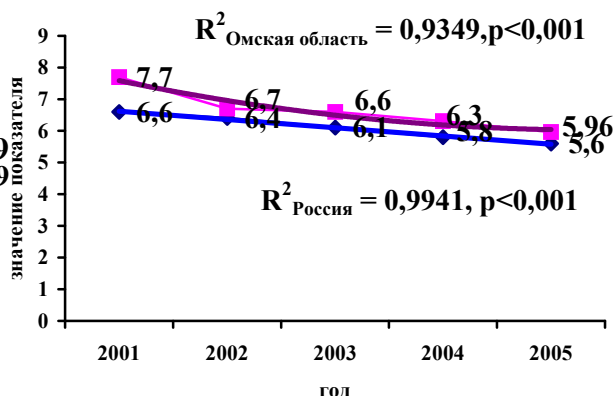


Рис.3 Мертворождаемость в России и Омской области в 2001-2005гг

При изучении структуры причин ранней неонатальной смертности на 10 000 среднемесячного числа родившихся живыми за период 2003-2005гг, оказалось, что на фоне тенденции снижения родовых травм (с 9,8 до 6,0) и врожденных аномалий развития (с 9,4 до 6,0), отмечено увеличение регистрации внутриутробных инфекций (с 13,9 до 17,1). Среди причин мертворождаемости на 1000 рожденных живыми и мертвыми отмечается тенденции уменьшения врожденных аномалий (с 0,6 до 0,5) и родовых травм (с 0,3 до 0,1), возрастает регистрация внутриутробных инфекций (с 0,1 до 0,3) и внутриутробной гипоксии, асфиксии в родах (с 5,6 до 6,1). Обращает на себя внимание тот факт, что на фоне снижения перинатальной смертности и ее составляющих выросла заболеваемость новорожденных (рис.4).

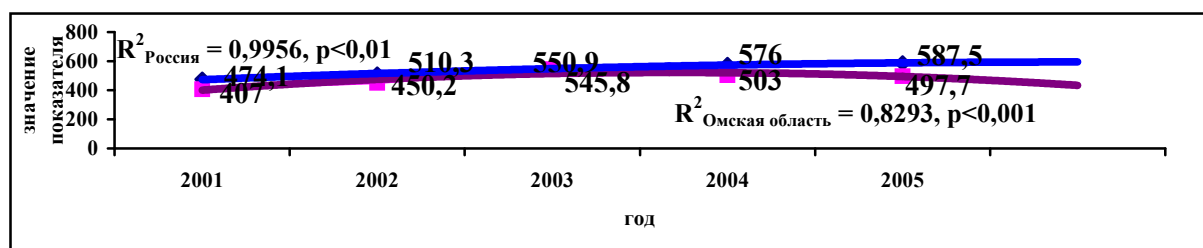


Рис.4 Заболеваемость новорожденных в России и Омской области в 2001-2005гг

Учитывая возможное влияние экстрагенитальной патологии на течение, исход беременности проведен анализ данных за 5 лет и установлено снижение экстрагенитальной заболеваемости по Омской области на 8,1 % (с 91,0 до 83,6 %). Подъем заболеваемости новорожденных на фоне снижения экстрагенитальной патологии беременных свидетельствует о возрастающей роли другого этиологического фактора, возможно инфекционного. Увеличение заболеваемости новорожденных может быть связано с ростом заболеваемости беременных герпесвирусными инфекциями. На сегодняшний день в данных официальной статистики отсутствует регистрация заболеваемости новорожденных вирусными инфекциями. Однако следует учитывать, что данные инфекции относятся к инфекционным болезням, специфичным для перинатального периода (МКБ X - P35). По данным Омского городского клинического перинатального центра, где на стационарном лечении находятся дети первых трех месяцев жизни, за последние 9 лет (1998-2006 гг.) отмечается рост внутриутробных инфекций в 3,5 раза ($p < 0,001$), а смертность от них возросла в 3,4 раза, при этом наиболее тяжелое течение имеют ЦМВИ, ВПГИ, протекающие в виде моно- или микст-инфекций (Т.И. Долгих, 2005; Н.В. Власенко, 2006). Инвалидность при герпесвирусных инфекциях в структуре детской инвалидности встречается с частотой $2,4 \pm 0,45$ на 1000 детей, госпитализированных в Городской неонатальный центр. ЦМВИ в 1,8 раз чаще является причиной инвалидизации недоношенных детей, а ВПГИ в 3,7 раз чаще - доношенных новорожденных (Н.В. Власенко, 2006). Все выше перечисленное указывает на необходимость совершенствования лабораторной диагностики герпесвирусных инфекций и тактики ведения беременных с данной патологией.

