

Цитомегаловирусная инфекция: лабораторная диагностика – ключ к лечению и спасению больных

Шахгильдян В.И.

**ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНО-МЕТОДИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ПБ СПИД
ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора**

23.09.2016 г.

ИРКУТСК

Группы риска для манифестной ЦМВИ

- а) больные ВИЧ-инфекцией;
- б) реципиенты органов (особенно, *D+R-* при пересадке солидных органов, реципиенты аллогенного костного мозга, сверхинтенсивная иммуносупрессия (при угрозе отторжения));
- в) больные онкологическими заболеваниями (в частности, гемобластозами), получающие цитостатическую терапию;
- г) антенатально инфицированные ЦМВ дети (недоношенные, с низкой массой тела при рождении);
- д) лица, имеющие иммунодефицит иной природы (ожоговая травма, тяжелый стресс, длительный прием кортикостероидов и др.);
- е) пациенты, инфицированные ЦМВ во время гемотрансфузий.
- ж) беременные женщины с первичной или активной ЦМВИ

Врожденная ЦМВ-инфекция

(Шахгильдян В.И. и др., 2007)

Врожденная ЦМВИ – 9 младенцев

- 1 ребенок – недоношенный (29 недель беременности)
- 3 детей – признаки гипотрофии I – II степени
- 8 – внутриутробная гипоксия (синдром возбуждения)
- 2 – синдром дыхательных расстройств
- 2 – общий отечный синдром
- 3 – состояние по шкале Апгар менее 6 баллов
- Состояние тяжелое (1сутки жизни) – 4, средней тяжести – 4 ребенка

Клинические проявления: низкий вес при рождении, гепатоспленомегалия (2), повышение активности АлАТ(2), желтуха (1), тромбоцитопения (1), пневмония (1)

Отдаленные последствия врожденной ЦМВИ

Stagno S., 1995

(продолжение)

- **8 - 15% случаев бессимптомного течения инфекции ведет к формированию поздних неврологических осложнений.**
- **Сенсорноневральная глухота**
- **Детский церебральный паралич**
- **Эпилепсия**
- **Задержка психического развития**
- **Атрофия зрительного нерва**
- **Задержка психомоторного развития**
- **Задержка в развитии речи**
- **Неспособность к обучению**

Этиология вторичных заболеваний у больных ВИЧ-инфекцией, госпитализированных в ИКБ №2 г. Москвы в 2013-2015 гг.

Всего **10915** больных, из них **4145 (38%)** - на стадии СПИДа

Из 4145 больных на стадии СПИДа

• Туберкулез	1498 (36,1%)
• Висцеральный кандидоз	1089 (26,3%)
• Манифестная ЦМВ-инфекция	669 (16,1%)
• М/энц н/э (вкл. ВИЧ-энцефалит	557 (13,4%)
• Пневмонии возвратные	442 (10,7%)
• Пневмоцистная пневмония	437 (10,5%)
• Токсоплазмоз	251 (6%)
• Лимфопролиферативные заболевания	96 (2,3%)
• Саркома Капоши	87 (2,1%)
• Атипичный микобактериоз	38 (0,9%)
• Мультифокальная лейкоэнцефалопатия	35 (0,8%)
• Рак шейки матки	19 (0,5%)
• Криптококковый менингит /генер. криптококкоз	18 (0,4%)/7 (0,1%)
• Криптоспоридиоз кишечника	14 (0,3%)
• ВПГ-бронхит/пневмония, генерал. сальмонеллез	- единичные случаи

ЦМВ-инфекция у ВИЧ-инфицированных больных

- **У больных ВИЧ-инфекцией ЦМВ самый частый этиологический фактор ретинита, поражения надпочечников, полирадикулопатии, миелита, склерозирующего холангита, дилатационной кардиопатии.**
- **ЦМВ входит в тройку основных этиологических причин эзофагита у больных ВИЧ-инфекцией.**
- **ЦМВ – основная причина язвенных дефектов в пищеварительном тракте.**
- **Цитомегаловирусный ретинит – основная причина полной потери зрения у больных СПИДом.**
- **ЦМВ-энцефаловентрикулит приводит к развитию деменции у больных ВИЧ-инфекцией.**

Манифестная ЦМВ-инфекция – непосредственная причина смерти 10 – 15% больных на стадии СПИДа.

Частота поражения органов у больных ЦМВИ при ВИЧ-инфекции

- Ретинит - 45% (95% среди поражений органа зрения);
- Пневмония - 70% (12% среди поражений легких на стадии СПИДа);
- Эзофагит – 13% (10% больных эзофагитом);
- Гепатит - 13% (21% больных СПИДом с поражением печени и отсутствием маркеров ГВ и ГС);
- Поражение ЖКТ – 39%;
- Поражение надпочечников - 60% (в большинстве случаев посмертно);
- Энцефалит - 16%, миелит - 8%, радикулопатия - 20%.

Летальность при ЦМВИ - 27,3%

Кумулятивное число случаев СПИДа у больных ВИЧ-инфекцией в РФ (ФНМЦ ПБ СПИД, 2016)

■ на 2001 г.	-	1 100 сл.
2003 г.	—	1 300
2005 г.	—	1 600
2007 г.	—	3 500
2008 г.	—	6 500
2009 г.	—	16 491
2011 г.	-	17 881
2013 г.	-	28 460
2014 г.	-	36 119
2015 г.	-	43 848
2016 г. (август)	—	50 317

82,4% больных на стадии СПИДа умерли

ФНМЦ ПБ СПИД Роспотребнадзора, 2016 (на 06 июня 2016 г.):

- Всего с диагнозом СПИД: 49 751 сл.
- Умерших с диагнозом СПИД: 41 007 (82,4%)
- Из 1518 больных на стадии СПИДа, умерли 197 (13%) (ИКБ №2 г. Москвы, 2013))

В структуре смертности пациентов увеличивается доля погибших на стадии СПИДа

■ на 2001 г. - 6,4%

2003 г. - 10,5%

2006 г. - 14,1%

2009 г. - 15%

2010 г. - 15,4%

2011 г. - 16,7%

2012 г. - 17,6%

2013 г. - 19,6%

2014 г. - 22,4%

2015 г. - 23,2%

2016 г. (июль) - 25,0% случаев

ФНМЦ ПБ СПИД Роспотребнадзора, 2016

Этиология вторичных заболеваний у 326 умерших больных ВИЧ-инфекцией в 2015 г (по данным п/а отделения ИКБ №2, Москва)

• Туберкулез	128 сл. (41,5%) (ген.76,6%)
• Пневмонии бакт, смешан, возвратные	72 (22,1%)
• Циррозы печени	50 (15,3%)
• ЦМВ-инфекция	45 (13,8%)
• Лимфомы	27 (8,3%)
• Токсоплазмоз	24 (7,4%)
• Пневмоцистная пневмония	34 (10,4%)
• Сепсис, бак. эндокардит	16 (4,9%)
• П/острый ВИЧ-энцефалит	14 (4,3%)
• Многооч. лейкоэнцефалопатия	14 (4,3%)
• Генерализованные микозы	13 (4,0%)
• Криптококковый менингит	7 (2,1%)
• Атипичный микобактериоз	7 (2,1%)

- **Острая ЦМВИ:** первичное заражение вирусом
- **Латентная ЦМВИ:** в крови определяются только антитела к ЦМВ класса IgG. Возможно наличие ДНК ЦМВ в слюне. Присутствию вируса в организме человека.
- **Активная ЦМВИ:**
 - а) Реактивация ЦМВ – появление на фоне иммуносупрессии ДНК ЦМВ в крови или в моче у больного с наличием анти-ЦМВ IgG.
 - б) Реинфекция - заражение новым штаммом ЦМВ и обнаружение его в биологических жидкостях (у больного также присутствуют анти-ЦМВ IgG).

