

СИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ЗАКРЫТОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО «ВЕКТОР-БЕСТ»

**Диагностика внутриутробных инфекций  
у новорожденных детей  
методом полимеразной цепной реакции**

Методические рекомендации для врачей

Томск, Кольцово  
2000

*Автор–составитель:*

**Малкова Елена Михайловна** – д.м.н., старший научный сотрудник отдела ультраструктурных исследований и патоморфологии научно-исследовательского института молекулярной биологии Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор»

**Гришаева Ольга Николаевна** – к.б.н., заведующая клинико-диагностической лабораторией ЗАО «Вектор-Бест»

*Под редакцией*

**А.П. Помогаевой** (д.м.н., профессора, зав. кафедрой детских инфекционных болезней Сибирского государственного медицинского университета)

*Рецензенты:*

д.м.н., профессор **К.В. Лаврова**

к.м.н., доцент **З.П. Кирьянова**

Методические рекомендации одобрены Ученым Советом Сибирского государственного медицинского университета (14.03.2000 г.)

*Методические рекомендации предназначены для практикующих врачей, клинических ординаторов и интернов.*

---

Подписано в печать 03.06.15. Бумага офсетная. Формат 60×84/16.  
Усл.-печ. л. 4,42. Доп. тираж 1 000 экз.

---

Отдел оперативной печати ЗАО «Вектор-Бест».  
630559 Новосибирская обл., п. Кольцово, а/я 121.

## **Основные представления о внутриутробных инфекциях**

Внутриутробные инфекции (ВУИ) в настоящее время являются наиболее актуальной и дискуссионной проблемой современной неонатологии. Новые вопросы в диагностике и лечении инфекционных процессов перинатального периода возникают при применении современных методов диагностики, использующих молекулярно-биологические и генные технологии.

К внутриутробным относят инфекционные процессы, которые возникли вследствие анте- или интранатального инфицирования. Количество возбудителей инфекционных заболеваний, способных к вертикальной передаче, практически не ограничено.

Внутриутробные инфекции занимают от 10 до 61% в структуре младенческой смертности и относятся к группе заболеваний, диагностика которых связана с определенными трудностями. В связи с этим до настоящего времени не существует четких данных о частоте внутриутробных инфекций. Отсутствие специфических клинических проявлений, возможность появления вирусно-вирусных, вирусно-бактериальных и вирусно-бактериально-грибковых ассоциаций делают проблему точной верификации возбудителя и определения адекватных подходов к лечению полиэтиологичной перинатальной инфекции особенно актуальной.

## **Метод ПЦР в диагностике инфекционных заболеваний**

Для правильного и своевременного лечения заболеваний, вызываемых различными инфекционными агентами, необходимо установление точного диагноза. Для решения этой проблемы в последние годы применяются современные методы молекулярной биологии. В настоящее время метод амплификации нуклеиновых кислот полимеразной цепной реакцией (ПЦР) достаточно широко используется в практической медицине.

Выделение геномов инфекционных агентов с использованием ПЦР является одним из наиболее достоверных методов лабораторной диагностики инфекционных заболеваний. Известно, что при проведении серологической диагностики возможно получение ложноположительных результатов за счет существования антигенных перекрестов между белками различных вирусов и между вирусными и клеточными белками. Кроме этого у новорожденных продукция антител к определенным антигенам может отсутствовать. Специфичность диагностики методом иммунофлюоресцентного анализа (ИФА) при исследовании клинических образцов у новорожденных детей часто снижается из-за присутствия различных контаминантов, а его чувствительность может оказаться недостаточной для обнаружения антигенов с низким уровнем продукции.

Метод ПЦР включает три стадии. На первой стадии при температуре 94°C (или выше) происходит денатурация двойной цепи исследуемой ДНК (стадия денатурации). На второй стадии два олигонуклеотида-праймера, строго специфичные (гомологичные) к определенным участкам антипараллельных цепей исследуемой ДНК, связываются (образуют гибриды с помощью водородных связей) с этими участками ДНК (стадия отжига). На третьей стадии при температуре 70–72°C с участием термофильной ДНК-полимеразы и дезоксинуклеозид-5'-трифосфатов происходит синтез новых цепей ДНК. Инициация синтеза ДНК происходит в местах связывания олигонуклеотидов-праймеров с исследуемой ДНК, матрицей для синтеза служат исходные цепи ДНК (стадия полимеризации). Таким образом, за цикл (три стадии) происходит удвоение каждой из двух антипараллельных цепей ДНК. Теоретически, при проведении 20 таких циклов происходит увеличение количества исходной ДНК примерно в миллион раз.

Основным достоинством метода является чрезвычайно высокая чувствительность анализа – до 1 копии геномной ДНК возбудителя инфекции в исследуемой пробе в «nested»-варианте ПЦР (с «внутренней» и «внешней» парами олигонуклеотидов-праймеров). Чувствительность выявления ДНК в ПЦР с одной парой праймеров составляет обычно 30–100 копий генома в исследуемой пробе.

Возможности, заложенные в методе ПЦР, позволяют достигать максимальной специфичности анализа, то есть отсутствия перекрестных реакций со сходными микроорганизмами, способности выявлять ДНК конкретного инфекционного агента в присутствии ДНК других микроорганизмов и ДНК организма-хозяина, а также проводить генотипирование. Соответствующий выбор олигонуклеотидов-праймеров, определяющих, в основном, специфичность анализа, позволяет ставить методики одновременного выявления ДНК близкородственных микроорганизмов. Достоинством метода является то, что вследствие химического средства нуклеиновых кислот различных возбудителей, для диагностики практически всех инфекционных заболеваний могут быть использованы один набор оборудования и незначительно отличающиеся (в основном структурой олигонуклеотидов-праймеров) наборы реактивов. Подготовка пробы и постановка анализа являются универсальной процедурой. К настоящему времени метод автоматизирован и позволяет получать результаты анализа в течение одного рабочего дня.

Область применения метода ПЦР в клинической диагностике:

- ранняя диагностика инфекционных заболеваний у серонегативных пациентов, когда лечение наиболее эффективно;
- выявление персистирующих, латентных и рецидивирующих форм инфекций;
- контроль проведения лечения;
- диагностика оппортунистических инфекций, часто протекающих на фоне иммунодефицита, вследствие чего постановка диагноза только по результатам серологических исследований затруднена, из-за имеющихся несоответствий между параметрами иммунного ответа и течением заболевания;
- уточнение сомнительных результатов серологических исследований;
- эпидемиологические исследования;

- выявление наиболее патогенных штаммов инфекционных агентов;
- исследования инфекционности пулированных образцов крови и ее продуктов, применяемых в клинике;
- определение резистентности к лекарственным препаратам.

Методы ДНК-диагностики незаменимы в пренатальной диагностике наследственных заболеваний (муковисцидоза, фенилкетонурии, гемофилии и пр.), а также при установлении отцовства.

Следует отметить, что широкое использование ДНК-диагностики ни в коей мере не отменяет методы иммунохимических исследований (ИФА, РИФ и др.), а дополняет их. Комплексное обследование пациента различными методами дает возможность врачу получить более полную информацию как о наличии инфекционного агента, так и об иммунном статусе пациента. Это позволяет более точно ставить диагноз и назначать соответствующее этиотропное лечение с последующим его контролем.

