

## ВЫЯВЛЕНИЕ МАРКЕРОВ КРАСНУХИ У ДЕТЕЙ ГРУППЫ РИСКА

Н.Л. Рогушина<sup>1</sup>, О.В. Самодова<sup>1</sup>, Л.В. Титова<sup>1</sup>, Л.В. Войнова<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Северный государственный медицинский университет, Архангельск

<sup>2</sup> ГУЗ «Областная детская клиническая больница им. П.Г. Выжлецова», Архангельск

### Detection of markers of rubella in risk groups of children

N.L. Rogushina<sup>1</sup>, O.V. Samodova<sup>1</sup>, L.V. Titova<sup>1</sup>, L.V. Voinova<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Northern State Medical University, Archangelsk

<sup>2</sup> Regional Pediatric Clinic named by P.G. Vyzhletcova, Archangelsk

**Резюме.** Проведено обследование новорожденных с перинатальной патологией и умерших детей, угрожаемых по синдрому врожденной краснухи. Установлено, что у погибших плодов и новорожденных маркеры вируса краснухи встречались чаще, чем у живых детей и в сочетании с другими перинатальными патогенами. Показана целесообразность одномоментного обследования дуады «мать – дитя».

**Ключевые слова:** краснуха, плоды, новорожденные, врожденные инфекции.

### Введение

Сложность ранней диагностики врожденной краснухи определяется тем, что с клиникой синдрома врожденной краснухи (СВК) рождается только 15–25% новорожденных, которые перенесли краснуху внутриутробно [1, 2], однако на долю врожденной краснухи приходится до 35% всей внутриутробной патологии [3]. Длительные наблюдения за пациентами, чьи матери болели краснухой во время беременности, показали, что в течение нескольких лет может выявляться тяжелая врожденная патология у 70–90% детей [4, 5]. Так, на 3–5-м году жизни может проявиться «поздний краснушный синдром» в виде нарушения зрения, слуха, роста, сахарного диабета, тиреоидита, панэнцефалита, расстройств речи, дефектов центральной нервной системы [4, 6–9]. Для ранней диагностики врожденной краснухи необходимо проводить серологическое обследование новорожденных [10, 11]. Исследователями подчеркивается важность проведения серологического исследования не только детей с перинатальной патологией и врожденными пороками развития (ВПР), но и мертворожденных для изучения истинной распространенности и точной регистрации СВК [12, 13]. Для улучшения качества диагностики СВК Всемирной организацией здравоохранения рекомендовано считать случаем, «подозрительным» на СВК, у ребенка до года наличие одного

**Abstract.** The examination of newborn infants with perinatal pathology and dead children threatened by congenital rubella syndrome was conduct. It was established that the dead fetuses and newborns markers of rubella virus were more common than living children, and in combination with other perinatal pathogens. The expedience of simultaneous survey of mother-child dyad was shown here.

**Key words:** rubella, fetus, newborn, congenital infection.

или нескольких симптомов: врожденного заболевания сердца, глухоты, поражения глаз (катаракта, снижение остроты зрения, нистагм, косоглазие, микрофтальмия, врожденная глаукома) и наличие в анамнезе матери контакта с больным краснухой или подтверждение перенесенной краснухи в период беременности. Клинически подтвержденный случай СВК, согласно рекомендациям ВОЗ, регистрируется у ребенка до года, у которого выявляются два симптома из группы А: врожденное заболевание сердца, врожденная глаукома, катаракта, пигментная ретинопатия, дефект слуха, или один симптом из группы А и один симптом из группы В: пурпура, спленомегалия, микроцефалия, отставание в развитии, менингоэнцефалит, остеопороз, желтуха в первые 24 часа после рождения. Лабораторно подтвержденный случай СВК устанавливается у ребенка до года с подозрением на СВК, у которого обнаружены антитела к вирусу краснухи класса М (IgM). Латентная форма врожденной краснушной инфекции предполагается при наличии краснушных антител класса М у ребенка (новорожденного), не имеющего клинических симптомов, характерных для СВК, мать которого в период беременности перенесла краснуху или заболевание, подозрительное на нее [14].