Эпидемиологическая характеристика ЦМВИ в Омской области

Второй фрагмент работы мы посвятили эпидемиологическому мониторингу герпесвирусных инфекций в Омской области. Моделью для анализа была выбрана цитомегаловирусная инфекция. «Точкой отсчета» в наших исследованиях является 1992г. Уровень серопозитивности к ЦМВ, составивший на начало исследований 56,7%, был расценен как «стартовый» для дальнейшего надзора за инфекцией. За 15 лет отмечен рост серопозитивности к ЦМВ в 1,3 раза и в настоящее время он составляет 94,8%.

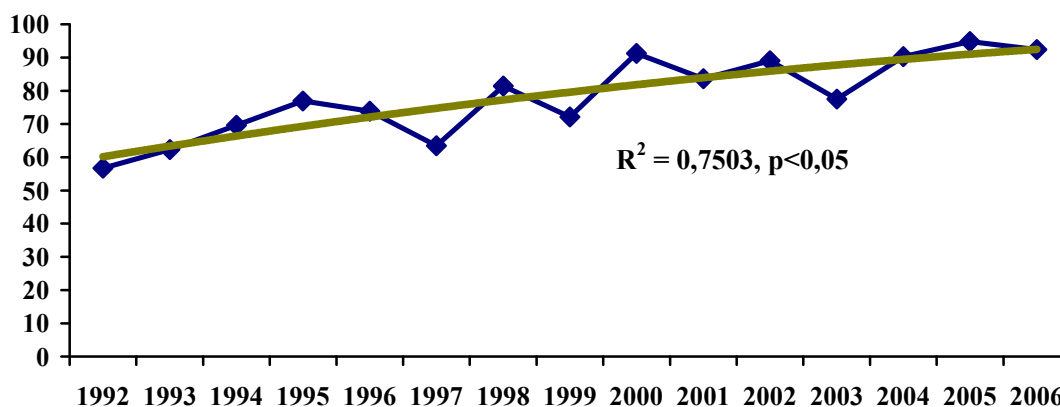


Рис.5 Уровень инфицированности ЦМВ населения Омской области

Если в I пятилетнем периоде наблюдений низкоавидные антитела, свидетельствующие о первичном инфицировании, определялись у 18,8% женщин с нормально протекающей беременностью, у 21,9 % женщин с косвенными признаками ВУИ при УЗИ и угрозой прерывания; у 26% женщин, родивших детей с признаками внутриутробной инфекцией и пороками развития, то в III периоде отмечено снижение их выявления до 10,7 %, 16,1% и 17,1% соответственно ($p<0,05$). Определение индекса авидности от 40 до 60% в данных группах, свидетельствующего о наличии реактивации инфекции, достоверно увеличилось. Так во II периоде наблюдения реактивация отмечалась чаще первичной инфекции в 1,6 раза в группе женщин с нормально протекающей беременностью ($p=0,03$) и в группе женщин с угрозой прерывания ($p=0,03$), в 1,5 раза - у женщин, родивших детей с признаками внутриутробной инфекции и пороками развития ($p=0,04$). В III периоде наблюдения среднеавидные антитела стали определяться в 2,4 раза чаще, чем низкоавидные антитела в исследуемых группах ($p<0,01$, $p<0,001$). При сравнении данных I и III периода наблюдения отмечено увеличение процента реактивации ЦМВИ в 1,5 раза у женщин с изменениями при УЗИ и угрозой прерывания беременности и у женщин, родивших детей с признаками внутриутробной инфекцией и пороками развития ($p<0,05$) (рис. 6).

