

УДК 616. 988-079(477.62)

МАЙЛЯН Э.А., МАЙЛЯН Д.Э., МОРОЗ Т.В., ДЮКАРЕВА А.И.
Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького

ЧАСТОТА РЕГИСТРАЦИИ ДНК ЦИТОМЕГАЛОВИРУСА В РАЗЛИЧНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛАХ У ЖИТЕЛЕЙ ДОНЕЦКОГО РЕГИОНА

Резюме. Цель. Цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ) — повсеместно распространенное заболевание. Одним из важных и наиболее точных для практического здравоохранения методов диагностики ЦМВИ является полимеразная цепная реакция (ПЦР), которая позволяет выявить ДНК вируса в различных средах организма. Целью работы явилось изучение частоты регистрации ДНК в различных физиологических жидкостях у населения Донецкой области.

Материалы и методы. При выполнении работы было проведено комплексное обследование жителей Донецкой области ($n = 1761$) различных возрастных групп. При помощи ПЦР в пробах лейкоцитов крови, плазмы, слюны и мочи производилась детекция ДНК ЦМВ.

Результаты. У 13,3 % обследованных жителей Донбасса ДНК цитомегаловируса обнаружена как минимум в одном из исследованных биологических материалов: лейкоцитах крови, плазме, моче и слюне. Положительные тесты на ДНК цитомегаловируса чаще ($P < 0,001$) регистрируются в пробах слюны (11,1 %) и мочи (10,2 %), чем при исследовании лейкоцитов крови (5,5 %) и плазмы (0,9 %). ДНК цитомегаловируса в лейкоцитах крови, плазме, слюне и моче значительно чаще выявляется у детей до 3 лет, чем в старших группах ($P < 0,001$).

Следует отметить, что одновременное наличие ДНК ЦМВ в лейкоцитах крови, слюне и моче сочетается у детей с эпизодами желтушности кожных покровов (в 25,0 % случаев), повышением температуры тела с 36,8 до 37,9 °С (68,8 %), лимфаденопатией (50,0 %), гепатоспленомегалией (37,5 %), анемией (56,3 %), ростом уровня аланинтрансаминазы (87,5 %).

Выводы. Полученные данные необходимо учитывать при назначении исследований и объективной интерпретации получаемых результатов у каждого пациента, в том числе у лиц различных возрастных групп.

Ключевые слова: цитомегаловирус, ДНК, распространенность, диагностика.

Введение

Цитомегаловирус (ЦМВ) относится к семейству герпесвирусов и является вирусом герпеса человека 5-го типа. Как и все другие герпесвирусные заболевания, ЦМВ-инфекция отличается повсеместным распространением. Данным вирусом инфицировано подавляющее большинство населения земного шара [3, 6]. Чаще всего после инфицирования вирус долгие годы, а то и на протяжении всей жизни бессимптомно персистирует в организме человека, не вызывая каких-либо клинических проявлений заболевания [4]. Наибольшую опасность цитомегаловирусная инфекция представляет для пациентов с первичными или вторичными иммунодефицитными состояниями. К снижению функциональной активности иммунной системы и вследствие этого к активации ЦМВ-инфекции могут привести воздействие на человека неблагоприятных экологических факторов, использование лучевой или химиотерапии, длитель-

ный прием кортикостероидов, иных иммуносупрессивных средств, ВИЧ-инфекция и другие состояния, сопровождающиеся иммунодепрессией [7]. Кроме того, цитомегаловирусная инфекция относится к группе TORCH благодаря своей способности поражать плод и вызывать заболевание у новорожденных [3, 6, 8].

Поэтому приобретают клиническую значимость методы как выявления инфицированности ЦМВ, так и диагностики наличия у конкретного пациента активного инфекционного процесса. При этом первостепенное значение имеют тесты, позволяющие определять присутствие вируса в различных биологических жидкостях организма. Одним из таких

© Майлян Э.А., Майлян Д.Э., Мороз Т.В.,
Дюкарева А.И., 2014

© «Медико-социальные проблемы семьи», 2014

© Заславский А.Ю., 2014

методов прямой диагностики цитомегаловирусной инфекции является полимеразная цепная реакция [2]. Благодаря данному методу практическое здравоохранение получило возможность быстро и с высокой точностью диагностировать и определять стадию инфекционного процесса, выявлять репликацию вируса и оценивать ее интенсивность [1, 2, 5]. Следует отметить, что диагностическая ценность метода, и в частности его специфичность, зависит от того, как часто тесты могут быть положительными среди здоровых лиц или в общей популяции. Вместе с тем информация о частоте выявления ДНК ЦМВ в различных биологических средах организма у жителей Украины, в том числе экологически неблагоприятного Донбасса, существенно ограничена.