**Цель исследования** – выявление маркеров вируса краснухи в группе плодов и новорожденных с перинатальной патологией.

## Материалы и методы

Проведено поперечное исследование с включением двух групп детей, угрожаемых по синдрому врожденной краснухи. В первую группу вошли новорожденные с перинатальной патологией, во вторую — плоды и новорожденные, умершие в антенатальном, интранатальном и неонатальном периодах.

В первой группе поиск маркеров краснушной инфекции был проведен в 100 парах «мать — дитя», которые были обследованы на наличие специфических иммуноглобулинов класса М (IgM) и G (IgG). Специфические антитела определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) с применением тест-систем ЗАО «Вектор-Бест», Россия (D-2554 «Векторубелла-IgM-стрип», D-2552 «Векторубелла-IgG-стрип», D-2556 «Векторубелла-IgG-авидность»). Индекс авидности IgG в соответствии с инструкцией, прилагаемой к тест-системе, более 70% расценивали как высокоавидный, от 50% до 70% — среднеавидный, менее 50% — низкоавидный. Критерии включения в исследование: наличие одного или нескольких признаков, угрожаемых в отношении врожденной краснухи: дефект слуха, врожденное заболевание сердца, поражение глаз (врожденная глаукома, пигментная ретинопатия, катаракта), пурпура, спленомегалия, микроцефалия, менингоэнцефалит, отставание в развитии, возникновение желтухи в течение 24 часов после рождения, а также множественные пороки развития у новорожденных.

У 67 погибших плодов и новорожденных второй группы были обследованы аутопсийные материалы: мазки-отпечатки сердца, почек, головного мозга одновременно на 4 вируса: краснухи, цитомегаловируса (ЦМВ), герпеса человека 6-го типа (ВПГ-6), Эпштейна — Барр (ВЭБ) в реакции непрямой иммунофлуоресценции (рНИФ). Лабораторные исследования проводили тест-системами, содержащими высокочувствительные пулы к вирусам. Исследование выполнено в лаборатории эпидемиологии оппортунистических инфекций НИИЭМ им Н.Ф. Гамалеи (г. Москва).

Критерии включения в группу: перинатально погибшие плоды во втором и третьем триместре беременности, мертворожденные с врожденными пороками развития, абортивный материал после прерывания беременности в связи с контактом по краснухе или течением краснухи у женщины во время беременности, новорожденные с клиникой внутриутробной инфекции и/или врожденными пороками развития, умершие в неонатальном периоде.

Статистическая обработка материала проводилась при использовании программных продуктов EpiTable, SPSS for Windows версия 15.0. Распределение количественных переменных было проверено на нормальность распределения по крите-

рию Шапиро — Уилка. В случаях, если данные не подчинялись закону нормального распределения, использовали непараметрический критерий Манна — Уитни (U). Полученные данные представляли в виде  $M \pm m$ , где M — среднее арифметическое и m — стандартная ошибка среднего арифметического. Методы описательной статистики представлены с определением 95% доверительного интервала (95%CI). Для признаков, распределение которых отличалось от нормального, использовали медиану (Md), а в качестве мер рассеяния 25 и 75 перцентили. Для сравнения категориальных переменных использовали двусторонний точный критерий Фишера и  $\chi^2$  Пирсона. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали за 0,05. В качестве способов оценки эффекта определяли отношение шансов OR [15].

