

А.Д. СЕМБАЕВА

СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ДИАГНОСТИКУ ВЭБ (ВИРУС ЭПШТЕЙНА-БАРР)-ИНФЕКЦИИ

(Казахский национальный медицинский университет им. Асфендиярова С.Д.)

Описаны современные методы диагностики заболеваний, вызванных вирусом Эпштейна-Барр. Это методы определения антител к ВЭБ, иммуногистохимический метод выявления антигена ВЭБ и др.

Проблема герпесвирусных инфекций привлекает к себе все более пристальное внимание ученых всего мира. Интерес не случаен и связан как с широкой распространенностью вируса среди населения, включая подростковый и детский контингент, так и значительный спектр, вызываемых ими заболеваний, нередко непростых в диагностике и сложных в терапии.

Отдельно следует отметить вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ), который относится к группе герпесвирусов. Открытый в 1964 году учеными М.А. Эпштейном и И.М. Барр вирус был обнаружен при электронно-микроскопическом исследовании клеток лимфомы Беркитта [1, 2]. Вирус Эпштейна-Барр относится к семейству *Herpesviridae* (4 тип), подсемейству *Gammaherpesvirinae* или γ -типа, роду *Lymphocryptovirus* [1]. ВЭБ – является ДНК-содержащим вирусом [1]. Особенностью вируса и его принципиальным отличием от прочих вирусов этой группы является то, что он по-

ражает кроме эпителиальных клеток слизистой оболочки дыхательных путей и пищеварительного тракта, половых органов, также клетки иммунной системы, в том числе В-лимфоциты, в которых и происходит репликация вирусных частиц [3]. Обладая лимфотропностью, размножаясь в В-лимфоцитах, ВЭБ, как, впрочем, и вирусы простого герпеса, способен циркулировать в организме человека пожизненно [4].

Первая встреча с данным вирусом и вероятное инфицирование организма происходит в возрасте до 5 лет и по наблюдениям многих авторов чаще протекает бессимптомно или с неспецифическими проявлениями. При первичной встрече с ВЭБ в возрасте старше 5 лет может развиваться хорошо известная клиника инфекционного мононуклеоза с характерными изменениями в картине периферической крови. Практически повсеместно широкое распространение вируса среди населения объясняется просто – легко-

стью инфицирования – воздушно-капельным (инфицированная слюна) и контактно-бытовым (руки, предметы обихода) путями передачи.

Если ВЭБ попадает в организм со слюной, то первичное место репликации вируса – ротоглотка. В-лимфоциты поддерживают продуктивную инфекцию, вызванную ВЭБ, и являются единственными известными в настоящее время клетками, имеющими поверхностные рецепторы для вируса. Но в ряде последних работ есть указания о наличии вируса и в эпителиальных клетках ротоглотки у больных с ИМ. Во время острой фазы заболевания, специфические вирусные антигены обнаруживаются в ядрах более чем 20% циркулирующих В-лимфоцитов. После затухания инфекционного процесса вирус может быть выделен из небольшого числа В-лимфоцитов серопозитивных лиц; также его обнаруживают в эпителиальных клетках носоглотки [4]. Диагностика инфекционного мононуклеоза (ИМ) – т.е. острой формы ВЭБ-инфекции не представляет большой трудности, так как клиника его хорошо и детально изучена. ИМ был описан задолго до открытия самого вируса и носил название болезни Филатова. При ИМ, вызванном ВЭБ, имеет место острое начало заболевания – с повышения температуры и симптомов интоксикации (сонливость, головная боль, головокружение), у большинства наблюдается поражение зева – в виде фарингита или ангины, лимфаденопатия (увеличение лимфатических узлов, обычно в нескольких группах чаще это передне- и/или заднешейные лимфоузлы), гепатоспленомегалия (50% больных), иногда поражение кожи в виде сыпи (в 5-7% случаев) [4,5]. Для картины периферической крови характерен лейкоцитоз, лимфоцитоз, увеличено абсолютное число моноцитов и присутствуют атипичные мононуклеары – зрелые одноклеточные клетки среднего и крупного размера с широкой базофильной протоплазмой. При исследовании обычных мазков крови атипичные мононуклеары выявляются примерно в 80% случаев. Поскольку в небольшом количестве атипичные мононуклеары могут наблюдаться при различных острых инфекционных процессах (цитомегаловирус, герпес VI типа, ветряная оспа, корь, инфекционные гепатиты, токсоплазмоз и др.), диагностическим для ИМ считается содержание их не менее 10-15% в периферической крови. Атипичные мононуклеары могут длительно