- **Степень активности инфекции** (степень репликации вируса) может быть различной: от минимальной (ДНК ЦМВ только в слюне (или в моче)) до высокой (ДНК ЦМВ в крови). Имеет значение и концентрация – количество ДНК ЦМВ в цельной крови или плазме.
- **ЦМВ-синдром.** Нарастание активности ЦМВ (увеличение количества ДНК ЦМВ в крови) может привести к развитию ЦМВ-синдрома: лихорадка неправильно типа с $t > 38^{\circ}\text{C}$, слабость, анорексия, боли в горле, увеличение л/у, миалгии.
- **Манифестная ЦМВИ.** Дальнейшее нарастание активности инфекционного процесса (дальнейшее увеличение концентрации ДНК ЦМВ в крови) приводит к развитию клинически выраженного заболевания ЦМВ-этиологии. Манифестная ЦМВИ (синонимы: клинически выраженная ЦМВИ, ЦМВ-болезнь) – заболевание, протекающее с поражением внутренних органов (легких, кишечника, пищевода, печени, надпочечников, реже – сетчатки глаза) на фоне иммуносупрессии (снижения количества CD4-лимфоцитов)

**КЛИНИЧЕСКИЙ ДИАГНОЗ
ЦМВ-ИНФЕКЦИИ
ТРЕБУЕТ ОБЯЗАТЕЛЬНОГО
ЛАБОРАТОРНОГО
ПОДТВЕРЖДЕНИЯ**

**Достоверная лабораторная
диагностика заболевания –
путь к эффективному лечению**

Методы диагностики ЦМВИ

	Лаб. маркеры	Значение
Серология	IgG	Защитные антитела, латентная инфекция
	Титр IgG	Нарастание не всегда наблюдается при первичной или реактивированной инфекции, снижение не строго соответствует снижению концентрации антигена
	IgM	Первичная инфекция, реактивация, реинфекция
	IgG-авидность	Индекс авидности указывает на давность инфекции
Вирусология	Изоляция вируса в культуре (НИФ p72)	В моче, слюне, цервикальных соскобах – активная персистентная инфекция. В крови – активная инфекция, риск трансплацентарной передачи, риск поражения внутренних органов, маркер манифестной формы. В ам. жид, фетальной крови – инфекция плода
	ПИФ pp65-антигена	
	ДНК ЦМВ (ПЦР)	
	Концентрация ДНК в крови (ПЦР)	Прогноз развития манифестной ЦМВИ, мониторинг лечения, риск поражения плода

Возможные группы пациентов

- - с “ИСТИННО-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫМ” (ИП) в отношении заболевания значением маркера, когда присутствует и лабораторный маркер, и заболевание;
- - с “ЛОЖНОПОЛОЖИТЕЛЬНЫМ” значением (ЛП), когда имеется лабораторный маркер, но заболевание отсутствует;
- - с “ИСТИННО-ОТРИЦАТЕЛЬНЫМ” значением (ИО), когда отсутствуют и лабораторный маркер, и заболевание;
- - с “ЛОЖНООТРИЦАТЕЛЬНЫМ” значением (ЛО), когда нет в наличии лабораторного маркера, но заболевание имеется.

Клинические чувствительность и специфичность лабораторного теста

- Чувствительность диагностического теста – возможность выявить тех пациентов, кто имеет заболевание

Чувствительность - $100\% \times \text{ИП} / (\text{ИП} + \text{ЛО})$;

- Специфичность диагностического теста - возможность выявить тех пациентов, кто не имеет заболевание

Специфичность - $100\% \times \text{ИО} / (\text{ИО} + \text{ЛП})$.

Диагностика острой ЦМВИ

- Наличие антител к ЦМВ класса IgM (с 5-7 дн. до 30-60 дн. после заражения вирусом) **(ИФА)**
(специфичность **56-75%** , чувствительность **30-88%**)
(Иммунохемилюминисценция, Иммуноблот),
- Появление анти-ЦМВ IgG при их отсутствии ранее (сероконверсия)
- Выявление низкоавидных анти-ЦМВ IgG в сочетании или без анти-ЦМВ IgM
(чувствительность теста как фактора риска заражения плода 100% (на сроке беременности 6–18 нед.), 63% (20-23 нед. беременности), (сочетание с выявлением анти-ЦМВ IgM - до 80%)

Диагностика острой ЦМВИ

Наличие ДНК ЦМВ в клетках крови

- лишь у 50% беременных женщин с острой ЦМВИ.
- частота выявления ДНК ЦМВ составляет 80–100% в 1-й месяц развития острой ЦМВИ, но существенно снижается через 30 дней от момента ее выявления.

Наличие ДНК ЦМВ в моче – маркер умеренной активности вируса. Обулавливает дальнейший мониторинг беременной (повторение анализа на ДНК ЦМВ в крови) и обследование ребенка в первые 2 и 4 нед. жизни.

Терапия – только при сочетании с анти-IgM в крови.

Присутствие ДНК ЦМВ в слюне является маркером инфицированности, но НЕ свидетельствует о существенной вирусной активности.

Определение ДНК возбудителя в биологических жидкостях и тканях молекулярными методами

«АмплиСенс® CMV-Скрин-Титр–FRT», ФГУН ЦНИИЭ

(чувствительность 100 копий/мл, линейный диапазон измерения: 500-10⁶ копий ДНК ЦМВ/мл)

Диагностический набор «LightCycler Quant Kit» (Roche)

(чувствительность 230 копий/мл, линейный диапазон количественного определения в плазме или цельной крови: 1000-2,0⁷ копий ДНК ЦМВ/мл)

Тест-система «Abbott Realtime CMV»

(чувствительность 20 копий/мл в плазме, 40 копий/мл в цельной крови, линейный диапазон измерения: 20-10⁸ копий ДНК ЦМВ/мл)

ВЫСОКАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ТЕСТ-СИСТЕМЫ АБВОТТ ДЛЯ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ЦМВ-ИНФЕКЦИИ



ТЕСТ_СИСТЕМЫ АБВОТТ
REALTIME CMV :

обладает высокой
чувствительностью
и низким нижним
пределом
количественного
определения

Нижний предел количественного
определения:

Abbott RealTime Assay	Тип образца	LLQ [копий/ мл]	LLQ [log копий/м л]
CMV ¹	Плазма	20	1.3
	Цельная кровь	40	1.61

1. Package Insert RealTime CMV_51-608107/R5

2. Package Insert RealTime EBV_51-608279/R4

ТЕСТ-СИСТЕМА АБВОТТ REALTIME CMV: ШИРОКИЙ ДИАПАЗОН ЛИНЕЙНОСТИ ТЕСТА

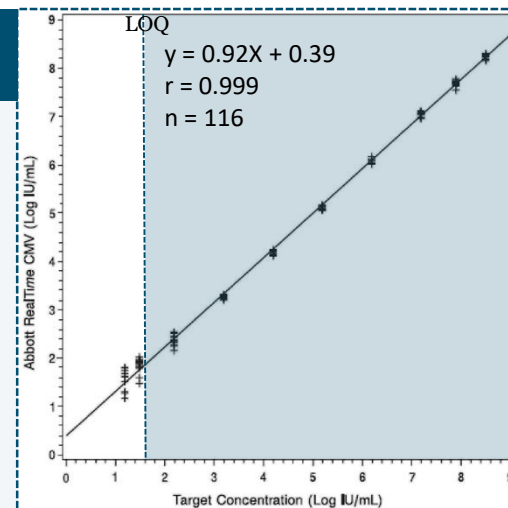
ПЛАЗМА

31.20 – 15.6 x 10⁷ МЕ/мл

1.49 – 8.19 log МЕ/мл

1.3 – 8.0 log копий/мл

20 – 10⁸ копий/мл



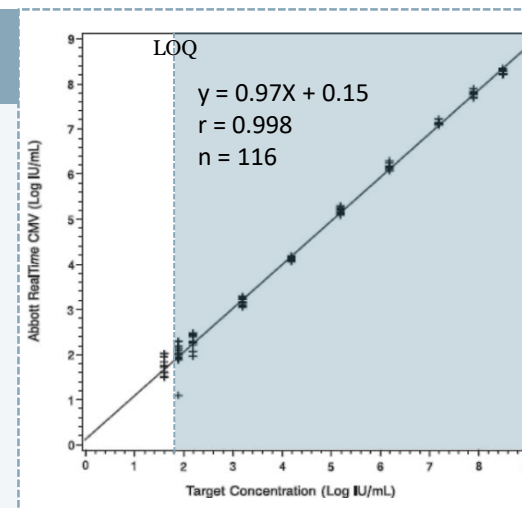
ЦЕЛЬНАЯ КРОВЬ

62.40 – 15.6 x 10⁷ МЕ/мл

1.80 – 8.19 log МЕ/мл

1.61 – 8 log копий/мл

40 – 10⁸ копий/мл



Неоцитотект - иммуноглобулин человека антицитомегаловирусный

Лекарственная форма: Раствор для инфузий 1 мл

Способ применения и дозы: В/в (инфузионно)

Состав:

активное вещество:	
белки плазмы человека	50 мг
из них:	
IgG	не менее 96%
IgA	не более 2 мг
содержание антител против ЦМВ	не менее 100 Е*
вспомогательные вещества: глицин — 300 мкмоль; вода для инъекций — до 1 мл	
распределение подклассов IgG:	
IgG1	около 65%
IgG2	около 30%
IgG3	около 3%
IgG4	около 2%



*Единица эталонного препарата
Института Пауля Эрлиха, Германия

1. Мангушева Я.Р., Хаертынова И.М., Мальцева Л.И. Цитомегаловирусная инфекция у детей, Практическая медицина, №7(83) окт. 2014
2. Шахильдян В.И. Диагностика и лечение активной цитомегаловирусной инфекции у беременных вич-инфицированных женщин и их детей. «ШАГИ профессионал» № 6, 2011

- Реинфекция ЦМВ у матери обуславливает заражение плода значительно реже: 0,2–2,2% случаев, реактивация – до 20% случаев
- У 30-50% детей с врожденной ЦМВИ матери были серопозитивны (Leung J, 2012 , Asher Ornoy, 2007).