В связи с вышеизложенным целью работы явилось изучение частоты детекции ДНК цитомегаловируса в различных биологических жидкостях у жителей Донецкой области различных возрастных групп.

Материалы и методы

Было проведено комплексное обследование клинически здоровых жителей Донецкой области ($n = 1761$). Все они были разделены на 9 возрастных групп. Среди 1055 детей были выделены группы в возрасте до 1 мес. (новорожденные), 1–12 мес. (грудного возраста), 1–3 лет (младший дошкольный возраст), 4–7 лет (старший дошкольный возраст), 8–14 лет (школьный возраст), 15–18 (подростковый возраст). 244 взрослым жителям Донбасса было 19–30 лет. Были обследованы 251 и 211 чел. в возрасте 31–40 и старше 40 лет соответственно. У всех исследуемых осуществляли забор крови, слюны и мочи. При помощи полимеразной цепной реакции в пробах лейкоцитов крови, плазмы, слюны и мочи производилась детекция ДНК ЦМВ.

Часть обследованных с положительными тестами на ДНК ЦМВ одновременно в лейкоцитах крови, слюне и моче ($n = 16$) была повторно осмотрена клинически и дообследована лабораторно. Этим

Таблица 1. Частота детекции ДНК цитомегаловируса в различных биологических жидкостях у жителей Донецкого региона в зависимости от возраста

Возраст	№ группы	Количество обследованных	ДНК цитомегаловируса							
			в лейкоцитах крови		в плазме		в слюне		в моче	
			Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
До 1 мес.	1	218	35	16,1	7	3,2	37	17,0	33	15,1
1–12 мес.	2	227	34	15,0	6	2,6	45	19,8	45	19,8
1–3 года	3	184	18	9,8	2	1,1	31	16,8	25	13,6
4–7 лет	4	155	3	1,9	0	0,0	11	7,1	13	8,4
8–14 лет	5	134	2	1,5	0	0,0	10	7,5	9	6,7
15–18 лет	6	137	0	0,0	0	0,0	9	6,6	7	5,1
19–30 лет	7	244	0	0,0	0	0,0	24	9,8	15	6,1
31–40 лет	8	251	0	0,0	0	0,0	25	10,0	13	5,2
> 40 лет	9	211	0	0,0	0	0,0	17	8,1	21	10,0
Всего		1761	92	5,2	15	0,9	195	11,1	181	10,2
		p_{1-4}	0,002		–		–		–	
		p_{1-5}	0,002		–		–		–	
		p_{1-6}	< 0,001		–		–		–	
		p_{1-7}	< 0,001		–		–		–	
		p_{1-8}	< 0,001		–		–		–	
		p_{1-9}	< 0,001		–		–		–	
		p_{2-4}	0,005		–		–		–	
		p_{2-5}	0,004		–		–		–	
		p_{2-6}	< 0,001		–		–		–	
		p_{2-7}	< 0,001		–		–		–	
		p_{2-8}	< 0,001		–		–		–	
		p_{2-9}	< 0,001		–		–		–	
		p_{3-6}	0,010		–		–		–	
		p_{3-7}	< 0,001		–		–		–	
		p_{3-8}	< 0,001		–		–		–	
		p_{3-9}	< 0,001		–		–		–	

пациентам были выполнены общеклинические лабораторные тесты: общий анализ крови, определение в сыворотке крови СРБ, билирубина, АЛТ, АСТ, белка и белковых фракций, альфа-амилазы, креатинина, мочевины, глюкозы, кальция, калия, железа, магния, фосфора, натрия, хлоридов, ЛДГ, холестерина. Данные показатели исследовались с помощью унифицированных лабораторных тестов.

Статистическая обработка полученного материала осуществлялась при помощи программы MedStat (Донецк). Сравнение доли положительных тестов полимеразной цепной реакции для двух групп осуществлялось при помощи углового преобразования Фишера с учетом поправки Йейтса. Для оценки различий в частоте регистрации маркера цитомегаловирусной инфекции для 3 и более групп использовался метод множественных сравнений — критерий χ^2 . При наличии статистически значимого различия парные сравнения долей в группах проводились с помощью процедуры Мараскуило — Ляха — Гурьянова.

