

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ ВЫЯВЛЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОППОРТУНИСТИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЙ ЦНС МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ У ПАЦИЕНТОВ С ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ

Сафонова А.П.¹, Серебряков Е.М.², Скачкова Т.С.¹, Романюк Т.Н.¹, Сильвейстрова О.Ю.¹, Киреев Д.Е.¹, Долгова Е.А.¹, Шипулина О.Ю.¹, Шипулин Г.А.¹

¹ФГУН «Центральный НИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, Россия

²Инфекционная клиническая больница №2 г. Москвы, Россия

У больных с ВИЧ-инфекцией выделяют две основные группы нарушений функции центральной нервной системы (ЦНС): вторичные по отношению к ВИЧ-инфекции, например, оппортунистические инфекции (ОИ) головного мозга, злокачественные новообразования ЦНС или цереброваскулярные нарушения; и первичные, т. е. обусловленные непосредственным действием ВИЧ на клетки головного мозга. С момента появления антиретровирусной терапии случаев поражения ЦНС оппортунистическими инфекциями (ОИ) стало меньше. Однако спектр этих нарушений не изменился. Из возбудителей ОИ поражение ЦНС у больных с ВИЧ-инфекцией наиболее часто вызывает цитомегаловирус (ЦМВ), при этом могут развиваться подострый или хронический энцефалит или венитрикулит, острый восходящий радикуломиелит, а также острый или подострый неврит. Вирус простого герпеса и вирус ветряной оспы также способны вызывать острый и подострый энцефалит. Наиболее часто менингеальные инфекции обусловлены *Candida sp.*, *Cryptococcus neoformans* и *Mycobacterium tuberculosis*. Токсоплазмозный менингоэнцефалит, протозойная инфекция ЦНС — наиболее частая причина развития объемных образований головного мозга. Не смотря на разнообразие возбудителей ОИ, клинические проявления не имеют специфических признаков для каждого конкретного возбудителя, поэтому особенное значение для диагностики приобретают лабораторные методы. Биологическим материалом, рекомендуемым для выявления большинства возбудителей, является спинномозговая жидкость (СМЖ). Традиционные методы диагностики, такие как микроскопия и бактериология, обладают высокой специфичностью, но низкой чувствительностью. Связано это с ограниченным количеством возбудителя в СМЖ. Для диагностики вирусных инфекций необходимо проведение культуральных исследований, что не доступно для большинства лабораторий. ПЦР-диагностика СМЖ имеет существенные преимущества

в сравнении с другими методами, так как позволяет точно и быстро диагностировать оппортунистические инфекции ЦНС у пациентов с ВИЧ - инфекцией и унифицировать методы диагностики.

Целью нашей работы было выявление ДНК *Toxoplasma gondii*, ДНК *Mycobacterium tuberculosis complex* (*M.tuberculosis*, *M.bovis*, *M.africanum*, *M. microti*), ДНК *Cryptococcus neoformans*, ДНК *CMV*, ДНК *EBV*, ДНК *HHV6*, ДНК *VZV*, ДНК *HSV I/II*, ДНК *Candida albicans/glabrata/krusei* методом полимеразной цепной реакции с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в формате Real-time в СМЖ и цельной крови полученной от больных на поздних стадиях ВИЧ-инфекции с различными клиническими диагнозами.

Материалы и методы. В период с января 2009 по ноябрь 2009 г. было обследовано 56 пациентов с ВИЧ-инфекцией в возрасте 23 – 50 лет с поражениями ЦНС проходивших стационарное лечение в ИКБ №2 г. Москвы. В качестве материала для исследования использовали спинномозговую жидкость и цельную кровь. В ликворе оценивали наличие ДНК *Toxoplasma gondii*, ДНК *Mycobacterium tuberculosis complex* (*M.tuberculosis*, *M.bovis*, *M.africanum*, *M. microti*), ДНК *Cryptococcus neoformans*, ДНК *CMV*, ДНК *EBV*, ДНК *HHV6*, ДНК *VZV*, ДНК *HSV I/II*, ДНК *Candida albicans/glabrata/krusei* в крови определяли вирусную нагрузку ДНК *CMV*, *EBV*, *HHV6*, ДНК *Mycobacterium tuberculosis complex* и РНК ВИЧ. Из каждого образца проводилось выделение тотальной ДНК с использованием набора «Рибо-преп» (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора г. Москва). Полученные после экстракции образцы ДНК анализировались в ПЦР-тестах производства ФГУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва. Полимеразная цепная реакция с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в формате Real-time проводилась с использованием прибора «Rotor Gene 3000/6000» производства Corbett Research, Австралия.

Результаты. На момент постановки клинического диагноза врачи не обладали сведениями о результатах лабораторного исследования методом ПЦР. Исследования проводились ретроспективно, после постановки диагноза. Клинические диагнозы были следующие: «менингоэнцефалит неизвестной этиологии», «менингоэнцефалит туберкулезной природы», «токсоплазмозный энцефалит», «серозный менингит неизвестной этиологии», «криптококковый менингит» и «энцефалопатии» различного генеза».

У 7 пациентов был поставлен диагноз «менингоэнцефалит неизвестной этиологии». В одном из этих случаев методом ПЦР в ликворе была выявлена только ДНК *Toxoplasma gondii*, впоследствии

патологоанатомический диагноз подтвердил «генерализованный токсоплазмоз с поражением головного мозга». У второго больного в ликворе определили ДНК *CMV* с концентрацией 1067 копии/мл, а в плазме крови ДНК *CMV* $5,7 \cdot 10^4$ копии/мл. В третьем случае в ликворе обнаружили только ДНК *EBV* в концентрации 100 копии/мл, а в плазме крови $6,9 \cdot 10^3$ копии/мл. В четвертом - методом ПЦР ничего не обнаружено. У остальных выявили ДНК *HSV1* (в двух случаях) и ДНК *HSV2*. Вирусная нагрузка РНК *ВИЧ* составила от менее 500 до $2,71 \cdot 10^5$ копии/мл.