Значение различных маркеров активной ЦМВИ у беременных ВИЧ-инфицированных женщин для определения риска врожденного и внутриутробного заражения ребенка

**(ФНМЦ ПБ СПИД, ИКБ№2 г. Москвы,
ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора)**

Шахгильдян В.И. и др. «Диагностика цитомегаловирусной инфекции у ВИЧ-инфицированных беременных женщин и определение факторов риска антенатального и перинатального заражения плода цитомегаловирусом» «Акушерство и гинекология», 2005. – №2, с. 24 - 29

Значение лабораторных признаков активной репликации ЦМВ как факторов риска врожденной ЦМВИ

(Шахгильдян В.И. и др., 2007)

Маркеры активной ЦМВИ	Высок. титры IgG	Низко-авидные IgG	Ранн. IgG	IgM
Положительное прогностическое значение	16,7 %	33,3 %	13,3 %	50 %
Отрицательное прогностическое значение	84,4 %	92,2 %	84,4 %	92,2 %

Значение наличия ДНК ЦМВ в слюне, моче и крови ВИЧ-инфицированных беременных женщин как фактора риска врожденной ЦМВИ
(Шахгильдян В.И. и др., 2007)

Прогностическое значение	ДНК ЦМВ		
	слюна	моча	кровь
Положительное	21,9 %	29,2 %	58,3 %
Отрицательное	95,9 %	96,2 %	96,6 %

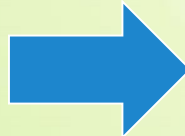
Диагностика острой ЦМВИ

Инвазивные методы диагностики:

- **Амниоцентез:** ПЦР амниотической жидкости 16-22 нед. беременности
- **Кордоцентез :** исследование пуповинной крови на наличие вируса и IgM

Доказательство заражения плода - обнаружение ДНК ЦМВ в амниотической жидкости и пуповинной крови.

При выявлении IgM,
низкоавидных IgG антител,
ДНК ЦМВ в крови или
ДНК ЦМВ в моче + IgM



амниоцентез и исследование амниотической жидкости через 5–7 нед. после постановки диагноза острой ЦМВИ у матери, но не ранее 16 нед. и не позднее 22 нед. гестации.

Положительное прогностическое значение (вероятность выявления факта заражения плода) составляет **90-100%**, отрицательная прогностическая ценность (специфичность) – **92-98%**.

Диагностика острой ЦМВИ

Доказательство заражения плода - обнаружение ДНК ЦМВ в амниотической жидкости и пуповинной крови.

При количестве **ДНК ЦМВ**
<10х3 коп/мл



ребенок останется не инфицированным в 83% случаев

При количестве **ДНК ЦМВ**
10х3 коп/мл и более



в 100% случаях ребенок заражен.

Уровень ДНК ЦМВ **<10х5 коп/мл**



с вероятностью 92% свидетельствует об отсутствии манифестации инфекции у плода и новорожденного.

Концентрация ДНК ЦМВ в амниотической жидкости **10х5 копий/мл и более**



означает развитие у ребенка клинически выраженной ЦМВ-болезни.

При исследовании амниотической жидкости наличие ЦМВ в 2,5% у детей с врожденной ЦМВИ и 0% у здоровых (Petrikovsky et al., 2010)

Роль ПЦР в диагностике ЦМВИ у новорожденных и детей первого года жизни

- **Врожденная (антенатальная) ЦМВИ.**

Наличие ДНК ЦМВ в любой биологической жидкости ребенка в первые 2 недели жизни.

(наличие анти-ЦМВ IgM, увеличение титра IgG по сравнению с материнскими).

- **Итранатальное или раннее постнатальное инфицирование.**

Наличие ДНК ЦМВ или АГ вируса в любой биологической жидкости ребенка через 4 недели жизни (при отрицательном результате в первые 2 недели жизни).

(наличие анти-ЦМВ IgM, увеличение титра IgG по сравнению с материнскими).

Роль ПЦР в диагностике ЦМВИ у новорожденных и детей первого года жизни

Манифестная ЦМВИ.

Наличие ДНК ЦМВ в крови (в высокой концентрации).

Наличие ДНК ЦМВ в ликворе, плевральной жидкости.

Наличие ДНК ЦМВ в биопсийных или аутопсийных материалах.

Наличие ЦМК (цитомегалоклеток)
в биопсийных или аутопсийных материалах.

Больные ВИЧ-инфекцией: секционные данные ПАО ИКБ №2 г. Москвы за 2007 г. (Пархоменко Ю.Г., Тишкевич О.А., 2008)

- 430 вскрытий (256 сл.(59,5%) из других больниц)
- ТБ – 177 случаев (41,2%)
- ТБ как моноинфекция – 122 сл. (69%)
- Сочетание ТБ и других заболеваний – 55 сл. (31%) из них:
- **ЦМВИ: 23 сл. (42%)**
- ТОХ: 4 сл. (7%)
- РСР: 2 сл. (4%)
- Опухоли: 6 сл. (11%)
- Цирроз печени (ГС): 17 сл. (31%)
- **Ветряная оспа, генерализованная герпесвирусная инфекция, криптококкоз.**

Сочетание манифестной ЦМВ-инфекции с другими
вторичными заболеваниями у умерших больных
ВИЧ-инфекцией в 2009 г.

(по данным п/а отделения ИКБ №2 Москвы)

Всего 50 случаев ЦМВ-инфекции, которая
сочеталась:

РСР	18
ТБ	7
ТОХ	4
Генерал. микоз	4
Лимфома	1
СК	1

- Расхождение между прижизненным и посмертным диагнозом манифестной ЦМВ-инфекции у больных ВИЧ-инфекцией в стационарах Москвы составило в 2012 г. **76,5% сл.**
- **(61,5% сл.** – гиподиагностика (за счет непрофильных стационаров)

ЦМВ-полирадикулопатия. ЦМВ-миелит

Симптомы.

Быстрое развитие слабости и онемения в ногах (как в проксимальных, так и в дистальных отделах). Расстройство функции тазовых органов по периферическому типу (недержание мочи, кала).

CD4 > 500 или < 50 кл/мкл.

Клинические особенности.

Общая слабость в ногах.

Распространенные нарушения (снижение, изменение) чувствительности в ногах и ягодицах.

Снижение или отсутствие коленных и ахилловых рефлексов.

Дополнительные исследования.

ЭМГ/ЭНМГ показывают вовлечение в патологический процесс нервных корешков.

Исследование ликвора помогает выявить этиологию заболевания (ЦМВ или ВПГ).

Лимфоматозная инфильтрация.

ЦМВ-энцефаловентрикулит у больных ВИЧ-инфекцией

(Шахгильдян В.И., Беляева В.В., 1998, 2000)

Исход:

- Утрата навыков и элементарных умений, нарушение критических способностей вплоть до развития **анозогнозии** (непонимание собственного дефекта болезни), **сенсорной афазии** (понимание речи как окружающих лиц, так и своей), **лобной апраксии** (нарушение программы сложных действий), **развитие акинетического состояния, полное отсутствие контроля за функциями тазовых органов.**
- **СМЖ:** умеренное или значительное (до 2 – 3 г/л) повышение содержания белка в ликворе и положительная реакция Панди (3+ - 4+).

ЦМВ-инфекция

(ошибочные или неточные суждения)

ЦМВ-инфекция диагностируется при выявлении вируса в различных (каких ?) средах организма.

