

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені О.О. БОГОМОЛЬЦЯ**

БОРОВИК Альона Петрівна

УДК: 616.916.1:579.882/.887:578.74:618.33

**ЗБУДНИКИ ІНФЕКЦІЙ ГРУПИ TORCH
ТА ЇХ АСОЦІАЦІЇ ПРИ РЕПРОДУКТИВНИХ ВТРАТАХ**

03.00.07 – мікробіологія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Київ – 2007

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Одеському державному медичному університеті МОЗ України.

Науковий керівник

доктор медичних наук, професор **Протченко Павло Захарович**, Одеський державний медичний університет, завідувач кафедри мікробіології, вірусології та імунології

Офіційні опоненти:

доктор медичних наук, професор **Климнюк Сергій Іванович**, Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України, завідувач кафедри медичної біології, мікробіології, вірусології та імунології;

доктор медичних наук, професор **Дейнека Святослав Євгенович**, Буковинський державний медичний університет, завідувач кафедри мікробіології та вірусології.

Захист відбудеться « ____ » _____ 2008 року о ____ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.003.01 у Національному медичному університеті імені О.О. Богомольця МОЗ України за адресою: 03057, м. Київ-57, пр. Перемоги, 34, санітарно-гігієнічний корпус, аудиторія №2.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного медичного університету імені О.О.Богомольця МОЗ України за адресою: 03057, м. Київ-57, вул. Зоологічна, 1.

Автореферат розісланий « ____ » _____ 2007 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради,

доктор медичних наук, професор

В.Г. Войцеховський

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Складна демографічна ситуація в країні – перевищення показників смертності над народжуваністю, а також низький рівень показників здоров'я новонароджених (Москаленко В.Ф., 2007; Гойда Н.Г. та співавт., 2004) визначають боротьбу з перинатальними втратами як одну з найбільш важливих медико-соціальних проблем. Серед чинників, що детермінують внутрішньоутробну патологію і смертність новонароджених, провідне місце займають інфекційні захворювання плоду. Незважаючи на істотні досягнення в питаннях діагностики, профілактики і лікування внутрішньоутробних інфекцій плоду, частота цієї патології залишається високою і за даними різних авторів коливається від 6 до 53%, досягаючи 70% серед недоношених дітей (Царгородцев А.Д. та співавт., 2001; Цхай В.Б. та співавт., 2003; Серов В.Н. та співавт., 2005).

У структурі перинатальної смертності внутрішньоутробне інфікування плоду, за даними різних авторів, може досягати 65,6%, а серед причин внутрішньоутробного інфікування істотне місце займають інфекційні захворювання з, так званої, групи TORCH (Сміян І.С. та співавт., 2001; Цхай В.Б. та співавт., 2002; Серов В.Н. та співавт., 2002). Вони є причиною перинатальної смертності в 12,8-40% спостережень (Маричев І.Л. та співавт., 2004). Вірусні інфекції діагностуються при цьому в 23,8% випадків, токсоплазмоз – у 12,59%, а хламідіоз і мікоплазмоз – у 0,66% випадків (Царгородцев А.Д. та співавт., 2001; Маричев І.Л. та співавт., 2004).

Внутрішньоутробні інфекції плоду нерозривно пов'язані з наявністю інфекційної патології у матері (Глуховец Н.Г. та співавт., 2005). Зареєстрований високий рівень інфікованості збудниками з групи TORCH жінок, у більшості випадків поєднане інфікування двома збудниками і більше, свідчить про важливу роль цих інфекцій при внутрішньоутробному інфікуванні. Причому, пік інфікованості, у т.ч. і гострих форм, спостерігається у жінок 18-40 років, тобто саме в репродуктивному віці.

Слід зазначити, що результати досліджень по вивченню поширеності, а також ризику передачі інфекцій TORCH групи під час вагітності від матері плоду багато в чому залежать від регіону, соціально-економічних умов життя і інших чинників, і ці дані неможливо екстраполювати з однієї популяції жінок на іншу (Сміян І.С. та співавт., 2001; Alanen A. et al., 2005).

У зв'язку з цим актуальним є подальше вивчення ролі збудників групи TORCH у перинатальній смертності, а також вдосконалення методів і схем діагностики інфекційної патології плоду.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом планової науково-дослідної роботи кафедри мікробіології, вірусології і імунології Одеського державного медичного університету “Визначення антигенів інфекцій групи TORCH у патологоанатомічному матеріалі і плаценті з метою підтвердження ролі цих інфекцій як етіологічної причини репродуктивних втрат” (№ державній реєстрації 0102U006574).

Мета та завдання дослідження. Мета: дослідити роль окремих збудників інфекцій групи TORCH (хламідій, мікоплазм, токсоплазм, вірусів простого герпесу, краснухи, цитомегаловірусу, парвовірусу В19) та їх асоціацій у репродуктивних втратах і розробити оптимальну схему лабораторної діагностики цієї патології.

Для досягнення мети були поставлені такі завдання:

1. Вивчити показники інфікування терапевтичних хворих основними збудниками інфекцій групи TORCH.
2. Вивчити серопозитивність до збудників інфекцій групи TORCH у жінок з патологічним перебігом вагітності і репродуктивними втратами.
3. Встановити роль парвовірусу В19 у репродуктивних втратах.
4. Визначити кореляційну залежність між результатами досліджень на інфекції групи TORCH у парі “мати-плід” у випадку репродуктивної втрати.
5. На підставі отриманих результатів розробити оптимальну схему лабораторної діагностики інфекцій групи TORCH при репродуктивних втратах.

Об'єкт дослідження: інфікованість хворих з різною патологією збудниками групи TORCH та їх роль при репродуктивних втратах.

Предмет дослідження: збудники інфекцій групи TORCH (хламідії, мікоплазми, токсоплазми, віруси простого герпесу, краснухи, цитомегаловірус, парвовірус В19), їх асоціації, матеріал від хворих з терапевтичною та акушерсько-гінекологічною патологією, матеріал від загиблих плодів та мертвонароджених.

