

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ВОПРОСАМ ДИАГНОСТИКИ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ

Хорошун Е. В., Шульдяков А. А., Куличенко А. Н., Решетников А. А.
*Саратовский государственный медицинский университет,
Российский научно-исследовательский противочумный институт "Микроб",
Саратов*

С целью анализа показателей специфического гуморального иммунитета у больных ГЛПС в различные периоды болезни в зависимости от степени тяжести проведено клинико-иммунологическое обследование 53 пациентов. Констатируется, что у больных ГЛПС максимальные значения специфических IgM регистрировались олигоанурическом периоде, а IgG в ранней реконвалесценции, при этом титры суммарных специфических антител находились в обратной зависимости от тяжести заболевания. При оценке суммарного титра специфических антител в различные периоды болезни в сопоставимых по тяжести формах получены следующие результаты: при всех формах ГЛПС более высокие титры обнаруживались в олигоанурическом периоде по сравнению с периодом полиурии. Выявленные закономерности, вероятно, обусловлены разнонаправленным характером динамики титров антител класса IgM и IgG. Следовательно, динамика показателей специфических IgM и IgG у больных ГЛПС с тяжёлым течением болезни, а также динамика специфических суммарных антител в различные периоды болезни в зависимости от её тяжести сохраняют закономерности реакций гуморального иммунитета на инфекционный агент.

Введение.

В Саратовской области с 1986 г. зарегистрирован стойкий природный очаг геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС) с высокой заболеваемостью и периодически возникающими вспышками. Последняя вспышка данного заболевания отмечена в 1999 г., когда число больных составило 618 человек (заболеваемость - $22,7^{0}_{000}$). В начале 21 века уровень заболеваемости колеблется в пределах $3,99^{0}_{0000}$ (2003г.) - $5,26^{0}_{0000}$ (2004 г.) Особенности формирования иммунного ответа при ГЛПС до настоящего времени изучены недостаточно, что особенно важно при проведении организационных лечебно-профилактических и противоэпидемических мероприятий.

В настоящей работе была поставлена задача изучить клинико-иммунологические особенности ГЛПС в различные периоды болезни, а также сравнить показатели суммарных специфических антител к вирусу ГЛПС в сыворотках крови больных людей в зависимости от степени тяжести заболевания.

Материалы и методы исследования.

Для реализации поставленной цели обследовано 53 больных в возрасте от 18 до 64 лет. Мужчин было 39 человек (74%), женщин – 14 (26%). Тяжёлое течение болезни отмечалось у 24 пациен-

тов (45%), среднетяжёлое – у 23 (43%) и лёгкое – у 6 больных (11%). Диагноз устанавливался в соответствии с общепринятыми критериями [2], в динамике оценивались основные клинические и лабораторно-инструментальные данные. Изучение показателей гуморального иммунитета проводилось в различные периоды болезни: олигоанурический, полиурический, ранней реконвалесценции. Контрольную группу, в которой исследовались показатели специфического иммунитета, составили 30 здоровых молодых людей, не болевших ранее ГЛПС, из благополучных по заболеваемости ГЛПС районов области.

Анализ сыворотки крови больных на наличие специфических IgM и IgG к вирусу ГЛПС проводили в непрямом варианте ИФА с использованием компонентов диагностических тест-систем "Хантогност". После выполнения основных этапов, включающих сенсибилизацию, блокировку и специфическую сорбцию вирусных антигенов, в лунки планшетов добавляли исследуемые сыворотки больных в разведениях от 1:10 до 1:160 с последующей 2-х часовой инкубацией в термостате. При оценке этого материала на наличие специфических противовирусных IgM в систему вносили антитела против IgM человека, меченые пероксидазой хрена. При анализе сывороток на противовирусные IgG в лунки

добавляли пероксидазный конъюгат против IgG (антител человека). Пробу считали положительной, если значение её оптической плотности было в 2,1 раза большим, чем значение оптической плотности отрицательного контроля. Статистическая обработка материала осуществлялась методом сравнения средних геометрических титров (СГТ) [1].