Результаты и обсуждение

В таблице представлены данные детекции ДНК ЦМВ в лейкоцитах крови, плазме, слюне и моче обследованных лиц. Как показывают полученные результаты, среди 1761 обследованного 234 (13,3 %) имели положительный тест на наличие ДНК ЦМВ при исследовании как минимум одного из вышеуказанных биологических материалов. Причем в общей группе обследованных чаще всего ДНК регистрировалась в пробах слюны и мочи — в 11,1 и 10,2 % случаев соответственно. Значительно реже ($P < 0,001$) данный маркер был положительным при исследовании лейкоцитов крови (5,2 %) и выделенной плазмы (0,9 %).

Необходимо отметить определенную зависимость частоты выявления ДНК вируса от возраста

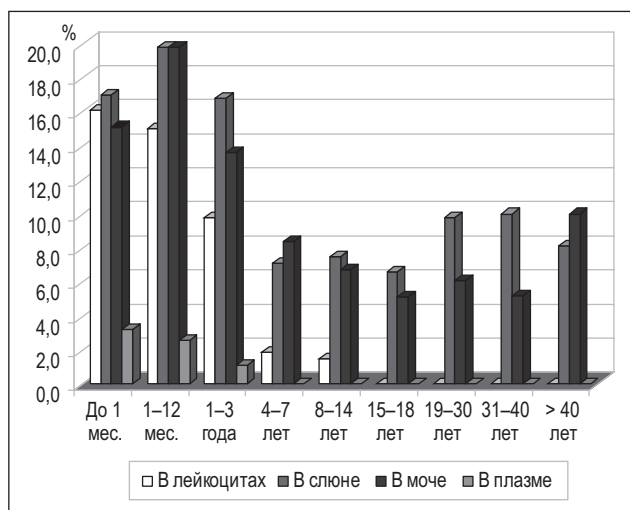


Рисунок 1. Динамика частоты выявления ДНК цитомегаловируса в различных биологических пробах у жителей Донбасса в зависимости от возраста

обследованных (табл. 1, рис. 1). Особенно это проявилось при анализе результатов тестирования лейкоцитов крови. Так, у детей в возрасте до 1 мес. и от 1 до 12 мес. в лейкоцитах ДНК ЦМВ выявляли значительно чаще, чем у детей 4–7 лет и в старших возрастных группах ($P = 0,005$ — $P < 0,001$). В пробах же лейкоцитов детей 1–3 лет ДНК ЦМВ обнаруживали чаще по сравнению с группами детей старше 15 лет ($P = 0,01$ — $P < 0,001$).

Всего у детей до 3 лет ДНК ЦМВ в лейкоцитах была обнаружена в 87 случаях из 629 (13,8 %), что существенно чаще ($P < 0,001$), чем в старших группах (0,4 % случаев). Следует отметить, что аналогичная закономерность была характерна и для результатов определения ДНК ЦМВ в других биологических жидкостях обследованных. Так, у детей первых трех возрастных групп, вместе взятых (до 3 лет, $n = 629$), в плазме, слюне и моче ДНК вируса была выявлена соответственно в 2,4; 18,0 и 16,4 % случаев, тогда как у всех остальных (старше 3 лет, $n = 1132$) — лишь в 0,0; 8,5 и 6,9 % случаев ($P < 0,001$).

На рис. 2 представлены данные анализа частоты встречаемости различных вариантов тестов полимеразной цепной реакции у вышеуказанных 234 обследованных. Чаще всего, а именно у 90 чел. (38,5 %), ДНК определялась только в секретах — слюне и моче одновременно. Следует отметить, что у всех без исключения лиц с положительным ответом на ДНК ЦМВ в плазме крови ($n = 15$; 6,4 %) ДНК вируса определяли и в лейкоцитах крови, и в пробах мочи и слюны. У 41 обследованного (17,5 %) наряду с детекцией ДНК в лейкоцитах вирус был выявлен как в моче, так и в слюне. В ряде случаев наличие ДНК ЦМВ в лейкоцитах сочеталось с обнаружением вируса только в моче (7,3 %) или только в слюне (6,0 %). Следует отметить, что в 57 случаях

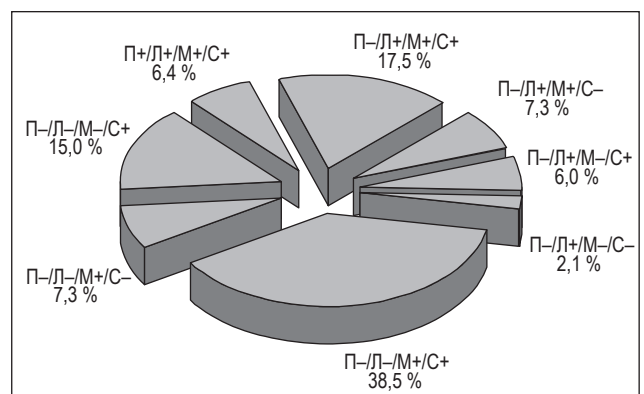


Рисунок 2. Структура полученных результатов при проведении полимеразной цепной реакции у жителей Донбасса, имеющих положительный результат теста на ДНК цитомегаловируса хотя бы в одном из исследуемых биологических материалов ($n = 234$)

Примечания: П– и П+, Л– и Л+, М– и М+, С– и С+ — соответственно отрицательные и положительные результаты ДНК ЦМВ в плазме, лейкоцитах крови, моче и слюне.