Методи дослідження: серологічні (визначення імуноферментним методом антитіл IgA, IgM і IgG класів до антигенів вірусів простого герпесу 1 і 2 типів, цитомегаловірусу, краснухи, а також хламідій, мікоплазм, уреоплазм, токсоплазм, визначення антигенів вірусу простого герпесу 1 і 2 типів і хламідій методом імуноферментного аналізу, а також антигенів хламідій і мікоплазм у реакції прямої імунофлуоресценції); молекулярно-генетичні (виявлення ДНК збудників методом поліміразної ланцюгової реакції); статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. Одержані дані комплексного обстеження населення терапевтичних хворих на серопозитивність одночасно до широкого спектру антигенів комплексу збудників групи TORCH. Встановлено високу частоту інфікованості збудниками цієї групи у популяції із значним відсотком гострих форм та загострення хронічних форм інфекції, які мали тенденцію до сезонних коливань з підйомом у весняно-літній період. Найчастіше реєструвалися асоціації з двох (46,2%) або більше (49,4%) збудників.

Встановлено вірогідно вищий рівень інфікованості всіма патогенами групи TORCH жінок з патологією вагітності і, особливо, з репродуктивними втратами порівняно з жінками з фізіологічними вагітністю і пологами. Тільки в групах з патологією вагітності і репродуктивними втратами реєструвалися гострі форми всіх інфекцій, у 2 рази частіше виявлялися вірусно-бактерійні і вірусно-бактерійно-протозойні асоціації. У випадках тільки вірусних інфекцій вірогідно частіше виявлялися асоціації з 3 і 4 вірусів. Серопозитивність тільки до одного вірусу спостерігалася у 1,3-1,8% випадків, що в 7 разів менше, ніж у контрольній групі. У жінок з репродуктивними втратами більшість клінічних ознак

інфікування плоду реєструвалися приблизно в 2 рази частіше, ніж у жінок з патологією вагітності без втрат, при гострих респіраторно-вірусних інфекціях в їх анамнезі у 53,3% випадків виявлялися IgM до вірусних антигенів, а при хронічних запальних захворюваннях у 25,0% – до хламідій та мікоплазм. При репродуктивних втратах на ранніх термінах вагітності у 53,6% випадків реєструвалися гострі форми різноманітних інфекцій, а в абортному матеріалі в 82,4% було виявлено ДНК збудників.

Проведено вперше в Україні дослідження інфікованості парвовірусом В19 жінок з патологією вагітності і репродуктивними втратами. Показано, що ця інфекція відіграє істотну роль як при патології вагітності, так і у формуванні репродуктивних втрат. При обстеженні патологоанатомічного матеріалу від плодів/дітей ДНК парвовірусу В19 була виявлена в 5,5% випадків, причому в 79% з них паралельно з виявленням IgM у крові матері реєструвалася ДНК парвовірусу В19 у тканинах плоду, тобто ця інфекція повинна враховуватися як одна із значущих причин, що призводять до загибелі плоду.

Показано, що в 66,7% випадків, коли у матері виявлялись IgM, у дитини визначалися або антигени збудника, або його ДНК, або також виявлялися IgM до антигенів збудника. Розроблено ефективну схему обстеження на інфекції групи TORCH жінок, плоду та матково-плацентарного комплексу при репродуктивних втратах. За розробленою схемою складено інформаційний лист та нововведення.

Практичне значення одержаних результатів. Сформульовані і рекомендовані до практичного використання критерії відбору пари “мати-плід” для комплексного лабораторного обстеження на інфекції TORCH групи з урахуванням анамнестичних, клінічних і лабораторних даних обстеження. Запропоновано схему комплексного обстеження на інфекції TORCH групи пари мати-плід різними методами при репродуктивних втратах. Рекомендовано для проведення лабораторної діагностики інфекцій TORCH групи використовувати патологоанатомічний матеріал у вигляді пулів з шматочків органів – печінки, нирок, селезінки, трахеї, легенів, мозку, а також плаценти. Надані рекомендації

по термінах і умовах зберігання патологоанатомічного матеріалу для різноманітних методів лабораторної діагностики.

Результати дисертаційної роботи впроваджені в навчальний процес на кафедрах мікробіології, вірусології, імунології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького, Буковинського державного медичного університету, Харківського державного медичного університету.

Результати досліджень відображено у інформаційному листі.

Особистий внесок здобувача. Автором самостійно здійснено патентно-інформаційний пошук і аналіз джерел літератури. Автором особисто проведено дослідження на наявність збудників групи TORCH або їх специфічних нуклеотидних послідовностей, а також антитіл до антигенів збудників у патологоанатомічному матеріалі, проведений порівняльний аналіз виявлення збудників у патологоанатомічному матеріалі різними методами, рекомендований комплексний підхід при діагностиці збудників TORCH групи в патологоанатомічному матеріалі. Проведено оформлення отриманих результатів у вигляді таблиць і рисунків, здійснені статистична обробка і аналіз. Постановка мети, завдань і обговорення отриманих результатів проводилися спільно з науковим керівником. У наукових публікаціях у співавторстві авторові належать фактичні дані, які ним отримані в процесі проведення роботи. Всі розділи дисертації написані самостійно.

Автор висловлює подяку лікарям пологових будинків №1 і №2, лікарям відділення дитячої і жіночої патології Одеського обласного патологоанатомічного бюро за допомогу в наданні клінічного і патологоанатомічного матеріалу для досліджень.

Апробація результатів дисертації. Результати роботи доповідались на: науковій конференції “Розвиток санітарної мікробіології в Україні” (Чернівці, 2002); IV міжнародній науково-практичній конференції “Наука і освіта 2003” (Дніпропетровськ, 2003); VII з’їзді ВУЛТ (Тернопіль, 2003); науково-практичній конференції “Медицина: проблеми теорії та практики” (Дніпропетровськ, 2003);

науково-практичній конференції “Актуальні питання дерматовенерології та косметології” (Одеса, 2003); VII конгресі патологів України (Івано-Франківськ, 2003); науково-практичній конференції “Актуальні проблеми дерматовенерології” (Одеса, 2004); науково-практичній конференції “Сучасні проблеми епідеміології, мікробіології та гігієни” (Львів, 2004); XIV з’їзді Українського товариства мікробіологів (Полтава, 2004); науково-практичній конференції “Актуальні проблеми морфологічної діагностики хвороб плода і дитини” (Чернівці, 2004); VIII з’їзді ВУЛТ, (Івано-Франківськ, 2005); науково-практичній конференції “Інфекційні хвороби, туберкульоз та сучасний стан довкілля. Епідеміологія, діагностика, мікробіологія” (Львів, 2005); науково-практичній конференції “Вчені майбутнього” (Одеса, 2007).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 17 наукових робіт, 4 з яких у виданнях, рекомендованих ВАК України, 12 публікацій у матеріалах з’їздів, конференцій, видано 1 інформаційний лист.

