

УДК 616.9-056.717(575.2-25)

**ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ
МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ В ГОРОДЕ БИШКЕК**

Г.К. Садыбакасова

Исследуются больные и дети цитомегаловирусной инфекцией с помощью метода полимеразной цепной реакции (ПЦР). Полимеразная цепная реакция (ПЦР) обладает уникальной чувствительностью и специфичностью, с ее помощью можно анализировать различные клинические образцы. Суть ПЦР заключается в идентификации специфического участка молекулы дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) с последующим копированием или амплификацией этого участка с целью получения достаточного количества копий, которые могут быть выявлены доступными методами детекции. Выявление ДНК цитомегаловируса с методом ПЦР в исследуемом материале основано на обнаружении ДНК возбудителя в крови, слюне, мокроте, спинномозговой жидкости, бронхоальвеолярном секрете, биоптатах, мочи. Метод имеет наибольшее диагностическое значение как показатель активности процесса. В большинстве случаев отмечается выявление инфекций у обследованных взрослых на ПЦР к ДНК цитомегаловируса. Положительный результат обнаружен у 71 женщины: в возрасте от 21 до 30 лет – у 31 ($41,3 \pm 6,4$), от 30 до 40 лет – у 22 ($29,3 \pm 5,4$); у 41 мужчины: в возрасте от 21 до 30 лет – у 19 ($45,2 \pm 6,7$), от 30 до 40 лет – у 12 ($28,6 \pm 5,3$) пациентов.

Ключевые слова: цитомегаловирусная инфекция; взрослые; мужчины; женщины; дети; внутриутробная инфекция; полимеразноцепная реакция (ПЦР); высоко специфический метод; чувствительный метод.

**БИШКЕК ШААРЫНДА ПОЛИМЕРАЗ ЧЫНЖЫРЛУУ РЕАКЦИЯ ЫКМАСЫ МЕНЕН
ЦИТОМЕГАЛОВИРУС ООРУСУН ЛАБОРАТОРИЯЛЫК ЖАКТАН АНЫКТОО**

Г.К. Садыбакасова

Бул эмгекте цитомегаловирустук инфекция менен ооругандар жана балдар полимераз чынжыр реакциясы (ПЧР) ыкмасы менен изилденет. Полимераз чынжырлуу реакциясы (ПЧР) уникалдуу сезгичтикке жана өзгөчөлүүлүккө ээ жана ар кандай клиникалык үлгүлөрдү талдоого алуу үчүн колдонулушу мүмкүн. ПЧРдин маңызы дезоксирибонуклеин кислотасынын (ДНК) белгилүү бир аймагын идентификациялоодо, андан кийин жеткиликтүү аныктоо методдору аркылуу табууга мүмкүн болгон жетиштүү сандагы нускаларды алуу үчүн бул аймакты көчүрүү же күчөтүү болуп саналат. Цитомегаловирустун ДНКсын ПЧР менен аныктоо. Бул ыкма патогендин ДНКсын кан, шилекей, какырык, мээ жүлүн суюктугу, бронхоальвеолярдык секреция, биопсия жана заарада аныктоого негизделген. Процесс активдүүлүгүнүн көрсөткүчү катары методика эң чоң диагностикалык мааниге ээ. ПЧР аркылуу ДНК цитомегаловирусуна текшерилген чоңдордо инфекцияны аныктоонун көпчүлүк бөлүгү оң натыйжа 71 аялда, алардын ичинен 21 жаштан 30 жашка чейин – 31де ($41,3 \pm 6,4$), 31ден 40 жашка чейин – 22де ($29,3 \pm 5,4$), ал эми 41 эркектерде, алардын ичинен 21 жаштан 30 жашка чейин – 19да ($45,2 \pm 6,7$), 31ден 40 жашка чейин – 12де ($28,6 \pm 5,3$) аныкталган.

Түйүндүү сөздөр: цитомегаловирус инфекциясы (ЦМВИ); чоңдор; балдар; эркектер; аялдар; жатын ичиндеги цитомегаловирус инфекциясы; полимераздык; чынжырлуу реакция (ПЧР); өтө конкреттуу; сезгич ыкма.

