

## ОГЛЯДИ ТА ЛЕКЦІЇ

47. Nathan P.W., Wall P.D. Treatment of post-herpetic neuralgia by prolonged electric stimulation // *BMJ*. – 1974. – V. 3. – P. 645-647.
48. Lewith G.T., Field J., Machin D. Acupuncture compared with placebo in post-herpetic pain // *Pain*. – 1983. – V. 17. – P. 361-368.
49. Kotani N., Kushikata T., Hashimoto H. et al. Intrathecal methylprednisolone for intractable postherpetic neuralgia // *N. Engl. J. Med.* – 2000. – V. 343. – P. 1514-1519.
50. Semla T.P., Beizer J.L., Higbee M.D. Geriatric Dosage Handbook // 9<sup>th</sup> ed. Cleveland: Lexi-Comp, Inc.; 2004. – P. 25-27, 171-172, 305-306, 434-435, 818-820, 1170-1171.
51. Jessell T.M., Iversen L.L., Cuello A.C. Capsaicin-induced depletion of substance P from primary sensory neurons // *Brain Res.* – 1978. – V. 152. – P. 183-188.
52. Watson C.P., Evans R.J., Watt V.R. Post-herpetic neuralgia and topical capsaicin // *Pain*. – 1988. – V. 33. – P. 333-340.
53. Bernstein J.E., Bickers D.R., Dahl M.V., Roshal J.Y. Treatment of chronic postherpetic neuralgia with topical capsaicin: a preliminary study // *J. Am. Acad. Dermatol.* – 1987. – V. 17. – P. 93-96.
54. Watson C.P., Tyler K.L., Bickers D.R. et al. A randomized vehicle-controlled trial of topical capsaicin in the treatment of postherpetic neuralgia // *Clin. Ther.* – 1993. – V. 15. – P. 510-526.
55. Milligan K.A., Atkinson R.E., Schofield P.A. Lignocaine-prilocaine cream in postherpetic neuralgia // *BMJ*. – 1989. – V. 298. – P. 253.
56. Stow P.J., Glynn C.J., Minor B. EMLA cream in the treatment of postherpetic neuralgia: efficacy and pharmacokinetic profile // *Pain*. – 1989. – V. 39. – P. 301-305.
57. Galer B.S., Rowbotham M.C., Perander J., Friedman E. Topical lidocaine patch relieves postherpetic neuralgia more effectively than a vehicle topical patch: results of an enriched enrollment study // *Ibid.* – 1999. – V. 80. – P. 533-538.
58. Jay C.A. Infections of the Nervous System // Hazzard W.R., Blass J.P., Halter J.B. et al. Principles of Geriatric Medicine and Gerontology. 5<sup>th</sup> ed. - New York: McGraw-Hill, Inc.; 2003. – P. 1117-1126.
59. Rowbotham M.C., Davies P.S., Fields H.L. Topical lidocaine gel relieves postherpetic neuralgia // *Ann Neurol.* – 1995. – V. 37. – P. 246-253.
60. Bonica J.J., Buckley F.P. Regional anesthesia with local anesthetics // Bonica J.J., ed. The management of pain. 2nd ed. - Philadelphia: Lea & Febiger. – 1990. – V. 2. - P. 1883-1966.
61. Watson C.P., Evans R.J., Watt V.R., Birkett N. Post-herpetic neuralgia: 208 cases // *Pain*. – 1988. – V. 35. – P. 289-297.
62. Partenoy R.K., Duma C., Foley K.M. Acute herpetic and postherpetic neuralgia: clinical review and current management // *Ann. Neurol.* – 1986. – V. 20. – P. 651-664.
63. Mazars G.J., Merienne L., Cioloca C. Comparative study of electrical stimulation of posterior thalamic nuclei, periaqueductal gray, and other midline mesencephalic structures in man // Bonica J.J., Liebeskind J.C., Albe-Fessard D.G., eds. Proceedings of the Second World Congress on Pain. V. 3 of Advances in pain research and therapy. - New York: Raven Press, 1979. – P. 541-546.
64. North R.B., Levy R.M. Consensus conference on the neurosurgical management of pain // *Neurosurgery*. – 1994. – V. 34. – P. 756-761.