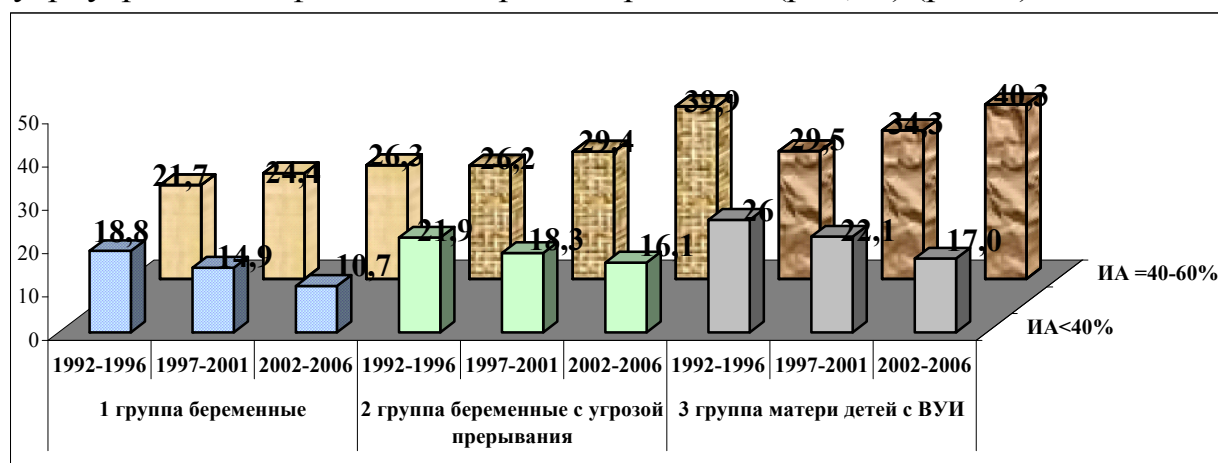


Рис.6 Авидность IgG к ЦМВ в группах целевой выборки в 1992 – 2006 гг

Таким образом, рост инфицированности населения Омской области в течение 15 лет до 92,4%, преобладание реактивации над первичной инфекцией в группах беременных целевой выборки обосновывают необходимость изменения программы скрининга на герпесвирусные инфекции.

Оценка качества ведения беременных с герпесвирусными инфекциями

При ретроспективном анализе 130 историй родов женщин группы высокого перинатального риска установлен высокий процент внутриутробных герпесвирусных инфекций у новорожденных (75 % от общего числа выявленных внутриутробных инфекций(12,1%)).

Следующий фрагмент работы был направлен на оптимизацию диагностики и лечения герпесвирусной инфекции во время беременности. При обследовании 15 женщин группы сравнения накануне родоразрешения было проведено определение связи между активностью течения герпесвирусной инфекции и результатами иммунологических исследований (Ag(ДНК) в лейкоцитах крови, ИА, определением IgM методом ИФА, обнаружением

высокоспецифичных белков методом Western-blot для ЦМВИ (pp28, pp65, pp130) и ВПГИ (gG1, gG2)). С этой целью был рассчитан тетракорический показатель связи. Группу контроля составили 10 женщин с физиологическим течением беременности.

Таблица 1

Результаты иммунологического тестирования активности инфекционного процесса у женщин с рецидивирующей угрозой прерывания беременности

Результаты сравниваемых методов	ВПГИ		ЦМВИ	
	Наличие Ag (ДНК)	r= 0,612	p<0.01*	r= 0,612
ИА<60%	r= 0,5	p>0.1	r= 0,612	p<0.01*
Наличие IgM	r= 0,408	p<0.05*	r= 0,356	p>0.1
Наличие диагностически значимых белков	r= 0,757	p<0.001*	r= 0,724	p<0.001*

*-достоверность различий

Результаты проведенного анализа свидетельствуют о наличии наиболее выраженной, достоверной связи между активностью инфекционного процесса и результатами определения Ag (ДНК), диагностически значимых белков теста Western-blot, ИА к ЦМВ. Не удалось установить статистически достоверной связи между активностью процесса и ИА к ВПГ. Таким образом, для проведения комплексной диагностики ЦМВИ и ВПГИ рекомендуем включать в алгоритм обследования беременных прямые методы с определением Ag (ДНК) вируса, метод Western-blot с обнаружением высокоспецифичных белков для ЦМВ (pp28, pp65, pp130) и ВПГ (gG1, gG2), ИА к ЦМВ.

Весомую роль в развитии осложнений беременности играет реактивация ЦМВИ, ВПГИ. Двукратная угроза прерывания до 20 недель беременности встречалась достоверно чаще в I группе - у 25 (83,3 %) беременных, чем в группе сравнения, где осложнение имело место у 16 (53,3%). После проведенного лечения, включающего антибактериальную и иммуномодулирующую терапию, рецидив угрозы прерывания отмечался лишь у 5 (16,7%) беременных I группы, тогда как на фоне только антибактериальной терапии третий курс сохраняющей терапии проведен у 14 (46,7%) женщин группы сравнения (p=0,0125). Обращает внимание частота нарушений влагалищной микрофлоры. Если в основной группе преобладали беременные с нормоценозом влагалищной микрофлоры – 16 (53,3%) (p<0,001), то в группе сравнения большая часть беременных имела бактериальный вагинит – 17(56,7%) и рецидивирующий дисбиоз влагалища - 10(33,3%) (p<0,05, p<0,01). Полученные данные свидетельствуют о том, что в группе сравнения сохранялся больший риск внутриутробного инфицирования, чем в основной группе, что согласуется с материалами о факторах риска, представленными в работах В.А. Анохина, 1999; Е.И. Боровковой, 2005; О.В. Макарова, 2006. Закономерным представляется и формирование фетоплацентарной недостаточности на фоне активно протекающей герпесвирусной инфекции. Среди пациенток, получавших в комплексе мероприятий иммуномодулирующие препараты, отмечено достоверное уменьшение данной патологии до 5 (16,7%) ($\chi^2 = 4,93$, n'=1, p=0,026). Во II