до 3-6 месяцев присутствовать в анализах периферической крови [1,4-7]. Инфекция, вызванная ВЭБ, оказывает как прямое, так и не прямое влияние на клеточные и гуморальные иммунные реакции. Большое значение для диагностики ИМ имеет наличие в крови гетерофильных антител, которые обнаруживаются в максимальном количестве в течение первых 2 недель болезни и исчезают полностью в течение 3-6 мес. Для этого используют реакции гетерогеммагглютинации: Гоффа – Бауэра (с эритроцитами лошади), Пауля – Буннелля (с эритроцитами барана), Пауля – Буннелля в модификации Давидсона (с предварительно истощенной сывороткой), Ловрика (с нативными и обработанными папаином эритроцитами барана). Главные недостатки этих методов заключаются в трудоемкости выполнения (для постановки необходимы свежие эритроциты). А также отсутствием возможности дифференцировать острую инфекцию и перенесенную ранее. Недостаточная специфичность метода (может быть положительная реакция при цитомегаловирусной инфекции, ОРВИ, вирусных гепатитах, псевдотуберкулезе, токсоплазмозе и др.) является также отрицательным моментом метода [6-8]. В настоящее время известны антигены ВЭБ, которые имеют биологически разные предназначения: мембранные антигены (МА), ядерные антигены (ЕВНА), вирусный капсидный антиген (VCA). Антигены вируса синтезируются в процессе его репродукции в клетках человека, имеют различное время появления и их биологическое значение неоднозначно [6,7,11,12]. Именно обнаружение антител к антигенам вируса позволяет диагностировать инфицированность организма. Так, через 18-24 ч после внедрения вируса в В-лимфоциты посредством рецепторов С3d ядерные антигены вируса Эпштейна – Барр можно обнаружить в ядре инфицированной клетки. Экспрессия ЕВНА-1 представляет собой приобретение трансформированного или иммортализованного фенотипа. Определение антител класса IgG к ЕВНА-1 может быть использовано для диагностики острой реконвалесцентной стадии ИМ. Они редко присутствуют в острой фазе заболевания и их уровень повышается во время выздоровления. Антитела обычно присутствуют в максимальной концентрации в период между 3 месяцами и годом от начала заболевания и персистируют в низких титрах в течение всей жизни

ни. Отсутствие маркера IgG-NA-1 в крови наблюдается при нарушениях иммунного состояния больного (дефект Т-звена иммунитета). У больных ИМ детей в возрасте до 4 лет IgG к NA-1, как правило, начинают обнаруживаться в образцах сыворотки крови позднее, с 3–6-го месяца от момента инфицирования. Увеличение в крови титров IgM и IgG к VCA и EA при наличии у больного высоких титров IgG к NA-1 свидетельствует о рецидиве ИМ. Ранний антигенный комплекс представляет собой результат ранней транскрипции, предшествующей синтезу ДНК. Матричная РНК, синтезирующаяся в результате транскрипции, кодирует ферменты, необходимые для синтеза вирусной ДНК и дальнейшего образования новых вирусных частиц. Антитела класса IgG к раннему антигену (EA) обычно встречаются у больных на ранней стадии инфекции, но могут выявляться и на поздних стадиях этого заболевания. Высокий уровень IgG к раннему антигену (EA) характерен для больных назофарингеальной карциномой [4,8]. Титры IgM и IgG к капсидному антигену (VCA) появляются в крови больных в первые недели заболевания и достигают пика на 3–4-й неделе. IgM циркулирует в течение 1–3 мес. и далее не определяется. Присутствие IgM выявляется у 87–100% больных и является лучшим маркером острой инфекции. Наличие IgM-VCA в крови больного в высоких титрах более 3 мес. свидетельствует о затяжном течении ИМ и иммунодефицитном состоянии. Концентрация IgG-VCA также снижается, но остается на пороговом уровне всю жизнь (8). Выявление вируса методом иммуноферментного анализа, с определением антител к вирусному капсидному антигену (анти VCA IgM), антител к раннему (анти EBNA IgG), и нуклеарному (анти EBNA IgG) антигенам – является в настоящее время наиболее часто используемым способом диагностики ВЭБ-инфекции. Следует особо отметить, что этот метод, благодаря особенностям гуморального иммунного ответа на инфекцию, вызванную ВЭБ, позволяет определить достаточно точно время инфицирования и соответственно стадию инфекции [8,10,11]. В качестве дополнительной диагностики ИМ может служить обнаружение ДНК ВЭБ в крови и/или слюне больного полимеразно-цепной реакцией (ПЦР). Высокочувствительный метод позволяет обнаружить очень малые – следовые количества ДНК

