

Лабораторная диагностика инфекционного мононуклеоза

Кишкун А.А.

Вице-президент РАМЛД

Инфекционный мононуклеоз (синонимы: болезнь Филатова, железистая лихорадка, моноцитарная ангина, болезнь Пфайфера и др.) – общее системное лимфопролиферативное заболевание, которое чаще всего вызывается вирусом Эпштейна–Барр. Тохорlasma gondii и цитомегаловирус, вирус иммунодефицита человека, вирус герпеса человека 6 типа, являющийся причиной детской розеола, могут вызывать клинически подобные заболевания.

Впервые инфекционный мононуклеоз (ИМ) был описан Н.Ф. Филатовым в 1885 г. под названием «идиопатическое воспаление шейных желез». Спустя 4 года в 1889 г. немецкий ученый Е. Pfeiffer описал это заболевание под названием – железистая лихорадка. В 1907 г. W. Turk, а в 1909 г. Е. Burns обнаружили изменения крови при этом заболевании. В 1920 г. американские ученые Т.Р. Sprunt и F.A. Evans представили «новое» заболевание под названием «инфекционный мононуклеоз», характерными для которого являются гематологические изменения в виде лейкоцитоза с выраженным моноцитозом и лимфоцитозом. Спустя год эти авторы сообщили, что инфекционный мононуклеоз и железистая лихорадка являются одним и тем же заболеванием.

Этиология. Возбудитель ИМ открыт в 1964 году канадскими учеными М. Epshtein и J. Barr, в честь которых и был назван – вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ).

Вирус Эпштейна–Барр – ДНК-содержащий вирус, относящийся к семейству Herpesviridae, подсемейству Gamma Herpesviridae, роду Lymphocryptovirus – является вирусом герпеса человека 4 типа. Вирион состоит из капсида диаметром 120–150 нм, окруженного оболочкой, содержащей липиды. Вирус имеет мембранный антиген (МА – membrane antigen), ядерный антиген (EBNA – Epstein-Barris nucleic antigen) и антиген вирусного капсида (VCA – virus capsid antigen). Различают два штамма ВЭБ – тип 1 (А) и тип 2 (В). Между штаммами вируса, выделенными от больных различными клиническими формами ИМ, нет существенных различий.

ИМ – заболевание, встречающееся во всех странах мира. Чаще всего подвержены заболеванию группы детей и молодых людей, живущих вместе, например в школах-интернатах, студенческих общежитиях, военных лагерях (до

60% заболевших лица в возрасте 2–20 лет). В последние годы во всем мире наметился рост заболеваемости этой инфекцией, что отчасти обусловлено, улучшением лабораторной диагностики.

Источник инфекции – больной человек, в том числе и больные стертыми формами болезни. Заражение происходит при передаче вируса воздушно-капельным путем, но чаще со слюной (например, при поцелуях), возможна передача инфекции при переливаниях крови. Обычно входными воротами при инфекционном мононуклеозе является слизистая оболочка ротоглотки и верхних дыхательных путей. Длительность инкубационного периода может варьировать от 5 до 21 дня и дольше – до 1–2 месяцев.

Патогенез. Проникая в организм через слизистую оболочку ротоглотки и верхних дыхательных путей, вирус вызывает характерные изменения: поражение миндалин, слизистой оболочки носоглотки, что клинически проявляется затрудненным носовым дыханием, отеком зева. При этом создаются благоприятные условия для присоединения вторичной микробной флоры и возникновения более тяжелой ангины вплоть до образования фибриновых пленок.

Вирус строго лимфотропен: присоединяясь к С3а-рецептору клеточной мембраны В-лимфоцитов, он вызывает пролиферацию поликлональных В-лимфоцитов с соответствующим увеличением миндалин и лимфатических узлов. ВЭБ лимфогенным и гематогенным путями проникает в лимфатические узлы, печень и селезенку, вызывая гиперпластические процессы в этих органах (полиаденит, гепатолиенальный синдром). В-лимфоциты трансформируются (приобретают способность к бесконечному делению) и при отсутствии адекватного клеточного иммунного ответа этот процесс может эволюционировать в явно злокачественный (например, Х-связанный лимфопролиферативный синдром).