Вирус может определяться в слюне (+), моче, *крови* (-), других *органах* (-) и *тканях* (-) месяцы и годы после перенесенной инфекции и не является достаточным признаком для констатации болезни.

О перенесенной инфекции говорит наличие антител к ЦМВ. ((класса IgG (!))

ЦМВ-болезнь диагностируется при сочетании наличия вируса (где?) и ЦМВ-синдрома (лихорадки и боли в мышцах, лейкопении и/или тромбоцитопении), а так же при вовлечении органов с развитием гепатита, колита, пневмонита, ретинита.

**Специфичность и чувствительность маркеров
активности цитомегаловируса при развитии
манифестной ЦМВ-инфекции у больных СПИДом**
(Шахгильдян В.И., Шипулина О.Ю. и др., 1999)

Маркеры активности ЦМВ	Чувствительность %	Специфичность %
4-х кратное увеличение анти-ЦМВ IgG	34.3	78.1
Анти-ЦМВ IgM	65.7	83.7

Определение ДНК возбудителя в биологических жидкостях и тканях методом ПЦР

Преимущества:

- **наиболее высокие аналитические чувствительность и специфичность**
- **возможность исследовать материал на наличие нескольких возбудителей**
- **быстрое получение результата**
- **возможность стандартизации методик**

Выявление ДНК ЦМВ в крови больных ВИЧ-инфекцией

- ДНК ЦМВ в плазме крови – 149 (19,3%) из 774 образцов плазмы крови.
- ДНК ЦМВ в лейкоцитах крови – 146 (51,7%) из 282 образцов крови.

Специфичность и чувствительность маркеров активности цитомегаловируса при развитии манифестной ЦМВ-инфекции у больных СПИДом

(Шахгильдян В.И., Шипулина О.Ю., Каражас Н.В. и др., 1999)

Маркеры активности ЦМВ	Чувствительность %	Специфичность %
4-х кратное увеличение анти-ЦМВ IgG	34.3	78.1
Анти-ЦМВ IgM	65.7	83.7
Наличие ЦМВ в моче	71.4	78.6
ДНК ЦМВ в лейкоцитах крови (качественный анализ)	100	60.5

Исследование крови на наличие ДНК ЦМВ у больных ВИЧ-инфекцией

- 1994 – 2000 гг. проведено 1155 исследований крови (м-д электрофореза детекции ДНК ЦМВ, оригинальная методика, Шипулина О.Ю., 1998).
ДНК ЦМВ обнаружена в лейкоцитах крови в 420 (36,4%) образцах (титры от 1:1 (1+) до 1: 10000 (5+) в 10х5 лейкоцитах).
- ДНК ЦМВ не обнаружена: 735 образцов (63.6%),
- ДНК ЦМВ обнаружена:

в низком титре 1: 1 (1+):	151 (13.1%),
в среднем титре 1: 10 (2+):	106 (9.1%),
в среднем титре 1: 100 (3+):	64 (5.5%),
в высоком титре 1: 1000 (4+):	63 (5.5%),
в очень высоком титре 1: 10000 (5+):	36 (3.1%).

Специфичность и чувствительность маркеров активности цитомегаловируса при развитии манифестной ЦМВ-инфекции у больных СПИДом

(Шахгильдян В.И., Шипулина О.Ю., Каражас Н.В. и др., 1999)

Маркеры активности ЦМВ	Чувствительность %	Специфичность %
4-х кратное увеличение анти-ЦМВ IgG	34.3	78.1
Анти-ЦМВ IgM	65.7	83.7
Наличие ЦМВ в моче	71.4	78.6
ДНК ЦМВ в лейкоцитах крови (качественный анализ)	100	60.5
ДНК ЦМВ в лейкоцитах крови, титр 4+ (1:1000)	97.1	97.7

Исследование биологических материалов

на наличие ДНК ЦМВ у больных ВИЧ-инфекцией

- 2005 г. проведено 1073 исследований крови (с 01.04 2005 - Real-time PCR)
 - 2005 – 2006 г. проведено 1698 исследований цельной крови («АмплиСенс® CMV-Скрин-Титр–FRT», ФГУН ЦНИИЭ).
ДНК ЦМВ выявлена в 293 (17%) образцах, среднее количество составило 2.1 log₁₀ ДНК ЦМВ в 10х5 лейкоцитах.
 -
 - «АмплиСенс® CMV-Скрин-Титр–FRT», ФГУН ЦНИИЭ
(чувствительность тест-системы составляет 100 копий/мл, линейный диапазон измерения: 500-10⁶ копий ДНК ЦМВ/мл)
 - ДНК ЦМВ выявлена в клетках крови в 129 образцах, среднее количество составило 2.1 log₁₀ ДНК ЦМВ.
ДНК ЦМВ обнаружена в количестве
- | | |
|--|--------------------|
| < 1 log ₁₀ ДНК ЦМВ: | 11 случаев (8.5%), |
| 1.0 – 1.9 log ₁₀ ДНК ЦМВ: | 53 (41.1%), |
| 2.0 – 2.9 log ₁₀ ДНК ЦМВ: | 34 (26.4%), |
| 3.0 – 3.9 log ₁₀ ДНК ЦМВ: | 23 (17.8%), |
| 4.0 – 4.9 log ₁₀ ДНК ЦМВ: | 7 (5.4%), |
| 5.0 и более log ₁₀ ДНК ЦМВ: | 1 (0.8%), |

Роль ПЦР в диагностике манифестной ЦМВ-инфекции у ВИЧ-инфицированных больных

- Диагноз манифестной ЦМВИ (клинические проявления, наличие ДНЦ ЦМВ в биоптате пораженного органа), поставлен у больных с наличием ДНК ЦМВ в лейкоцитах крови в количестве:
- $< 2 \log_{10}$ ДНК ЦМВ – 0%,
- $2 - 2.9 \log_{10}$ ДНК ЦМВ – 50%,
- $3 - 3.9 \log_{10}$ ДНК ЦМВ – 91.3%,
- 4 и более \log_{10} ДНК ЦМВ – 100%,

Клиническое значение различных концентраций ДНК ЦМВ в цельной крови для диагностики манифестной ЦМВИ у ВИЧ-инфицированных больных (1698 больных, 96 пациентов с ЦМВИ)

(Шахгильдян В.И., Шипулина О.Ю. и др., 2007)

Маркеры активности ЦМВ	Чувствительность %	Специфичность %
1.0 – 1.9 \log_{10} ДНК ЦМВ	3	92,5
2,0 – 2.9 \log_{10} ДНК ЦМВ	24	96,6
3.0 – 3.9 \log_{10} ДНК ЦМВ	46,9	99,7
4.0 и более \log_{10} ДНК ЦМВ	26	100
более 3.0 \log_{10} ДНК ЦМВ	72,9	99,7

Роль ПЦР в диагностике манифестной ЦМВ-инфекции у ВИЧ-инфицированных больных

(Шахгильдян В.И., Шипулина О.Ю. и др., 1999, 2003, 2004, 2005, 2007)

- **Наличие высокой концентрации ДНК ЦМВ в крови подтверждает диагноз манифестной ЦМВИ**
- **В лейкоцитах крови: > 3 (2?) \log_{10} ДНК ЦМВ в 10×5 лейкоцитах (Real-time PCR)**
«АмплиСенс® CMV-Скрин-Титр–FRT», ФГУН ЦНИИЭ
(чувствительность тест-системы составляет 100 копий/мл, линейный диапазон измерения: 500- 10^6 копий ДНК ЦМВ/мл)

Исследование крови на наличие ДНК ЦМВ у больных ВИЧ-инфекцией

- Проведено **543** исследования плазмы крови («АмплиСенс® CMV-Монитор–FRT ФГУН ЦНИИЭ»).

ДНК ЦМВ выявлена в **201 (37%)** образцах, в количестве от 200 до 1 000 000 коп/мл.

Количественное содержание ДНК ЦМВ в плазме крови

- На наличие ДНК ЦМВ в плазме исследовано 135 образцов.
- Минимальная концентрация ДНК ЦМВ составила 100 коп/мл, максимальная - 10 000 000 коп/мл.

100-1000 коп/мл— 33%,

1000-10 000 - 10,4%,

10 000 -100 000 коп/мл: 52,9%,

>100 000 - 3,7% случаев

Концентрация ДНК ЦМВ в плазме у ВИЧ-инфицированных больных с манифестной ЦМВИ

- ДНК ЦМВ была выявлена в плазме у **всех больных манифестной ЦМВИ** в концентрации от 2720 до 1000000 коп/мл, составив, в среднем, **198639** коп/мл.