## **Организация работ по выявлению ДНК методом ПЦР**

В связи с высокой чувствительностью метода существует опасность получения ложноположительных результатов в силу переноса через предметы и реагенты ДНК-матрицы и продуктов ПЦР- ампликонов, получаемых в больших количествах во многих пробирках в течение ежедневной работы. Причинами получения ложноположительных результатов являются три вида контаминаций:

1. Перекрестная контаминация от пробы к пробе (в процессе обработки клинических образцов или при раскапывании реакционной смеси), приводящая к появлению спорадических ложноположительных результатов;
2. Контаминация рекомбинантными плазмидами, содержащими клонированные последовательности детектируемого гена, часто использующимися в качестве положительного контроля;
3. Контаминация продуктами амплификации (ампликонами) является наиболее частой причиной ложноположительных результатов, поскольку в процессе ПЦР-генодиагностики ампликоны накапливаются в больших количествах и очень легко переносятся с аэрозолями и через приборы.

Вследствие этого при проведении работ с использованием метода ПЦР необходимо соблюдать следующие правила:

1. Территориально разделять различные стадии анализа, размещая их в различных помещениях:

- помещение для подготовки проб;
- помещение для постановки ПЦР;
- помещение для детекции результатов ПЦР;
- помещение для подготовки реагентов (пре-ПЦР, биохимическая).

2. Для каждой стадии анализа должен быть свой комплект лабораторной одежды, автоматических пипеток, вспомогательных материалов и оборудования.

3. Работу на всех этапах проводить только с использованием одноразовых расходных материалов: пробирок, наконечников для пипеток и пр.

4. Необходима постоянная постановка отрицательных контрольных образцов как на реагенты для подготовки проб (выделение ДНК), так и на реагенты для проведения ПЦР.

5. Работу должен выполнять специально обученный персонал, обладающий достаточной квалификацией в данной области.

К настоящему времени требования к организации работ в ПЦР-лабораториях обобщены и сформулированы в нормативных документах «Методические рекомендации по проведению работ в диагностических лабораториях, использующих метод полимеразной цепной реакции. Основные положения» (Госсанэпиднадзор, 1995), и «Требования к планировке помещений и режиму работы в ПЦР-генодиагностической лаборатории» (методические рекомендации) (ЦНИИЭ, РНИПЧИ, ГИСК им. Л.А.Тарасевича), на основании которых лицензируется деятельность таких лабораторий.

Эффективный путь в использовании и развитии методов генодиагностики – это создание централизованных ПЦР-лабораторий, оборудованных и организованных в соответствии с необходимыми требованиями, и имеющих квалифицированный персонал.

Для получения правильных результатов ПЦР-анализа весьма важна организация забора клинических образцов, их хранения и транспортировки. **Неправильный забор образцов, некачественное хранение и доставка может привести как к ложноположительным, так и ложноотрицательным результатам, несмотря на безусловно проведенную процедуру анализа.**

При различных инфекциях для анализа используют следующий клинический материал: кровь, сыворотку крови, форменные элементы крови, мочу, слюну, соскобы и мазки со слизистых, ликвор, слезную жидкость, содержимое везикул, биоптаты органов и тканей.

Для исключения контаминации проб их забор производят только одноразовым инструментарием (шприцы, зонды, щеточки и пр.). Взятый материал помещают в одноразовые пробирки (типа «Эппендорф») или тщательно вымытые (хромовой смесью) стеклянные флаконы, в некоторых случаях, в транспортную среду, предоставляемую ПЦР-лабораторией. При необходимости переноса образца используют автоматические микропипетки со сменными одноразовыми наконечниками. Каждый образец, для исключения взаимной контаминации, хранят и транспортируют в отдельном полиэтиленовом пакете.

**Хранение образцов:** до транспортировки в ПЦР-лабораторию отобранный биоматериал хранят при температуре 2–4°C не более 48 ч; для более длительного хранения (до 1 месяца) исполь-



зуют максимально низкую температуру. Необходимо минимизировать время от забора образца до постановки ПЦР-анализа.

**Транспортировка образцов** осуществляется в сумках-холодильниках, термоконтейнерах, термосах с термопакетами, льдом или сухим льдом.

## **Диагностическое значение выявления ДНК возбудителей внутриутробных инфекций в неонатальном периоде**

Верификация возбудителей инфекционных заболеваний в педиатрической практике определяет тактику лечения пациента. Представление о некоторых видах бактерий как о непатогенных недопустимо, когда речь идет о плоде или новорожденном (Дэвис П.А., Готефорс Л.А., 1987).

Наиболее распространены среди патогенов, вызывающих развитие внутриутробных инфекций у новорожденных детей, вирус простого герпеса (ВПГ), цитомегаловирус (ЦМВ), вирус гепатита В (ВГВ), а также возбудителей хламидиоза (*Chlamydia trachomatis*), микоплазмоза (*Mycoplasma hominis*) и уреаплазмоза (*Ureaplasma urealyticum*). При одновременном обследовании методом ПЦР 180 новорожденных детей, находившихся на лечении в инфекционном отделении патологии новорожденных и недоношенных детей муниципальной детской больницы № 2 г. Новосибирска, были получены результаты, представленные в таблице 1.

Моноинфекции составили 40,4% от всего исследованного материала, в 21,8% случаев в исследованных образцах выявлялась ДНК двух и более возбудителей. В 37,8% наблюдений результаты ПЦР были отрицательными в отношении исследованных инфекций.

Таблица 1

**Частота обнаружения ДНК возбудителей  
у новорожденных детей методом ПЦР**

Выявлена ДНК возбудителей	Количество (в процентах)
Отрицательный результат	37,8
<b>Моноинфекции:</b>	
ЦМВ	9,4
ВПГ	5,5
ВГВ	4,4
<i>Mycoplasma hom.</i>	6,6
<i>Chlamydia trach.</i>	12,2
<i>Ureaplasma ureal.</i>	0,6
<i>Toxoplasma gondii</i>	1,7
<b>Смешанные инфекции:</b>	
ВПГ + ВГВ	1,7
ВПГ + <i>C.trachomatis</i>	1,7
ВПГ + ЦМВ	2,2
ВПГ + ВГВ + <i>C. trachomatis</i>	1,1
ВПГ + <i>C. trachomatis</i> + <i>M.hominis</i>	1,7
ВПГ + ЦМВ + <i>M. hominis</i>	1,1
ВПГ + <i>C.trachomatis</i> + <i>U. urealyticum</i>	0,6
ВПГ + ЦМВ + <i>M. hominis</i> + <i>C. trachomatis</i>	1,1
ЦМВ + ВГВ	2,7
ЦМВ + <i>M. hominis</i>	1,1
ЦМВ + <i>C. trachomatis</i>	0,6
ЦМВ + <i>C. trachomatis</i> + <i>U. urealyticum</i>	0,6
ЦМВ + ВГВ + <i>C.trachomatis</i>	0,6
ВГВ + <i>C. trachomatis</i>	1,1
<i>C. trachomatis</i> + <i>U. urealyticum</i>	1,1
<i>C. trachomatis</i> + <i>M. hominis</i>	1,7
<i>M. hominis</i> + <i>U. urealyticum</i>	0,6
ВГВ + ВГС + <i>M. hominis</i> + <i>C. trachomatis</i>	0,6
<b>Всего</b>	<b>100</b>