Во время острой фазы болезни специфические вирусные антигены обнаруживают в ядрах более 20% циркулирующих В-лимфоцитов. После стихания инфекционного процесса вирусы можно обнаружить лишь в единичных В-лимфоцитах и эпителиальных клетках носоглотки. Часть пораженных клеток погибает, а высвобождающийся вирус инфицирует новые клетки.

ВЭБ обладает способностью избирательно поражать лимфоидную и ретикулярную ткань. Пролiferация лимфоидных и ретикуло-гистиоцитарных элементов является своеобразной ответной реакцией лимфоретикулярных органов на воздействие вируса. Поступая в кровь, эти тканевые мононуклеары (преимущественно крупные клетки с широким ободком базофильной протоплазмы) обуславливают своеобразную гематологическую картину ИМ.

В ряде случаев в лимфатических узлах наблюдаются очаговые и распространенные некрозы. Изменения, происходящие в миндалинах и селезенке, аналогичны изменениям в лимфатических узлах. Характерным изменением в печени при инфекционном мононуклеозе служит образование лимфоидно-клеточных инфильтратов и ретикуло-эндотелиальных элементов, располагающихся перипортально, а также внутри долек. Архитектоника печени, как правило, не нарушается. В отличие от эпидемического гепатита при инфекционном мононуклеозе мезенхимальная реакция резко преобладает над изменениями паренхимы. Описаны изменения типа лимфоидно-клеточной инфильтрации при ИМ и в других органах (легкие, сердце, почки, центральная нервная система и др.).

Заболевание в большинстве случаев начинается остро, с повышения температуры до высоких цифр, однако весь клинический симптомокомплекс, свойственный инфекционному мононуклеозу, развертывается обычно к концу первой недели. Тяжесть заболевания крайне вариabельна. В легкой форме оно может оставаться незамеченным, обнаруживаясь лишь при анализе крови или обследовании у врача. Возможна и очень тяжелая форма, с выраженными явлениями токсикоза. Больные жалуются на плохое самочувствие, упадок сил и снижение аппетита. Увеличенные лимфоузлы имеют эластичную консистенцию и болезненны при пальпации. Лихорадка разнообразна по характеру и продолжительности, иногда температура тела достигает 39–40°C. Она может держаться на постоянном уровне или волнообразно изменяться в течение суток, снижаясь временами (обычно по утрам) до нормальной. При повышении температуры отмечаются головные боли, порой сильные. Печень и селезенка увеличены у большинства больных. Гепатоспленомегалия появляется с 3–5-го дня болезни и держится до 3–4 нед и более. Особенно выражены изменения печени при желтушных формах инфекционного мононуклеоза. В этих случаях в сыворотке крови увеличивается уровень общего билирубина и повышается активность аминотрансфераз (особенно аспарагиновой аминотрансферазы). Очень часто даже при нормальном содержании билирубина повышается активность щелочной фосфатазы. Могут развиваться и другие симптомы, в том числе кожная сыпь, боли в животе, миокардит, неврологические наруше-

ния. Чаще всего наблюдается умеренно тяжелое течение заболевания. Случаи летального исхода редки.

Если факторы клеточного иммунитета контролируют репликацию вируса Эпштейна–Барр в организме, то клинические симптомы инфекционного мононуклеоза постепенно исчезают, а лимфоаденопатия и спленомегалия уменьшаются.

Подобно другим герпесвирусам, вирус Эпштейна–Барр может сохраняться в виде латентной инфекции (его ДНК содержится в ядре небольшого количества В-лимфоцитов). Эпизодическая асимптоматическая реактивация инфекции является обычным явлением, и около 20% здоровых молодых людей выделяют вирус Эпштейна–Барр со слюной. У лиц с поврежденным клеточным иммунитетом (СПИД, реципиенты трансплантатов, атаксическая телеангиэктазия) может развиваться явная реактивная инфекция с волнистой лейкоплакией, интерстициальным пневмонитом и в виде моноклональной В-клеточной лимфомы.