© Колектив авторів, 2006  
УДК 616.98:578.825.1]-078

**Л.О. Панченко, І.І. Торяник, Н.Г. Попова, І.В. Коровасва, О.О. Кулікова**

## **ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА ГЕРПЕСВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ ЛЮДИНИ**

Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України, м. Харків

У всьому світі кінець 20-го та початок 21-го століть відмічені значним зростанням рівня герпесвірусної інфекції (ГВІ) людини [1].

Високий рівень інфікованих осіб (до 90-100 %) та хворих на клінічно маніфестні, субклінічні та латентні форми дають підстави вважати, що ГВІ

мають епідемічне поширення серед населення Земної кулі [1, 2].

Даних щодо рівня захворюваності в Україні до теперішнього часу немає через відсутність реєстрації ГВІ. Проте, в роботах численних вітчизняних дослідників також відзначається наявність знач-

ної кількості інфікованих осіб і хворих на ту чи іншу форму ГВІ [3, 4]. Такий високий рівень хворих у структурі загальної інфекційної захворюваності у світі та у нас в країні багато в чому можна пояснити збільшенням серед населення популяції імунокомпрометованих осіб. Безперечно, значення мають також інші фактори, в тому числі рівень соціально-економічного розвитку країни, звичаї населення і т. ін. [5].

У новонароджених і дітей перших років життя за умов несвоєчасного початку специфічного лікування у разі залучення в інфекційний процес центральної нервової системи реєструється високий рівень смертності (до 50 %). Ще вища смертність (до 80 %) спостерігається за відсутності антигерпетичної терапії при дисемінованих формах ГВІ, які перебігають з ураженням багатьох внутрішніх органів і систем організму. У більшості дітей, які перенесли ці дві форми захворювання, звичайно мають місце тяжкі неврологічні наслідки [6, 7].

Викладені дані вітчизняних і закордонних дослідників обґрунтовують необхідність посиленої уваги до проблеми ГВІ, у тому числі до важливості широкого використання методів їх своєчасного виявлення. З розв'язанням цих питань пов'язане підвищення ефективності антигерпетичної терапії і зниження ризику передачі ГВІ.

Родина *Herpesviridae*, що донедавна була представлена лише 5 типами збудників ГВІ, наприкінці минулого століття поповнилася трьома новими герпесвірусами людини 6-го, 7-го і 8-го типів [8]. Ізоляція останніх від хворих на лімфопроліферативні захворювання стала можливою завдяки розробці методів культивування лімфоцитів крові *in vitro*. Таким чином, зараз загальне число герпесвірусів людини представлено 8 членами, які внаслідок відмінностей низки біологічних властивостей, характеру репродукції в клітинних культурах, клінічної картини та патогенезу ними викликаних захворювань розподілені на три підродини (б, в і г).

В б-*Herpesviridae* увійшли нейротропні віруси простого герпесу 1-го та 2-го типів (ВПГ-1 і ВПГ-2), а також герпесвірус зостер (ГВЗ), у в-*Herpesviridae* - цитомегаловірус (ЦМВ), герпесвірус людини 6-го типу (ГВЛ-6) і герпесвірус людини 7-го типу (ГВЛ-7). Герпесвіруси Епштейна-Барр (ВЕБ) і герпесвірус людини 8-го типу (ГВЛ-8) склали г-*Herpesviridae*.

Із перелічених підродин на сьогодні найповніше охарактеризовані б-герпесвіруси (ВПГ-1 і ВПГ-2) і у світовій практиці накопичений досить вели-

кий досвід відносно їхньої детекції в клінічному матеріалі хворих [9]. У зв'язку з цим, у представленій статті основна увага приділяється сучасним діагностичним можливостям виявлення вірусів простого герпесу 1-го і 2-го типів. Проте, необхідно відзначити, що стосовно інших герпесвірусів (ЦМВ, ВЕБ), а також порівняно недавно виділених вірусів в- та г-підродин є певні успіхи в плані їх діагностики у хворих на ГВІ [5].