## **Диагностическое значение выявления ДНК вируса гепатита В в неонатальном периоде**

При исследовании этиологии внутриутробной инфекции у новорожденных детей возможно обнаружение ДНК ВГВ. Течение беременности осложняется возникновением угрозы прерывания, анемии, фетоплацентарной недостаточности, внутриматочной инфекции, хронической внутриутробной гипоксии плода, гестозом. Среди соматических заболеваний у женщин часто наблюдается сахарный диабет, хронический пиелонефрит, нейро-циркуляторная дистония. Отмечается патологическое течение родов

Среди детей, выделяющих ДНК ВГВ, тяжесть состояния при рождении обуславливается аспирацией околоплодных вод, асфиксией в родах, развитием синдрома дыхательных расстройств (СДР) и симптомов интоксикации. Желтушность кожных покровов появляется в течение первых двух суток жизни, однако уровень билирубина не достигает критических цифр, не повышается уровень аминотрансфераз. Течение желтухи затягивается до 2-х месяцев. В общем анализе крови определяется умеренный лейкоцитоз, эозинофилия, лимфоцитоз.

При одновременной детекции ДНК ВГВ и ВПГ дети рождаются доношенными, при достаточном гестационном сроке, часто в состоянии асфиксии. В клинической картине преобладают симптомы интоксикации, СДР, отмечается раннее появление желтухи и гепатоспленомегалии. Печень выступает из-под реберного края на 4,5–6,0 см, селезенка на 1,5–6,0 см. Повышается уровень аминотрансфераз. В общем анализе крови отмечается анемия, тромбоцитопения, лейкопения, лимфоцитоз. При выделении ДНК ВГВ и ВПГ трудно дифференцировать каким именно вирусом вызвано поражение печени и развитие фетального гепатита. Известно, что при внутриутробном герпесе часто развивается острый гепатит с гигантоклеточным метаморфозом гепатоцитов и купферовских клеток, поражение печени может иметь характер хронического гепатита с исходом в мелкоузловой цирроз (Цинзерлинг А.В., Индикова М.Г., 1988; Hufert F.T. et al., 1995).

При выделении ДНК ВГВ и ЦМВ, а также сочетании их с хламидиозом, и одновременном выделении ДНК ВПГ и хламидиоза, прослеживается тенденция к невынашиванию беременности (срок гестации 34-36 нед). В клинической картине преобладает СДР, рано появляется желтушное окрашивание кожных покровов

и выраженные признаки поражения центральной нервной системы. Гепатоспленомегаалии и повышения уровня аминотрансфераз не отмечается.

*Мальчик Д. родился от второй беременности, протекавшей с обострением хронического пиелонефрита, длительно текущим гестозом, внутриматочной инфекцией, фетоплацентарной недостаточностью и внутриутробной гипоксией плода. Мать ребенка работает врачом-стоматологом (группа риска по инфицированию ВГВ). Роды 1, самопроизвольные в 40 нед. В родах – преждевременное излитие околоплодных вод, вторичная слабость родовой деятельности. Масса ребенка 4150 г, длина 54 см. При рождении выявлена болезнь Дауна. В родильном доме отмечались проявления гнойного конъюнктивита, кожно-геморрагический синдром, желтуха до II степени, систолический шум в сердце. При поступлении в отделение ребенок наблюдался с диагнозом: Болезнь Дауна. ВПС НК IIБ ст. Внутриутробная инфекция: двусторонняя пневмония, тяжелая степень тяжести, ДН III ст.; двусторонний гнойный конъюнктивит; молочница. Гипотрофия II ст. Ребенок находился в отделении в течение 13 дней. При ПЦР-анализе выделена ДНК ВГВ, HBsAg – отрицательный.*

*Состояние ребенка было тяжелым, он прогрессивно терял в весе (отмечался выраженный синдром рвоты и срыгиваний), желтуха уменьшилась и к 14 дню жизни купировалась. Однако нарастали легочно-сердечная и острая почечная недостаточность. В возрасте 18 дней ребенок умер. Основной причиной смерти послужила болезнь Дауна в сочетании с врожденным пороком сердца и течением двусторонней гнойной пневмонии. При исследовании печени выявлены дистрофия и некроз гепатоцитов, полиморфноклеточная инфильтрация и склероз, характерные для хронического гепатита. Можно предположить, что острый период гепатита протекал во время фетального периода.*

Отсутствие HBsAg в крови беременных женщин можно объяснить недостаточной чувствительностью иммуноферментного анализа. Детекция ДНК ВГВ у новорожденных детей методом ПЦР может соответствовать или носительству вируса, или латентному течению инфекции. Среди путей инфицирования ВГВ известна вероятность интра- и постнатального инфицирования

новорожденных детей при использовании препаратов, изготовленных из донорской крови.

Проведение выборочного исследования препаратов цельной крови, отмытых эритроцитов и свежезамороженной плазмы показало их инфицированность различными вирусами. Всего исследовано 35 образцов, из них в 71,4% обнаружено присутствие ДНК ВГВ, ВПГ и ЦМВ, РНК вируса гепатита С (табл. 2).

Таблица 2

**Выявление ДНК и РНК вирусов в образцах препаратов, приготовленных из донорской крови**  
(в абсолютных цифрах и процентах)

Результаты ПЦР-анализа	Количество образцов	
	в абс. цифрах	в процентах
ВГВ	1	2,85
ВГС	9	25,7
ВПГ	2	5,7
ВГВ + ВПГ	2	5,7
ВГВ + ВГС	3	8,6
ВГВ + ВГС + ЦМВ	1	2,85
ВГС + ВПГ	2	5,7
ВГС + ЦМВ	5	14,3
отрицательные	10	28,6
<b>Всего:</b>	<b>35</b>	<b>100</b>

Использование в лечении новорожденных детей препаратов, изготовленных из донорской крови, значительно повышает риск постнатального инфицирования, изменяющего клиническую картину внутриутробных инфекций и сопутствующих соматических заболеваний. Введение новорожденным детям препаратов, приготовленных с использованием донорской крови, должно проводиться по строгим показаниям и иметь разумные ограничения.

## **Диагностическое значение выявления ДНК вируса простого герпеса в неонатальном периоде**

Герпес является самой распространенной хронической вирусной инфекцией человека, существующей в организме преимущественно в латентной форме и протекающей у беременных женщин в бессимптомной форме. Из семейства герпесвирусов патогенными для человека являются вирусы простого герпеса типов 1 и 2, а также вирусы герпеса 3 (вирус ветряной оспы – герпес зостер), 4 (вирус Эпштейна-Барр) и 5 (вирус цитомегалии). Наибольшее значение по распространенности и тяжести вызываемых ими поражений имеют вирусы простого герпеса. Фактическая частота неонатального герпеса остается неясной, однако очень высоки показатели смертности детей в этом возрастном периоде (Jones C.L., 1996).

Возможно трансплацентарное проникновение ВПГ в организм плода. Внутриутробный герпес часто сопровождается рождением недоношенного ребенка, при этом ВПГ обычно вызывает клинически выраженное заболевание новорожденных. По клиническим проявлениям выделяют диссеминированную (генерализованную) и локализованную (кожную, глазную, оральную, энцефалитическую, с поражением печени) формы герпеса. Кроме этого, поражение кожи при внутриутробном герпесе может проявляться в виде буллезного эпидермолиза.