Структура і обсяг дисертації. Дисертація складається із вступу, 6 розділів, аналізу і узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел літератури, робота містить 7 рисунків, 43 таблиці. Дисертація викладена на 150 сторінках. Список використаних джерел літератури містить 200 найменувань.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи досліджень. Нами проведено комплексне серологічне обстеження 79 жінок з репродуктивними втратами і 83 з різними клінічними проявами патології вагітності (пологовий будинок №1 та Одеський обласний пологовий будинок), 50 жінок, діти яких знаходилися на лікуванні у відділенні дитячої реанімації Одеської обласної дитячої лікарні з діагнозами внутрішньоутробної інфекції і/або вроджених вад розвитку і 40 жінок з Одеського обласного пологового будинку – з фізіологічним перебігом вагітності і пологів (контрольна група). Всього обстежено 252 жінок.

Крім того, здійснено комплексне серологічне обстеження 1076 пацієнтів терапевтичного профілю. Серед обстежених було 554 чоловіки і 522 жінки, зокрема 316 жінок у віці від 18 до 40 років, тобто репродуктивного віку.

Патологоанатомічний матеріал (тканини плоду, плацента, абортний матеріал) брали з відділення дитячої і жіночої патології Одеського обласного патологоанатомічного бюро. Він був досліджений на присутність антигенів і ДНК збудників групи TORCH у 243 випадках репродуктивних втрат. Патологоанатомічні діагнози, а також гістологічні описи плаценти і органів плоду виписували з протоколів розтину дітей / плодів.

Серологічні дослідження були проведені в 1710 випадках.

Імуноферментним методом (ІФА) у сироватці крові пацієнтів визначали антитіла до збудників групи TORCH в 1467 випадках. Визначали IgA, IgM і IgG до цитомегаловірусу (CMV), вірусів простого герпесу 1 і 2 типів (HSV 1/2), вірусу краснухи (Rub), парвовірусу В19 (PB 19), хламідій (Chl), мікоплазм (Myc), уреоплазм (Ur) і токсоплазм (Toxo).

У 1076 пацієнтів загального профілю визначали IgG класу до цитомегаловірусу, вірусів простого герпесу 1 і 2 типів, хламідій, токсоплазм, з них 242 жінки також було обстежено на наявність IgM до хламідій.

Методом ІФА в 243 випадках репродуктивних втрат виявляли антигени HSV 2 типу і хламідій в тканинах плодів / загиблих дітей.

Результати оцінювалися відповідно до інструкцій комерційних тест-систем виробництва Росії (“Ниармедик”, “Вектор-бест”, “ХЕМА”, “Биосервис”) і Німеччини (DRG Instruments GMBH).

Методом прямої імунофлуоресценції (ПІФ) з використанням комерційних тест-систем (“Ниармедик”, НДІ імені Н.Ф. Гамалєї, Москва) у 35 випадках у мазках-відбитках з органів плода (легені, трахея, печінка, нирки, селезінка, плацента) та абортного матеріалу виявляли антигени хламідій і мікоплазм.

Методом поліміразної ланцюгової реакції (ПЛР) був обстежений матеріал у 142 випадках. У матеріалі визначалися специфічні нуклеотидні послідовності CMV, HSV 1 і 2 типів, PB 19, Myc і Toxo. Визначення специфічних

нуклеотидних послідовностей збудників проводилося з використанням комерційного тест-набору (НПФ “Литех”, ТОВ “Генотехнологія”, НВО Амплісенс).

Отримані результати обробляли статистично з розрахунком частоти явища, що зустрічалося, та його похибки, розрахунку критерію χ^2 .

Дослідження рівня серопозитивності до збудників інфекцій групи TORCH серед терапевтичних хворих. Серологічне дослідження 1076 пацієнтів терапевтичного профілю виявило значну інфікованість збудниками інфекцій групи TORCH: від $92,0\% \pm 0,85$ і $74,0\% \pm 1,56$ при HSV1 і CMV до $34,0\% \pm 2,48$ і $29,0\% \pm 2,56$ для хламідій і токсоплазм.

Незважаючи на те, що коливання титрів антитіл мали різноспрямовані щомісячні напрямки при різних інфекціях, частота серопозитивності до всіх збудників мала тенденцію до сезонних коливань із значними підйомами у весняно-літній і зниженням в осінньо-зимовий періоди (рис. 1).

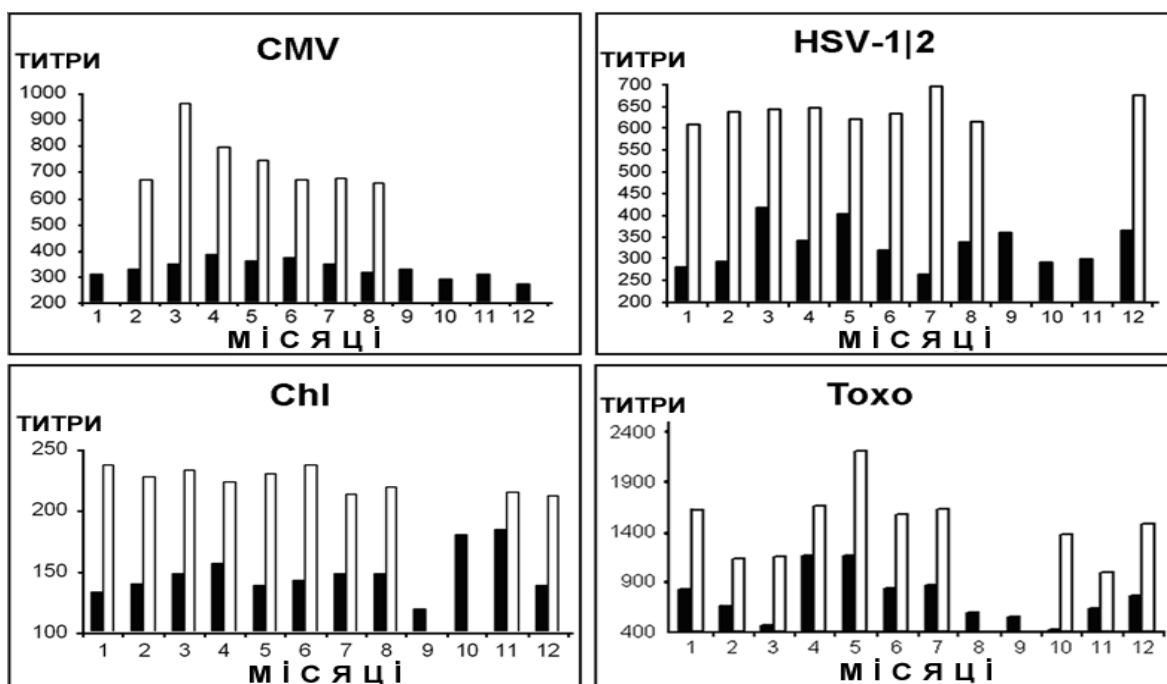


Рис. 1. Динаміка титрів IgG до збудників інфекцій групи TORCH у терапевтичних хворих упродовж року (■ – позитивні середні щомісячні титри; □ – щомісячні середні значення високих титрів антитіл).