группе после традиционной сохраняющей терапии при проведении ультразвукового скрининга в 3 триместре отмечено увеличение случаев нарушения плодово-плацентарного кровотока ІВ степени до 11 (36,7 %) ($\chi^2 = 6,28$, $n'=1$, $p=0,012$). На конечный период во ІІ группе отмечалось в 5 раз чаще маловодие ($p=0,014$), имелись ультразвуковые признаки взвеси в водах в 6,7 %, утолщения плаценты в 3,3 %, при отсутствии таковых в І группе. Кальцинаты в плаценте имелись у 50 % беременных ІІ группы и лишь у 26,7 %- І группы ($p=0,05$), что свидетельствует о патологическом влиянии персистирующих в тканях вирусов и отсутствии положительного эффекта при использовании лишь антибактериальной терапии в стандартном лечении.

Осложненное течение гестационного периода у женщин без необходимой иммуномодулирующей терапии привело к развитию осложнений в процессе родов. Достоверно чаще встречалось несвоевременное излитие околоплодных вод у 18 (60,0%) женщин ІІ группы, с длительным безводным промежутком у 11 (36,7%), в сравнении с І группой, где данное осложнение имели 6 (20%) рожениц, с длительным безводным промежутком только в 1 случае (3,3%) ($p=0,001$). Хориоамнионит был диагностирован у 8 (26,7%) женщин ІІ группы и только у 2 (6,7%) І группы ($\chi^2 = 4,32$, $n'=1$, $p=0,038$), признаки синдрома системного воспалительного ответа 1-2 степени у 4 (13,3%) женщин ІІ группы при наличии только у одной в І группе ($\chi^2 = 4,29$, $n'=1$, $p=0,038$). Статистически значимые различия сравниваемых групп отмечались по срокам родоразрешения (рис.7). Так, в І группе роды у 22 (73,3 %) беременных произошли в срок, тогда как во ІІ группе – только у 12 (40 %) ($\chi^2 = 8,63$, $n'=3$, $p=0,045$).

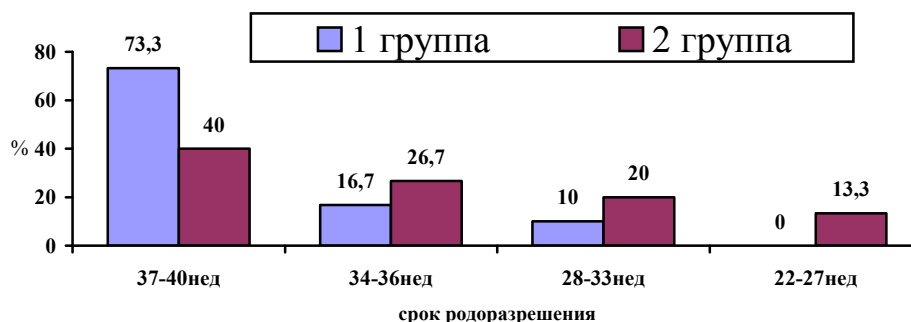


Рис.7 Сроки родоразрешения

Родоразрешение путем операции кесарево сечение проведено 7 (23,3 %) беременным І группы, из которых 2 родоразрешены в экстренном порядке, во ІІ группе прооперировано 5(16,7 %) беременных, из них 4 - по неотложным показаниям ($p>0,05$). Оперативное родоразрешение проведено только по акушерским показаниям.

Тяжелое состояние при рождении регистрировалось у 5 (16,7%) новорожденных ІІ группы, при отсутствии таковых в І группе; состояние средней тяжести у 20 (66,7%) новорожденных ІІ группы и у 12 (38,7%) – І, удовлетворительное состояние лишь у 5 (16,7%) новорожденных ІІ группы и у 19 (61,3%) – І группы ($\chi^2 = 4,73$, $n'=1$, $p=0,03$). У новорожденных ІІ группы диагностировалось более тяжелое поражение центральной нервной системы (церебральная ишемия (ЦИ) 3 степени – у 5 (16,7%) новорожденных, ЦИ 2 степени – у 20 (66,7%), ЦИ 1 степени – у 4 (13,3%)), в сравнении с І группой, где регистрировалась ЦИ 2 степени – у 12 (38,7%) и ЦИ 1 степени – у 12