Відомо, що захворювання, викликані герпесвірусами, характеризуються надзвичайним клінічним поліморфізмом внаслідок залучення в процес різних органів та тканин, а також ступеня тяжкості від легких до дуже тяжких форм хвороби [9].

Важливою особливістю ГВІ, в тому числі спричиненою ВПГ, є встановлення після первинної інфекції в ранньому дитячому віці латентної персистуючої інфекції із збереженням герпесвірусів протягом усього життя в гангліях чутливих нервів. Їх реактивація в результаті зниження імунореактивності організму та інших провокуючих факторів веде до виникнення рецидивів із клінічним, субклінічним або асимптоматичним перебігом недуги. Частіше реактивація вірусу відбувається у вагітних, пацієнтів після переливання крові або її компонентів, трансплантації органів та інших станів, що пов'язані з імунною супресією.

У разі відсутності реактивації герпесвіруси в організмі людини існують у латентному стані, коли вірусний геном знаходиться в транскрипційно інертному вигляді і експресії вірусних протеїнів не відбувається. Проте, як відзначають деякі дослідники, ризик передачі латентної інфекції є [8, 10].

За умов типового перебігу недуги з характерним везикулярним висипанням на слизових оболонках чи шкірі хворого клінічний діагноз встановлюється без будь-яких труднощів. Проте у більшості випадків ВПГ-інфекція перебігає асимптоматично або з незначними симптомами, що важко розпізнаються. Досить часто пацієнти звертаються до лікаря вже після зникнення характерного висипання [2, 3, 11]. У таких випадках значно ускладнюється постановка правильного діагнозу і необхідно вдаватися до лабораторних тестів для уточнення етіології захворювання. Застосування методів лабораторної діагностики також необхідно для спостереження за перебігом інфекційного процесу та результатами проведення у хворих антигерпетичної терапії.

Головними вимогами, що висувуються до лабораторних методів діагностики, є такі: висока чутливість і специфічність, швидкість та простота

## ОГЛЯДИ ТА ЛЕКЦІЇ

постановки, добра відтворюваність методу, невисока вартість проведення аналізу.

Для лабораторної діагностики ВПГ-інфекції застосовують різні методи:

- цитологічне дослідження для встановлення вірусіндукованих змін в клітинах із вогнищ ураження;

- знаходження віріонів ВПГ за допомогою прямої та імунної електронної мікроскопії (ПЕМ і ІЕМ);

- виявлення клінічних ізолятів ВПГ від хворих на різноманітних культурах клітин;

- визначення вірусних антигенів за допомогою методу флуоресцентних антитіл (МФА) та імуноферментного аналізу (ІФА);

- детекція ДНК ВПГ за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР);

- визначення специфічної імунної відповіді до ВПГ за допомогою ІФА.

Кожен з наведених діагностичних методів має як певні переваги, так і недоліки. Вони викладаються в порядку характеристики методу.

**Світлова мікроскопія.** Безпосереднє дослідження клітин з вогнищ ушкоджень. При цьому встановлюється характерний метаморфоз клітин – поява гігантських багатоядерних клітин з внутрішньоядерними еозинофільними включеннями. Метод на сьогодні широко не використовується, тому що має низьку чутливість і специфічність. Результат досліджень значною мірою залежить від кількості клітин, отриманих для цитологічного аналізу.

**Електронна мікроскопія.** За допомогою цього методу в клінічних зразках хворих на ГВІ виявляються характерні за морфологією вірусні частини. Перевагою методу є його експресивність (2-3 год). Недоліком методу є низька специфічність, неможливість типового диференціювання ВПГ. Однак, останній недолік може бути усунутий при наявності типоспецифічних сироваток для застосування в імунній електронній мікроскопії. Недоліком методів ПЕМ та ІЕМ є необхідність мати дороге обладнання (електронний мікроскоп) та спеціально підготовлений для роботи на ньому персонал.