## Результаты и обсуждение

Согласно критериям диагностики врожденной краснухи из 100 новорожденных были выявлены 28 детей, у которых по клиническим симптомам предположительно могла быть врожденная краснуха. В клинической картине у всех 28 детей с клинически вероятным диагнозом СВК были диагностированы врожденные пороки сердца. Отставание в развитии отмечено у 19 (67,8%; 95%CI: 47,6 — 84,1) новорожденных. Поражение зрительного анализатора зафиксировано у 8 (28,5%; 95%CI: 13,2 — 48,6) человек в виде: катаракты (3 случая), глаукомы (2 случая), ретинопатии (1 случай), атрофии глазного нерва (1 случай), колобомы (1 случай). Ранняя желтуха была диагностирована у 4 (14,3%; 95%CI: 4,0 — 32,6) младенцев, пурпура и множественные пороки развития — у 6 (21,4%; 95%CI: 8,2 — 40,9) соответственно.

Однако окончательный диагноз врожденной краснухи правомочен при наличии в крови специфических IgM у ребенка и/или у его матери [16]. Необходимо отметить, что клинических проявлений краснушной инфекции, как и контакта с больным краснухой у матерей, зафиксировано не было. Тем не менее, серологическое обследование выявило три образца сывороток крови с наличием противокраснушных IgM. В одном случае были обнаружены IgM у новорожденного, в двух — у матерей. Таким образом, при одномоментном обследовании диады «мать — дитя» лабораторно были подтверждены три случая врожденной краснухи.

У ребенка с положительными IgM клиническим проявлением врожденной краснухи было поражение зрительного анализатора в виде ретинопатии. Второй ребенок имел врожденный порок сердца, пурпуру, гипотрофию, раннюю желтуху. У третьего ребенка имели место врожденный порок сердца, гипотрофия, ранняя желтуха, гепатит, ретинальные кровоизлияния. В клинической картине

этих детей были зарегистрированы неспецифические синдромы: отечный, судорожный, дыхательной недостаточности, угнетения или возбуждения ЦНС. Два новорожденных родились недоношенными. Классической триады Грегга не было.

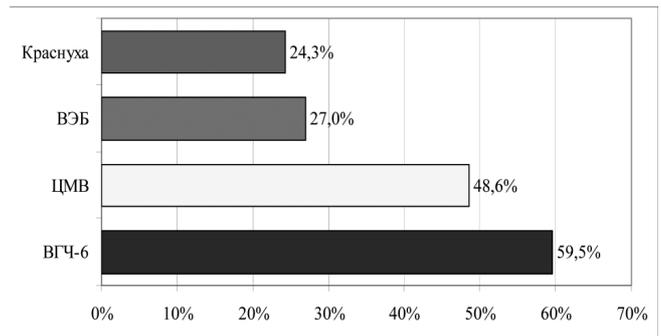
Среди обследованных пар «мать – дитя» средние значения противокраснушных антител IgG у детей составляли 76,5 (26,3 – 158,3) МЕ/мл и 88,5 (35,3 – 177,0) – у их матерей. Статистически значимой разницы между рангами значений титров IgG среди женщин и их детей не получено ( $p = 0,3$ ). Изучение индекса avidности противокраснушных IgG у 19 пар «мать – дитя» показало, что удельный вес высокоавидных IgG и среднеавидных IgG, как у матерей, так и у детей был равным и составил 52,6% и 47,4% соответственно. Так же не было получено статистически значимой разницы между средними рангами значений индекса avidности IgG у новорожденных и их матерей, которые составляли 78,0% (60,0 – 95,0) и 72,0% (58,0 – 100,0) соответственно ( $p = 0,9$ ), что указывало на материнский характер циркуляции противокраснушных антител у новорожденных.

Следующим направлением нашей работы было изучение аутопсийного материала у погибших плодов и новорожденных. Выявление антигенов вируса в тканевом материале свидетельствовало о наличии внутриутробной инфекции (ВУИ). При использовании рНИФ антигены возбудителей внутриутробных инфекций были определены у 37 (55,2%; 95%CI: 42,6 – 67,4) из 67 обследованных детей.