ДНК вірусу була виявлена тільки в одному з досліджуваних матеріалів: тільки в слюні — в 35 пробах (15,0 %), мочі — в 17 (7,3 %), лейкоцитах — в 5 (2,1 %) з 234 спостережень.

Частина обстежених ($n = 16$, вік від 3 до 22 міс.) після виявлення у них позитивних тестів на наявність ДНК цитомегаловірусу в лейкоцитах крові, слюні та мочі були обстежені повторно. Практично у всіх дітей були виявлені один і декілька ознак активної цитомегаловірусної інфекції. У 4 дітей (25,0 %) батьки відзначали єдиничні або неодноразові епізоди жовтушності шкірних покривів. У 11 з 16 пацієнтів (68,8 %) при повторному огляді було виявлено підвищення температури тіла (с 36,8 до 37,9 °С). Восемь дітей (50,0 %) мали лімфаденопатію, 6 (37,5 %) — гепатоспленомегалію. У 56,3 % відзначено анемію різної ступеня вираженості. У 14 дітей (87,5 %) було виявлено підвищення рівня аланінтрансаминази.

Висновки і практичні рекомендації

1. У 13,3 % обстежених жителів Донбасу ДНК цитомегаловірусу виявлено як мінімум в одному з досліджуваних біологічних матеріалів: лейкоцитах крові, плазмі, мочі та слюні.

2. Позитивні тести на ДНК цитомегаловірусу частіше ($P < 0,001$) реєструються в пробах слюни (11,1 %) та мочі (10,2 %), ніж при дослідженні лейкоцитів крові (5,5 %) та плазми (0,9 %).

3. ДНК цитомегаловірусу в лейкоцитах крові, плазмі, слюні та мочі значно частіше виявляють у дітей до 3 років, ніж в старших групах ($P < 0,001$).

4. Наявність ДНК ЦМВ одночасно в лейкоцитах крові, слюні та мочі зустрічається у дітей з епізодами жовтушності шкірних покривів (в 25,0 % випадків), підвищення температури тіла с 36,8 до 37,9 °С (68,8 %), лімфаденопатією (50,0 %), гепатоспленомегалією (37,5 %), анемією (56,3 %), ростом рівня аланінтрансаминази (87,5 %).

Список літератури

1. Atkinson C. Development of a novel single tube nested PCR for enhanced detection of cytomegalovirus DNA from dried blood spots / C. Atkinson, V.C. Emerya, P.D. Griffiths // *J. Virol. Methods*. — 2014. — Vol. 196. — P. 40-44.
2. Boeckh M. Complications, diagnosis, management, and prevention of CMV infections: current and future // *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program*. — 2011. — P. 305-309.
3. Boeckh M. Cytomegalovirus: pathogen, paradigm, and puzzle / M. Boeckh, P.A. Geballe // *J. Clin. Invest.* — 2011. — Vol. 121, № 5. — P. 1673-1680.
4. Goodrum F. Human cytomegalovirus persistence / F. Goodrum, K. Caviness, P. Zagallo // *Cell. Microbiol.* — 2012. — Vol. 14, № 5. — P. 644-655.
5. The increased sensitivity of human cytomegalovirus (HCMV) PCR quantitation in whole blood affects reproductive rate (R_0) measurement / [V. Gurtler, B.C. Mayall, J. Wang, S. Ghaly-Derias] // *J. Virol. Methods*. — 2013. — Vol. 196. — P. 179-184.
6. Kosugi I. Cytomegalovirus (CMV) // *Uirusu*. — 2010. — Vol. 60, № 2. — P. 209-220.
7. Role of viral infections in immunosuppressed patients / [M. Salavert, R. Granada, A. Diaz, R. Zaragoza] // *Med. Intensiva*. — 2011. — Vol. 35, № 2. — P. 117-125.
8. Yinon Y. Screening, diagnosis, and management of cytomegalovirus infection in pregnancy / Y. Yinon, D. Farine, M. H. Yudin // *Obstet. Gynecol. Surv.* — 2010. — Vol. 65, № 11. — P. 736-743.