**Культуральний метод.** Цей метод виявлення та ідентифікації вірусу, за висновками багатьох дослідників, залишається в наш час «золотим стандартом». Всі б-герпесвіруси добре репродукуються у різних первинних і перещеплюваних лініях клітин людського і тваринного походження. З метою виділення на них ВПГ може бути використаний різний біоматеріал від хворих: везикулярна рідина, кров, сироватка чи плазма крові, слина, сльозова чи спинномозкова рідини, мате-

ринське молоко, слиз із уражених органів, а також біопсійний матеріал.

Цитопатичні зміни в інфікованих ВПГ клітинах характеризуються або появою гігантських багатоядерних клітин, або утворенням клітинних конгломератів у вигляді «бляшок» без злиття цитоплазми.

Культуральний метод є високоспецифічним (практично 100 %) і високочутливим (більше 90 %), дозволяє здійснювати типову диференціацію ізолятів у реакції нейтралізації на культурі клітин, визначати їх інфекційну активність і антивірусну чутливість.

Поряд з перевагами даного методу він має недоліки: залежність від термінів узяття матеріалу (необхідно його брати за можливості в ранній термін від початку захворювання) і кількості в ньому вірусних часток; виявлення цитопатичної дії вірусу можливе лише після 3-7 діб від зараження клітин і необхідність проведення 2-3 пасажів для закріплення інфекційної активності ізоляту з метою його подальшої ідентифікації за допомогою типоспецифічних сироваток до ВПГ. При цьому необхідно пам'ятати, що негативний результат вірусовиділення не виключає діагноз ВПГ-інфекції у хворого [9].

Метод виділення ВПГ на курячих ембріонах і в організмах лабораторних тварин у даний час частіше застосовується в експериментальних дослідженнях.

Широке розповсюдження впродовж останніх років набули **методи детекції герпесвірусних антигенів за допомогою МФА та ІФА**, засновані на реакції специфічного зв'язування антиген-антитіло. В МФА використовуються флуоресціюючі імуноглобуліни, а в ІФА – моноклональні антитіла до ВПГ, частіше кон'юговані з пероксидазою хрому. Деякі властивості, що характеризують ці методи, наведені в таблиці 1 [9, 12].

У практичній роботі широко застосовуються серологічні методи імуноферментного визначення специфічних антитіл класів IgM і IgG до ВПГ. У комерційних тест-системах останніх років використовуються рекомбінантні або синтетичні білки ВПГ. Виявлення в крові хворих IgM розцінюється як показник гострого перебігу ВПГ-інфекції, а IgG – перенесення захворювання в минулому.

Альтернативним визначенню IgM є метод виявлення «ранніх» низькоавідних антитіл класу IgG, що утворюються при розмноженні вірусу в організмі хворого на початку захворювання.

Лабораторні тести для виявлення антигену ВПГ

| Характеристика тестів | Виявлення антигену ВПГ за допомогою   |   |
|-----------------------|---|---|
|                       | МФА   | ІФА   |
| Чутливість            | > 80 %  | Не менше 90 %   |
| Специфічність         | Висока  | Висока  |
| Швидкість виконання   | 1-2 год   | 3-3,5 год   |
| Переваги              | Відносно недорогі<br>Простота виконання<br>Доступність обладнання<br> |   |
|                       | Можливість автоматизації та кількісного обліку результатів дослідження  |   |
| Недоліки              | Недостатня чутливість (не 100 %)  |   |
|                       | Залежність результатів тесту від наявності у мазку вірус-інфікованих клітин.<br>Відсутність можливості типоспецифічної диференціації ВПГ.               | За даними електронної мікроскопії, у зразку інфекційного матеріалу повинно бути не менше як 10 <sup>6</sup> вірусних частин.<br>Більшість сучасних тест-систем не дозволяє диференціювати типи ВПГ. |

В Україні для діагностики ВПГ-інфекції застосовуються імуноферментні тест-системи НПК «Діапроф-Мед» «DIA-HSV 1/2 IgM» і «DIA-HSV 1/2 IgG» для визначення антитіл класів IgM і IgG до ВПГ 1-го та 2-го типів. У порівняльних дослідженнях з аналогічними тест-системами інших країн показана їх висока чутливість і специфічність. Для визначення антитіл класу M і G тільки до ВПГ 2 типу у сироватці та плазмі крові хворого розроблена імуноферментна тест-система «DIA-HSV 2 IgM» і «DIA-HSV 2 IgG». За допомогою останньої тест-системи може бути здійснено не лише якісний, але й напівкількісний аналіз в одиницях DIA Units (DU) за наведеною в інструкції з використання тест-системи формулою.