Краснушный антиген в группе умерших плодов и новорожденных был обнаружен у 9 (13,4%; 95%CI: 6,3 – 23,9) из 67 обследованных. Доля краснухи в структуре установленных внутриутробных патогенов составила 24,3% (95%CI: 11,8 – 41,2) и была выявлена у 9 из 37 детей с подтвержденным диагнозом ВУИ. Кроме того, ВГЧ – 6 регистрировался у 22 (59,5%; 95%CI: 42,1 – 75,2) из 37 умерших с подтвержденной ВУИ. Антигены ЦМВ были обнаружены у 18 (48,6%; 95%CI: 31,9 – 65,6) из 37 детей с ВУИ. Следующим по частоте выявления был вирус Эпштейна – Барр, который имел место у 10 из 37 обследованных, удельный вес этой инфекции составил 27,0% (95%CI: 13,8 – 44,1) (рис. 1). Удельный вес краснухи в структуре ВУИ был статистически значимо ниже, чем вируса герпеса 6-го типа ( $p = 0,004$ ) и вируса цитомегалии ( $p = 0,03$ ).

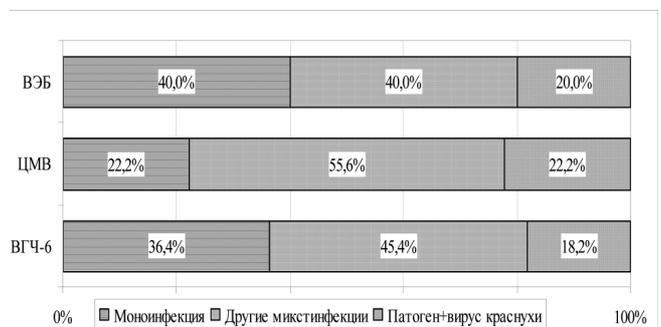
Микст-инфекции были зафиксированы у 19 (51,4%; 95%CI: 34,4 – 68,1) из 37 человек. Вероятно, смешанная вирусная инфекция могла реализоваться вследствие неадекватного иммунного ответа инфицированного плода, возможно, по причине отсутствия феномена вирусной интерференции на фоне тяжелого течения инфекции.

Чаще краснуха регистрировалась в виде микст-инфекций у 7 (77,7%; 95%CI: 39,9–97,1) и реже, как



**Рис. 1.** Этиология внутриутробных патогенов у погибших детей при использовании реакции непрямой иммунофлуоресценции,  $n = 37$

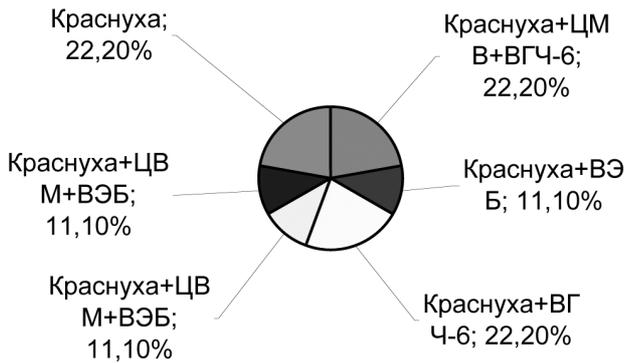
моноинфекция у 2 (22,3%; 95%CI: 2,8 – 60,0) обследованных,  $p = 0,03$ . По результатам проведенного исследования сочетание вируса краснухи с другими внутриутробными патогенами встречалось практически с одинаковой частотой от 18 до 22%. Так, антигены ВГЧ-6 и краснухи встретились у 4 (18,2%; 95%CI: 5,2 – 40,2) из 22 детей, инфицированных ВГЧ-6. Одновременное выделение краснухи и цитомегалии из тканей внутренних органов погибших детей имело место у 4 (22,2%; 95%CI: 6,4 – 47,6) из 18 человек. В структуре внутриутробной инфекции, которая была вызвана ВЭБ, краснуха была зафиксирована в 2 (20%; 95%CI: 2,5 – 55,6) случаях из 10 (рис. 2).