Получено 24.02.14 ■

Майлян Е.А., Майлян Д.Е., Мороз Т.В., Дюкарева Г.І.
Донецький національний медичний університет ім. М. Горького

ЧАСТОТА РЕЄСТРАЦІЇ ДНК ЦИТОМЕГАЛОВІРУСУ В РІЗНИХ БІОЛОГІЧНИХ МАТЕРІАЛАХ У ЖИТЕЛІВ ДОНЕЦЬКОГО РЕГІОНУ

Резюме. Мета. Цитомегаловірусна інфекція (ЦМВІ) — повсюдно поширене захворювання. Одним із важливих і найбільш точних для практичної охорони здоров'я методів діагностики ЦМВІ є полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР), що дозволяє виявити ДНК вірусу в різних середовищах організму. Метою роботи було вивчення частоти реєстрації ДНК у різних фізіологічних рідинах у населення Донецької області.

Матеріали і методи. При виконанні роботи було проведено комплексне обстеження мешканців Донецької області різних вікових груп ($n = 1761$). За допомогою ПЛР у пробах лейкоцитів крові, плазми, слюни і сечі проводилася детекція ДНК ЦМВ.

Результати. У 13,3 % обстежених жителів Донбасу ДНК цитомегаловірусу виявлено як мінімум в одному з досліджуваних біологічних матеріалів: лейкоцитах крові, плазмі, сечі і слюні. Позитивні тести на ДНК цитомегаловірусу частіше ($P < 0,001$)

реєструються в пробах слюни (11,1 %) та сечі (10,2 %), ніж при дослідженні лейкоцитів крові (5,5 %) та плазми (0,9 %). ДНК цитомегаловірусу в лейкоцитах крові, плазмі, слюні та сечі значно частіше виявляється в дітей до 3 років, ніж у старших групах ($P < 0,001$).

Слід зазначити, що одночасна наявність ДНК ЦМВ у лейкоцитах крові, слюні та сечі поєднується в дітей з епізодами жовтушності шкірних покривів (у 25,0 % випадків), підвищенням температури тіла с 36,8 до 37,9 °С (68,8 %), лімфаденопатією (50,0%), гепатоспленомегалією (37,5 %), анемією (56,3 %), зростанням рівня аланінтрансаминази (87,5 %).

Висновки. Отримані дані необхідно враховувати при призначенні досліджень та об'єктивній інтерпретації отриманих результатів у кожного пацієнта, в тому числі в осіб різних вікових груп.

Ключові слова: цитомегаловірус, ДНК, поширеність, діагностика.

Mailian E.A., Mailian D.E., Moroz T.V., Diukareva G.I.
Donetsk National Medical University named after M. Gorky, Donetsk, Ukraine

PREVALENCE OF CYTOMEGALOVIRUS DNA REGISTRATION IN VARIOUS BIOLOGICAL MATERIALS OF THE DONETSK REGION INHABITANTS

Summary. Objective. Cytomegalovirus infection (CMVI) — pervasive disease. One of the most important and most accurate methods of CMVI detection for practical healthcare is polymerase chain reaction (PCR), which allows DNA virus detecting in different internal environments. The aim of investigation was the study of CMV DNA detecting rate in various body fluids in the population of Donetsk region.

Materials and Methods. 1761 inhabitants of Donetsk region of various age groups underwent complete physical examination during the survey. CMV DNA was detected in the samples of white blood cells, plasma, saliva and urine using PCR.

Results. In 13.3 % of examined Donbass inhabitants, cytomegalovirus DNA has been detected at least in one of the studied biological materials: white blood cells, plasma, urine and saliva. Positive cytomegalovirus DNA tests are more often ($P < 0.001$) registered in

the samples of saliva (11.1 %) and urine (10.2 %) than in the study of white blood cells (5.5 %) and plasma (0.9 %). Cytomegalovirus DNA in white blood cells, plasma, saliva and urine is much more frequently detected in children under 3 years of age than in older groups ($P < 0.001$).

It should be emphasized that simultaneous presence of CMV DNA in white blood cells, saliva and urine is combined in children with skin icteritiousness episodes (in 25.0 % of cases), body temperature increase from 36.8 to 37.9 °C (68.8 %), lymphadenopathy (50.0 %), hepatosplenomegaly (37.5 %), anemia (56.3 %), alanine transaminase increase (87.5 %).

Conclusion. These data must be considered when assigning studies and objective interpretation of results obtained from each patient, including in subjects of different age groups.

Key words: cytomegalovirus, DNA, prevalence, diagnosis.