Враховуючи той факт, що значна частина клінічно здорових осіб мають антитіла до ВПГ, їх виявлення не може розглядатися як єдиний критерій для постановки діагнозу захворювання. До того ж суттєвим недоліком ІФА є не тільки зазначена в таблиці відсутність можливості диференціації між першим і другим типами ВПГ, але й диференціації між первинною і рецидивною інфекцією. Тому постійно ведуться роботи щодо вдосконалення даного методу. В зазначеному плані заслуговує на увагу метод *Western-blot* (WB) та його модифікації, які мають ряд переваг порівняно з вище-

наведеними методами ІФА. Принцип WB полягає в тому, що в поліакриламідному гелі на основі відмінностей в молекулярній масі білки ВПГ дослідних зразків розділяються. Потім вони переносяться на нітроцелюлозний фільтр, де ідентифікуються за допомогою зв'язаних з ферментом індикаторних антитіл. Переваги WB полягають у тому, що метод дозволяє визначати антитіла до ширшого спектру вірусних протеїнів (до 15-18) та точно диференціювати один тип вірусу від іншого (ВПГ-1 та ВПГ-2). За допомогою цього тесту є можливість розпізнавати перші симптоматичні епізоди рецидивної інфекції від істинної первинної, а також визначати сероконверсію у хворих у динаміці захворювання.

З урахуванням складності та дорожнечі WB знайшов застосування не всюди, а лише в деяких країнах та частіше як типоспецифічний референс-тест [9].

Іншим важливим методом для діагностики ВПГ-інфекції, розробленим за останні роки, є **виявлення антитіл до глікопротеїнів G-1 і G-2**, які вважаються унікальними для кожного із типів ВПГ. Різні модифікації *immunoblot*, що зараз проходять випробування в наукових лабораторіях ряду країн, спрямовані на підвищення чутливості і специфічності методів діагностики ВПГ-інфекції, а та-

## ОГЛЯДИ ТА ЛЕКЦІЇ

кож можливості диференціації ВПГ-1 від ВПГ-2. Відносно одної з таких тест-систем (*Gull gG-EIA*) повідомлено у друці, що вона має високу чутливість і специфічність. Проте, можливі несправньо-негативні результати у разі надто раннього дослідження крові хворого, тому що антитіла до gG виробляються тільки через 1-3 міс. від початку захворювання. У зв'язку з цим, зазначений тест має ретроспективне значення і не може бути застосований у плані діагностики в гострий період захворювання [13].

Найчутливішим методом, що дає змогу виявляти ДНК вірусу простого герпесу, є **ПЛР**. З її допомогою можна визначити 0,01 нг ДНК, що перевищує чутливість ізоляції вірусу на культурі клітин в середньому не менш ніж у 100 разів [14].

Для виключення перехресної контамінації з близькоспорідненими мікроорганізмами, а також із ДНК організму хазяїна використовується набір специфічних олігонуклеотидів-праймерів.

У даний час ПЛР широко застосовується в клінічній практиці, особливо з метою виявлення персистуючих, латентних і рецидивних форм захворювання, а також для уточнення сумнівних результатів серологічних досліджень [1, 14, 15]. Особливе значення ПЛР набула у діагностиці внутрішньоутробної інфекції у зв'язку з частою відсутністю специфічних клінічних проявів у вагітних жінок [13].

За допомогою ПЛР можлива детекція ВПГ в різноманітних біологічних рідинах і в біопсійному матеріалі, в тому числі у фіксованих формаліном тканинах. Важливою властивістю ПЛР є одержання результатів аналізу протягом однієї робочої доби.