**Рис. 2.** Удельный вес вируса краснухи в структуре моновирусных и микст-вирусных инфекций у погибших детей при использовании реакции непрямой иммунофлуоресценции,  $n = 37$

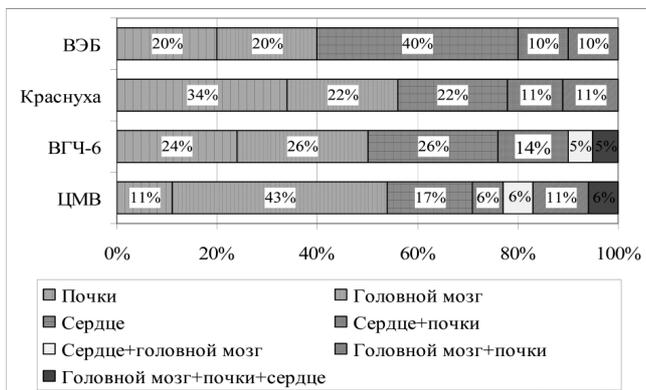
В общей структуре рubeолярной инфекции имело место сочетание краснухи с ВЭБ у 1 ребенка, краснухи с ВГЧ-6 у 2 детей, краснухи с ЦМВ у одного инфицированного. Также вирус краснухи одновременно был выделен с ЦМВ и ВГЧ-6 у 2 детей, и с ЦМВ и ВЭБ у 1 ребенка и у 2 детей в виде моноинфекции (рис. 3).

Результаты лабораторного исследования показали, что вирусные антигены одновременно были выделены из разных биотопов у 17 (45,9%) из 37



**Рис. 3.** Монокраснушная и микст-краснушная инфекция у погибших плодов и новорожденных при использовании рНИФ, n = 9

детей с внутриутробной инфекцией. Закономерностей поражения исследованных органов вирусом краснухи или другими внутриутробными патогенами выявлено не было. Вирусные антигены встречались с разной частотой в сердце, почках и головном мозге. Антигены краснухи выделены из ткани почек в 56,0%, из ткани головного мозга и сердца – в 33,0% случаев соответственно. Локализация вирусных антигенов в обследованных органах представлена на рисунке 4.



**Рис. 4.** Локализация вирусных антигенов в аутопсийном материале у погибших плодов и новорожденных при использовании реакции непрямой иммунофлуоресценции, n = 37

Анализ медицинской документации показал, что во время беременности ни у одной женщины не зарегистрировано заболевания краснухой или контакта с краснушной инфекцией. Средний возраст матерей, родивших детей с врожденной краснухой, составил  $25,0 \pm 2,3$  (95%CI: 19,5 – 30,5) лет. Перинатальный анамнез у погибших от краснушной инфекции детей был отягощен в 77% случаев. Исходами родовой деятельности в 1 случае стали срочные и в 2 – преждевременные роды. У остальных (6) беременность закончилась выкидышами.

В основе многих патологических состояний плода лежат изменения в плаценте, которые приводят

к гипоксии плода [17]. Хроническое кислородное голодание наблюдается при любой патологии беременности, в том числе и краснухе. Следствием этого является развитие хронической фетоплацентарной недостаточности, которая способствует активной репликации вирусов и накоплению их в ткани плода. Нами было подтверждено, что при гистологическом исследовании плаценты во всех случаях были признаки хронической фетоплацентарной недостаточности. Кроме того, в 71% случаев выявлялись различные воспалительные изменения последа.

Вместе с тем, сами вирусы способны индуцировать гипоксическое состояние, поэтому считается, что чем выше гипоксическое состояние, тем более выражена активность вирусной инфекции. В нашем исследовании дети, которые родились мертвыми, погибли именно от асфиксии, что свидетельствовало о тяжелом течении инфекции. В группе живорожденных, которые погибли в неонатальном периоде, роды также сопровождалась асфиксией. Полагаем, что у детей, погибших внутриутробно от асфиксии, при наличии морфогистологических изменений в плаценте целесообразно проводить исследование секционного материала, в том числе последа, на наличие перинатальных патогенов для ранней диагностики ВУИ.