Серопозитивність пацієнтів терапевтичного профілю відносно тільки одного з вивчених збудників TORCH групи зустрічалася вкрай рідко: від 0,74% для хламідій і токсоплазм до 11,43% – для HSV.

Найчастіше реєструвалася серопозитивність стосовно тільки герпес-вірусів (HSV+CMV до 46,2%), а також їх асоціацій (49,4%) з хламідіями (HSV+CMV+Chl – 21,5%) і токсоплазмами (HSV+CMV+Тохо – 16,7%). У 8,83% пацієнтів реєструвалася інфікованість всіма 4 збудниками.

Дослідження серопозитивності до збудників інфекцій групи TORCH серед жінок з патологічним перебігом вагітності та репродуктивними втратами. Було проведено порівняльне дослідження серопозитивності вагітних жінок з патологічним перебігом вагітності (1 група) і жінок з репродуктивними втратами (2 група). Контролем були вагітні з фізіологічною вагітністю. Показано, що в 1 і 2 групах в порівнянні з контрольною реєструвався вірогідно вищий відсоток IgG до всіх збудників вірусних інфекцій (рис. 2).

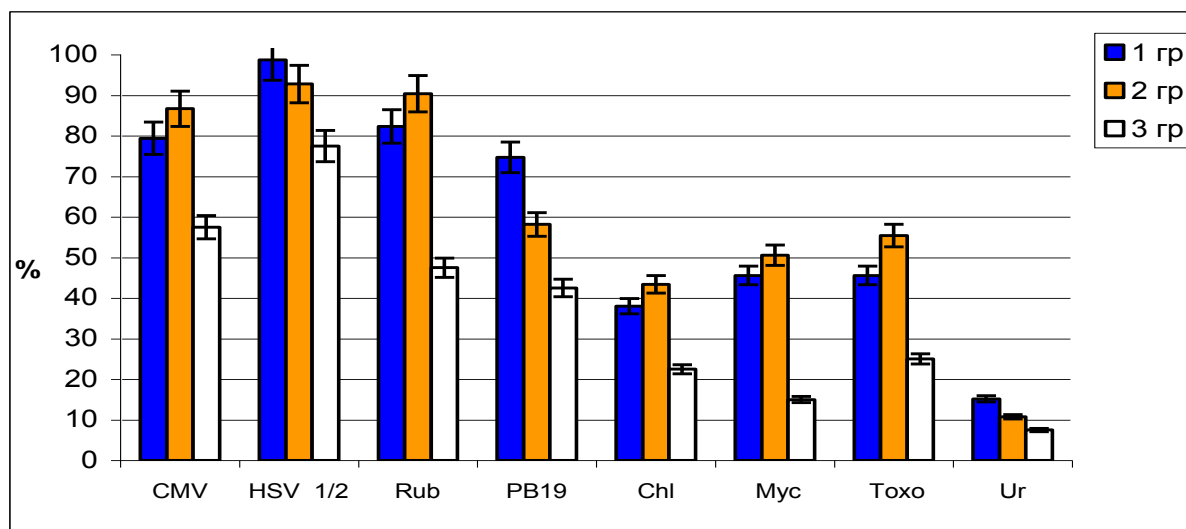


Рис. 2. Відсоток виявлення IgG і/або IgM до CMV, HSV1/2, Rub, PB19, Chl, Мус, Тохо і Ur у групах жінок з репродуктивними втратами (1 група), патологією вагітності (2 група) і жінок з фізіологічним перебігом вагітності (3 – контрольна група).

У цих же групах визначалися IgM, тоді як у контрольній групі ні в одному випадку IgM не визначалися. Проте, у групі жінок з репродуктивними втратами реєструвалися найбільш високі показники серопозитивності у поєднанні з гострими формами інфекції.

Відсоток наявності IgG до хламідій, мікоплазм, уреоплазм і токсоплазм у жінок 1 і 2 груп був у середньому в 2 рази вищий, ніж у контрольній групі. Гострі форми бактерійних і токсоплазмової інфекцій (наявність IgA і IgM) також реєструвалися тільки в групах жінок з патологією вагітності і репродуктивними втратами.

Проведений аналіз асоційованого інфікування декількома збудниками показав, що інфікованість декількома патогенами TORCH групи виявлялася у жінок з патологічним перебігом вагітності і репродуктивними втратами в 100%, а в жінок контрольної групи – у 87,5% випадків (табл. 1).

Таблиця 1

**Частота асоціацій збудників з TORCH групи обстежених у жінок
(P% ± m)**

Асоціації	1 група (n = 79)	2 група (n = 55)	3 група (n = 40)
Вірусні	16,5 % ± 4,2	7,2 % ± 3,5	37,5 % ± 7,7
Вірусні і бактерійні	38,0 % ± 5,5	47,3 % ± 6,7	25,0 % ± 6,8
Вірусні і токсоплазмові	11,4 % ± 3,6	12,7 % ± 4,5	10,0 % ± 4,7
Вірусні, бактерійні, токсоплазмові	34,2 % ± 5,3	32,7 % ± 6,3	15,0 % ± 5,6

Наявність тільки вірусних асоціацій (інфікування HSV1/2, CMV і вірусом краснухи) у найбільшому відсотку випадків була в контрольній групі і приблизно в 2 і 5 разів рідше в групах жінок з патологією вагітності і репродуктивними втратами. У групі жінок з патологією вагітності частіше зустрічалося інфікування трьома вірусами, а в 32,7% реєструвалися гострі форми однієї або декількох вірусних інфекцій. У жінок з репродуктивними втратами в половині випадків (50,6%) було виявлено інфікування всіма чотирма вірусами.

Саме у цій групі в 50% випадках реєструвалися гострі форми різних вірусних інфекцій, з них у 20,0% випадків визначалися IgM до декількох вірусів.

У жінок з репродуктивними втратами і патологією вагітності частіше виявлялися також різноманітні бактерійні і бактерійно-протозойні асоціації.