(38,7%). Только во II группе диагностировали внутрижелудочковые кровоизлияния – у 4 (13,3%) новорожденных ($p=0,035$). Проявления респираторного дисстресс синдрома имели 12 (40%) новорожденных II группы и только 7 (22,6%) – I группы ($p>0,05$). Признаки задержки внутриутробного развития плода 1-2 степени были у 4 (13,3%) новорожденных II группы и только у 1 (3,2%) новорожденного I группы ($p>0,05$), а – недоношенности – у 18 (60,0%) новорожденных II и лишь у 8 (25,8%) – I группы ($p=0,007$). Достоверно чаще диагностирована внутриутробная герпесвирусная инфекция во II группе – у 14 (46,7%) детей, чем в I группе, где этот диагноз был поставлен 7 (22,6%) новорожденных ($p=0,048$). Патология легких, а также более частое формирование внутрижелудочковых кровоизлияний может свидетельствовать об участии вирусов в формировании эндотелиопатий (Н.В. Долгушина, 2004; D.A. Clark, 2001).

При гистологическом исследовании последов женщин сравниваемых групп были выявлены следующие особенности. Если в I группе достоверно чаще определялись компенсаторные изменения в плацентарной ткани - в 9 (30%) случаях, в сравнении с 2 (6,7%) - во II группе, а также диссоциированное развитие ворсин хориона - в 8 (26,7%) случаях, в сравнении с 1 (3,3%) - во II группе, то во II группе достоверно чаще определялась патологическая незрелость плаценты - в 11 (36,7%) случаях, в сравнении с 2 (6,7%) - в I группе, признаки дисциркуляторных воспалительных изменений с внутрисосудистым стазом крови и формированием множественных тромбов - в 8 (26,7%) случаях, в сравнении с 2 (6,7%) - в I группе и признаки хориоамнионита - в 8 (26,7%) случаях, в сравнении с 2 (6,7%) - в I группе. Полученные данные согласуются с литературными, согласно которым, при активном течение герпетической инфекции, провоспалительные цитокины усиливают выработку прокоагулянта fg12 эндотелием, что приводит к активации коагуляционных механизмов и образованию тромбов в сосудах трофобласта (D.A. Clark, 1999). При исследовании плацентарной ткани методом ПЦР в I группе имело место более редкое определение ДНК ВПГ - в 2 (11,1%) случаях, в сравнении с 10 (45,4%) - во II ($p=0,02$), а также ДНК ЦМВ - в 1 (5,5%) случаях, в сравнении с 5 (22,7%) - во II группе ($p>0,05$). Полученные данные подтверждают эффективность комплексного лечения с применением иммуномодулирующей терапии беременных, имеющих рецидивирующую угрозу прерывания, ассоциированную с реактивацией ЦМВИ, ВПГИ.

При оценке иммунореактивности организма беременной получены следующие результаты (табл. №2).

Таблица №2.

Иммунореактивность женщин с герпесвирусными инфекциями

показатели	1 группа			2 группа			контроль (n=35) M±m
	n	M±m	p	n	M±m	p	
C3	7	104,7±16,9	>0,05	10	141,6±9,04	<0,05*	100,6±12,1
C4	7	25,4±2,09	>0,05	11	25,71±2,48	>0,05	23,6±2,88
IgA	8	2,06±0,28	<0,05*	10	2,3±0,28	<0,05*	1,68±0,15

IgM	8	1,66±0,17	>0,05	10	2,45±0,258	<0,05*	1,55±0,13
IgG	8	12,05±1,1	>0,05	10	10,96±1,00	<0,05*	13,14±0,15
IgG1	11	8,88±0,56	>0,05	9	6,87±1,22	<0,05*	8,40±0,92
IgG2	11	6,02±0,69	<0,05*	9	5,73±1,26	<0,05*	6,15±0,71
IgG3	11	3,45±0,36	>0,05	9	4,22±1,04	<0,05*	3,20±0,47
IgG4	11	0,51±0,09	>0,05	9	0,55±0,10	>0,05	0,48±0,05
CIK	8	23,7±7,34	>0,05	10	22,1±4,3	>0,05	24,6±0,35
TNFα	11	37,7±1,59	<0,05*	14	50,1±3,2	<0,05*	2,17±0,16
И4	8	22,08±5,8	<0,05*	8	23,2±3,6	<0,05*	11,4±0,23
LF	8	846,4±30,3	>0,05	9	689,1±44,3	<0,05*	950,6±88,4