Поражение тимуса является одним из признаков внутриутробной инфекции [17]. Изменения тимуса были зафиксированы у 33% погибших детей. Они встречались как при монокраснушной инфекции, так и при смешанной. Изменение тимуса также может быть и косвенным признаком иммунодефицита. Течение инфекции на фоне иммунодефицита способствует ее генерализации и вовлечению в патологический процесс различных органов и систем.

Сложность диагностики врожденных инфекций, в том числе и краснухи, обусловлена тем, что при комплексном морфогистологическом исследовании аутопсийного материала умерших детей в антенатальном периоде признаков органических поражений зафиксировано не было. Однако результаты лабораторного обследования свидетельствовали о генерализации процесса. Так, у 4 из 5 погибших плодов антигены краснухи и других перинатальных патогенов были выделены одновременно из разных биотопов. Морфогистологические признаки ВУИ были диагностированы у детей, которые погибли после рождения в неонатальном периоде. Проявлениями инфекционного процесса были: пневмония (4), менингоэнцефалит (2), гепатит (1), кардит (1), нефрит (1), энтероколит (1). Среди живорожденных причинами летальных исходов были внутрижелудочковые кровоизлияния, отек головного мозга с дислокационным синдромом, дистрофия паренхиматозных органов, мозговая кома, двустороннее поражение легких, инфекционно-токсический шок, синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания,

респираторный дистресс-синдром, кардиогенный шок. Средняя продолжительность жизни составила  $13,2 \pm 4,0$  (2,0 – 24,3) дней.

Врожденные пороки и аномалии развития рассматривают как один из исходов инфекционного процесса. Удельный вес ВПР составил 11% (95%CI: 0,3 – 48,2). Отмечены пороки центральной нервной системы, костно-мышечной системы, мочевой системы. В одном случае зарегистрированы множественные пороки развития. Типичной триады Грегга среди умерших плодов и новорожденных выявлено не было.

Таким образом, маркеры краснушной инфекции чаще определялись у погибших плодов и новорожденных (13,4%) в сравнении с выжившими (3,0%) при  $p = 0,00001$ . Отношение шансов  $OR = 10,7$  (5,2 – 22,8) показало, что у умерших детей врожденная краснуха встречалась в 10 раз чаще, чем у живых детей из группы риска.

### Заключение

При обследовании диады «мать – дитя» на наличие специфических маркеров краснухи с использованием иммуноферментного анализа противокраснушные иммуноглобулины класса М были обнаружены в трех случаях, что позволило подтвердить наличие врожденной краснухи у 3% обследованных детей группы риска.

В группе умерших плодов и новорожденных маркеры вируса краснухи были обнаружены в 13,4% случаев. Удельный вес краснухи в структуре других вирусных патогенов составил 24,3%, чаще краснуха регистрировалась в виде микст-инфекции (77,7%).

### Литература

1. Михеева, И.В. Вакцинопрофилактика краснухи в Российской Федерации / И.В. Михеева, А.А. Ясинский // Здоровье населения и среда обитания. – 2000. – № 10 (91). – С. 19 – 21.
2. Зверев, В.В. Врожденная краснуха / В.В. Зверев, Р.Г. Десяткова // Вакцинация. Новости вакцинопрофилактики: информ. бюл. – 2004. – № 6 (36). – С. 7 – 8.

3. Нисевич, Л.Л. Значение различных вирусных инфекций в невынашивании, мертворождении, перинатальной и младенческой смерти / Л.Л. Нисевич [др.] // Педиатрия. – 1999. – № 1. – С. 1 – 10.

4. Зверев, В.В. Средства профилактики краснухи и их экономический эффект / В.В. Зверев // Вакцинация. Новости вакцинопрофилактики: информ. бюл. – 1999. – № 1. – С. 9.