Гострі форми при поєднаному бактерійному інфікуванні виявлялися в 50,0% і 41,7% випадків, а при бактерійно-токсоплазмозових – у 33,3% і 38,9% випадків відповідно.

Загальними симптомами для обох груп жінок були загроза переривання вагітності, хронічна фето-плацентарна недостатність з внутрішньоутробною гіпоксією плоду, патологія навколоплодових вод (багатоводдя/маловоддя), затримка внутрішньоутробного розвитку плоду і гостра респіраторно-вірусна інфекція (ГРВІ) нез'ясованого генезу. У 63,6% жінок з патологією вагітності реєструвалася анемія вагітних, а IgG до вірусних антигенів реєструвалися частіше, ніж у жінок без анемії і жінок контрольної групи. Жінки з репродуктивними втратами вірогідно частіше ($p < 0,01$), ніж жінки з патологією вагітності вказували на перенесені у перебігу вагітності ГРВІ неясної етіології (25,5% і 13,3%). Було встановлено, що в 53,3% жінок 1 групи з ГРВІ, на момент обстеження визначалися IgM до CMV, HSV 1/2, Rub і PB19, а в 11 з 2 групи (63,6%) IgM до CMV, HSV 1/2 і Rub.

Жінки з репродуктивними втратами вірогідно частіше страждали на хронічні запальні захворювання – кольпіти, аднексити, пієлонефрити, тонзиліти. У 25,0% випадків у них на момент обстеження реєструвалися гострі форми хламідійної і мікоплазмозової інфекцій. При цьому у жінок з патологічним перебігом вагітності гострі форми бактерійних інфекцій виявлялися в 42,9% випадків.

Причиною загибелі дітей в більшості випадків була поєднана патологія: наявність вроджених вад розвитку (ВВР), різні прояви внутрішньоутробної інфекції (ВУІ), а також декомпенсована хронічна фетоплацентарна недостатність (ХФПН). При аналізі серологічних даних було показано, що в сироватках крові жінок, у дітей яких реєструвалися ВВР, частіше, ніж у жінок, діти яких загинули

від іншої патології, у тому числі й інфекційної, реєструвалися імуноглобуліни класу М до HSV і Rub (13,6% і 45,5% відповідно), а також до бактерійних антигенів (Chl – 13,6% і Muc – 18,2%) і токсоплазм (9,1%). А в разі констатації внутрішньоутробної інфекції вірогідно частіше ($p < 0,05$) реєструвалися гострі форми парвовірусної інфекції.

Також був проведений аналіз репродуктивних втрат на ранніх термінах вагітності. Не дивлячись на те, що провідною причиною викиднів у перші 10 тижнів вагітності вважається хромосомна патологія зародка, отримані дані свідчать про як мінімум змішаний інфекційно-генетичний механізм викиднів на ранніх термінах, оскільки у таких жінок відсоток позитивних результатів до всіх антигенів інфекцій TORCH групи був значно вищий, ніж у жінок контрольної групи, а також реєструвалися гострі форми практично всіх інфекцій, що вивчалися.

Вперше в Україні було проведено дослідження по вивченню інфікованості парвовірусом В19 жінок з патологією вагітності і репродуктивними втратами. Як вказувалося вище, IgG до парвовірусу В19 у жінок з патологічним перебігом вагітності і репродуктивними втратами реєструвалися достовірно частіше ($p < 0,01$), ніж у жінок контрольної групи (табл. 2).

Важливим у дослідженні виявилось те, що жінки з пізніми втратами вірогідно частіше були інфіковані парвовірусом В19 ($p < 0,01$), що може вказувати на значення парвовірусної інфекції, як однієї з значущих інфекційних причин, що призводять до загибелі плоду в 2 і 3 триместрах. При цьому IgM реєструвалися як у жінок з пізніми втратами, так і ранніми.

Таблиця 2

Частота серопозитивності до парвовірусу В19 у обстежених жінок

Групи обстежених жінок	n	IgM, %	IgG, %
Контрольна група	40	0	42,5
З патологією вагітності	55	0	58,2; $p < 0,01$
З дітьми в критичному стані	50	16,0	50,0
З репродуктивними втратами	79	13,9	65,8; $p < 0,01$

ДНК РВ19 була виявлена в 6 (5,5%) з 110 випадків обстеження тканин плодів/дітей. В абортному матеріалі (18) і плацентах жінок контрольної групи (14) не було випадків виявлення ДНК вірусу.

У двох випадках пізніх втрат виявлення IgM у матері супроводжувалося виявленням ДНК вірусу в тканинах її загиблої дитини. У медичній карті однієї з матерів є вказівки на перенесене 4 тижні тому респіраторне захворювання, що супроводжувалося нездужанням, лихоманкою і артралгіями, тобто симптомами аналогічними клінічним проявам РВ19 інфекції. Таким чином, виявлення ДНК РВ19 у тканинах загиблих дітей, IgM у їх матерів за наявності клінічної симптоматики парвовірусної інфекції дозволяє розглядати РВ19 у цих випадках як причину пізнього мимовільного аборту і мертвонародження. Ще в одному випадку реєструвалася ДНК РВ19 у дитини з діагнозом “водянка плоду”.

Дослідження патологоанатомічного матеріалу від плодів та загиблих дітей. При серологічних дослідженнях патологоанатомічного матеріалу (визначення антитіл у крові і антигенів у тканинах плодів) виявлена значна серопозитивність до антигенів інфекцій TORCH групи, більшою мірою до вірусних інфекцій (HSV1/2 – 74,8%, RUB – 48,0%, CMV – 46,6%) і хламідій – 27,9%.

Репродуктивні втрати формуються також і за рахунок розвитку різних варіантів фетоплацентарної недостатності. У жінок з різними варіантами фетоплацентарної недостатності вірогідно частіше, ніж у жінок з фізіологічною вагітністю за допомогою ІФА знаходили в плаценті антигени HSV і хламідій, а також у 17,3; 5,3; 13,3 і 33,3%% випадків виявлялася ДНК CMV, РВ 19, Мус і HSV 1/2. За відсутності морфологічних і гістологічних аномалій в плаценті у плодів у крові не реєструвалися антитіла класу IgM до збудників інфекцій групи TORCH, а в плаценті не виявлялася ДНК збудників. При патологічній незрілості плаценти частіше реєструються гострі вірусні і бактерійні інфекції, а за наявності запальних змін у плаценті – тільки гострі бактерійні інфекції.