У доношенных детей, выделяющих ДНК ВПГ из крови, при рождении отмечается синдром нарушенной адаптации, хроническая внутриутробная гипоксия плода, аспирация околоплодных вод. Ухудшение состояния происходит в течение 1–2-х суток жизни и сопровождается развитием СДР, ранним появлением желтухи (до II–III степени), умеренной гепатомегалией, развитием симптомов интоксикации и нарушениями гемодинамики. Впоследствии развивается пневмония со среднетяжелым или тяжелым течением.

У недоношенных детей, выделяющих ДНК ВПГ из крови, состояние при рождении тяжелое или очень тяжелое. В клинической картине преобладают выраженный СДР, нередко требующий проведения искусственной вентиляции легких, желтуха, изменения со стороны нервной системы, проявляющееся в повышенной возбудимости, отказе от еды, судорогах, гипертензионно-гидроцефальном синдроме. В дальнейшем у таких детей могут отмечаться

тяжелая энцефалопатия с развитием микроцефалии или гидроцефалии, отставание в психическом развитии и явления детского церебрального паралича.

Для общего анализа крови характерны эозинофилия и моноцитоз, реже развиваются лейкоцитоз, тромбоцитопения и анемия. При выделении ДНК ВПГ из мочи отмечается протеинурия, десквамация эпителия почечных канальцев, цилиндрурия.

Сочетанная детекция ВПГ и ЦМВ клинически проявляется в раннем неонатальном периоде развитием двусторонней пневмонии, но течение заболевания носит затяжной, вяло текущий характер. Нередко родители обращаются к врачу после 1 месяца жизни с жалобами на длительно текущую желтуху, срыгивания, недостаточную прибавку в весе. Сочетание ВПГ и ЦМВ представляет собой пример развития сочетанных инфекций, когда один из возбудителей препятствуют развитию другого. Манифестация инфекционного процесса может произойти при присоединении бактериальной инфекции.

Детекция ДНК ВПГ (в сыворотке крови) и *C.trachomatis* (в моче) сопровождается патологическим течением беременности (угроза самопроизвольных родов, хроническая внутриматочная инфекция, гестоз, фетоплацентарная недостаточность) и родов (преждевременные роды, оперативные роды), тяжелым или среднетяжелым состоянием детей при рождении. В клинической картине отмечается развитие СДР и ранней желтухи, перинатальное поражение центральной нервной системы. В общем анализе крови выявляются тромбоцитопения, лейкоцитоз, эозинофилия; в общем анализе мочи – протеинурия.

Наибольшие трудности в клинической диагностике и определении лечебной тактики вызывает сочетание инфекционных процессов и тяжелой врожденной патологии, в частности, врожденных пороков сердца.

*Девочка К. родилась с массой 3260, длиной 51 см. Матери ребенка 29 лет, в соматическом анамнезе: добавочная хорда в полости левого желудочка, пролапс створок митрального клапана. Беременность II, роды I. В первой половине беременности женщина перенесла ангину с лихорадкой. Во второй половине беременности диагностирован хламидиоз, бактериальный кольпит, хроническая внутриматочная инфекция, сочетанный поздний гестоз, хроническая вторичная субкомпенсированная фетопла-*



центральная недостаточность. Роды в 39–40 недель, самопроизвольные. Оценка по шкале Апгар 7 / 7 баллов. В родовом зале отмечался разлитой цианоз кожных покровов и видимых слизистых оболочек. Дыхание 46 в 1 минуту, пульс 154 в 1 минуту. Аускультативно: дыхание жесткое, хрипы не выслушивались; тоны сердца приглушены, акцент II тона и короткий систолический шум с эпицентром в третьем межреберье. Правые отделы сердца увеличены. Печень выступала из-под реберного края на 2,5 см. В дальнейшем состояние ребенка было очень тяжелым, сохранялся разлитой цианоз кожных покровов; одышка в покое достигала 74–82 дыхательных движений в 1 минуту; пульс 144–146 в 1 минуту; печень выступала из-под реберного края на 4 см, селезенка – на 1 см. Отмечались проявления перинатальной энцефалопатии гипоксически-травматического генеза с преобладанием синдрома гиповозбудимости. При проведении эхокардиографии выявлена транспозиция магистральных сосудов. При рентгенографическом исследовании – двусторонняя мелкоочаговая пневмония, натальная травма шейного отдела позвоночника (дислокация С3 спереди и отек мягких тканей). В общем анализе крови: лейкоцитоз (до  $36,2 \times 10^9$ ), тромбоцитопения, ретикулоцитоз, эозинофилия, сдвиг лейкоцитарной формулы влево; в общем анализе мочи: протеинурия. При ПЦР диагностике выявлены ДНК ВПГ в крови и *S.trachomatis* в моче. Комплексное лечение привело к стабилизации состояния ребенка. Учитывая наличие тяжелого порока сердца, родители ребенка настояли на проведении операции. Девочка умерла в возрасте 19 дней при проведении коронарографии в специализированном лечебном учреждении.

При выделении ДНК ВПГ в сочетании с *S.trachomatis* и *M.hominis* у новорожденных детей отмечается неблагоприятное течение беременности у матерей с развитием фетоплацентраной недостаточности, гестоза, внутриматочной инфекции. Дети рождаются недоношенными, при сроке беременности 35–37 недель. Состояние при рождении средней степени тяжести. В клинической картине преобладает раннее и затяжное развитие желтухи, СДР, нарушения гемодинамики. Дети длительное время находятся на лечении в стационаре прежде чем наступает клиническое улучшение.

Мальчик III., родился с массой 2900, длиной 49 см. Матери ребенка 28 лет, больна хронической пневмонией, хроническим

гастритом, хроническим пиелонефритом, вегето-сосудистой дистонией; отцу 34 года, болен туберкулезом легких. Беременность шестая, два ребенка в семье умерли от врожденных пороков развития, один – от кишечной инфекции; одна беременность закончилась медицинским абортом. В течение настоящей беременности отмечалась угроза самопроизвольного прерывания в 7, 16 и 32 недели; хроническая внутриматочная инфекция (кандидоз, гарднереллез); анемия; поздний гестоз; хроническая фетоплацентарная недостаточность; хроническая внутриутробная гипоксия плода. Роды 4, программированные с применением метода Крестеллера в 37 недель, осложнились травмой родовых путей I–II степени, двукратным нетугим обвитием пуповины. Плацента 20,0×23,0 см, отечная, с кальцинатами. Пуповина 75 см. Оценка по шкале Апгар 8/9 баллов. Состояние ребенка при рождении средней степени тяжести. С первых суток жизни появились срыгивания, обильное серозное отделяемое из носа, субиктеричность кожных покровов, систолический шум. На четвертый день жизни отмечался подъем температуры до 39,0°C. Во время нахождения в отделении сохранялись постоянные срыгивания, выраженное беспокойство, длительная желтуха, а затем постоянный серый колорит кожных покровов, плоская весовая кривая. Реализация внутриутробной инфекции происходила в виде конъюнктивита и двусторонней пневмонии. При ПЦР-диагностике в крови выделены ДНК ВПГ, хламидий и микоплазм, кроме этого в моче выделена ДНК *S. trachomatis*. В общем анализе крови отмечались анемия, умеренный лейкоцитоз, токсическая зернистость нейтрофилов, СОЭ – 36 мм/час. После получения результатов ПЦР в комплексное лечение были включены эритромицин и виферон. Положительная динамика в состоянии ребенка наметилась через 5 дней от начала лечения, в дальнейшем состояние ребенка стабилизировалось, выписан домой с улучшением.