Примечание: *-достоверность различий (U – критерий)

Результаты исследования иммунного статуса свидетельствуют об активации Th1- иммунного ответа (достоверное увеличение цитокинов TNFα, C₃ и снижение И4) с запуском цитотоксической реакции и преждевременным прерыванием беременности под воздействием активной вирусной инфекции, что согласуется с результатами ранее проведенных исследований (О.В. Павлов, 2003; Д. Плейфер, 1998) Установленный при анализе показателей гуморального иммунитета сравнительно высокий уровень Ig M, со средними значениями 2,45±0,25г/л и IgA - 2,3±0,28г/л (p<0,05) свидетельствовали о запуске антителозависимой клеточной цитотоксичности в условиях активного течения вирусной инфекции. Более низкие значения IgG могут свидетельствовать о меньшем ограничительном влиянии иммунной системы на репликацию вируса в условиях отсутствия иммуноглобулинотерапии во время беременности при наличии активного течения герпесвирусной инфекции. Сниженное содержание субклассов IgG1 и IgG2 в группе сравнения указывает на большее супрессивное влияние вирусов при отсутствии иммуномодулирующей терапии. Достоверно меньшие значения содержания фактора неспецифической защиты – лактоферрина (LF) (689,1±44,3 нг/мл) в группе женщин с традиционной терапией рецидивирующей угрозы прерывания беременности свидетельствуют о выраженном влиянии вирусной инфекции на данное звено иммунитета, что подтверждает целесообразность проведения иммуноглобулиновой терапии при угрозе прерывания, связанной с реактивацией герпесвирусных инфекций.

Таким образом, клинко-статистический анализ и сравнительная оценка течения гестационного периода, исхода беременности и родов в условиях активного течения герпесвирусной инфекции, свидетельствует о значительной частоте акушерских осложнений у данного контингента женщин. Доказано, что проведение комплексного лечения, включающего иммуномодулирующие препараты, является эффективным в плане улучшения исходов родов и снижения перинатальной заболеваемости.

На основании полученных данных мы разработали рекомендации для создания экономически целесообразных программ перинатального скрининга, показав, что при обследовании на оппортунистические инфекции следует придерживаться следующих принципов: 1) применить комплексный подход к диагностике с учетом эпидемиологических, анамнестических, клинических и лабораторных данных, результатов функционального обследования, при этом у беременных обязательными являются определение показателей состояния

фетоплацентарной системы и уровень гормонов; 2) выявить моно- или микст-инфекцию; 3) установить форму инфекционного процесса и активность; 4) выделить ведущий этиологический фактор в формировании патологии; 5) выявить факторы риска, отягощающие течение инфекционного процесса и беременности (гормональную недостаточность; гестоз, синдром хронической фетоплацентарной недостаточности и др.).

Для проведения скринингового исследования на герпесвирусные инфекции целесообразно использовать иммуноферментный анализ. Известно, что при реактивации инфекции IgM могут выявляться лишь у 20% женщин (G.Nigro, 1999), поэтому необходимо проводить дообследование, используя более специфичные методы диагностики. Диагноз свежеприобретенной ЦМВИ ставится по наличию сероконверсии, а также по детекции низкоавидных антител. Если у инфицированных лиц происходит нарастание титра IgM-антител, то можно предположить суперинфекцию тем же штаммом или реинфекцию другим штаммом ЦМВ. О реактивации латентной ЦМВИ можно судить по изменению индекса авидности, по определению антител к высокоспецифичным белкам ЦМВ (pp28, pp65, pp130). Определение ДНК/антигена ЦМВ в лейкоцитарной взвеси оказывает значительную помощь в постановке клинического диагноза. Сопоставление серологических данных и обнаружение антигенов ЦМВ («ранних белков») или ДНК вируса помогают установить наличие острой, реактивирующей или персистирующей формы инфекции. О реактивации или суперинфекции ВПГИ можно судить по сероконверсии, а также по выявлению IgA. Как показали результаты нашего исследования, во время беременности в большинстве случаев при реактивации ВПГИ ИА остается высоким (>60%). Возможно, это связано с синтезом низкоавидных антител при первичном инфицировании преимущественно в детском возрасте, тогда как при реактивации во время гестационного иммунодефицита, продукция их замедлена. В связи с этим ИА к ВПГ имеет более низкую диагностическую и прогностическую информацию, чем при ЦМВИ. В данном случае важную роль приобретают прямые методы диагностики (ПЦР, РИФ), а также результаты иммуноблотинга. Особое значение следует уделять пациенткам при установлении микст-инфекции как одного из факторов риска инфицирования плода, при этом использование прямых и серологических методов диагностики (тесты по выявлению IgA и диагностически значимых белков методом Western-blot) позволяет выделить «лидирующую» инфекцию на данном этапе исследования.