10 пациентов были с диагнозами «менингоэнцефалит туберкулезной природы». В ликворе ДНК *Mycobacterium tuberculosis complex* обнаружили только у 1 пациента. В одном случае выделили ДНК *HHV6* в концентрации $1,7 \cdot 10^3$ копии/мл в ликворе и 5,22 Lg на 10^5 клеток в цельной крови. Остальные образцы СМЖ были отрицательны. В крови обнаруживали ДНК *CMV* и *EBV* в концентрациях ниже 2 Lg на 10^5 клеток. Вирусная нагрузка РНК *ВИЧ* составила от $5,05 \cdot 10^3$ до $3 \cdot 10^6$ копии/мл.

У двоих больных с диагнозами «милиарный туберкулез легких» и у одного с диагнозом «токсоплазмозный энцефалит» в крови выявили ДНК *Mycobacterium tuberculosis complex*. В СМЖ от этих пациентов ДНК *Mycobacterium tuberculosis complex* выявлено не было. Значения лимфоцитов CD4+ среди этой группы больных составил от 10 до 140 клеток в 1 мкл.

Диагноз «токсоплазмозный энцефалит» был поставлен 7 больным. У двоих этот диагноз сочетался с ТВГЛУ и с ЦМВИ. ДНК *Toxoplasma gondii* в ликворе была обнаружена только в 2 случаях. В одном - ДНК *HSV1* в ликворе. В остальных случаях методом ПЦР в ликворе ничего не выявили. В крови обнаруживали ДНК *CMV* и *EBV* в концентрациях ниже 2 Lg на 10^5 клеток. Вирусная нагрузка РНК *ВИЧ* составила от менее 500 до $2,8 \cdot 10^6$ копии/мл.

У двух пациентов с диагнозами «серозный менингит неизвестной этиологии» и «Энцефалопатия токсикометаболического генеза» в СМЖ и крови выявили ДНК *Varicella zoster virus*. Значения лимфоцитов CD4+ среди этой группы больных составил 234 и 471 клеток в 1 мкл.

Диагноз «криптококковый менингит» был поставлен 4 пациентам. ДНК *Cryptococcus neoformans* обнаружили в СМЖ в трех случаях. Бактериологическим методом *Cryptococcus neoformans* был выявлен в 1 случае. ДНК других возбудителей в ликворе не было найдено. Вирусная нагрузка РНК *ВИЧ* составила от $7,8 \cdot 10^2$ до $2,9 \cdot 10^5$ копии/мл.

По остальным пациентам диагнозы были распределены как «энцефалопатии» различного генеза», «объемное поражение головного мозга», «патологии со стороны ЦНС не выявлено». В одном случае в

СМЖ выявили ДНК *Mycobacterium tuberculosis complex*, в анамнезе у этого пациента «Диссеминированный туберкулез легких». ДНК других возбудителей в СМЖ не было найдено. В крови обнаруживали ДНК *CMV* и *EBV* в концентрациях ниже 2 Lg на 10^5 клеток. Вирусная нагрузка РНК ВИЧ составила от менее 500 до $2,7 \cdot 10^5$ копии/мл.

Заключение. Было протестировано 124 образца клинического материала от 56 больных на поздних стадиях ВИЧ-инфекции. Клинические диагнозы среди этих пациентов распределились следующим образом: 12,5% «менингоэнцефалит неизвестной этиологии», 17,9% «менингоэнцефалит туберкулезной природы», 12,5% «токсоплазмозный энцефалит», 3,6% «серозный менингит неизвестной этиологии», 7,1% «криптококковый менингит» и 47% «энцефалопатии» различного генеза». Вирусная нагрузка РНК ВИЧ не являлась маркером развития оппортунистических инфекций.

Выявление ДНК *Toxoplasma gondii* или ДНК *Cryptococcus neoformans* в СМЖ у всех пациентов свидетельствовало о криптококковом менингите и токсоплазмозном энцефалите. Для диагностики «криптококкового менингита» метод зарекомендовал себя как более чувствительный по сравнению с бактериологией.

Для диагностики инфекций ассоциированных с *CMV*, *EBV*, *HHV6* и *VZV* целесообразней использовать в качестве биологического материала не только СМЖ, но и кровь. Это позволяет повысить прогностическую ценность исследования.

Роль выявления ДНК *Mycobacterium tuberculosis complex* в цельной крови как возможного прогностического маркера требует дополнительного исследования.

Использование метода ПЦР улучшает этиологическую диагностику оппортунистических инфекций ЦНС у пациентов с ВИЧ-инфекцией и помогает в короткие сроки провести дифференциальную диагностику как бактериальных, так и вирусных инфекций ЦНС.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННОГО МОНОНУКЛЕОЗА СРЕДИ ДЕТЕЙ, ГОСПИТАЛИЗИРОВАННЫХ В ИНФЕКЦИОННЫЙ СТАЦИОНАР В Г. ЙОШКАР-ОЛЕ

Сергеев П.И., Катягина М.Г., Иванова И.А., Ивойлова Е.М.

ГУЗ «Республиканский центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями», Йошкар-Ола, Россия

Введение: Вирус Эпштейна-Барр – это ДНК-содержащий онкогенный *Gamma Herpesvirus* семейства *Herpesviridae*. Возбудитель