При детекции ДНК ВПГ, ЦМВ и *M. hominis* не определяется закономерности в течении заболевания и путях реализации внутриутробной инфекции, так же как при одновременной детекции ДНК ВПГ, ЦМВ, хламидий и микоплазм. Как правило, развиваются двусторонняя полисегментарная пневмония, гнойный конъюнктивит, длительно текущая конъюгационная желтуха и энцефалопатия.

*Мальчик Ж. родился в одном из районов области. Семья социально неблагополучная, роды домашние, сведений о течении беременности и родов не получено. Масса ребенка при рождении 2550, длина 50 см. Поступил в отделение в возрасте 1 месяц в очень тяжелом состоянии с массой тела 2300: сонливый, сосал вяло, срыгивал; кожные покровы серого цвета, тургор тканей значительно снижен, подкожножировой слой не определяется; дыхание жесткое 60–72 в 1 минуту; тоны сердца значительно приглушены, выслушивался систолический шум; живот вздут, печень выступала из-под реберного края на 3,5–4,0 см, селезенка – на 1,0–1,5 см. Во время пребывания в отделении диагностирована двусторонняя мелкоочаговая пневмония, гнойный менингоэнцефалит, венитрикулит. При бактериологическом посеве из ликвора выделена E.coli. При проведении компьютерной томографии выявлено расширение желудочковой системы (водопровод мозга и четвертый желудочек определялись в виде одной полости). Мозговой плащ в лобных долях имел толщину 5 мм. В общем анализе крови отмечались анемия, умеренный лейкоцитоз, сдвиг лейкоцитарной формулы влево, СОЭ 32–60 мм/час. В общем анализе мочи протеинурия, цилиндрурия. После проведения обследования, комплексного лечения и достижения относительной стабилизации состояния ребенок переведен для дальнейшего лечения в центральную районную больницу, где умер через два месяца. В данном случае трудности диагностики и проведения адекватного лечения ребенка были связаны с поздним началом лечения и присоединением госпитальной инфекции.*

## **Диагностическое значение выявления ДНК цитомегаловируса в неонатальном периоде**

ЦМВ наиболее часто вызывает перинатальную вирусную инфекцию и встречается приблизительно у 1% всех инфицированных внутриутробно новорожденных (Adler S.P., 1992). Наиболее тяжелыми отдаленными последствиями ЦМВИ являются врожденные пороки развития, глухота и умственная отсталость, а также развитие хронических заболеваний легких.

Вирус переносится при тесном контакте с инфицированными выделениями, а также трансплацентарно, через половые контакты, при переливании крови и пересадке органов. ЦМВ имеет широкое распространение в популяции: антитела к вирусу обнаруживаются у 50–85% людей (Raynor B.D., 1993). Подобно ВПГ, ЦМВ способен реактивироваться и вызывать рецидив инфекции.

ЦМВ может проходить через плаценту в любой период беременности. Первичное инфицирование матери во время беременности вызывает наиболее тяжелое течение врожденной ЦМВИ. Врожденная инфекция, вызванная рецидивом заболевания, протекает менее тяжело, но приблизительно у 10% детей развиваются поздние осложнения (Daniel Y. et al., 1995). Популяционный скрининг беременных не дает желаемых результатов в диагностике ЦМВИ, так как современные лабораторные методы не дифференцируют первичную и вторичную инфекции (Raynor B.D., 1993).

Беременность может быть фактором риска для реактивации латентной ЦМВИ. Серонегативные беременные женщины имеют высокий риск развития первичной ЦМВИ с последующим внутриутробным инфицированием плода. Даже если имеются антитела к ЦМВ это не предотвращает развития внутриутробной инфекции (Mijanovic D., 1992). Инфицирование в первом триместре беременности ассоциируется с врожденными аномалиями центральной нервной системы и чувствительных нервов. Инфекция новорожденных может развиваться при непосредственной контаминации в материнских родовых путях и при инфицировании через грудное молоко. Возможно инфицирование новорожденных ЦМВ при переливании крови или использовании донорского молока.

Внутриутробная ЦМВИ проявляется мультисистемным поражением, вызывающим значительную тяжесть заболевания и смертность. Клиническое обследование наиболее часто выявляет петехии, гепато- и спленомегалию, пневмонию и неврологические

нарушения с дальнейшей задержкой психомоторного развития. Часто появляются интракраниальные кальцификаты, гипоплазия мозжечка, перивентрикулярная лейкомаляция, внутрижелудочковые кровоизлияния, гидроцефалия, порэнцефалические кисты, микроцефалия. Для лабораторных показателей характерно увеличение трансфераз, конъюгированная гипербилирубинемия и тромбоцитопения. Белок в спинномозговой жидкости повышен, что ассоциируется с поражением нервной системы и потерей слуха.

Одновременное выделение ДНК ЦМВ из крови и мочи сопровождается особенно тяжелым течением заболевания с цианозом кожных покровов, СДР, желтухой и гепатоспленомегалией, поражением центральной нервной системы.

*ДНК ЦМВ выделена из образцов крови и мочи мальчика В., поступившего по направлению участкового педиатра из области в возрасте 2 месяцев с внутренней окклюзионной гидроцефалией в стадии декомпенсации, смешанным тетрапарезом. Ребенок наблюдался фельдшером, окружность головки не измерялась. При поступлении состояние очень тяжелое. Окружность головы 43 см, окружность груди 35 см. Кости черепа по краям размягчены, выражена венозная сеть на голове. Ребенок сам не сосал, кормился через зонд. При компьютерной томографии выявлена атрофия всех структур головного мозга, толщина коры менее 6 мм. В данном случае имело место преимущественное поражение вирусом центральной нервной системы. Известно, что генерализованная ЦМВИ может вызвать органические поражения головного мозга после внутриутробного цитомегаловирусного энцефалита с исходом в гидроцефалию, микрогирию, интерстициальный фиброз (Лещинская Е.В. и др., 1985).*

При выявлении ДНК ЦМВ только в крови или только в моче состояние детей расценивается как средней степени тяжести, клинические симптомы аналогичны описанным выше, течение заболевания характеризуется монотонностью и торпидностью к проводимой терапии.

При развитии клинической картины ЦМВИ у новорожденных детей не следует исключать вероятность постнатального инфицирования, особенно при отсроченной реализации инфекции или одновременном течении соматического заболевания.

*Мальчик В. родился с массой 3600, длиной 55 см. Матери ребенка 20 лет, страдает циститом, хроническим аднекситом, носитель ВПГ. Беременность 3, предыдущие закончились*

медицинскими абортами. Течение беременности осложнилось в 6 и 21–22 недели угрозой прерывания, в 22 недели – обострением герпеса, в 37–38 недель – острой респираторной вирусной инфекцией. Роды 1 в 40 недель, в родах – первичная слабость и дискоординация родовой деятельности, оперативное родоразрешение.