**LABORATORY DIAGNOSTICS OF CYTOMEGALOVIRUS INFECTION
BY POLYMERASE CHAIN REACTION BISHKEK CITY**

G.K. Sadybakasova

The work is devoted to the study of patients and children with cytomegalovirus infection using the polymerase chain reaction (PCR) method. Polymerase chain reaction (PCR) has unique sensitivity and specificity. Various clinical samples can be analyzed using PCR. The essence of PCR is the identification of a specific region of the DNA molecule,

followed by copying or amplification of this region in order to obtain a sufficient number of copies that can be detected by available detection methods. Detection of cytomegalovirus DNA by PCR. The method is based on the detection of the pathogen DNA in blood, saliva, sputum, cerebrospinal fluid, bronchoalveolar secretions, biopsies, urine. The method has the greatest diagnostic value as an indicator of the activity of the process. Most of the detection of infection in examined adults on PCR to CMV was found to be positive in 71 women: at the age of 21 to 30 years – in 31 (41.3 ± 6.4), from 30 to 40 years – in 22 (29.3 ± 5.4), and in 41 men, aged 21 to 30 – in 19 (45.2 ± 6.7), from 30 to 40 years – in 12 (28.3 ± 5.3) patients.

Keywords: cytomegalovirus infection; adults; men; women; children; intrauterine infection; polymerase chain reaction (PCR); highly specific; sensitive method.

Цитомегаловирусная инфекция имеет широкое распространение и является особо важной темой среди большого количества патологических процессов, которая затрагивает здоровье матери и ребенка. ЦМВИ в 1984 г. решением Европейского регионального бюро ВОЗ была включена в группу заболеваний, при наличии которых можно определить возможные инфекционные патологии [1]. Дополнительно ЦМВИ Европейским региональным бюро была включена в «TORCH-синдром» внутриутробной инфекционной патологии. Термин «TORCH-синдром» используется для обозначения внутриутробных клинических проявлений инфекции. Аббревиатуру «TORCH» можно охарактеризовать как Т (toxoplasmosis) – токсоплазмоз, О (other) – другие инфекции, к которым относят вирусные гепатиты, вирус иммунодефицита человека – ВИЧ-инфекцию, энтеровирусную инфекцию, сифилис, ветряную оспу, хламидиоз и др., R (rubella) – краснуху; С (cytomegalovirus) – цитомегалия; Н (herpes simplex virus) – герпес [2].

Цитомегаловирусная инфекция может стать причиной невынашивания беременности, многоводия, мертворожденности, преждевременных родов, внутриутробного инфицирования, пороков развития и гибели плода. Высокое процентное соотношение при осложнениях беременности, врожденной патологии плода, родов, перинатальной заболеваемости, смертности новорожденного, внутриутробного инфицирования может быть связано с цитомегаловирусной инфекцией (ЦМВИ) [3, 4].

Цитомегаловирусная внутриутробная инфекция развивается у 27,4–36,6 % детей, рожденных живыми. ЦМВИ занимает 1–3-е место среди причин смертности у новорожденных детей, которая составляет от 11 до 45 % потерь, у мертворожденных детей статистика показывает 14,9–16,8 % [4].

Цитомегаловирус поражает многие органы и ткани с разнообразными клиническими проявлениями, начиная от пожизненной латентной формы до тяжелой острой генерализованной с летальным исходом, выраженность которых зависит от иммунного статуса больного. Клинически выраженные формы ЦМВИ могут вызывать тяжелую патологию, вплоть до гибели ребенка [5].

CMV инфицированы большинство людей репродуктивного возраста, инфекция носит в основном латентный характер. Активируется цитомегаловирус в организме человека при различных неблагоприятных факторах. Это могут быть, например, стресс, переутомление, гиповитаминоз, переохлаждение, интоксикация, различные инфекции в ассоциации и др., приводящие к ослаблению защитного механизма иммунной системы, снижению специфичности и неспецифичности резистентности организма человека. Как правило, при беременности равновесие между защитной системой и вирусом нарушается, что приводит к активному развитию инфекции внутри организма и впоследствии может привести к тяжелому состоянию матери и плода [5, 6].

При многолетнем изучении ЦМВИ учеными со всего мира было установлено, что ЦМВИ – это инфекция социальной значимости. Также удалось установить, что основной причиной отторжения трансплантата при трансплантологии является активация ЦМВИ.

