

## Частота выявления вирусных антигенов и антител у больных с патологией опорно-двигательного аппарата

И. А. Мальчиков, В. П. Журавлев, Л. А. Соколова, Л. П. Мальчикова  
ФГУН Екатеринбургский НИИ вирусных инфекций Роспотребнадзора.  
Уральская государственная медицинская академия, Екатеринбург

Как известно, исход любого заболевания зависит от правильного, своевременно поставленного диагноза и соответствующей этиотропной терапии в ранние сроки развития болезни. Эффективное лечение инфекционных заболеваний диктует необходимость комплексного изучения всех аспектов этой проблемы. Болезни опорно-двигательного аппарата (ОДА), включающие крупные и мелкие суставы, могут приводить к длительной нетрудоспособности и частым обострениям, а в ряде случаев принимать хроническое течение. В настоящее время происходит рост заболеваемости реактивным и ревматоидным артритом (их частота за последние 10 лет возросла до 45–50%), в том числе с вовлечением височно-нижнечелюстного сустава (ВНЧС) [5, 9]. Гипермобильный синдром в 60% случаев сопровождается болью в суставах по типу остеоартрита [6].

Это связано не только с ухудшением экологических факторов, окружающих человека, ослаблением защитных сил организма, но и низкой эффективностью лечения больных с данной патологией. Также остро стоит проблема, заключающаяся в том, что врачи не всегда обладают всей полнотой информации об этиологическом агенте, вызвавшем суставное заболевание. Это приводит к малоэффективному, дорогостоящему лечению и, как следствие, — к инвалидизации. Способствует этому и несовершенство методов лабораторной диагностики [2, 3, 7, 8].

### Цель исследования

Анализ частоты выявления антигенов и антител к респираторным и герпесвирусам в группах больных с заболеваниями ОДА и вовлечением ВНЧС.

### Материалы и методы исследования

Исследования проводили в течение 6 лет (1999–2005 гг.). За это время обследовано 302 пациента в возрасте от 18 до 60 лет, которые были распределены на 4 группы. Контрольную груп-

пу, одинаковую по полу и возрасту с исследуемыми группами, составили 78 практически здоровых лиц. Во вторую группу вошли 77 больных с реактивным артритом (РеА) с вовлечением ВНЧС. Третью группу составили больные с ревматоидным артритом (РА) с вовлечением ВНЧС (76 человек). Четвертая группа — больные с диагнозом остеоартроз (ОА) с вовлечением ВНЧС (74 человека). Пятую группу составили пациенты с недифференцированной дисплазией соединительной ткани (НДСТ) с вовлечением ВНЧС — 75 человек. Работа выполнена на основе анамнестического обследования указанных пациентов, находившихся на стационарном лечении в ревматологическом отделении ГКБ № 6, ОКБ № 1, а также наблюдавшихся амбулаторно в артрологическом центре стоматологической клиники Уральской государственной медицинской академии, г. Екатеринбург.

### Люминесцентные исследования

При постановке реакции иммунофлуоресценции (РИФ) использовали наборы НИИЭМ им. Гамалеи РАМН (г. Москва) — флуоресцирующие иммуноглобулины к вирусам гриппа А, В, вирусам парагриппа (ПГ), аденовирусам (АД), респираторно-синцитиальному (РС), вирусу простого герпеса (ВПГ) и цитомегаловирусу (ЦМВ). Для исследования отбирали различные биоматериалы: смывы из носоглотки, мочу, мазки со слизистой оболочки полости рта. Мазки из этих материалов обрабатывали по общепринятой методике. Просмотр препаратов проводили на люминесцентном микроскопе «Люмам МБИ-4» при 400–900 — кратном увеличении. Положительный результат регистрировали, если в препарате содержалось не менее трех клеток с флуоресцирующими включениями [1, 4].

### Серологические методы

Уровень специфических антител в парных сыворотках крови к респираторным вирусам (гриппа А, В, парагриппа, адено- и РС-) осу-

щественными путем постановки РТГА, РСК по стандартным методикам с использованием диагностикомов предприятия по производству диагностических препаратов НИИ гриппа РАМН (г. С-Петербург).

Определение уровня антител в сыворотке крови к герпетическим вирусам проводили с использованием иммуноферментного анализа (ИФА) на оборудовании фирм «Labsystems» (Финляндия) и «Abbott» (США). Сыворотки титровали, начиная с разведения 1:10. Для выявления антител класса М и G к ВПГ и ЦМВ использовали коммерческие диагностические иммуноферментные системы (ЗАО «Вектор-Бест», Кольцово, Россия). На основании ранее проведенного изучения, а также данных других авторов, величины диагностического титра специфических антител считали следующими: за пороговый титр суммарных IgG-антител к ВПГ было принято разведение 1:3 200, к ЦМВ — 1:1 600. Сыворотки, имеющие титр антител, превышающий пороговое значение, оценивали как положительные, а с титром менее порогового — отрицательные.