Состояние ребенка при рождении удовлетворительное. Оценка по шкале Апгар 8/9 баллов. Ребенок выписан из родильного дома на 10 день жизни в связи с осложнением послеоперационного периода у матери. На 12 день после родов мать ребенка госпитализирована в центральную районную больницу в связи с подъемом температуры и появлением выраженных симптомов интоксикации. Ребенок оставался дома с бабушкой, переведен на кормление коровьим молоком. Появилось беспокойство, частая рвота. Через 5 дней мать вернулась домой и продолжила кормить ребенка грудным молоком, но ребенок оставался беспокойным, плохо сосал, срыгивал створоженным молоком, голос стал слабым, появилась мраморность кожных покровов. Участковый врач направил ребенка в стационар с диагнозом: пилоростеноз. При обследовании в хирургическом отделении выявлены гиперкалиемиа, гипонатриемия. Мальчику проводилось лечение сольтеряющей формы адреногенитального синдрома. После относительной стабилизации состояния для дальнейшего обследования и лечения переведен в отделение патологии новорожденных. При поступлении состояние ребенка тяжелое, общий цианоз кожных покровов. На слизистой оболочке полости рта проявления молочницы. В акте дыхания участвовала вспомогательная мускулатура. Частота дыхательных движений 48 в 1 минуту. Дыхание жесткое, проводилось по всем легочным полям. Тоны сердца приглушены, пульс 120 в 1 минуту, систолический шум. Живот вздут, печень выступала из-под реберного края на 3 см, селезенка – на 1 см. В динамике, несмотря на лечение адреногенитального синдрома, развивалась дистрофия, усугублялась неврологическая симптоматика, появился гипертермический синдром. При проведении ПЦР-диагностики ДНК ЦМВ выделена из образцов крови и мочи, одновременно ДНК ЦМВ выделена в пробах крови, мочи и слюны матери. Течение заболевания осложнялось и присоединением госпитальной флоры, при этом из различных биологических субстратов были выделены *Candida tropicans*, *E.coli haemolyticus*, *Streptococcus pyogenensis*, *Klebsiella pneumoniae*. В возрасте 2,5 ме-

*сяцев ребенок умер. При патологоанатомическом исследовании установлено наличие двух основных патологических процессов: генерализованной ЦМВИ и адреногенитального синдрома. Не исключено, что источником инфицирования матери, явилось переливание ей в послеоперационный период препаратов, изготовленных с использованием донорской крови, и развитие острой формы ЦМВИ. Вероятность данного пути инфицирования обсуждается в значительном количестве публикаций последних лет (Climent C. et al., 1992; Galea G., Urbanic S.J., 1992; Harrison C.R., Sawyer P.R., 1992; de Stasio G., 1992; Raynor B.D., 1993; Bowden R.A., 1995). В нашем наблюдении, инфицирование ребенка произошло постнатально, через материнское молоко.*

ЦМВИ часто комбинируется с другими бактериальными и вирусными заболеваниями. В частности, сочетание ЦМВИ и хламидийной инфекции проявляется рождением недоношенного ребенка, вялым течением пневмонии и желтухой II–III ст., сохраняющейся в течение первого месяца жизни.

При одновременном выделении ДНК ЦМВ и микоплазмы состояние может оставаться средней степени тяжести и не требует длительного пребывания ребенка в стационаре. В клинической картине преобладают пневмония и перинатальная энцефалопатия.

Сочетание ЦМВ, хламидий и уреоплазм проявляется септическим шоком через несколько часов после рождения, требует проведения интенсивной терапии. Помимо развития пневмонии, отмечается острая почечная недостаточность и грубые неврологические нарушения.



## Диагностическое значение выявления ДНК хламидий в неонатальном периоде

*Chlamydia* подобно вирусам являются облигатными внутриклеточными паразитами, их выживание зависит от внутриклеточного роста и размножения, а их жизнедеятельность может протекать в любых клетках организма-хозяина. *Chlamydia* представляют собой неподвижный грамотрицательный организм и занимают промежуточное место между бактериями и вирусами. Из трех видов возбудителей, относящихся к роду *Chlamydie*, *C. trachomatis* передается половым путем и вызывает заболевания новорожденных.

Хламидиоз занимает ведущее место среди урогенитальных инфекций и характеризуется широкой распространенностью, субъективно-асимптомным течением, многоочаговостью поражения, склонностью к диссеминированию. Вероятность передачи хламидийной инфекции ребенку от больной матери составляет 40–70%.

Принято считать, что клинически у новорожденных заболевания проявляется в виде конъюнктивитов, назофарингитов, бронхитов, пневмонии, гастроэнтеритов, проктитов, вульвитов, уретритов, а также менингитов, миокардитов и реактивных артритов.

При детекции ДНК хламидий заболевание часто сопровождается быстрым развитием СДР на фоне меконияльной аспирации, что можно объяснить не только химическим характером поражения респираторной ткани загрязненными околоплодными водами, но и большим количеством возбудителя, проникшем непосредственно в легкие новорожденного ребенка. У детей, аспирировавших околоплодные воды, и у недоношенных новорожденных дыхательные расстройства в клинической картине заболевания выступают на первый план: одышка, участие вспомогательной мускулатуры в акте дыхания, мелкопузырчатые хрипы в легких. У наименее зрелых недоношенных детей заболевание протекает по типу СДР, требующего оксигенотерапии. Течение заболевания осложняется длительным сохранением фетальных шунтов и нарастанием сердечно-легочной недостаточности.

В настоящее время признана роль *C. trachomatis* в развитии неонатальной пневмонии (Numazaki K. et al., 1992; Sollecito D. et al., 1992). Приобретение этого микроорганизма происходит во



время прохождения плода через родовые пути. Позднее развитие пневмонии, вызванной *C.trachomatis*, может быть связано с относительно низкой вирулентностью. Отмечены случаи развития хламидийного конъюнктивита у новорожденных, извлеченных путем кесарева сечения, что свидетельствует о возможной трансмембранной или трансплацентарной передаче инфекции (Shariat H. et al., 1992).

Инфекция, вызванная *C.trachomatis*, сопровождается развитием затяжной пневмонии с выраженной дыхательной недостаточностью (до III ст.), нарушениями гемодинамики, желтушным окрашиванием кожных покровов. В случаях проведения ИВЛ для ПЦР-диагностики могут использоваться трахеобронхиальные аспираты. Наличие ДНК *C.trachomatis* в трахеобронхиальных аспиратах отражает развитие пневмонии. Характерно течение двусторонней пневмонии и перинатального поражения центральной нервной системы, гнойного конъюнктивита, кардиопатии, реже фетального гепатита.

Диагноз хламидийной инфекции не всегда устанавливается своевременно, что приводит к неадекватной терапии и формированию персистирующей или латентной инфекции, способствующей развитию вторичного иммунодефицита и аутоиммунных заболеваний. По данным литературы известно, что латентное течение хламидийной инфекции у ребенка не исключает возможность продуктивной репродукции хламидий в клетках и тканях ЦНС и экстраневрально, следствием чего может явиться развитие астеновегетативного синдрома, судорожных и ликвородинамических нарушений (Серопегин А.Д., 1995).

Для общего анализа крови характерны анемия, тромбоцитопения, лейкопения, эозинофилия, моноцитоз. Выделение ДНК *C.trachomatis* из мочи сопровождается протеинурией, лейкоцитурией, цилиндрурией, десквамацией почечного эпителия.