С вирусом Эпштейна–Барр связывают этиологию назофарингеальной карциномы и лимфомы Беркитта, которые необходимо рассматривать как самостоятельные нозологические формы.

Диагностика. В типичных случаях при наличии классических клинических симптомов ИМ диагностика заболевания не является сложной. Тем не менее, врач-клиницист во всех случаях обязан подтвердить клинический диагноз результатами лабораторных исследований.

При ИМ в клиническом анализе крови отмечается лейкоцитоз (до $10\text{--}20 \times 10^9/\text{л}$) с лимфомоцитозом (до 90–95%), наличием широкоплазменных и базофильных лимфоцитов.

Одним из проявлений инфекционного мононуклеоза является появление в периферической крови атипичных мононуклеаров (до 10% и более от общего количества лимфоцитов). Атипичные мононуклеары – одноядерные элементы крови округлой или овальной формы. Размеры их варьируют от среднего лимфоцита до большого моноцита. Ядра клеток губчатой структуры с остатками нуклеол. Протоплазма широкая со светлым поясом вокруг ядра и значительной базофилией к периферии, в цитоплазме встречаются вакуоли. В связи с особенностями структуры атипичные мононуклеары получили название «широкоплазменные лимфоциты» и «монолимфоциты». Атипичные лимфоциты обнаруживают в крови с начала периода клинических проявлений инфекции. Их уровень в крови достигает пика к концу 2-й началу 3-й нед и может держаться до 1,5–2 мес; полное исчезновение обычно происходит к началу 4-го месяца от начала заболевания. Атипичные лимфоциты относительно нечувствительный признак инфекции, вызванной вирусом Эпштейна–Барр, но имеет

общую специфичность около 95%. При исследовании обычных мазков крови атипичные мононуклеары выявляются в 20-86% случаев, лейкоконцентрация позволяет обнаружить их у всех больных. Так как в небольшом количестве атипичные мононуклеары могут наблюдаться при различных инфекциях (цитомегаловирусной, герпетической VI типа, острых респираторных вирусных инфекциях, ветряной оспе, кори, инфекционных гепатитах, токсоплазмозе и др.), диагностическим для инфекционного мононуклеоза считается содержание их 10% и более в периферической крови.

Важнейшую роль в диагностике ИМ играют серологические методы исследования. Однако для их правильного использования в клинической практике необходимо понимать особенности и закономерности появления антител к различным антигенным структурам ВЭБ.

Пролиферация поликлональных В-лимфоцитов при инфицировании вирусом ВЭБ, генерирует большое количество разнообразных аутоантител в организме больного, таких как IgM-анти-*i* (холодовой агглютинин), ревматоидный фактор, антинуклеарные антитела. Большинство необычных иммуноглобулинов, которые появляются при инфекционном мононуклеозе в крови, получили название гетерофильных антител Пауля–Буннеля. Эти антитела относятся к классу IgM, имеют родство к бараньим и лошадиным эритроцитам, и не направлены к каким-либо антигенам вируса. Гетерофильные антитела являются случайными продуктами В-лимфоидной пролиферации (наведенной ВЭБ), которые появляются в первую неделю заболевания, снижаются при выздоровлении, и их обычно не обнаруживают через 3–6 мес. Вскоре после инфицирования В-лимфоцитов обнаруживается ранний антиген (early antigen – EA). Он не является структурным вирусным компонентом, а представляет из себя белок, необходимый для репликации вируса Эпштейна–Барр. К раннему антигену в организме больного синтезируется антитела классов IgM и IgG.

По мере распространения инфекции, во всех клетках в больших количествах появляются геномы ВЭБ (уникальные антигены):

- антиген вирусного капсида (VCA);
- мембранный антиген (МА);
- ядерный антиген (EBNA) – ответственен за его дупликацию и выживание.