#### Метод ПЦР

Выявление ДНК возбудителей герпетических инфекций проводили в ПЦР с использованием оборудования и диагностических наборов научно-производственной фирмы института физической и химической медицины «Литех» (г. Москва). Исследовали пробы крови, соскобы со слизистой оболочки полости рта, ротовую, синовиальную жидкости и мочу реагентами HSV screen — PCR test и CMV screen (tm) — PCR test. По наличию специфического фрагмента амплификации размером 633 пар нуклеотидов для ВПГ и 330 — для ЦМВ судили о присутствии вирусов в анализируемом материале.

#### Выделение вирусов на культуре клеток

Вирусологические исследования синовиальной жидкости, полученной от больных РеА, РА и ОА, проводили на культурах клеток ЛЭЧ, ФЭЧ, Vero из коллекции клеточных культур Екатеринбургского НИИ вирусных инфекций. Было проведено не менее 3-х «слепых» пассажей исследуемого материала.

#### Результаты исследования и их обсуждение

В реакции иммунофлуоресценции антигены вирусов гриппа А и парагриппа чаще регистрировали в группе больных РеА — соответственно в 14,3% и 9,1% случаев, гриппа В и аденовируса — в группе ОА (5,4% и 8,1% соответственно). По частоте встречаемости антигенов гриппа А группа больных РеА достоверно отличалась от группы РА и ОА ( $p < 0,05$ ). При использовании РИФ для выявления антигена

ВПГ в слизистой оболочке полости рта, наиболее часто его определяли в группе больных РеА (66,8%), реже в группе больных ОА (48,6%). При определении наличия этого антигена в моче чаще всего его определяли в группе больных РеА (19,5%), реже — в группе НДСТ (13,0%). Между этими двумя группами были выявлены статистические различия ( $p < 0,05$ ). Антиген ЦМВ в ротовой жидкости выявляли чаще в группе больных РеА — 24,6%, реже в группе больных с НДСТ — 20,0%. Наибольшие отличия по этому антигену, имела группа больных РеА. Отличия по антигену ЦМВ, содержащемуся в моче, найдены при сравнении групп больных РА с НДСТ ( $p < 0,05$ ).

В РТГА групп и другие ОРВИ чаще диагностировали в группе больных РеА (25,9% и 36,4%). Реже всего эти инфекции можно было зарегистрировать в группе НДСТ — 10,6% и 17,3% соответственно. Группа больных РеА достоверно отличалась от остальных групп больных по содержанию антител к гриппу А и от группы РА — к РС-вирусу; группа больных ОА от группы РА — по наличию антител к аденовирусу. Достоверные отличия были выявлены также в отношении контрольной группы ( $p < 0,05$ ).

По данным ИФА, наиболее часто IgM к ВПГ диагностировали в сыворотке крови больных РеА — 24,6% и несколько реже — 17,8% в группе РА. У больных НДСТ и контрольной группы IgM к ВПГ отсутствовали, а в группе ОА они были обнаружены лишь в 2,7% случаев. Показатели IgG в диагностических титрах к ВПГ в сыворотке крови больных из групп РеА, РА и ОА были самые высокие (соответственно 62,3%, 59,1%, 64,8%) и достоверно отличались от контроля ( $p < 0,05$ ). Процент лиц, имеющих IgM к ЦМВ был самым высоким в группе РеА — 29,8% и достоверно отличался по отношению к группе больных РА ( $p < 0,05$ ). В группах больных ОА, НДСТ и контроле антител к ЦМВ не выявлено. Высокие титры IgG к ЦМВ в сыворотках крови больных РеА имели достоверные отличия с группой НДСТ ( $p < 0,05$ ).

В ПЦР ДНК вируса простого герпеса можно было обнаружить в осадке слюны больных РеА, РА ОА (от 55,3% до 64,9% случаев). Группа больных РеА по выявлению ДНК ВПГ в соскобе из полости рта и крови имела статистические различия с группой лиц с НДСТ ( $p < 0,05$ ); при исследовании осадка слюны — с группами больных РА, ОА, НДСТ ( $p < 0,05$ ). При выявлении ДНК ВПГ в осадке мочи больных РеА (при процентном показателе 29,8%) по отношению к группам больных РА и НДСТ (показатель 19,7 и 16,0% соответственно) имелись достоверные отличия по частоте ее встречаемости ( $p < 0,05$ ). ДНК ЦМВ в моче чаще всего диагностировали в группе РА (19,7%), реже