В Германии большинство исследователей сошлись во мнении, что определить у больного окончательный диагноз можно при наличии специфических IgG-антител и положительной ПЦР.

Основной **целью** исследования является изучение инфицированных больных цитомегаловирусной инфекцией (ЦМВИ) молекулярно-генетическим методом (ПЦР) в г. Бишкек.

Таблица 1 – Возрастные аспекты цитомегаловирусной инфекции на ПЦР
(в лаборатории «HUMAN» г. Бишкек)

Возраст, лет Пол	0–1	1–10	11–16	17–20	20–30	30–40	40 лет и старше	Всего
	абс. ч.	абс. ч.						
	% (p ± m)	% (p ± m)						
Девочки и женщины	5	3	4	16	102	73	32	235
	2,1 ± 1,4	1,3 ± 1,1	1,7 ± 1,3	6,8 ± 2,6	43,4 ± 6,5	31,1 ± 5,5	13,6 ± 3,6	61,5 ± 7,8
Мальчики и мужчины	2	1	2	8	65	50	19	147
	1,4 ± 1,1	0,7 ± 0,8	1,4 ± 1,1	5,4 ± 2,3	44,2 ± 6,6	34,0 ± 5,8	12,9 ± 3,5	38,5 ± 6,2
Всего	7	4	6	24	167	123	51	382
	1,8 ± 1,3	1,0 ± 1,0	1,6 ± 1,2	6,3 ± 2,5	43,7 ± 6,6	32,2 ± 5,6	13,4 ± 3,6	100 %

Таблица 2 – Лабораторная диагностика на ПЦР (полимеразноцепная реакция)

Возраст, лет	Всего	Ж		М	
		не обнаружено	обнаружено	не обнаружено	обнаружено
		абс. ч.	абс. ч.	абс. ч.	абс. ч.
	% (p ± m)	% (p ± m)	% (p ± m)	% (p ± m)	% (p ± m)
0–1 год	7	3	2	1	1
	1,8 ± 1,3	1,9 ± 1,3	2,7 ± 1,6	1,0 ± 1,0	2,4 ± 1,5
1–10	4	2	1	1	-
	1,0 ± 1,0	1,3 ± 1,1	1,3 ± 1,1	1,0 ± 1,0	-
10–16	6	3	1	2	-
	1,6 ± 1,2	1,9 ± 1,3	1,3 ± 1,1	1,9 ± 1,3	-
6–20	24	10	6	5	3
	6,3 ± 2,5	6,3 ± 2,5	8,0 ± 2,8	4,8 ± 2,1	7,1 ± 2,6
20–30	167	71	31	46	19
	43,7 ± 6,6	44,2 ± 6,6	41,3 ± 6,4	43,8 ± 6,6	45,2 ± 6,7
30–40	123	51	22	38	12
	32,2 ± 5,6	31,9 ± 5,6	29,3 ± 5,4	36,2 ± 6,0	28,6 ± 5,3
От 40 лет и стар- ше 40 лет	51	20	12	12	7
	13,4 ± 3,6	12,5 ± 3,5	16,0 ± 4,0	11,4 ± 3,3	16,7 ± 4,0
Итоги	382	160	75	105	42
		41,9 ± 6,4	19,6 ± 4,4	27,5 ± 5,2	11,0 ± 3,3
		235		147	
		61,5 ± 7,8		38,5 ± 6,2	

Материалы и методы исследования. Наиболее достоверный, доступный метод диагностики цитомегаловирусной инфекции (ЦМВИ – определение ДНК вируса методом ПЦР. Полимеразная цепная реакция – высоко специфический и чувствительный метод, основанный на выявлении ДНК возбудителя, отличающийся высокой точностью индикации. Метод имеет наибольшее диагностическое значение как показатель активности процесса.

При исследовании основным материалом является набранная с антикоагулянтном кровь, и/или сыворотка крови, бронхоальвеолярный секрет, слезная и спинномозговая жидкости, слюна, моча, мокрота, биоптаты, лизаты клеток [6]. После забора проб крови анализ делается немедленно, либо пробу необходимо хранить в замороженном состоянии. По нашим данным, молекулярно-генетически на ПЦР (содержимое из урогенитального тракта, цервикальный и вагинальный секреты, сперма) в частной лаборатории «HUMAN» г. Бишкек (2018) обследованы всего 382 больных.