Количество ДНК ЦМВ в плазме больных ЦМВИ составило:

- ✓ Менее 10 000 коп/мл (30,5% случаев)
 - ✓ 10 000 – 49 000 коп/мл (33,5 %)
 - ✓ 50 000 – 99 000 коп/мл (8,3%)
 - ✓ 100 000 – 1 000 000 коп/мл (27,7%)
-
- Подтверждает диагноз манифестной ЦМВИ наличие ДНК ЦМВ в плазме крови в концентрации более $> 10\,000$ копий ДНК ЦМВ в мл плазмы ($> 4.0 \log_{10}$ ДНК ЦМВ) (количественный метод)

Сравнительная характеристика определения ДНК ЦМВ в лейкоцитах и плазме крови больных ВИЧ-инфекцией

ДНК ЦМВ в лейкоцитах крови (титры)	Количество случаев	ДНК ЦМВ в плазме крови (частота) %	Среднее количество ДНК ЦМВ в плазме (мин. и макс. значения) коп/мл
0	342	0	0
1+ (1:1)	74	5.4	1505 \pm 219 (600 – 2720)
2+ (1:10)	53	35.8	7760 \pm 2221 (200 – 31000)
3+ (1:100)	41	80.5	17351 \pm 540 (500 – 84000)
4+ (1:1000)	33	100	198639 \pm 25364 (2720 – 1000000)

Роль ПЦР в диагностике манифестной ЦМВ-инфекции у ВИЧ-инфицированных больных

(Шахгильдян В.И., Шипулина О.Ю. и др., 1999, 2003, 2004, 2005, 2007, 2010, 2013)

- Наличие высокой концентрации ДНК ЦМВ в крови подтверждает диагноз манифестной ЦМВИ
- В цельной крови: > 3 Ig ДНК ЦМВ в 10х5 лейкоцитов (Real-time PCR)
«АмплиСенс® CMV-Скрин-Титр–FRT», ФГУН ЦНИИЭ.

и/или

- В плазме крови: > 10 000 копий ДНК ЦМВ в мл плазмы
(> 4 Ig ДНК ЦМВ)
(количественный метод)

Диагностика манифестной ЦМВИ после трансплантации органов

- International Herpes Management Forum (consensus recommendations) (Февраль, 2004): количество копий ДНК ЦМВ в крови (вирусная нагрузка) – основной фактор риска развития манифестной ЦМВИ у больных после пересадки солидных органов и клеток костного мозга.
- Манифестация ЦМВИ наступает при концентрации ДНК ЦМВ в цельной крови $> 5 \log_{10}/\text{мл}$ (100 000 коп/мл) (Core et al., 1997).

(при определении pp65 АГ ($>$ или $=$ 25 позитивным клеткам в 2×10^5 PBL) (Lo C, 1997).

- **Цель:** определение диагностического значения выявления ДНК возбудителей вторичных заболеваний в различных биологических материалах у больных ВИЧ-инфекцией.

- **Методы и объем исследования.**

С 2007 – 2014 гг. проводились клиническое и лабораторное обследование 5 367 взрослых больных ВИЧ-инфекцией, в 63% случаев имеющих стадию 4Б-4В (СПИД) и проходящих стационарное лечение в ИКБ №2 ДЗ г. Москвы. У 886 человек из них имело место поражение ЦНС (16,5%).

Средний возраст пациентов: $35 \pm 5,3$ лет.

Количество CD4-лимфоцитов в крови:

< 200 кл/мкл: 63% больных,

200 -350 кл/мкл: 15%,

350-500 кл/мкл: 12%,

>500 кл/мкл: 10%.

Шахгильдян В.И., Ядрихинская М.С., 2015

Было исследовано:

4076 образцов цельной крови,

1445 образцов бронхоальвеолярного лаважа (БАЛЖ),

235 биоптатов бронхов,

65 образцов плевральной жидкости,

41 образцов мокроты,

87 биоптатов пищевода, желудка, толстой кишки,

83 биоптатов периф. лимфоузлов,

1602 образцов ликвора,

биоптат околоушной слюнной железы - **1**, биоптатов

брюшины - **5**, биоптат миндаины - **1**, пунктат из

«натечника» - **2**, соскоб из ротоглотки - **1**, выпот из

брюшной полости - **2**, отделяемое из раны - **1**,

стернальный пунктат - **1**, пунктат из пиогенной капсулы - **1**.

В общей сложности – 7 649 биоматериалов.

Полученные биологические материалы исследовали на качественное и количественное определение

- ДНК *M. tuberculosis*,
- **ДНК Cytomegalovirus**,
- ДНК *P. jiraveci* (*carinii*)
- ДНК *C. albicans*, *C. glab.*, *C. cruz.*,
- ДНК *C. neoform.*,
- ДНК *T. gondii*,
- ДНК *H. Simplex I-II*, *Herpes VI*,
- **ДНК EBV**,
- ДНК JC-virus
- РНК HIV

молекулярными методами с использованием ПЦР-тест-систем производства ФБУН ЦНИИ эпидемиологии

Клиническую чувствительность лабораторного признака определяли согласно формуле: $\text{ИП}/(\text{ИП} + \text{ЛО}) \times 100\%$; клиническую специфичность – по формуле: $\text{ИО}/(\text{ИО} + \text{ЛП}) \times 100\%$.

Биоматериал	ДНК ЭБВ (%)	ДНК ЦМВ (%)	ДНК ВПГ-1,2 (%)	ДНК ВП-6 (%)	ДНК ВВЗ (%)
Мокрота	89	85	29,5	10	
БАЛЖ	71	90		33	
Биоптат бронхов	54	21		5	
Плев. жидкость	58	36			
Биоптат л/у	71	16,4	3,6	7,2	
Биоптат ЖКТ	69,2	80,7	11,5	15,3	0

Диагностическое значение обнаружения ДНК ЦМВ в БАЛЖ и биоптатах бронхов (Шахгильдян В.И., Литвинова Н.Г., Шипулина О.Ю. и др., 2006)

Диагностическая фибробронхоскопия – 744 больных ВИЧ-инфекцией (CD4-лимфоциты < 200 кл/мкл – 75%).

- ДНК ЦМВ в БАЛЖ – 294 (39.5%), биоптатах бронхов – 112 (15.1%)
- Больные ЦМВ-пневмонией: 70
- Диагностическая чувствительность наличия ДНК ЦМВ в БАЛЖ - 90%, специфичность – 66%.
- Диагностическая чувствительность наличия ДНК ЦМВ в биоптате бронха - 79%, специфичность – 92%.

Количественное содержание ДНК ЦМВ в БАЛЖ и биоптатах бронхов

- Образцы БАЛЖ: ДНК ЦМВ 100 – 79 900 700 коп/мл.
61% <1000 коп/мл, 20%: 1000 - 10 000 коп/мл,
12%: 10 000 - 100 000 коп/мл, 7%: >100 000 коп/мл.

ЦМВ-природу поражения легких подтверждало обнаружения ДНК ЦМВ в БАЛЖ в количестве > 10 000 коп/мл.

- Биоптаты бронхов: ДНК ЦМВ 169 – 90 972 коп.
69,2%: 100 - 1000, 15,3%: >1000 коп.

Диагностическая чувствительность наличия ДНК ЦМВ в биоптате бронха составила 79%, специфичность 92% - наличие ДНК ЦМВ в биоптатах бронхов важный диагностический критерий ЦМВ-поражения легких.

Количественное содержание ДНК ЦМВ в мокроте, плевральной жидкости, л/у, ЖКТ

- **Образцы мокроты:** ДНК ЦМВ: 100 – 1 314 600 коп/мл
64%: <1000 коп/мл, 18%: 1000 - 10 000 коп/мл,
9%: 10 000 - 100 000 коп/мл, 9%: >100 000 коп/мл
- **Плевральная жидкость:** ДНК ЦМВ 100 – 17 900 коп/мл
21%: 100-1000 коп/мл, 14%: 1000-10 000 коп/мл,
7%: >10 000 коп/мл.
- **Биоптаты лимфоузлов:** ДНК ЦМВ 264–120 046 коп
50%: 100 – 1000 коп, 25%: 1000 – 10 000 коп,
12,5%: 10 000 – до 100 000 коп., 12,5%: >100 000 коп.
- **Биоптаты кишечника:** ДНК ЦМВ 99 – 444 834 коп.
23%: <1000 коп., 7,7%: 1000-10 000 коп.,
23%: 10 000 – 100 000 коп, 11,5%: >100 000 коп.