ВЭБ, что в ряде случаев позволяет отличить вирусносительство от инфекционного процесса с активным размножением вируса. В связи с этим для дифференциального диагноза используют ПЦР с заданной низкой чувствительностью – 10 копий в пробе (вирусоносители) и 100 копий в пробе (активная инфекция). Так как ДНК доступна только в момент репликации вируса, то существенным недостатком метода является высокий процент ложноотрицательных результатов (27%). В настоящее время также используют иммуногистохимический метод – выявление антигена ВЭБ в мазках лимфоцитарной взвеси с помощью моноклональных антител при обычной световой микроскопии. Применение этой диагностики позволяет обеспечить почти 100%-е обнаружение специфического маркера ВЭБ в лимфоцитах и подтверждение клинически предполагаемой острой или хронической ВЭБ-инфекции. В то же время, при хроническом течении болезни с наличием клинических и серологических данных, первичные анализы крови и слюны на антигенные маркеры ВЭБ могут быть отрицательными, однако целесообразны повторные исследования в динамике [6, 8].

Таким образом, на сегодняшний день самой верной диагностической тактикой и доступным способом обследования больного будет использование серологических методов, – а именно определение IgG к антигенам EBNA и EA, а также IgM к VCA. Это дает необходимую и достаточную информацию для постановки диагноза, установления стадии инфекции, эффективности терапии и прогнозирования течения заболевания и, возможно, его осложнений. Особое значение определение IgG к антигенам EBNA и EA, а также IgM к VCA приобретает в сложных клинических ситуациях при диагностике хронической ВЭБ-инфекции, состояний активации и атипичной ре-активации вируса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Филдс Б., Найк Д. Вирусология // М.: Мир.-т.3. – 1989. -т.1. С.29-31, 401-406.
2. Burkitt D.P. The background to the Epstein-Barr virus / Role viruses Hum. Cancer Proc. Int. Congr. Virol. Oncol. T and Le de Reaumont Bonelli Found. Cancer Res. Naples.-1979. P. 21-23.- New York.-1995.-76. P.139-145.
3. Krajewski Andrew S., Faulkner Glenda C., Crawford Dorothy H. The ins and outs of EBV infection. Trends Microbiol.– 2000.– 8, № 4.– С. 185–189.

4. Скули Р.Т. Инфекции, вызванные вирусом Эпштейна-Барра, включая инфекционный мононуклеоз. Внутренние болезни. Под ред. Харрисон Т. Р. и др. – М.: Медицина. – 1994.-Т. 4. -С.56.

5. Живица Л.В., Пономаренко Г.Ф., Предеина В.А. Особенности течения инфекционного мононуклеоза у детей и взрослых. Клиническая медицина. 1987. - №10, С. 121-123.

6. Малащенко И.К., Дидковский Н.А., Сарсания Ж.Ш. и др. Клинические формы хронической Эпштейна-Бара вирусной инфекции: вопросы диагностики и лечения // Лечащий врач. 2003. № 9.

7. Родионова О.В. Аксенов О. А., Букина А. А. Инфекционный мононуклеоз: клиника, новые подходы к диагностике и терапии у детей: Пособие для врачей. СПб, 2000.

8. Заблוצкая С.Г., Шевченко Н.М., Ольховский И.А. Лабораторная диагностика инфекции, вызванной вирусом Эпштейна-Барр. Бюллетень Лабораторной службы. 2002. - №10, С.12-18.

9. Косяков П.Н., Косякова Н.П. Антигены опухолей человека. М.: Медицина.- 1985. 272.

10. Hemmesy K., Fennewald S. A membrane protein encoded by Epstein-Barr virus in latent. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. Biol. – 1984.- 81(22). – P. 7207-7211.

11. Martel-Renoir D., Wesner M., Joab I. Dimerization of the Epstein-Barr virus ZEBRA protein in the yeast two-hybrid system. Comparison of a ZEBRA variant with the B95-8 form. Biochimie 2000. -82(2). –P.139-45.

Резюме

Эпштейн-Барр вирусының диагностикасының жаңа әдістері қарастырылған. Қазіргі заманда EBNA және EA антигендеріне IgG-ді, сонымен қатар, VCA антигеніне IgM-ді анықтау әдісі кеңінен қолданылады. Вирусты анықтау үшін және оның ДНҚ-ын да анықтайды.

Summary

This article is devoted to investigation of modern methods of diagnostics of different forms of EBV-infection. There are some basic methods of diagnostics of EBV-infection - determination of abnormal EBV antibody titers, antiviral capsid antigens (VCA) immunoglobulin G (IgG) anti-early antigens (EA) IgG, or anti-EB nuclear antigens (EBNA); the amount of EBV DNA and others.