Таблица 3

Лабораторные критерии активности герпесвирусных инфекций

Исследуемый материал	Метод	Лабораторные критерии активности
Цитомегаловирусная инфекция		
Лейкоцитарная взвесь, ликвор, слюна, моча, соскобы из уrogenитального тракта	ПЦР	ДНК(+)
	РИФ	Антиген(+) в лейкоцитарной взвеси, ликворе, материале соскоба
Сыворотка крови	ИФА	IgM, IgG низкоавидные (<40%) –острая инфекция, IgG среднеавидные (40-60%)-реактивация, завершение острого процесса
	Иммуноблот	Антитела к pp28, 65, 130

Герпетическая инфекция		
Лейкоцитарная взвесь, соскобы из уrogenитального тракта, ликвор	ПЦР	ДНК(+)
	РИФ	Антиген (+) в лейкоцитарной взвеси, ликворе, материале соскоба
Сыворотка крови	ИФА	Определение Ig A, M, низкоавидные Ig G (до 40%) - острая инфекция, IgG среднеавидные (40-60%) - реактивация, завершение острого процесса
	Иммуноблот	Антитела к gG1 при ВПГ-1 типа, gG2 при ВПГ2 типа

В плане профилактики внутриутробной инфекции у плода микст-инфекции особое внимание должно уделяться выявлению материнских факторов риска и их профилактике. При клиническом наблюдении за беременными было установлено, что при микст-инфицировании угроза прерывания остаётся практически весь период беременности.

Таким образом, лишь комплексный подход к диагностике считается наиболее эффективным при проведении скрининговых и диагностических исследований на герпесвирусные инфекции.

На основании полученных данных при совершенствовании эпидемиологического надзора за оппортунистическими инфекциями мы считаем целесообразно, выделить следующие информационные потоки:

- информация о преждевременных родах, о показателях, детской (младенческой) заболеваемости, инвалидности и смертности, связанной с внутриутробными инфекциями в целом и с герпесвирусными инфекциями, в частности;
- информация о случаях расхождения клинического и патологоанатомического диагнозов;
- информация о врожденных и внутриутробных инфекциях у беременных женщин и новорожденных детей с данными о частоте первичной инфекции и реактивации у беременных женщин и новорожденных детей;
- информация о факторах риска развития заболевания у беременных женщин, плода и новорожденных детей;
- информация об удельном весе моно- и микст-инфекции среди этих групп.

Кроме того, дополнительную информацию можно получить при анализе частоты клинически выраженных и атипичных форм герпетической инфекции и частоте ее распространенности у половых партнеров (при генитальном герпесе), но формирование данного потока представляет определенные трудности в связи с отсутствием регистрации герпесвирусных инфекций.

Таким образом, система эпидемиологического надзора за герпесвирусными инфекциями может быть эффективно реализована при условии заинтересованности в решении данной проблемы не только акушеров-гинекологов и эпидемиологов, но и других специалистов, соприкасающихся при исполнении своих служебных обязанностей с пациентами с данной патологией. Проводимые лечебно-диагностические мероприятия при наличии герпесвирусных инфекций у беременных женщин лежат в основе вторичной и третичной профилактики.