**Частота обнаружения возбудителей
вторичных заболеваний у больных ВИЧ-
инфекций в спинномозговой жидкости (%).**

ДНК ЭБВ	ДНК CMV	ДНК ВПГ-1,2	ДНК ВГ-6	ДНК VZV	ДНК TOX	ДНК JC-virus
------------	------------	----------------	-------------	------------	------------	-----------------

23,4	6,1	2	1	1,2	11,7	3,7
						из 402 образцов

Количественное содержание ДНК ЦМВ в ликворе

- Обнаружение ДНК ЦМВ в ликворе не является достаточным основанием для постановки диагноза ЦМВ-энцефалита.
- Количество ДНК ЦМВ в СМЖ: от 100 до 850 600 коп/мл.
8,8%: <1000 коп/мл,
2%: 1000-10 000 коп/мл,
88,9%: 10 000-100 000 коп/мл,
0,3%: >100 000 коп/мл
- У больных ВИЧ-инфекцией, страдающих ЦМВ-энцефалитом, содержание ДНК ЦМВ было > 20 000 коп/мл
- Вероятно, наличие ДНК ЦМВ в спинномозговой жидкости в концентрации > 10^4 коп/мл у больных энцефалитом указывает на ЦМВ-природу поражения головного мозга

Роль ПЦР в диагностике манифестной ЦМВ-инфекции у ВИЧ-инфицированных больных

(Шахгильдян В.И., Шипулина О.Ю. и др., 1999, 2003, 2004, 2005, 2007, 2010, 2013)

- Наличие высокой концентрации ДНК ЦМВ в крови подтверждает диагноз манифестной ЦМВИ
- В цельной крови: > 3 Ig ДНК ЦМВ в 10х5 лейкоцитов (Real-time PCR)
«АмплиСенс® CMV-Скрин-Титр–FRT», ФГУН ЦНИИЭ.

и/или

- В плазме крови: > 10 000 копий ДНК ЦМВ в мл плазмы (> 4.0 Ig ДНК ЦМВ)
(количественный метод)

и/или

2 log₁₀ ДНК ЦМВ + ДНК ЦМВ в БАЛЖ (> 10х4 коп/мл), в ликворе (> 10х4 коп/мл), плевральной жидкости и др.), биопсийном материале (биоптате бронхов и др.)

Определение причин летальных исходов У больных ВИЧ-инфекцией.

- Проведение посмертных исследований – с анализом аутопсийных материалов на наличие ДНК возбудителей основных вторичных заболеваний.

Профилактика рецидивов манифестной ЦМВИ у ВИЧ-инфицированных больных (поддерживающая терапия)

Валганцикловир (Вальцит) 900 мг 1 р/сут per os

Подходы:

- 1. Длительность поддерживающего курса на фоне АРВТ составляет не менее 1 месяца и прекращается при отсутствии ДНК ЦМВ в цельной крови. Контроль наличия ДНК ЦМВ ежемесячно (ФНМЦ ПБ СПИД, 2013)**
- 2. Поддерживающая терапия продолжается до повышения числа CD4-лимфоцитов более 100 кл/мкл, сохраняющееся в течение 3 - 6 месяцев на фоне АРВТ (J. Bartlett, 2011)**

Прогностическое значение обнаружения ДНК ЦМВ в крови

Наличие ДНК ЦМВ в крови у ВИЧ-инфицированного больного

- **риск развития манифестной ЦМВИ в 3.4 раза**
- **риск смерти больного в 2.5 раза**

Повышение концентрации ДНК ЦМВ в плазме на 1 log₁₀ ген/мл

- **риск развития манифестной ЦМВИ на 37%**

Повышение концентрации ДНК ЦМВ в плазме на 1 log₁₀ ген/мл

риск развития манифестной ЦМВИ в 3.1 раза

- **скорость прогрессии ЦМВ-ретинита на 40%**
- **риск смерти больного в 2.2 раза (76%)**

S. Spector (1997, 1998, 1999), E. F. Bowen (1996, 1997, 1999), M. Shinkai (1997), K. K. Dodt (1997)

Сочетанное поражение легких ЦМВ и другими возбудителями у иммуносупрессивных больных

- Сочетанное поражение легких ЦМВ и пневмоцистами, микобактериями, грибами, бактериями служит причина развития тяжелых пневмоний перечисленной этиологии (*D. Hoover, 1995; M. Duncan, 1998; Rodriguez-Barradas M.C., 1999; Русанова Н.Н., 2001*).
- Частота бактериальных и грибковых пневмоний у больных ЦМВИ достоверно выше, по сравнению с пациентами, не имеющими вирусную инфекцию (*M. Duncan, 1998*).
- ЦМВ-инфекция обуславливает осложненное течение туберкулезного процесса у детей и подростков (*Сиренко И.А., 2003*).
- Многофакторный анализа причин, повышающих летальность больных атипичным микобактериозом показал неблагоприятное значение одновременного поражения легких микобактериями и ЦМВ (*P. Mialhes, 1999*).
- Зафиксированы случаи сочетанного поражения легких ЦМВ и опухолевым процессом у больных ВИЧ-инфекцией (в ткани опухоли – многочисленные ЦМК) (*Тишкевич О.А., Пархоменко Ю.Г., Шахгильдян В.И., 2004*).

Упреждающая (превентивная) терапия ЦМВИ у больных ВИЧ-инфекцией

- Проводится больным, имеющим высокий риск развития клинически выраженной ЦМВ-инфекции:

- а) Количество CD4-лимфоцитов < 50 кл/мкл (< 100 кл/мкл ?)
- б) Наличие лабораторных признаков активной репликации ЦМВ: ДНК ЦМВ в цельной крови в концентрации $2.0 - 2.5 \log_{10}$ ген/мл (> 1.0 и более \log_{10} ген/мл ?) или ДНК ЦМВ в плазме.

Валганцикловир 900 мг 1 р/сут per os

Терапии проводится под контролем ДНК ЦМВ в крови.
Длительность терапии не менее 1 месяца.

Лечение активной ЦМВ-инфекции у ВИЧ-инфицированных больных

С целью предупреждения развития манифестации ЦМВИ у ВИЧ-инфицированных больных с активной формой инфекции проводили превентивную терапию ганцикловиром (3 г/сут per os) или валганцикловиром (900 мг/сут per os).

Критерии назначения терапии:

- а) Количество CD4-лимфоцитов < 100 (50) кл/мкл
- б) Наличие лабораторных признаков активной репликации ЦМВ:
ДНК ЦМВ в цельной крови в концентрации 2.0 – 2.5 (3.0) log₁₀ ген/мл или ДНК ЦМВ в плазме.

Длительность терапии от 1 до 3 месяцев

Контроль ДНК ЦМВ 1 раз в 2 – 4 недели, осмотр офтальмолога 1 р/мес.

Количество больных, получивших терапию: 120

Развитие клинически выраженной ЦМВИ: 9 больных (7.5%).

Время наблюдения 2.5 года.

ЦМВ-инфекция у ВИЧ-инфицированных больных

г.Москва

- Среди умерших больных ВИЧ-инфекцией на стадии 3В (СПИД) ЦМВ-инфекция была диагностирована:
1987 – 1997 гг. – 28.9% случаев
1998 – 1999 гг. – 35.7%
2000 г. – 35.7%
2001 г. – 41.2%
2002 г. – 23.8%
2003 г. – 38.5%
2004 г. – 19.2%
2005 г. – 14.6%
2006 г. - 13,3%
2007 г. – 16,3%
2008 г. - 11,5%
2012 г. - 11,8%
2013 г. - 12,4%

В Москве в течение последних лет ВИЧ-инфицированные больные с манифестной ЦМВИ получали лечение Цимевеном и Вальцитом, больные с активной ЦМВИ - упреждающую терапию Вальцитом для профилактики манифестации заболевания.