Из 382 больных девочки и женщины составили 235 ($61,5 \pm 7,8$), а мальчики и мужчины – 147 ($38,5 \pm 6,2$) человек (таблица 1).

Возрастной аспект обследованных больных на ЦМВ составил: от 0 до одного года – 7 ($1,8 \pm 1,3$), в том числе девочки – 5 ($2,1 \pm 1,4$), мальчики – 2 ($1,4 \pm 1,1$), от одного до 10 лет – 4 ($1,0 \pm$

$1,0$), в том числе девочки – 3 ($1,3 \pm 1,1$), мальчики – 1 ($0,7 \pm 0,8$), от 10 лет до 16 лет – 6 ($1,6 \pm 1,2$), в том числе девочки – 4 ($1,7 \pm 1,3$), мальчики – 2 ($1,4 \pm 1,1$), от 16 лет до 20 лет – 24 ($6,3 \pm 2,5$), в том числе девочки – 16 ($6,8 \pm 2,6$), мальчики – 8 ($5,4 \pm 2,3$), от 20 лет до 30 летних – 167 ($43,7 \pm 6,6$), в том числе девочки – 102 ($43,4 \pm 6,5$), мальчики – 65 ($44,2 \pm 6,6$), от 30 до 40 лет – 123 ($32,2 \pm 5,6$), в том числе девочки – 73 ($31,1 \pm 5,5$), мальчики – 50 ($34,0 \pm 5,8$), от 40 и старше 40 лет – 51 ($13,4 \pm 3,6$) больных, в том числе девочки – 32 ($13,6 \pm 3,6$), мальчики – 19 ($12,9 \pm 3,5$).

Метод ПЦР подтверждает наличие самого активного вируса. По нашим данным, из 382 обследованных на ПЦР к ЦМВ положительный результат обнаружен у 75 ($19,6 \pm 4,4$) девочек и женщин, в возрасте от 20 до 30 лет – у 31-й ($41,3 \pm 6,4$), от 30 до 40 лет – у 22 ($29,3 \pm 5,4$), от 17 до 20 лет и от 40 лет старше 40 лет – у 6 ($8,0 \pm 2,8$) и 12 ($16,0 \pm 4,0$) женщин, соответственно. До 17 лет – у 4 ($2,7 \pm 1,6$) девочек, а среди мужчин только у 19 ($45,2 \pm 6,7$) в возрасте от 21 до 30 лет и от 31 до 40 лет – у 12 ($28,6 \% \pm 5,3$); от 17 до 20 лет и 41 и старше выявлены у 3 ($7,1 \pm 2,6$) и 7 ($16,7 \pm 4,0$), соответственно (таблица 2, рисунок 1).

У детей ПЦР выявлена у одного мальчика ($2,4 \pm 1,5$) (рисунок 2).

У 160 ($41,9 \pm 6,4$) девочек и женщин и 105 ($27,5 \pm 5,2$) мальчиков и мужчин – отрицательные,

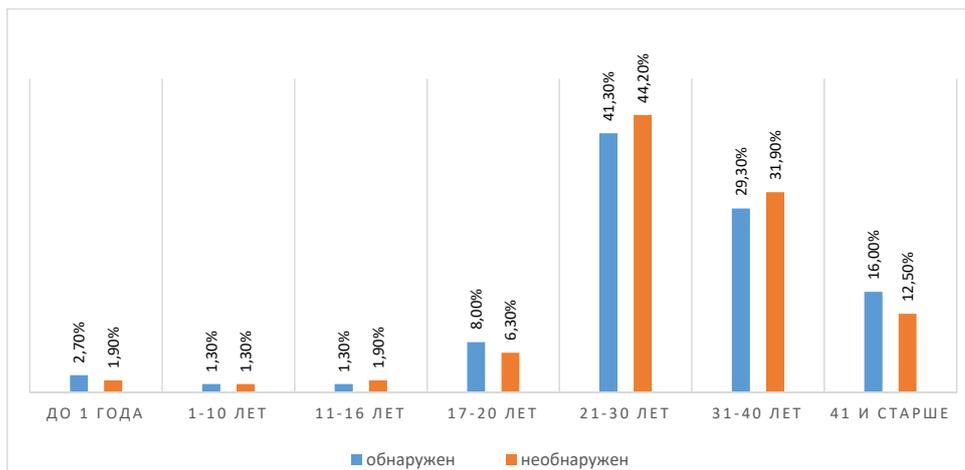


Рисунок 1 – ПЦР на ЦМВ-инфекции в возрастном аспекте по полу (девочки и женщины) из частной лаборатории «HUMAN» г. Бишкек