На підставі проведеного порівняльного аналізу знаходження збудників з групи TORCH і антитіл до них у жінок з репродуктивними втратами і в

патологоанатомічному матеріалі загиблих дітей різними методами (табл. 3) були розроблені рекомендації до комплексного обстеження жінок з репродуктивними втратами.

Таблиця 3

Частота виявлення антитіл до збудників інфекцій TORCH групи у жінок та антигенів і ДНК в патологоанатомічному матеріалі загиблих дітей

Збудник	Ig	ІФА				ПЛР	
		Ig у жінок, n = 56		Ag у п/анат. матеріалі, n=56		ДНК у пат/анат. матеріалі, n=56	
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
CMV	IgM	7	12,5	-	-	15	26,8
	IgG	45	80,4				
HSV 1/2	IgM	6	10,7	27	48,2	20	35,7
	IgG	56	100,0				
PB 19	IgM	8	14,3	-	-	3	5,4
	IgG	36	64,3				
Мус	IgM	8	14,3	-	-	11	19,6
	IgG	23	41,1				
Тохо	IgM	4	7,1	-	-	1	1,8
	IgG	21	37,5				

Обстеження повинне полягати у визначенні антитіл, обов'язково IgA /IgM і IgG у сироватці крові жінки не пізніше двох тижнів після втрати вагітності, з паралельним визначенням специфічних для збудників нуклеотидних послідовностей, що визначаються за допомогою ПЛР.

Для підтвердження етіологічної ролі збудників TORCH групи можуть бути використані додаткові методи, такі як виявлення антигенів збудників за допомогою ІФА і ППФ. Проте, названі два методи вимагають подальшої розробки й оптимізації з урахуванням специфіки обстеження секційного матеріалу.

При репродуктивних втратах, пов'язаних з внутрішньоутробним інфікуванням і/або з природженими вадами розвитку плода/дитини, патологоанатомічний матеріал – плацента, пули із шматочків печінки, селезінки, нирок а також легень і трахеї, та абортний матеріал при повторних завмерлих

вагітностях або самовільних викидних на ранніх термінах підлягає обстеженню на наявність збудників інфекцій групи TORCH.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення наукової задачі щодо ролі збудників інфекцій групи TORCH та їх асоціацій при репродуктивних втратах. Встановлені сучасні дані відносно інфікованості хламідіями, мікоплазмами, токсоплазмами, вірусами простого герпесу, краснухи, цитомегаловірусом, парвовірусом В19. Вперше в Україні показано частоту виявлення парвовірусу В19 при патології вагітності. Обґрунтовано оптимальну схему лабораторної діагностики, яка включає комплексне обстеження матері та плода з використанням сучасних серологічних і молекулярно-генетичних методів дослідження, що має важливе практичне значення.

1. Встановлено значну серопозитивність до збудників TORCH інфекцій у терапевтичних хворих з різною патологією. При обстеженні 1076 хворих виявлені антитіла до вірусу простого герпесу ($92,0\% \pm 0,85$), цитомегаловірусу ($74,0\% \pm 1,56$), хламідій ($34,0\% \pm 2,48$) і токсоплазм ($29,0\% \pm 2,56$). Зареєстрована висока частота гострих та загострення хронічних форм інфекції, які мали тенденцію до сезонних коливань з підйомом у весняно-літній період. Найчастіше виявлялось поєднане інфікування двома ($46,2\%$) і більше ($49,4\%$) збудниками.

Не виявлено відмінності в частоті серопозитивності у жінок відносно вказаних збудників порівняно з показниками сумарними (чоловіків і жінок), за винятком серопозитивності до хламідій, яка достовірно частіше реєструвалася як у всіх обстежених жінок, так і у жінок репродуктивного віку ($p < 0,001$).

2. Доведено, що у жінок з патологією вагітності без репродуктивних втрат та с репродуктивними втратами, у порівнянні з контрольною групою, значно вищий рівень інфікованості збудниками TORCH групи. На підставі визначення серопозитивності за IgG та гостроти процесу за наявністю IgM інфікованість

збудниками TORCH групи складала: вірусами (100,0%), бактеріями (79,6%) і токсоплазмами (50,6%) порівняно з жінками з фізіологічними вагітністю і пологами – 90,0%, 42,5% і 25,0% відповідно. У групах жінок з патологією вагітності без репродуктивних втрат і репродуктивними втратами у порівнянні з контрольною групою жінок (з фізіологічною вагітністю) в 2 рази частіше зареєстровано вірусно-бактерійні і вірусно-бактеріально-токсоплазмові асоціації. У випадках тільки вірусних інфекцій частіше виявлялися асоціації з 3 і, більш ніж у 2 рази – з 4 вірусів. Серопозитивність тільки до одного вірусу спостерігалася у 1,3-1,8% випадків, що в 7 разів менше, ніж у контрольній групі.

При репродуктивних втратах на ранніх термінах вагітності у 53,6% випадків зареєстровано гострі форми інфекції, а в абортному матеріалі у 82,4% була виявлено ДНК збудників.

3. Вперше в Україні проведено дослідження ролі парвовіруса В19 в патології вагітності та доведено що парвовірусна інфекція при цьому має важливе значення. Так, встановлено високий рівень серопозитивності при патології вагітності без репродуктивних втрат (58,2%) і з репродуктивними втратами (65,8%) у порівнянні з контролем (42,5 %). IgM зареєстровано тільки у жінок з репродуктивними втратами (13,9%). При обстеженні патологоанатомічного матеріалу ДНК парвовіруса В19 була виявлена в 5,5% випадків, причому в 3,9% ДНК у тканинах плоду реєструвалася паралельно з виявленням IgM до вірусу у крові матері.

4. З'ясовано кореляцію між результатами виявлення антитіл до збудників групи TORCH у жінок з репродуктивними втратами та аналізом патологоанатомічного матеріалу. Показано, що у 66,7% випадків, коли у матері було виявлено IgM, то у дитини виявлялися антигени збудника, антитіла до його антигенів або його ДНК.

5. Доведено, що показанням до обстеження на інфікування збудниками групи TORCH жінок є повторні репродуктивні втрати (2 і більше) впродовж першого триместра вагітності, а також втрати у 2 і 3 триместрах при патологоанатомічному діагнозі внутрішньоутробна інфекція або уроджені вади

розвитку плода. Обґрунтовано, що оптимальна лабораторна діагностика повинна полягати у визначенні антитіл у сироватці крові жінок і паралельному обстеженні плаценти і абортного або патологоанатомічного матеріалу серологічними і молекулярно-генетичними (ПЛР) методами для виявлення специфічних нуклеотидних послідовностей збудника.