Первый случай применения валганцикловира для лечения активной ЦМВИ у ВИЧ-инфицированной беременной женщины

(Шахгильдян В.И. и др., «Эпид. и инф. болезни», 2008, №3)

- Больная С., 26 лет, заражение ВИЧ в 1999 г.
- Октябрь 2006 г. – ВИЧ-инфекция, ст. VI Б, CD4 – лимфоциты 114 кл/мкл (10%), РНК ВИЧ > 1 000 000 ком/мл. Беременность 17 нед. Назначены комбивир и вирасепт.
- 12.10.06 г. выявлена ДНК ЦМВ в крови, индекс avidности анти-ЦМВ IgG высокий (0,92), анти-ЦМВ IgM – отр. Назначен октагам 200 мл 3 раза через 2 нед.
- 24.11.06 г. Беременность 24 – 25 нед. В крови выявлена ДНК ЦМВ в концентрации 2,5 log₁₀ копий в 10х5 лейкоцитов. CD4 – лимфоциты 251 кл/мл (17%), РНК ВИЧ 26 900 ком/мл.
- 09.01.07 г. Беременность 30 – 32 нед. Учитывая высокую концентрацию ДНК ЦМВ в крови, значительный риск антенатального заражения ЦМВ плода, неэффективность предыдущего лечения, с целью прекращения репликации ЦМВ и снижения риска развития врожденной ЦМВИ решено провести этиотропную терапию валганцикловиrom 900 мг x 2 р/сут 14 дней. Проведено консультирование больной.
- 25.01.07 г. лечение завершено. ДНК ЦМВ в крови отсутствовала.
- 20.03.07 г. – больная родила мальчика. ДНК ЦМВ в крови и мочи отсутствуют. Через 1 мес. Результат аналогичный.
- 29.08.07 г. Ребенок развивается нормально. РНК ВИЧ и ДНК ЦМВ в крови не определяются.

Клинические формы герпесвирусных инфекций

Вирус герпеса человека 4-го типа (Вирус Эпштейна-Барр)

- инфекционный мононуклеоз,
- острая или длительная лихорадка,
- интерстициальная пневмония,
- миокардит,
- гепатит,
- поражение черепных нервов,
- синдром «Алисы в стране чудес» (микропсия),
- онкологические поражения: лимфома Беркитта, назофарингеальная карцинома, В-клеточные лимфомы, лимфогранулематоз, рак (саркома) желудка,
- лейкоплакия языка,
- синдром хронической усталости,
- неэпидемический паротит,
- посттрансплантационные осложнения,
- воспаление сосудистой стенки,
- рассеянный склероз

Филиппов П.Г., 2013

Вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ)

- Инфекционный мононуклеоз

Дифференциальная диагностика:

Острая ЦМВ-инфекция

Острая ВГ-6 типа инфекция

Острая ВИЧ-инфекция

Острый лейкоз

Стрептококковая лакунарная ангина

Заглоточный абсцесс

Осложнения ИМ

- аутоиммунная гемолитическая анемия,
- тромбоцитопения, агранулоцитоз,
- разрыв селезенки, гепатит,
- перикардит, миокардит,
- интерстициальная пневмония,
- поражение нервной системы: энцефалит, менингит, миелит, полирадикулопатия, полинейропатия, синдром Гийена-Барре)

Клинические проявления поражения нервной системы в 0,5–7,5% сл. и у 25% больных ИМ определяют патологические отклонения показателей состава ликвора.

Первичная лимфома головного мозга

Посттрансплантационные лимфопролиферативные осложнения

Связаны с усиленным размножением инфицированных ВЭБ В-лимфоцитов вследствие приема иммуносупрессивных препаратов, которые нарушают иммунный ответ против вируса.

Развиваются лимфомы различной локализации: чаще в трансплантате, ЦНС, органов ЖКТ.

Роль ВЭБ

в развитии злокачественных новообразований

- Лимфома Беркитта,
- В-клеточная лимфома,
- Первичная лимфома головного мозга.
- Ходжкинская лимфома,
- Назофарингеальная карцинома,
- Экстранодальная Т/НК-клеточная назальная лимфома,
- Ангиоиммунобластоидная Т-клеточная лимфома,
- Лимфогранулематоз,
- Плазмобластная лимфома,
- Посттрансплантационное лимфопролиферативное отторжение, Лимфоэпителиальноподобная карцинома желудка,
- Карцинома печени, слюнных желез, тимуса, дыхательных путей, пищеварительного тракта.

Около 1% всех новообразований вызваны ВЭБ. Чаще у пациентов с иммуносупрессией. Антиген ВЭБ – в 28-78% биоптатах ткани опухоли

•

Определяющие СПИД злокачественные опухоли

Злокачественное новообразование	Вирус
Саркома Капоши	ГВСК ¹
Неходжкинская лимфома (включая первичную лимфому ЦНС)	ВЭБ ^{1,2}
Рак шейки матки	ВПЧ ³

ГВСК: герпесвирус, связанный с Саркомой Капоши; ВЭБ: Вирус Эпштейна-Барр; ВПЧ: Папилломавирус человека

1. Hoffmann and Rockstroh HIV 2012/2013. Доступно по адресу: www.hivbook.com (ссылка проверена в апреле 2014); 2 Leruez-Ville M et al. HIV Med. 2012;13:479–87; 3. Bower M et al HIV Medicine 2014;15:1–92.

Этиология вторичных заболеваний у 468 умерших больных ВИЧ-инфекцией в Москве в 2013 г. (по данным п/а отделения ИКБ №2) 718

• Туберкулез	194 сл. (41,5%) (генер. 98%)
• Циррозы печени	60 (12,8%) (37 (7,9%) пр. смерти)
• ЦМВ-инфекция	58 (12,4%)
• Сепсис, бак. эндокардит	28 (5,3%)
• Лимфомы	31 (6,6%)
• Токсоплазмоз	36 (7,7%)
• Пневмоцистная пневмония	54 (11,5%)
• П/острый ВИЧ-энцефалит	12 (2,6%)
• Криптококковый менингит	21 (4,5%)
• Атипичный микобактериоз	16 (3,4%)
• Генерализованные микозы	7 (1,5%)
• Саркома Капоши	4 (0,8%)
• Многооч. лейкоэнцефалопатия	6 (1,3%)
• Герпетический энцефалит	0 (0%)
• Рак шейки матки	1 (0,2%)
• Пневмонии возвратные	44 (9,4%)
• Астроцитома мозга	1 (0,2%)

Этиология вторичных заболеваний у 326 умерших больных ВИЧ-инфекцией в 2015 г (по данным п/а отделения ИКБ №2, Москва)

• Туберкулез	128 сл. (41,5%) (ген.76,6%)
• Пневмонии бакт, смешан, возвратные	72 (22,1%)
• Циррозы печени	50 (15,3%)
• ЦМВ-инфекция	45 (13,8%)
• Лимфомы	27 (8,3%)
• Токсоплазмоз	24 (7,4%)
• Пневмоцистная пневмония	34 (10,4%)
• Сепсис, бак. эндокардит	16 (4,9%)
• П/острый ВИЧ-энцефалит	14 (4,3%)
• Многооч. лейкоэнцефалопатия	14 (4,3%)
• Генерализованные микозы	13 (4,0%)
• Криптококковый менингит	7 (2,1%)
• Атипичный микобактериоз	7 (2,1%)

Первичная лимфома головного мозга

Частота: до применения АРТ: 2–10% сл.,
(в 1000 раз чаще у больных ВИЧ+, чем среди населения в целом)

Клинические особенности. Течение: подострое
Неврологические нарушения зависят от локализации лимфомы
Очаговые симптомы (парезы), эпилепсии (15%)
Расстройства психики (изменение личностных характеристик (60%) и поведения, нарушение концентрации внимания)

Отсутствие лихорадки, кл. признаков инфекционного заболевания

Развитие: 2 – 8 недели. CD4 < 100 (20%) – 50 (80%) кл/мкл.

Исследование ликвора.

Нормальный состав: 30 – 50% больных.

Повышение белка.

Содержание клеток: 0 – 100 (лимфоциты).

Обнаружение ДНК ВЭБ (ПЦР). Специфичность?

Лимфома головного мозга у больных ВИЧинфекцией

- неврологическая симптоматика,
- данные МРТ г.м.
- отсутствие четкого клинического улучшения через 2 недели и положительного эффекта по результатам контрольной МРТ через 4 недели от начала эмпирической терапии токсоплазмоза,
- отрицательные результаты обследования на наличие антител класса IgG к *T.gondii*,
(анти-TOX IgG + при TOX: 90%, при лимфоме: 15% сл.)
- отсутствие или слабая степень выраженности симптомов интоксикации.
- Наличие ДНК ВЭБ в ликворе в высокой концентрации.
- Быстрый захват таллия опухолью при однофотонной эмиссионной томографии.
- Цитология + гибридизация: < 5% (стереотаксическая биопсия головного мозга с гистологическим и и иммуногистохимическим исследованием).