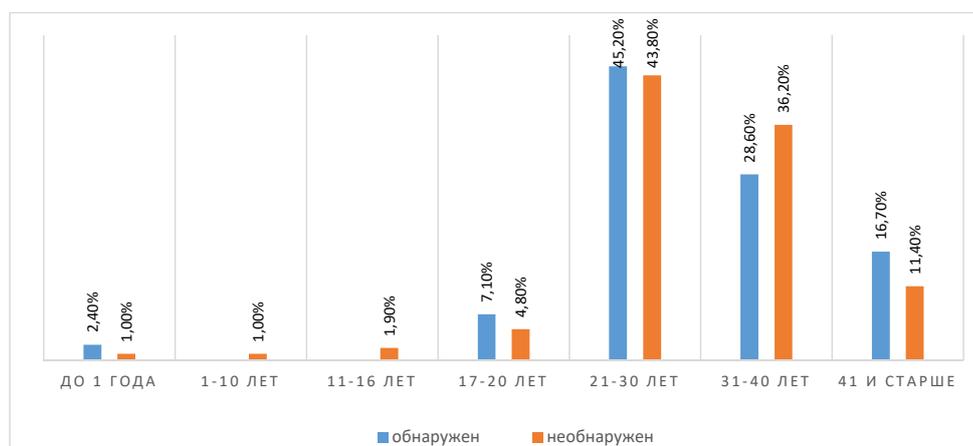


Рисунок 2 – ПЦР на ЦМВ-инфекции в возрастном аспекте по полу (мальчики и мужчины) из частной лаборатории «HUMAN» г. Бишкек

а у 75 ($19,6 \pm 4,4$) девочек и женщин и 42 ($11,0 \pm 3,3$) мальчиков и мужчин – положительные результаты на ПЦР (см. рисунки 1, 2).

Таким образом, по нашим данным, из 382 обследованных на ПЦР к ЦМВ положительный результат обнаружен у 117 больных – 30,6 %, в том числе у 64,1 % женщин (75) и 35,9 % мужчин (42). Чаще всего положительная ПЦР наблюдалась в возрасте от 20 до 40 лет независимо от пола больных. У 69,4 % обследованных больных (265) ПЦР не обнаружен.

Литература

1. Садыбакасова Г.К. Эпидемиология цитомегаловирусной инфекции в Кыргызстане / Г.К. Садыбакасова // Наука и новые технологии. 2014. № 4. С. 133–135.
2. Садыбакасова Г.К. Эпидемиология цитомегаловирусной инфекции в Кыргызской Республике: монография / Г.К. Садыбакасова. Бишкек, 2014. 144 с.
3. Рустамова М.С. Цитомегаловирусная инфекция у женщин при синдроме потерь беременности / М.С. Рустамова, Ш.Т. Муминова, Г.Д. Истамова // «Мать и Дитя» (специальный выпуск). Душанбе, 2010. № 3. С. 78–79.
4. Садыбакасова Г.К. Значение ПЦР и ИФА (IgG) в диагностике различных стадий развития ЦМВИ / Г.К. Садыбакасова // Вестник КГМА. Бишкек, 2013. № 3, приложение № 1. С. 196–199.
5. Садыбакасова Г.К. Особенности лабораторной диагностики цитомегаловирусных инфекций методом иммуноферментного анализа / Г.К. Садыбакасова, О.Т. Касымов // Центрально-Азиатский научно-практический журнал по общественному здравоохранению. Алматы, 2014. № 1 (42). С. 45–52.
6. Кудашов Н.И. Цитомегаловирусная инфекция у новорожденных: диагностика и лечение / Н.И. Кудашов // Лечащий врач, научно-практический журнал. М., 2006. № 3. С. 73–78.