Поряд з високою чутливістю і специфічністю методу, недоліком його є низька прогностична цінність. Це зв'язано з тим, що у випадку виявлення латентного вірусу він не завжди призводить до розвитку захворювання, і тільки негативний результат ПЛР має 100 % діагностичне значення. У зв'язку з цим, очевидна важливість розвитку і більш широкого використання кількісних методів ПЛР.

В Україні для діагностики ВПГ-інфекції НПК «Діапроф-Мед» розроблений і застосовується в практиці тест-набір «*DIA-AmpliSens HSV 1/2*», що дозволяє виявити ДНК ВПГ 1/2 у концентрації не менш ніж 5 000 геномів у 1 мл.

Наприкінці слід відзначити, що різні діагностичні методи, які застосовуються останнім часом для встановлення етіологічного діагнозу, варіюють за основними критеріями – специфічністю та

чутливістю, мають як свої переваги, так і недоліки. У кожному конкретному випадку вибір діагностичних методів багато в чому залежить від форми та тяжкості ГВІ, а також професійної поінформованості лікаря стосовно сучасних методів діагностики. Потрібно особливо відзначити, що встановлення точного клініко-лабораторного діагнозу і тактика ведення хворих на ГВІ багато в чому залежать від правильної інтерпретації результатів лабораторного аналізу.

### Література

1. Malkin J-E. The continuing spread of HSV infection. *Worldwide epidemiology // Herpes*. - 2005. - V. 12, N 3. - P. 77.
2. Mindel A. Genital herpes - the «forgotten epidemic» // *Ibid*. - 1994. - V. 1, N 2. - P. 39-48.
3. Мавров И.И. Герпесвирусная инфекция, клинические формы, патогенез, лечение: Руководство для врачей. - Харьков: Факт, 1998. - 80 с.
4. Марієвський В.Ф., Руденко А.О., Щербинська А.М. Інфекційні хвороби в Україні на рубежі двох століть // *Сучасні інфекції*. - 1999. - № 2. - С. 18-23.
5. Sandström E., Whitley R.J. The increasing importance of cytomegalovirus, Epstein-Barr virus and the human Herpesviruses types 6, 7 and 8 // *Recommendations from the IHMF Management Strategies Workshop and 3<sup>rd</sup> Annual meeting*. *Herpes*. - 1995. - P. 1-29.
6. Kimberlin D.W. Neonatal HSV infections: the Global Picture // *Ibid*. - 2004. - V. 11, N 2. - P. 31-32.
7. Kimberlin D.W. Herpes Simplex Virus Meningitis and Encephalitis in Neonates // *Ibid*. - 2004. - N 11, Suppl. 2. - P. 65A-76A.
8. Львов Н.Д., Мельниченко А.В. Вирусы герпеса человека 6, 7 и 8-го типов - новые патогены семейства Herpesviridae // *Вопр. вирусол.* - 1991. - № 3. - С. 105-111.
9. Griffiths P.D., Volpi A. Progress with diagnostic tests and vaccines for alpha-herpesviruses // *Recommendations from the IHMF Management Strategies Workshop and 5<sup>th</sup> Annual Meeting*. *Herpes*. - 1997. - P. 1-68.
10. Sandström E., Whitley R.J. Genital and orofacial Herpes simplex virus infections – clinical implications of latency // *Recommendations from the IHMF Management Strategies Workshop and 3<sup>rd</sup> Annual meeting*. *Herpes*. - 1995. - P. 29-36.
11. Хахалин Л.Н. Герпесвирусные инфекции в амбулаторной практике // *Инфекции и антимикробная терапия*. - 2000. - Т. 2, № 2. - С. 1-9.
12. Львов Н.Д., Мельниченко А.В., Львов Д.Н., Никитина А.А. Лабораторная диагностика герпесвирусной инфекции человека // *Вопросы вирусологии*. - 2000. - № 4. - С. 7-13.
13. Ashley R.L. Wu L., Pickering J.W. et al. Premarket evaluation of a commercial glycoprotein G – based enzyme