В ответ на вирусные антигены синтезируются специфические антитела, которые являются ценными маркерами стадии заболевания. По мере стихания инфекционного процесса небольшой процент инфицированных ВЭБ В-лимфоцитов избегают иммунной деструкции и сохраняют вирусный геном в латентной форме.

Серологические методы диагностики позволяют выявлять неспецифические и специфические антитела в сыворотке крови при ИМ.

В 1932 г. Паулем и Буннелем (J. Paul, W. Bunnell) была предложена реакция агглютинации, основанная на обнаружении в сыворотке крови больного инфекционным мононуклеозом противобараньих агглютининов (неспецифических гетерофильных антител). Титр гетерофильных антител 1:224 и выше в сыворотке крови больного является диагностическим и подтверждает диагноз инфекционного мононуклеоза. Гетерофильная агглютинация бывает положительной у 60% молодых лиц через 2 нед и у 90% – через 4 нед от начала клинических проявлений заболевания. Поэтому для диагностики инфекционного мононуклеоза необходимо проводить несколько исследований – на 1-й нед заболевания (реакция может быть отрицательной) и через 1–2 нед (реакция может стать положительной). Уровень гетерофильных антител снижается по окончании острого периода инфекционного процесса, однако их титр можно определить в течение 9 мес после появления клинических симптомов. Реакция Пауля–Буннеля может превратиться из положительной в отрицательную даже когда имеются остаточные гематологические и клинические симптомы у пациента. Чувствительность метода у взрослых составляет 98%, специфичность 99%. У детей с инфекционным мононуклеозом в возрасте до 2-х лет гетерофильные антитела выявляются только у 30% больных, в возрасте 2–4 года – у 75%, старше 4 лет – более чем у 90%. Чувствительность метода у детей составляет менее 70%, специфичность – 20%. Снижение, а затем повторное повышение титра гетерофильных антител может иметь место в ответ на другую инфекцию (наиболее часто при вирусных инфекциях верхних дыхательных путей). Реакция Пауля–Буннеля не специфична для ВЭБ. Титр гетерофильных антител не дает перекрестной реакции и не коррелирует со специфическими антителами к ВЭБ; также нет корреляции и с тяжестью течения заболевания. Тест бесполезен для диагностики хронической формы инфекционного мононуклеоза (положителен только у около 10% пациентов).

Титры 1:56 и менее могут быть обнаружены у здоровых людей и у пациентов с другими заболеваниями (ревматоидный артрит, краснуха).

Антитела к раннему антигену вируса Эпштейна–Барр IgG, представляют собой антитела к D-компонету белка необходимого для репликации вируса (анти-EA-D IgG). Они появляются еще в острый период первичной инфекции и быстро исчезают с выздоровлением. Поэтому определение антител к раннему антигену ВЭБ – это тест для ранней диагностики острой первичной инфекции.

Для определения антител класса IgG к раннему антигену ВЭБ в лабораториях используют метод иммуноферментного анализа (ИФА) и иммунохемилюминисцентного анализа (ИХА).

Оценка результатов исследований методом ИФА. Уровень антител к раннему антигену ВЭБ класса IgG: в титре выше 1:40 оценивается как положительный и свидетельствует об острой инфекции.

Оценка результатов исследования методом ИХА. Антитела класса IgG к раннему антигену ВЭБ:

- менее 10 Е/мл – результат отрицательный;
- 10–40 Е/мл – результат сомнительный («серая» зона);
- более 40 Е/мл – результат положительный.

Сомнительные результаты должны быть повторены через 5–7 дней и в случае получения аналогичных данных расцениваются как отрицательные.

Длительное выявление высоких титров анти-ЕА-D IgG свидетельствует о сохраняющейся активности процесса и переходе в хроническую форму. Иногда анти-ЕА-D IgG обнаруживаются у вирусоносителей и увеличение их титров является индикатором реактивации инфекции.