СПИСОК НАУКОВИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових фахових виданнях, затверджених ВАК України:

(* – персональний внесок здобувача)

1. Боровик А.П. Выявление антигенов возбудителей TORCH группы и антител к ним в патологоанатомическом материале при репродуктивных потерях // Экспериментальна і клінічна медицина. – 2004. – №2. – С. 82-85.

2. Кольцова І.Г., Боровик А.П., Протченко П.З., Пісковацький П.М. Вивчення серопозитивності до збудників інфекцій групи TORCH у пацієнтів терапевтичного профілю// Одеський медичний журнал.-2003.- № 2. - С.20 – 24. (* - практична частина, проведено аналіз отриманих результатів).

3. Кольцова І.Г., Боровик А.П., Протченко П.З., Грузевський О.А. Вірусні інфекції TORCH комплексу при патології репродукції // Педіатрія, акушерство і гінекологія. -2005.- № 3. – С.111-115. (* - лабораторні дослідження, статистична обробка результатів).

4. Кольцова І.Г., Боровик А.П., Протченко П.З. Фетоплацентарна недостатність та інфекції групи TORCH// Педіатрія, акушерство і гінекологія.- 2006.- № 1. – С.84-88. (* - лабораторні дослідження, статистична обробка результатів).

Статті та тези в інших наукових виданнях:

1. Протченко П.З., Кольцова І.Г., Боровик А.П. Вивчення етіологічних причин репродуктивних втрат // Тез. наук. конференції “Розвиток санітарної

мікробіології в Україні”. – Чернівці, 2002. – С. 87-89. (* – серологічні дослідження по виявленню антитіл і антигенів в патологоанатомічному матеріалі різними методами).

2. Писковацкий П.М., Трегуб Т.В., Боровик А.П. Диагностические возможности цитологического исследования при хламидийной инфекции // Тез. IV міжнародн. наук.-практ. конференції “Наука і освіта “2003”. – Дніпропетровськ, 2003. – С. 7-10. (* – обстежено кров пацієнтів терапевтичного профілю, де визначалися антитіла до хламідій методом ІФА).

3. Кольцова І.Г., Боровик А.П., Пісковацький П.М. Роль вірусних інфекцій з TORCH-групи в етіології гепатитів // Тези VII з’їзду ВУЛТ “Українські медичні вісті”. – Т. 5. – Тернопіль. – С. 147 (* – досліджено сироватки крові пацієнтів на маркери гепатитів В і С).

4. Боровик А.П., Кольцова І.Г., Пісковацький П.М. Вирусные гепатиты и другие гепатотропные инфекции при поражениях печени // Матеріали Всеукр. наук.-практ. конференції “Медицина: проблеми теорії та практики”. – Дніпропетровськ, 2003. – С. 19-21. (* – досліджено сироватки крові пацієнтів на маркери гепатитів В і С).

5. Боровик А.П., Писковацкий П.М., Протченко П.З. Изучение серопозитивности к инфекциям TORCH группы у женщин разных возрастных групп // Наук.-практ. конференция “Актуальные вопросы дерматовенерологии и косметологии”. – Одесса, 2003. – С. 13-15. (* – виявлено антитіла до збудників TORCH групи в крові жінок різних вікових груп).

6. Дігтяр О.Ю., Кольцова І.Г., Боровик А.П. Морфологічні та лабораторні аспекти репродуктивних втрат на всіх етапах гестації // VII Конгрес патологів України “Галицький лікарський вісник”. – Івано-Франківськ, 2003. – С. 117 (* – серологічні дослідження по виявленню антитіл і антигенів в патологоанатомічному матеріалі методом ІФА).

7. Боровик А.П., Кольцова І.Г., Протченко П.З. Ассоциированные вирусно-бактериальные инфекции при патологии беременности // Тез. научн.-практ. конференции “Актуальные проблемы дерматовенерологии”. – Одеса, 2004. – С.

12-13. (* – виявлено антитіла до збудників TORCH групи в крові жінок з патологічним перебігом вагітності).

8. Боровик А.П., Кольцова И.Г., Протченко П.З. Асоційовані вірусні інфекції при патології вагітності // Тез. наук. конференції “Сучасні епідеміології, мікробіології та гігієни”. - Львів, 2004. – С. 80-81. (* – виявлено антитіла до збудників TORCH групи в крові жінок з патологічною вагітністю).

9. Боровик А.П., Кольцова И.Г., Протченко П.З. Виявлення хламідійного і герпесвірусного антигенів в тканинах плодів і загиблих дітей при репродуктивних втратах // XIV съезд Украинского общества микробиологов.- Полтава.- 2004. - С. 35 (* – серологічні дослідження по виявленню антитіл і антигенів в патологоанатомічному матеріалі методами ІФА).

10. Боровик А.П., Кольцова И.Г., Протченко П.З. Патология плаценты: морфологические и серологические данные // Тез. наук.-практ. конференції “Актуальні проблеми морфологічної діагностики хвороб плода і дитини”. - Чернівці, 2004. – С. 300 (* – серологічні дослідження по виявленню антитіл і антигенів в патологоанатомічному матеріалі методами ІФА).

11. Хронічні вірусні інфекції TORCH групи як можливий чинник розвитку анемії вагітних / Боровик А.П., Кольцова И.Г., Протченко П.З., Грузевський О.А. // Тез. VIII З'їзду ВУЛТ. – Івано-Франківськ, 2005. – С. 215-216 (* – виявлено антитіла до збудників TORCH групи в крові жінок з анемією вагітних).

12. Боровик А.П., Грузевський О.А. Значущість парвовірусної інфекції у розвитку патології новонароджених // Тез. наук.-практ. Конференції “Вчені майбутнього”. – Одеса, 2007. – С. 19 (* – виявлено антитіла до парвовірусу В19 в крові жінок та їх дітей в критичному стані).

Інформаційні листи:

1. Кольцова И.Г., Боровик А.П., Протченко П.З. Критерії відбору та схема паралельного обстеження мати-плід на інфекції групи TORCH при перинатальних втратах. – Київ, №211-2006.

АНОТАЦІЯ

Боровик А.П. Інфекції групи TORCH і їх асоціації при репродуктивних втратах. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 03.00.07 – мікробіологія. – Національний медичний університет імені О.О. Богомольця МОЗ України, Київ, 2007.

Дисертація присвячена вивченню інфекцій TORCH комплексу як причини внутрішньоутробного інфікування і загибелі плоду.