5. Bloom, S. Congenital rubella syndrome burden in Morocco: a rapid retrospective assessment / S. Bloom [et al.] // Lancet. – 2005. – Vol. 365, № 9454. – P. 135 – 141.

6. Балаев, Н.В. Диагностика синдрома врожденной краснухи в современной практике / Н.В. Балаев [и др.] // Журнал инфектологии. – 2009. – Т. 1, № 2. – С. 10.

7. Hwang, S. J. Congenital rubella syndrome with autistic disorder / S.J. Hwang, Y. S. Chen // J. Chin. Med. Assoc. – 2010. – Vol. 73, № 2. – P. 104 – 107.

8. Tozzoli, R. Infections and autoimmune thyroid diseases: parallel detection of antibodies against pathogens with proteomic technology / R. Tozzoli [et al.] // Autoimmun Rev. – 2008. – Vol. 8, № 2. – P. 112 – 115.

9. Edlich, R.F. Rubella and congenital rubella (German measles) / R.F. Edlich [et al.] // J. Long Term Eff. Med. Implants. – 2005. – Vol. 15, № 3. – P. 319 – 328.

10. Avila-Aguero, M.L. Congenital rubella syndrome in Costa Rica: importance of active surveillance / M.L. Avila-Aguero [et al.] // An. Pediatr. (Barc). – 2005. – Vol. 62, № 1. – P. 43 – 47.

11. Gandhoke, I. Seroprevalence and incidence of rubella in and around Delhi (1988-2002) / I. Gandhoke [et al.] // Indian J. Med. Microbiol. – 2005. – Vol. 23, № 3. – P. 164 – 167.

12. Lyalina, L. Congenital Rubella Syndrome Prevalence Study Among Infants With Birth Defects in Saint-Petersburg / L. Lyalina [et al.] // EpiNorth. – 2009. – Vol. 10, № 1. – P. 6 – 11.

13. Hahne, S.J. Rubella epidemic in the Netherlands, 2004/05: awareness of congenital rubella syndrome required / S.J. Hahne [et al.] // Ned. Tijdschr. Geneesk. – 2005. – Vol. 149, № 21. – P. 1174 – 1178.

14. Гринхальх, Т. Основы доказательной медицины : учеб. пособие для студентов мед. вузов / Т. Гринхальх. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2006. – 239 с.

15. Руководство по организации эпидемиологического надзора за корью и врожденной краснушной инфекцией в европейском регионе ВОЗ. – Женева: ВОЗ, 2003. – 80 с.

16. Эпидемиологический надзор и контроль за врожденной краснушной инфекцией: метод. рекомендации / И.В. Фельдблюм [др.]. – Пермь, 2007. – 40 с.

17. Нисевич, Л.Л. Внутритропная инфекция: «мать – плацента – плод» / Л.Л. Нисевич // Детские инфекции. – 2008. – № 2. – С. 9 – 13.

### Авторский коллектив:

*Рогушина Наталья Леонидовна* – старший лаборант кафедры инфекционных болезней с курсом детских инфекций ГОУВПО «Северный государственный медицинский университет» (г. Архангельск) Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»; тел.: 8-911-564-01-72, e-mail: Shishovanl@mail.ru;

*Самодова Ольга Викторовна* – д.м.н., доцент, заведующая кафедрой инфекционных болезней с курсом детских инфекций ГОУВПО «Северный государственный медицинский университет (г. Архангельск) Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»; тел.: 8-960-006-76-78, e-mail: Samodova@atknnet.ru;

*Титова Лариса Владимировна* – д.м.н. профессор кафедры инфекционных болезней с курсом детских инфекций ГОУВПО «Северный государственный медицинский университет (г. Архангельск) Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»; тел.: 8-921-240-46-40, e-mail: Titovalav@mail.ru;

*Войнова Людмила Валериановна* – заведующая отделением патологии новорожденных ГУЗ «Архангельская областная детская клиническая больница им. П.Г. Выжлецова»; тел.: 8-950-962-38-93, e-mail: Voinlv@gmail.com.