К вирусспецифическим антителам относятся антитела к капсидному антигену (анти-VCA) и к ядерному антигену (анти-ЕВНА) ВЭБ. Для выявления специфических антител к ВЭБ наиболее широко используют методы ИФА и ИХА.

Антитела к VCA класса IgM (анти-VCA IgM) появляются очень рано, обычно до клинических симптомов и обнаруживаются в начале заболевания в 100% случаев; высокие титры бывают на 1-6 нед от начала инфекции, начинают снижаться с 3-й нед и обычно исчезают через 1-6 мес. Анти-VCA IgM почти всегда присутствуют в сыворотке при активной инфекции, поэтому очень чувствительны и специфичны для острого эпизода инфекционного мононуклеоза. Наличие анти-VCA IgM в крови больного в высоких титрах более 3 мес свидетельствует о затяжном течении ИМ и иммунодефицитном состоянии.

Антитела к VCA класса IgG (анти-VCA IgG) могут появиться рано (1–4 нед), достигают пика ко 2-му месяцу заболевания. В начале заболевания обнаруживаются в 100% случаев. Только у 20% пациентов выявляют 4-кратное увеличение титра при исследовании парных сывороток. Титр снижается при выздоровлении, но обнаруживается в течение нескольких лет после перенесенной инфекции, поэтому бесполезен для диагностики инфекционного мононуклеоза. Наличие анти-VCA IgG свидетельствует о состоянии после инфекции и иммунитете. Высокий титр (более 1:320) или 4-кратный подъем титра анти-VCA IgG в течение болезни свидетельствует в пользу острой первичной инфекции. Постоянное присутствие антител к раннему антигену

(анти-ЕА-D IgG) и анти-VCA IgG в высоких титрах указывают на хроническую фазу инфекции. Высокий уровень анти-VCA IgG выявляют у больных с лимфомой Беркитта и назофарингеальной карциномой.

Антитела к ядерному антигену класса IgG EBNA (анти-ЕВНА IgG) появляются позже всех, редко выявляются в острой фазе заболевания. Их уровень возрастает в период выздоровления (3–12 мес) и может сохраняться в крови в течение многих лет после болезни. Отсутствие анти-ЕВНА IgG в сыворотке крови при наличии анти-VCA IgM и анти-ЕА IgG свидетельствует о текущей инфекции. Если анти-ЕВНА IgG не обнаруживаются в крови в течение 3–6 мес после начала ИМ – это свидетельствует о наличии иммунодефицита (дефект Т-клеточного звена иммунитета). При использовании метода ИФА можно одновременно определить анти-ЕВНА классов IgM и IgG. Если анти-ЕВНА IgM больше анти-ЕВНА IgG – острая инфекция, при обратном соотношении – ранее перенесенная.

В табл. 1 приведены профили серологических тестов в различных стадиях инфекционного мононуклеоза, а на рис. 1 представлена динамика выявления антител к вирусу Эпштейна–Барр.

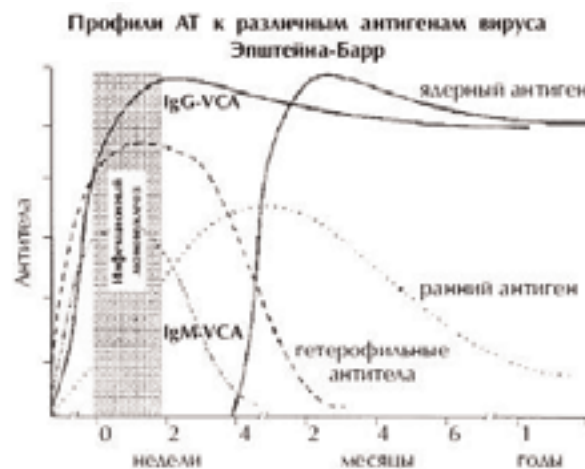


Рис. 1. Динамика обнаружения антител при инфекционном мононуклеозе.

Так как инфекционный мононуклеоз является системным лимфопролиферативным заболеванием, которое может вызываться рядом этиологических агентов, очень важно правильно построить тактику обследования таких пациентов. На схеме 1 приведен алгоритм использования серологических тестов у больных с симптомами острого мононуклеоза.