Суммарные специфические антитела к вирусу ГЛПС определялись непрямой методом иммунофлюоресценции с использованием в качестве диагностикума высушенных, инактивированных и фиксированных ацетоном суспензий смеси клеток VERO – E6 содержащих антигены 1 - ого (Хантаан), 2 - ого (Пуумала) и 3 - его (Сеул) серотипов вируса ГЛПС. Для контроля специфичности и активности антигенных препаратов применялись анти-ГЛПС иммунные сыворотки 1-го и 2-го серотипов и нормальная сыворотка человека, а также люминесцентная сыворотка против глобулинов человека с голубым эвансом. Учет результатов производился с помощью люминесцентного микроскопа по яркому изумрудно-зеленому свечению цитоплазмы клеток, содержащих антиген вируса ГЛПС. Титром сыворотки считалось ее наивысшее разведение, способное выявлять антиген вируса ГЛПС. Результаты титрования исследуемых сывороток учитывались только в тех случаях, когда наблюдали флуоресцирующее свечение в препаратах при внесении анти-ГЛПС контрольных сывороток 1-го и 2-го серотипов и отсутствие свечения при внесении нормальной человеческой сыворотки.

Для статистической обработки титров антител, дробные значения разведений масштабировались путем умножения каждого показателя на 1024 (максимальное разведение). Статистический анализ полученных результатов производился с использованием пакета программ SPSS. При сравнении суммарных специфических антител в зависимости от тяжести заболевания применялись критерии Манна - Уитни (U) и Колмогорова - Смирнова (K-S,DN). Критерий Манна-Уитни применялся при сравнении двух выборок с неизвестным распределением признака, при неодинаковом количестве вариантов. Критерий Колмогорова-Смирнова, который использовался для сравнения двух выборок с неизвестными характеристиками распределения. Достоверными считались результаты, где коэффициент сравнения (p) меньше 0,05.

Результаты исследования и обсуждения.

При оценки клинической картины у наших пациентов установлено, что олигоанурический период длился от 3 до 16 дней и характеризовался лихорадкой у всех больных (100%), головной болью - у 48 больных (90,6%), тошнотой - у 45

(84,9%) рвотой - у 18 (34%), инъекцией сосудов склер - у 48 (90,6%), снижением остроты - у 25 (47,2%), наличием геморрагического синдрома в виде кровоизлияний в склеры - у 23 (43,4%), петехиальной сыпи - у 14 (26,4%), и подкожных кровоизлияний - у 14 больных (26,4%). У 50 больных (94,3%) отмечались боли в поясничной области, у 40 (75,5%) – олигоанурия, у 9 (17%) – анурия. В общем анализе мочи выявлялись снижение относительной плотности у 23 человек (43,4%), протеинурия - у 53 (100%), гематурия - у 53 (100%), наличие гиалиновых цилиндров - у 22 (41,5%), зернистых у - 7 (13,2%), фибринных - у 5 (9,4%); в 49 случаях (92,5%) случаях отмечалась лейкоцитурия. Биохимические изменения со стороны крови характеризовались повышением мочевины, креатинина у всех больных (100%). В общем анализе крови наиболее часто регистрировалась лейкопения у 30 больных (56,7%), нормоцитоз - у 17 (32,1%), умеренный лейкоцитоз - у 6 больных (11,3%).

Длительность полиурического периода составляла от 3 до 6 недель. Самочувствие больных на этом этапе болезни, как правило, улучшалось. Однако часто отмечались тахикардия - в 42 случаях (79,2%), лабильный пульс у 27 больных (50,9%), увеличение количества выделяемой мочи по сравнению с принятой жидкостью у 50 больных (94,3%). Геморрагические проявления исчезали у 12 больных (22,7%), уменьшались боли в поясничной области у 24 больных (45,3%). В анализах мочи отмечались положительные сдвиги. Имела место изогипостенурия у всех больных (100%), лейкоцитурия - у 27 (50,9%), протеинурия - у 46 больных (86, 8%). Цифры мочевины и креатинина оставались повышенными в 49 случаях (92,5%). В общем анализе крови отмечался лейкоцитоз - у 27 человек (50,9%), нормоцитоз - у 17 (32%), лейкопения - у 9 (17%), повышенная СОЭ - у 18 больных (34%).