Представлені результати серологічного, цитологічного і молекулярно-генетичного досліджень 162 жінок з патологією вагітності та репродуктивними втратами, 1076 пацієнтів терапевтичного профілю, а також патолого-анатомічний матеріал у 243 випадках репродуктивних втрат. Встановлений значний рівень серопозитивності до збудників TORCH групи у пацієнтів терапевтичного профілю, переважно в осіб фертильного віку, що має тенденцію до сезонних коливань. Виявлений високий рівень інфікованості жінок з патологією вагітності і репродуктивними втратами збудниками інфекцій TORCH комплексу, у більшості випадків – їх асоціаціями. Встановлена залежність між виявленням антигенів і ДНК збудників TORCH групи в патологоанатомічному матеріалі і видом фетоплацентарної недостатності, а також наявністю пневмопатії та синдрому затримки внутрішньоутробного розвитку плодів. Вперше в Україні встановлена підвищена інфікованість жінок парвовірусом В19 з патологією вагітності та репродуктивними втратами. Розроблені рекомендації з обстеження жінок і патологоанатомічного матеріалу при репродуктивних втратах.

Ключові слова: TORCH-інфекції, репродуктивні втрати, патологоанатомічний матеріал, патологія вагітності, антигени, антитіла, ДНК.

АННОТАЦІЯ

Боровик А.П. Инфекции группы TORCH и их ассоциации при репродуктивных потерях. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.00.07 – микробиология.
– Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца МЗ Украины, Киев, 2007.

Диссертация посвящена изучению инфекций TORCH комплекса как причины внутриутробного инфицирования и гибели плода.

Представлены результаты серологического, цитологического и молекулярно-генетического исследований 262 женщин с патологией беременности и репродуктивными потерями, 1076 пациентов терапевтического профиля, а также патолого-анатомический материал в 243 случаях репродуктивных потерь.

Установлен значительный уровень серопозитивности к возбудителям TORCH группы у пациентов терапевтического профиля, преимущественно у лиц фертильного возраста. Несмотря на то, что колебания титров антител имели разнонаправленный помесечный характер при различных инфекциях, сохранялась тенденция к весенне-летним подъемам их значений практически ко всем возбудителям. Наиболее часто регистрировалось сочетанное инфицирование двумя (46,2%) и более (49,4%) возбудителями.

Установлен высокий уровень инфицированности женщин с патологией беременности и репродуктивными потерями возбудителями инфекций TORCH группы, в большинстве случаев – их ассоциациями. Общими симптомами для женщин этих групп были: угроза прерывания беременности, хроническая фето-плацентарная недостаточность с внутриутробной гипоксией плода, патология околоплодных вод, задержка внутриутробного развития плода и острая респираторно-вирусная инфекция. Патология родов отмечалась в 69,9% случаев. В случае, когда беременность завершилась гибелью плода/ребенка пороки развития регистрировались в 41,2% случаев, внутриутробная инфекция – в 45,1%, декомпенсированная фето-плацентарная недостаточность – в 21,6%.

Установлены высокий уровень инфицированности и частота острых форм (IgM) инфекций TORCH группы у женщин с ранними репродуктивными потерями, что указывает на значимость инфекционного механизма этих выкидышей.

Впервые в Украине были проведены исследования по изучению роли парвовируса В19 в патологии беременности. Установлен высокий уровень инфицированности парвовирусом В19 женщин с патологией беременности (58,2%) и репродуктивными потерями (65,8%). IgM регистрировались только у женщин с репродуктивными потерями в 13,9% случаев. ДНК парвовируса В19 была выявлена в 3 случаях репродуктивных потерь. При этом в двух случаях обнаружения IgM к ВВ19 у матерей сопровождалось выявлением ДНК ВВ19 в тканях погибших детей. Таким образом, проведенные исследования показали, что парвовирусная инфекция должна рассматриваться как одна из значимых причин при перинатальных потерях.

Установлена зависимость между выявлением антигенов и ДНК некоторых возбудителей TORCH группы в патолого-анатомическом материале и видом фетоплацентарной недостаточности, а также синдромом задержки внутриутробного развития плода. Проведенный анализ серопозитивности в группах детей с различными видами пневмопатий показал, что при ателектазе регистрировались острые формы микоплазменной инфекции (5,6%), при отечно-геморрагическом синдроме – IgG антитела к цитомегаловирусу (66,7%), а при смешанной пневмопатии – IgM к вирусу краснухи (3,2%).

На основании анализа данных анамнеза, серологического обследования женщин с репродуктивными потерями и параллельного исследования патологоанатомического материала погибших плодов/детей, а также патологоанатомического заключения, разработаны критерии отбора пары «мать – плод» для комплексного лабораторного обследования в случаях репродуктивных потерь с высоким риском внутриутробного инфицирования плода инфекциями группы TORCH. Указаны сроки проведения этого

исследования, рекомендованы методы лабораторной диагностики. Разработаны условия хранения патологоанатомического материала (при необходимости).

Ключевые слова: TORCH-инфекции, репродуктивные потери, патологоанатомический материал, патология беременности, антигены, антитела, ДНК.

ABSTRACT

Borovik A.P. Infections of TORCH complex and their association in reproductive losses. – The manuscript.

Dissertation for the candidate of medical sciences degree in specialty 03.00.07 – microbiology. – National medical university O.O. Bogomolets, Ministry of Public Health of Ukraine, Kyiv, 2007.

The dissertation is devoted to studying of TORCH complex infections as the causative reasons of intrauterine infection and reproductive losses.

Results of serological, cytological and molecular-genetic researches of 162 women with a pathology of pregnancy and reproductive losses, 1076 patients of a therapeutic profile, and also a patho-anatomical material in 243 cases of reproductive losses were given. The appreciable level of seropositivity to TORCH pathogens at the patients of a therapeutic profile, mainly at the persons of fertile age was determined. Levels of antibody tended to seasonal fluctuations. The high levels of seropositivity to TORCH complex infections in women with a pathology of pregnancy and reproductive losses, in the majority of the cases in associations, were fixed. Dependence between revealing of antigens and DNA of the pathogens from TORCH group in the patho-anatomical materials and the type of fetoplacental failure, presence of a pneumopathy and intra-uterine growth retardation of fetuses was observed. Increased seropositivity to parvovirus B19 at women with pathology of pregnancy and reproductive losses by was shown for the first time in Ukraine. Recommendation about examination of women and patho-anatomical materials at reproductive losses were developed.

Key words: TORCH-infections, reproductive losses, patho-anatomical material, a pathology of pregnancy, antigens, antibodies, DNA.