Таблица 1.

Серологические профили при инфекционном мононуклеозе [Rose N.R. et al. 1997]

Клинический статус	Характеристика антительного профиля				
	Гетерофильные антитела (качественный тест)	Специфические антитела			
		анти-VCA IgM	анти-VCA IgG	анти-EA-D IgG	анти-EBNA IgG
Отрицательная реакция	Нет	<1:8	<1:10	<1:10	<1:2,5
Не инфицированные	Нет	–	–	–	–
Острая первичная инфекция (инфекционный мононуклеоз)	+	1:32 до 1:256	1:160 до 1:640	1:40 до 1:160	– до 1:2,5
Свежая (текущая) первичная инфекция (инфекционный мононуклеоз)	±	– до 1:32	1:320 до 1:1280	1:40 до 1:160	1:5 до 1:10
Отдаленное постинфекционное состояние	–	–	1:40 до 1:160	–	1:10 до 1:40
Реактивация инфекции у пациентов с иммуносупрессией или иммунокомпроментированных лиц	–	–	1:320 до 1:1280	–	– до 1:160
Лимфома Беркитта	–	–	1:320 до 1:1280	–	1:10 до 1:80
Назофарингеальная карцинома	–	–	1:320 до 1:1280	1:40 до 1:160	1:20 до 1:160

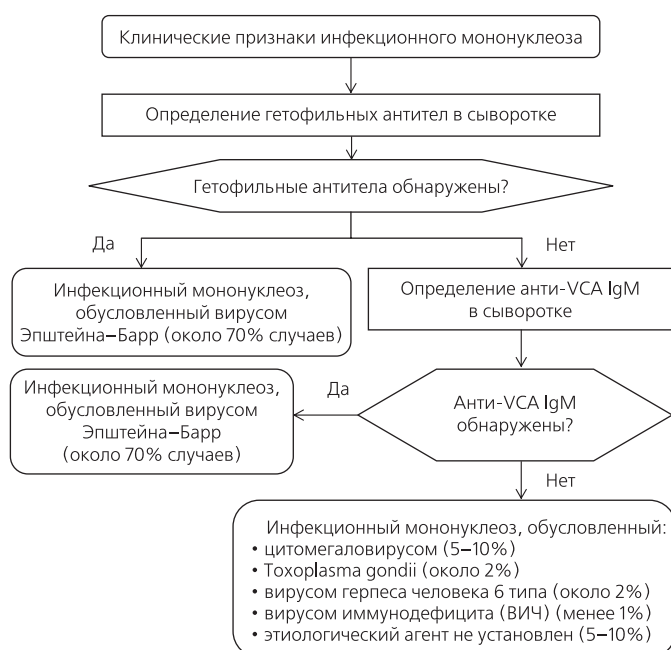


Схема 1.

Алгоритм обследования пациентов с подозрением на инфекционный мононуклеоз

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) позволяет качественно определять ДНК ВЭБ в соскобах слизистых оболочек (уретра, цервикальный канал, стенки влагалища, секрет предстательной железы, осадок мочи) и в крови. Определяемым фрагментом служит область последовательности гена рецепторного белка ВЭБ. Аналитическая чувствительность метода ПЦР составляет не менее 80 вирусных частиц

в 5 мкл, прошедшей выделение ДНК пробы, специфичность – 98%. Обнаружение ДНК ВЭБ в исследуемом материале указывает на этиологическую роль вируса в развитии заболевания при наличии соответствующей клинической картины. Однако из-за того, что ВЭБ может длительно персистировать в организме пациента и, соответственно, обнаруживаться в исследуемом материале, оценить его роль в развитии заболевания не всегда возможно.

Таким образом, лабораторная диагностика ИМ в настоящее время базируется на сочетании различных методов исследования. Представленный материал будет полезен для своевременной диагностики заболевания на его различных стадиях.*

* Список литературы находится в редакции