Интерпретация результатов по серологическим маркерам ВЭБ-инфекции

Статус инфекции	Anti-VCA-Ig M (к кап. антиг.)	Anti-EA-Ig G (к ран. антиг.)	Anti-EBNA-1-Ig G (к ядер. антиг.)	Anti-VCA-IgG (к капс антиг.)
Отсутствие	-	-	-	-
Очень ранняя первичная инфекция	+ 4-6 нед+	+/-	-	-
Ранняя первичная инфекция	+/-	+ с 1-й нед и постепенно нарастают	-	+ через несколько недель после появления anti-VCA-IgM
Перенесенная инфекция	-	- (+ мб неск. лет) (- пожизненно в низком титре)	+ (пожизненно) через неск. недель после клин прояв-й	+ (пожизненно) (в низком титре)
Реактивация	+	+	+	+

Биоматериал	ДНК ЭБВ (%)	ДНК ЦМВ (%)	ДНК ВПГ- 1,2 (%)	ДНК ВП-6 (%)	ДНК ВВЗ (%)
Мокрота	89	85	29,5	10	
БАЛЖ	71	90		33	
Биоптат бронхов	54	21		5	
Плев. жидкость	58	36			
Биоптат л/у	71	16,4	3,6	7,2	
Биоптат ЖКТ	69,2	80,7	11,5	15,3	0
Ликвор	26,7	10,4	2,4	1,5	1,2
Кровь	71,4	плаз. 19,3 лейк. 51,7			

**Частота обнаружения возбудителей
вторичных заболеваний у больных ВИЧ-
инфекций в спинномозговой жидкости (%).**

ДНК	ДНК	ДНК	ДНК	ДНК	ДНК	ДНК
ЭБВ	CMV	ВПГ-1,2	ВГ-6	VZV	TOX	JC-virus

23,4

6,1

2

1

1,2

11,7

3,7

из 402

образцов

Первичная лимфома головного мозга

Качественное обнаружение ДНК ВЭБ (ПЦР)

Чувствительность: 50 – 80%, Специфичность: 94%
(CID, 2002; 34:103)

Чувствительность: 83–100%, специфичность: 93-100%
(*J Clin Virol*, 2008, 42:433, Джон Бартлетт,
«Клинические аспекты ВИЧ-инфекции», 2010 г

Значение количественного содержания ДНК ВЭБ в СМЖ

Количество ДНК ВЭБ в СМЖ: 100 – 1 636 500 коп/мл

<1000 коп/мл - 83%,

1000–10000 коп/мл - 11%,

10 000-100 000 коп/мл - 4%,

>100 000 коп/мл - 2%

**Специфичность качественного определения ДНК ВЭБ в ликворе для подтверждения первичной лимфомы головного мозга низкая, рекомендуется количественное определение возбудителя:
пороговое значение 1000 коп/мл?, 10 000 коп/мл ?**

Значение количественного содержания ДНК ВЭБ в СМЖ при ЛПЗ ЦНС

- < 1000 коп/мл - 20%,
- $1000 - 10\,000$ коп/мл - 47%,
- $10\,000 - 100\,000$ коп/мл - 20%,
- $> 100\,000$ коп/мл - 13%

ВЫСОКАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ТЕСТ-СИСТЕМЫ АБВОТТ ДЛЯ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ВЭБ-ИНФЕКЦИИ

ТЕСТ_СИСТЕМА АБВОТТ REALTIME EBV:

обладают высокой чувствительностью и низким нижним пределом количественного определения

Нижний предел количественного определения:

Abbott RealTime Assay	Тип образца	LLQ [копий/мл]	LLQ [log копий/мл]
EBV ²	Плазма	40	1.60
	Цельная кровь	150	2.18

1. Package Insert RealTime CMV_51-608107/R5

2. Package Insert RealTime EBV_51-608279/R4

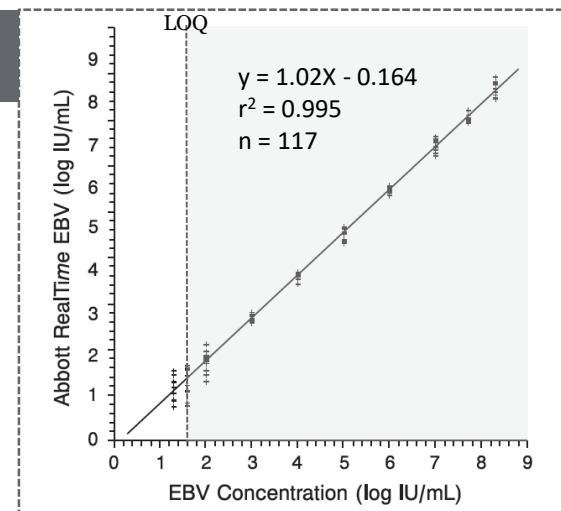
ТЕСТ-СИСТЕМА АБВОТТ REALTIME EBV: ШИРОКИЙ ДИАПАЗОН ЛИНЕЙНОСТИ ТЕСТА

ПЛАЗМА

40 – 2×10^8 МЕ/мл

1.6 – 8.3 log МЕ/мл

108.40 – 5.4×10^8 копий/мл

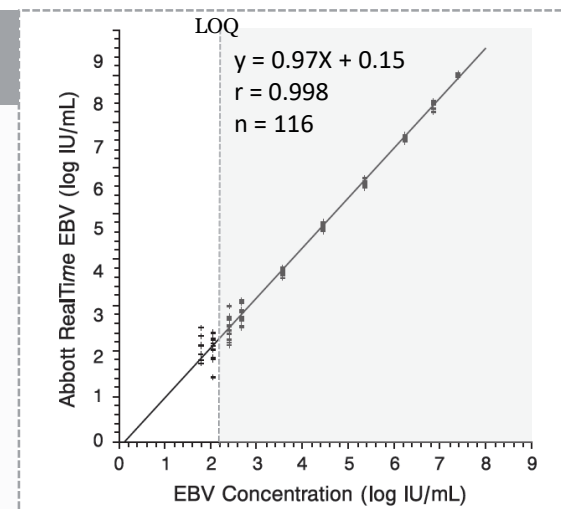


ЦЕЛЬНАЯ КРОВЬ

150 – 2×10^8 МЕ/мл

2.18 – 8.3 log МЕ/мл)

219.30 - 2.9×10^8 копий/мл



Количественное содержание ДНК ВЭБ в биоматериалах

- **Кровь:** 1,0 - 3,3 Ig,
- **Мокрота:** 2400 – 49 380 000 коп/мл
50%: <10 000 коп/мл, 12,5%: 10 000 до 100 000 коп/мл,
37,5%: >100 000 коп/мл
- **БАЛЖ:** 100 – 2 638 5100 коп/мл
38%: 100 - 5000 коп/мл, 31%: 5000-50 000 коп/мл,
8,5%: 50 000-100 000 коп/мл, 22,5%: >100 000 коп/мл
- **Плевральная жидкость:** 400 – 1 484 500 коп/мл
14%: <1000 коп/мл, 21%: 1000 – 10 000 коп/мл,
3,5%: 10 000 - 100 000 коп/мл, 11,5%: >100 000 коп./мл
- **Биоптаты лимфоузлов:** 100 – 1 553 247 коп.
21%: <1000 коп, 38%: 1000- 10 000 коп,
38%: 10 000 – 100 000 коп, 7%: >100 000 коп.
- **СМЖ:** 100 – 1 636 500 коп/мл
83%: <1000 коп/мл, 11%: 1000–10 000 коп/мл,
4%: 10 000-100 000 коп/мл, 2%, >100 000 коп/мл
- **Биоптаты ЖКТ:** 100 – 19 100 коп

Диагностика ВЭБ - инфекции

Факт наличия ДНК ВЭБ в крови при качественном варианте исследования не доказывает этиологическую роль ВЭБ в патологическом процессе.

Необходимо количественное определение ДНК ВЭБ в крови.

Выявление в крови, БАЛЖ, СМЖ и др. ДНК ВЭБ в высокой концентрации (более 10×4 ??) может свидетельствовать об ВЭБ-природе болезни.

ТЕСТ-СИСТЕМЫ АБВОТТ CMV И EBV



Уверенность в результатах благодаря
широкому диапазону линейности и
ВЫСОКОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ.



Гибкость в выборе **ТИПА ОБРАЗЦА:**
возможность использования как **ПЛАЗМЫ,**
так и **ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ.**

Цитомегаловирусная инфекция

ВЭБ-инфекция

- диагностика
- лечение
- предупреждение