При одновременном выявлении ДНК *C.trachomatis* и *M.hominis* течение беременности часто сопровождается угрозой прерывания в течение всего гестационного периода. В первую неделю жизни развивается двусторонняя мелкоочаговая пневмония, конъюгационная желтуха (II ст.), кардиопатия, перинатальное поражение центральной нервной системы.

## Диагностическое значение выявления ДНК микоплазм и уреоплазм в неонатальном периоде

В последние годы в отечественной и зарубежной литературе появились сообщения о внутриутробной микоплазменной инфекции, которая чаще проявляется в виде пневмоний, но может носить и генерализованный характер. Существует связь инфицирования микоплазмами со спонтанными абортами, преждевременными родами, а также с малой массой тела детей при рождении. Микоплазмы широко распространены в природе и некоторые их виды патогенны для человека (*M.pneumoniae*, *M.hominis*, *Ureaplasma urealyticum*). Микоплазмы не окрашиваются по Граму, окрашиваются по Гимзе и характеризуются выраженным полиморфизмом (кокки, палочки, нитевидные формы). *U.urealyticum* представляет собой Т-группы штаммов микоплазм, образующих маленькие колонии в среде с добавлением мочевины.

Диагностика микоплазм с использованием ПЦР позволяет установить этиологическое и патогенетическое значение микоплазм в патологии неонатального периода (Abele-Horn M. et al., 1996). Статистически выявлена значительная связь между уровнем колонизации *U.urealyticum* и *M.hominis* и преждевременными родами, а также дородовым (более 24 часов) излитием околоплодных вод. При этом несколько чаще колонизация отмечается у детей, перенесших эпизоды апноэ (Rudd P.T., Carrington D., 1984).

В целом, внутриутробная инфекция микоплазменной этиологии характеризуется средне тяжелым течением с постепенным нарушением состояния ребенка и развитием СДР, вяло текущей пневмонии, гнойного конъюнктивита, реже – гнойного омфалита, желтушности кожных покровов, нарушений гемодинамики различной степени выраженности, кардиопатией. В общем анализе крови отмечается анемия, лейкоцитоз или лейкопения, эозинофилия, моноцитоз.

*U.urealyticum* признана как важный потенциальный патоген недоношенных новорожденных (Horowitz S. et al., 1992; Sanchez P.J., 1993;), рожденных через естественные родовые пути. В то же время указывается, что неонатальная колонизация не связана с низким гестационным возрастом, малым ростом и весом при рождении (Fullana M.A. et al., 1992). Инфицирование

беременных женщин *U.urealyticum* ассоциируется с неблагоприятными исходами беременности такими как ранние выкидыши, мертворождение, недоношенность, неонатальная заболеваемость и смертность.

Существуют следующие пути передачи *U.urealyticum* от матери к новорожденному ребенку: 1) внутриутробно трансплацентарно через материнскую кровь или вторично восходящим путем из родовых путей; 2) в родах при прохождении через родовые пути; 3) постнатально по горизонтальному пути, возможна нозокомиальная передача. Частота вертикальной передачи увеличивается при хориоамнионитах, особенно если *U.urealyticum* выделяется из амниотической жидкости (Eschenbach D.A. et al., 1993).

Инфекция, вызываемая *U.urealyticum*, играет важную роль в развитии ранней бронхолегочной дисплазии у недоношенных детей и других хронических заболеваний легких даже после лечения сурфактантом (Dyke M.P. et al., 1993). Одним из механизмов повреждения является стимуляция выхода провоспалительных цитокинов из легочных фибробластов (Stancombe B.B. et al., 1993). По данным Horowitz S. и соавт. (1992), бронхолегочная дисплазия развивается у 40% интубированных новорожденных с эндотрахеально идентифицированным уреоплазмозом.

*U.urealyticum* может вызвать неонатальную бактериемию, пневмонию и менингиты, а также остеомиелит. Клинически уреоплазменная пневмония у недоношенных часто сочетается с болезнью гиалиновых мембран, лейкопенией, тромбоцитопенией и развитием СДР.

При сочетании ДНК *U.urealyticum* и *M.hominis* диагностику инфекционного процесса могут затруднять врожденные пороки развития.

*Девочка П. родилась с массой 3000, длиной 49 см. Матери ребенка 26 лет, страдает желчно-каменной болезнью, хронической железодефицитной анемией, ожирением II степени, поливалентным аллергозом. Во время беременности выявлены хламидиоз и уреоплазмоз. Беременность I, протекала с патологическими прибавками в весе, гестозом, внутриматочной инфекцией, хронической внутриутробной гипоксией плода. Роды I, в 38 недель, в родах – обвитие пуповиной по типу портупеи. Состояние при рождении ребенка тяжелое, на третий день жизни девочка переведена в отделение патологии новорожденных. При поступлении*

состояние тяжелое. Отмечается вялость, плохо сосет; цианоз кожных покровов; одышка до 72 в 1 минуту, ослабленное дыхание по всем легочным полям; расширение левых отделов сердца, выраженный систолический шум, проводящийся экстракардиально. При эхокардиографии выявлен дефект межжелудочковой перегородки с лево-правым шунтированием. При нейросонографии – внутренняя гидроцефалия. На рентгенографии грудной клетки: признаки двусторонней пневмонии; на рентгенографии шейного отдела позвоночника: атланта-окципитальный блок с дислокацией С1 кпереди, расширение С2-С3. При ПЦР-диагностике выделены ДНК *U.urealyticum* и *M.hominis*. Девочка осмотрена невропатологом, выставлен диагноз: Перинатальная энцефалопатия смешанного генеза, острый период, средней степени тяжести, гипертензионно-гидроцефальный синдром в стадии компенсации, верхний смешанный парез, нижняя пирамидная недостаточность, повышенная нейро-рефлекторная возбудимость. Проведено два курса лечения вифероном, на 20 день жизни ребенок выписан домой с улучшением.

Ассоциации выделенных возбудителей, включая вирусные инфекции, описанные ранее, с кокковой или бациллярной микрофлорой (грамотрицательной – *St.aureus*, *E.coli*, *P.aeruginosa*, *K.pneumoniae*), а также с *Candida albicans*, как правило, вызывают наиболее тяжелое течение заболевания, требующее дополнительной медикаментозной нагрузки на пациента. Риск развития нозокомиальных инфекций увеличивается при наличии сопутствующих заболеваний неинфекционного происхождения и большого числа манипуляций, таких как интубация, искусственная вентиляция легких, инфузионная терапия, кормление через зонд, за счет нарушения целостности слизистых оболочек и создания путей для проникновения инфекции в кровяное русло (Дэвис П.А., Готефорс Л.А., 1987).

## Заключение

Инфекционные заболевания, возникающие во время беременности, обуславливают внутриутробное инфицирование плода, приводящее к ранней детской смертности и возникновению пороков развития. Чаще всего женщины болеют бессимптомно (без выраженных клинических проявлений). Необходимо проведение целенаправленной пренатальной диагностики для выявления латентных инфекционных процессов у беременных женщин.

При изучении анамнеза следует обращать внимание на лихорадочные состояния, наличие хронических воспалительных заболеваний. Характерной особенностью течения инфекционного процесса является угроза самопроизвольного прерывания беременности, обусловленная воспалительными изменениями в плаценте и матке. Как признак внутриутробной инфекции и повышения вероятности инфицирования плода можно рассматривать патологию плаценты: предлежание, приращение, отслойку, разрыв сосудов пуповины.