в группе с НДСТ (6,6%). Группы РА, ОА и НДСТ достоверно отличались от группы РеА ( $p < 0,05$ ). При выявлении ДНК ВПГ и ЦМВ в ПЦР группа больных РеА отличалась достоверно от группы НДСТ при исследовании такого биоматериала, как кровь ( $p < 0,05$ ). В синовиальной жидкости ДНК ВПГ достоверно чаще обнаруживали в группе больных РА, чем в других группах ( $p < 0,05$ ). Но при выявлении ДНК ЦМВ их сравнение не дало достоверных различий ( $p > 0,05$ ). В группе больных РеА обнаружение ДНК ВПГ в биоматериале, полученном из осадка слюны, ротовом соскобе и крови было достоверно выше (от 40,2% до 64,9%), чем во всех остальных биожидкостях ( $p < 0,05$ ). В группе больных РА при исследовании осадка слюны, ротового соскоба и крови достоверно чаще обнаруживали ДНК ВПГ, чем в моче и синовиальной жидкости ( $p < 0,05$ ). Статистически значимых различий в обнаружении ДНК ЦМВ вируса в различных биожидкостях в этой группе больных не выявлено ( $p > 0,05$ ). В группе больных НДСТ в биоматериале, взятом из осадка слюны, соскоба со слизистой полости рта и крови, ДНК ВПГ обнаруживали достоверно чаще, чем в моче ( $p < 0,05$ ), ДНК ЦМВ — недостоверно ( $p > 0,05$ ).

Применяя метод клеточных культур для исследования синовиальной жидкости на наличие гриппозных и других респираторных вирусов (с детекцией в РИФ антигенов этих возбудителей) обнаружили, что гриппозные вирусы (А+В) чаще встречались у больных РеА (31,1%), реже — у больных РА (9,1%) ( $p < 0,05$ ). Наоборот, другие респираторные вирусы —

чаще диагностировали у больных РА (31,4%) и реже в группе РеА (19,4%) ( $p < 0,05$ ). В материале синовиальной жидкости после пассирования ее на клеточных культурах содержание ВПГ было достоверно выше в группе больных РеА, по сравнению с другими группами больных ( $p < 0,05$ ). В материале синовиальной жидкости, после аналогичного методического приема, содержание ЦМВ достоверно повышалось в группе больных РА, по сравнению с другими группами больных ( $p < 0,05$ ).

## Выводы

1. Проведено сравнение частоты выявления антигенов и антител к респираторным и герпетическим вирусам в различных группах больных с суставной патологией. В отношении респираторных и герпетических вирусов получены достоверные различия во всех наблюдаемых группах больных по сравнению с контролем, т. е. проявлению патологии суставов в этих группах могло способствовать наличие у пациентов вирусной инфекции.

2. Использование различных лабораторных методов исследования у больных с патологией ОДА и вовлечением ВНЧС позволило выявить с высокой частотой наличие антигенов изучаемых вирусов и антител к ним.

3. По частоте выделения ДНК герпетических вирусов в биожидкостях, взятых у больных наблюдаемых групп, пациенты с диагнозом РеА стояли на первом месте по числу положительных случаев. Реже всего эти вирусы определяли в биожидкостях, полученных от больных из группы НДСТ.

## Литература

1. Воробьев А. А. Медицинская и санитарная микробиология / А. А. Воробьев, Ю. С. Кривошеин, В. П. Широбоков: М.: Академия, 2003. — 464 с.
2. Горячев Д. В. Роль вирусов в развитии ревматоидного артрита // Д. В. Горячев, О. Н. Егорова, Р. М. Балабанова / Тер. арх. — 2001. — № 2. — С.72–78.
3. Егорова О. Н. Значение выявляемых при ревматических заболеваниях антител к вирусам семейства Herpesviridae / О. Н. Егорова, Р. М. Балабанова, Г. Н. Чувилов // Тер. арх. — 1998. — Т.70. — № 5. — С.41–45.
4. Иммунофлюоресцентная диагностика заболеваний, вызываемых вирусом простого герпеса / В. К. Савушкина, О. А. Нефедова, С. П. Астапенков [и др.] (методические рекомендации). Екатеринбург: Полиграфист, 1992. — 7с.
5. Место ревматических заболеваний в патологии населения Российской Федерации / В. А. Насонова, О. М. Фоломеева, Р. Н. Амирджанова [и др.] // Тер. арх. — 1995. — № 1. — С.9–11.
6. Савченко Р. К. Синдром соединительнотканной дисплазии ВНЧС: Автореф. дис... канд. мед. наук ОГМА. — Омск. 2001. — 25 с.
7. Соколова Л. А. Клинико-иммунологические особенности реактивных артритов, связанных с урогенитальной и кишечной инфекцией // Автореф. дис... канд. мед. наук. Ярославль, СИПИ, 1994. — 35 с.
8. Тестирование синовиальной жидкости больных ревматоидным артритом и реактивным артритом методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) / М. А. Королев, Л. П. Коненкова, Е. В. Зюнова [и др.] // Научно-практическая ревматология (Тезисы III съезда ревматологов России 22–25 мая, 2001 г.). — 2001 — № 3 — С. 57.
9. Bathi RJ. Rheumatoid arthritis of TMJ—a diagnostic dilemma? / N. Taneja, S. Parveen // Dent Update. — 2004. — Apr;31(3). P.167–70.