ВЫВОДЫ

1. В Омской области в течение последних 15 лет наблюдается рост цитомегаловирусной инфекции. В настоящее время уровень инфицирования цитомегаловирусом женщин детородного возраста составляет 92,4%. На этом фоне возросла частота перинатальных потерь, заболеваемости новорожденных.
2. Установлено, что у беременных женщин при патологии беременности чаще отмечается реактивация или суперинфекция ЦМВИ (в 39,9-40,3%), чем первичная инфекция, которая встречается в 16,1% случаев при угрозе прерывания.
3. При реактивации герпесвирусной инфекции наблюдаются выраженные изменения в иммунной системе. При рецидивирующей угрозе прерывания, ассоциированной с активным течением герпесвирусных инфекций, имеет место активация Th-1 типа иммунного ответа с увеличением содержания C₃-компонента комплемента, провоспалительного цитокина TNF- α , общего IgM и тенденцией к снижению субклассов IgG1 и IgG2 и лактоферрина, что свидетельствует о супрессивном влиянии герпесвирусов на иммунную систему и обосновывает применение иммуномодуляторов в комплексной терапии.
4. При оценке клиничко-лабораторных параллелей показана недостаточная эффективность широко используемой в здравоохранении диагностики герпесвирусных инфекций с определением только специфических IgM и IgG у женщин высокого перинатального риска, что обосновывает изменение стратегии обследования данного контингента с использованием дополнительных методов, направленных на выявление инфекции и оценку риска ее развития у беременной женщины и плода (новорожденного). Комплексный подход к диагностике ЦМВИ и ВПГИ, включающий метод, направленных на верификацию диагноза и оценку иммунореактивности у беременных, позволяет своевременно установить активность инфекционного процесса и провести адекватную терапию.
5. Применение иммуномодулирующих препаратов в комплексной терапии угрозы прерывания, ассоциированной с реактивацией ЦМВИ и ВПГИ, улучшает исходы беременности для матери и плода (новорожденного). При этом отмечается снижение частоты рецидивирующей угрозы прерывания беременности на 66,6% и преждевременных родов – на 33,3%, улучшение состояния плода – на 30%, уменьшение внутриутробных инфекций на 24,1%. Эффективность использованной схемы лечения подтверждены итоговыми интегральными оценками суммарных значений энтропий в ходе информационно-энтропийного анализа данных.
6. Представленные предложения по улучшению информационной базы обеспечивают разработку адекватных мероприятий, снижающих риск перинатального инфицирования, и повышают эффективность системы эпидемиологического надзора.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Особенности течения гестационного периода и родов у женщин с хронической плацентарной недостаточностью и инфекцией / Е.А. Бутова, Т.В. Кадцына // Журн. акушерства и женских болезней. – 2002. – Т. LI, № 1. – С. 19-24.
2. Особенности диагностики герпетической инфекции во время беременности / Е.А. Бутова, Т.И. Долгих, Т.В. Кадцына // Вестн. перинатологии, акушерства и гинекологии. – Красноярск, 2002. – Вып. 9. – С. 39-47.
3. Методы лабораторной диагностики цитомегаловирусной инфекции во время беременности / Е.А. Бутова, Т.И. Долгих, Т.В. Кадцына // Вестн. перинатологии, акушерства и гинекологии. – Красноярск, 2003. – Вып. 10. – С. 37-46.
4. Клинико-иммунологические аспекты микст-инфекции во время беременности / Е.А. Бутова, Т.И. Долгих, Т.В. Кадцына // Генитальные инфекции и патология шейки матки : материалы рос. конгресса. – М., 2004. – С. 7-8.
5. Герпесвирусные инфекции и преждевременные роды / Е.А. Бутова, Т.И. Долгих, Т.В. Кадцына // Инфекционные болезни: проблемы здравоохранения и военной медицины : материалы рос. науч.-практ. конф. – СПб., 2006. – С. 97-98.
6. Диагностическое значение определения низкоавидных IgG и IgA к *Toxoplasma gondii* в перинатологии / Т.И. Долгих, Н.С. Запарий, А.В. Калитин, Т.В. Кадцына, Н. Комарова // Иммунология репродукции : материалы конф. – 2005. – Т. 9, № 2. – С. 221-222. – (Прил. к «Рос. журн. иммунологии»).
7. Диагностика и лечение внутриутробных инфекций (хламидиоза, уреаплазмоза, микоплазмоза, герпетической инфекции, цитомегаловирусной инфекции) в акушерстве : метод. рекомендации / Е.А. Бутова, Т.И. Долгих, Т.В. Кадцына. – Омск, 2003. – 34 с.
8. Бактериальный вагинит и вагиноз, диагностика и лечение во время беременности : метод. рекомендации / Е.А. Бутова, Т.В. Кадцына, Т.В. Клинышкова. – Омск, 2004. – 20 с.
9. Герпесвирусные инфекции у беременных / Е.А. Бутова, Т.И. Долгих, Т.В. Кадцына : метод. рекомендации. – Омск, 2007. – 27 с.
10. Реагирование иммунной системы в условиях применения иммуномодулирующей терапии в комплексном лечении беременных с угрозой прерывания, ассоциированной с реактивацией герпесвирусной инфекции / Т.В. Кадцына // Омский науч. вестн. – Омск, 2007. – С. 33.

КАДЦЫНА
Татьяна Владимировна

**ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ И КЛИНИКО - ЛАБОРАТОРНЫЕ
АСПЕКТЫ ГЕРПЕСВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ У БЕРЕМЕННЫХ
ЖЕНЩИН. ОПТИМИЗАЦИЯ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ**

14.00.30-эпидемиология
14.00.01-акушерство и гинекология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

ОМСК-2007

Подписано в печать 04.10.07
Формат 60x84/16
п.л. 1,0