В периоде ранней реконвалесценции диурез восстанавливался, нормализовались биохимические показатели. Вместе с тем, у большинства больных (90,6%) сохранялись изогипостенурия, у 27 больных (50,9%) отмечалась лейкоцитурия. При ультразвуковом исследовании почек определялись диффузные изменения в паренхиме в 25 случаях (47,2%), расширение в чашечно-лоханочной системе - в 15 случаях (28,3%).

При анализе показателей гуморального иммунитета в олигоанурическом периоде СГТ противовирусных IgM находился в пределах 1/40-1/80, в полиурическом периоде отмечалось снижение СГТ IgM (1/20-1/40) и в периоде ранней реконвалесценции СГТ составил 1/10-1/20. Динамика показателей специфических IgG была обратной: в олигоанурическом периоде отмечал-

ся минимальный титр - 1/4-1/40, в полиурическом периоде СГТ повышался (1/10-1/20), а максимальное его значение регистрировалось в периоде ранней реконвалесценции - 1/40-1/80. Таким образом, максимальные значения специфических IgM регистрировались олигоанурическом периоде, а IgG в ранней реконвалесценции.

Титры суммарных специфических антител находились в обратной зависимости от тяжести заболевания, а достоверные отличия исследуемых показателей зарегистрированы в олигоанурическом периоде при сравнении легкой и тяжелой степеней болезни (K-S-DN, $p=0,039$), а также среднетяжелой и тяжелой (K-S-DN, $p=0,0009$), в полиурическом периоде - при сравнении среднетяжелой и тяжелой степеней заболевания (K-S-DN, $p=0,0004$). Относительно сниженный антигеногенез у пациентов с тяжелыми формами ГЛПС, по всей видимости, был обусловлен развивающейся острой почечной недостаточности и выраженными токсико-метаболическими нарушениями в организме.

При оценке суммарного титра специфических антител в различные периоды болезни при сопоставимых по тяжести формах получены следующие результаты: при всех формах ГЛПС бо-

лее высокие титры обнаруживались в олигоанурическом периоде по сравнению с периодом полиурии, однако достоверные отличия были получены только при среднетяжелой (U, $p=0,001$ и K-S-DN, $p=0,00001$) и тяжелой (U, $p=0,003$ и K-S-DN, $p=0,001$) формах. Выявленные закономерности можно связать разнонаправленным характером динамики титров антител класса IgM и IgG.

Таким образом, динамика показателей специфических IgM и IgG у больных ГЛПС с тяжелым течением болезни, а также специфических суммарных антител в различные периоды болезни в зависимости от ее тяжести сохраняют закономерности реакций гуморального иммунитета на инфекционный агент. Полученные результаты облегчают проведение клинико - иммунологических параллелей у больных с ГЛПС.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сюрин В.Н., Белоусова Р.В., Фомина Н.В. Методы лабораторной диагностики вирусных болезней у животных. - М.: "Агропромиздат", 1986.
2. Ющук Н.Д., Венгеров Ю.Л. Лекции по инфекционным болезням. - М., - т. 2., 2-е издание, 1999.

MODERN APPROACHES TO THE QUESTIONS OF DIAGNOSTICS OF HEMORRHAGIC FEVER WITH RENAL SYNDROME

Horoshun E.V., Shuldiakov A.A., Kulichenko A.M., Reshetnikov A.A.

To analyse the specific humoral immunity parameters in patients with hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) during various periods depending on the severity of the disease, there has been carried out a clinico-immunological examination of 53 patients. It has been determined that in patients with HFRS the maximum values of specific Ig M were registered during the period of oliguria, and Ig G values during the period of early reconvalescence, the titres of total specific antibodies being in the inverse dependence on the severity of the disease. While evaluating the specific antibody total titre during various periods of the disease comparable in severity, the following results were obtained: all forms of HFRS revealed higher titres during the period of oligoanuria as compared to the period of polyuria. The revealed peculiarities may be attributed to the different character of class Ig M and Ig G antibody titres dynamics. Therefore, both the dynamics of specific Ig M and Ig G parameters in patients with HFRS a severe course of the disease and the total specific antibody dynamics during various periods of the disease, depending on its severity, follow the laws of humoral immunity reactions on the infection agent.