Наиболее часто течение беременности при развитии внутриутробной инфекции сопровождается угрозой самопроизвольного выкидыша, хронической фетоплацентарной недостаточностью, хронической внутриматочной инфекцией, развитием хронической внутриутробной гипоксии плода. В наших исследованиях, при наблюдении в женской консультации большинство женщин обследовалось на носительство возбудителей внутриутробных инфекций различными методами (ИФА-диагностика, бактериоскопическое исследование мазков). 48 беременных из 180 (26,7%) оказались носителями герпеса, цитомегалии, хламидиоза и уреаплазмоза. Однако результаты исследования беременных женщин совпали с результатами ПЦР-диагностики у детей только в 16 случаях (табл. 3). Небольшое количество совпадений можно связать как с ошибочными результатами ИФА-диагностики в ряде случаев, так и с непредсказуемостью вертикальной передачи возбудителей внутриутробных инфекций при высокой серопозитивности женщин (Воропаев Е.В. и др., 1999).

Результаты, представленные в таблице 3, свидетельствуют о том, что частота выявления заболевания в значительной степени зависит от используемых диагностических методов. ПЦР в диагностике инфекций у беременных женщин не применялась. Известно, что внутриутробные инфекции во время беременности не имеют клинических проявлений, диагностика их чрезвычайно за-

труднена и возможна лишь в результате сочетания клинических и лабораторно-инструментальных методов исследования (Сидорова И.С. и др., 1997). Следует отметить, что установление хронического носительства ВПГ и ЦМВ у беременных является принципиально важным для ранней диагностики этиологии развивающейся внутриутробной инфекции.

Таблица 3

**Совпадение результатов исследования беременных на наличие внутриутробных инфекций и результатов ПЦР-диагностики у новорожденных (в процентах)**

Внутриутробная инфекция	Количество исследований		
	1 группа	2 группа	3 группа
Герпес	–	–	–
Цитомегалия	1,4	2,6	–
Гепатит В	–	–	–
Хламидиоз	8,2	5,1	–
Микоплазмоз	4,1	2,6	–
Уреаплазмоз	–	5,1	–
Токсоплазмоз	–	–	–

**Примечание:** 1 группа – моноинфекции;  
 2 группа – сочетанные инфекции;  
 3 группа – отрицательные результаты ПЦР

Клиническая картина моно- и микстинфекций у новорожденных детей не имеет специфических признаков и выявляет наличие выраженной дыхательной недостаточности с развитием пневмонии, раннее и затяжное течение желтухи, неврологические нарушения вплоть до развития менингита и менингоэнцефалита. Наиболее тяжело внутриутробные инфекции протекают у недоношенных детей, а также у доношенных детей при выявлении возбудителя одновременно в плазме крови и моче. Дети чаще рождаются в состоянии асфиксии и, соответственно, состояние их при рождении расценивается как тяжелое.

Среди основных клинических синдромов в первые часы и дни после рождения преобладают: СДР, желтуха, нарушения гемоликвородинамики. Дыхательная недостаточность сохраня-

ется длительное время в связи с развитием пневмонии. Желтушное окрашивание кожных покровов, видимых слизистых оболочек и склер появляется в первые сутки жизни ребенка и сохраняется более двух недель. Характерным является развитие отечного синдрома. Гепатоспленомегалия чаще отмечается у детей с выявленными сочетанными внутриутробными инфекциями. Развитие фетального гепатита также преобладает при сочетанных инфекциях.

Трудности в диагностике создает одновременное развитие сердечно-сосудистой недостаточности, обусловленной врожденными пороками сердца и сосудов или кардиопатией. Врожденные пороки развития, включая генетические синдромы, достаточно часто отмечаются при внутриутробных инфекциях.

Использование молекулярно-биологического метода в диагностике ВУИ у новорожденных детей позволяет выявлять сочетанные и латентные инфекции, отслеживать персистенцию возбудителей в организме. Специфичность и высокая чувствительность метода дает возможность проводить этиопатогенетическое лечение. Оптимальным методом, обеспечивающим обнаружение нескольких возбудителей в одной пробе, является ПЦР, при этом должны учитываться клиническая картина заболевания и результаты ИФА.

Особое внимание хотелось бы обратить на интерпретацию результатов ПЦР-диагностики. Можно утверждать, что метод является абсолютно достоверным при диагностике хламидийной инфекции. ДНК возбудителя была выделена и в сыворотке крови, и в моче, а элементарные тельца *S.trachomatis* покидают клетку и проникают в биологические субстраты только при активном размножении возбудителя. *S.trachomatis* представляет угрозу для ребенка даже в минимальных количествах, выявляемых молекулярно-биологическими методами. Однако латентное течение других рассматриваемых инфекций настолько опасно развитием отсроченных осложнений, что положительные результаты ПЦР-анализа должны учитывать при сопоставлении с клинической картиной для назначения терапии и разработки планов диспансерного наблюдения за больными. Необходимость терапии латентных форм заболеваний у новорожденных при детекции ДНК возбудителей определяется способностью многих из них длительно сохраняться в условиях иммунокомпетентного организма (персистировать с сохранением

патогенных свойств). При изменении иммунного статуса макроорганизма происходит быстрое восстановление вирулентности, которое становится основой рецидивирующего характера хронических инфекций и возможной инвалидизации ребенка.

Предупреждение серьезных последствий у новорожденных детей зависит от ранней диагностики и своевременного лечения (Jenkins M., Kohl S., 1992). В последние годы применяется лечение неонатального герпеса ацикловиром и видарабином. Несмотря на токсичность данных препаратов, их назначение оправдывается тяжелыми неврологическими расстройствами, возникающими после перенесенного заболевания (Baker D.A., 1992; Le Gall M.A. et al., 1992; Whitley R.J., 1993).

Лечение хламидиоза у новорожденных проводится эритромицином в дозе 50 мг/кг/сут, внутривенно, двукратно, в течение 7–10 дней.

Наличие различных ассоциаций возбудителей, выявленных при ПЦР-диагностике, ставит перед исследователями и клиницистами дополнительные вопросы, поскольку проблема лечения смешанных инфекций не только неоднозначна, но и сложна в плане лечебного воздействия на пациента. А если учитывать, что речь идет о новорожденных детях, то проблема неадекватного медикаментозного воздействия становится особенно актуальной.

Необходимо проводить подбор лекарственных средств, обладающих широким спектром действия. Такими препаратами являются интерфероны (противовирусные и иммуномодулирующие препараты). Интерфероны – естественные факторы неспецифической защиты организма и медиаторы иммунитета. Система интерферона направлена на распознавание и элиминацию чужеродной генетической информации. Эффективность применения интерферонов объясняется ингибированием процессов транскрипции и трансляции с прекращением репликации вирусов (антивирусный эффект) и торможением размножения клеток (антипролиферативный эффект). В связи с этим интерфероны рассматриваются как универсальный фактор неспецифической резистентности. Опыт применения препарата Виферон-1 по 1 свече (150000МЕ) 2 раза в день в течение 7 дней показал его эффективность при сочетанных инфекциях у новорожденных, что подтверждено контролем ПЦР.

Внутриутробные инфекции у новорожденных сопровождаются неспецифическими клиническими симптомами, зачастую не

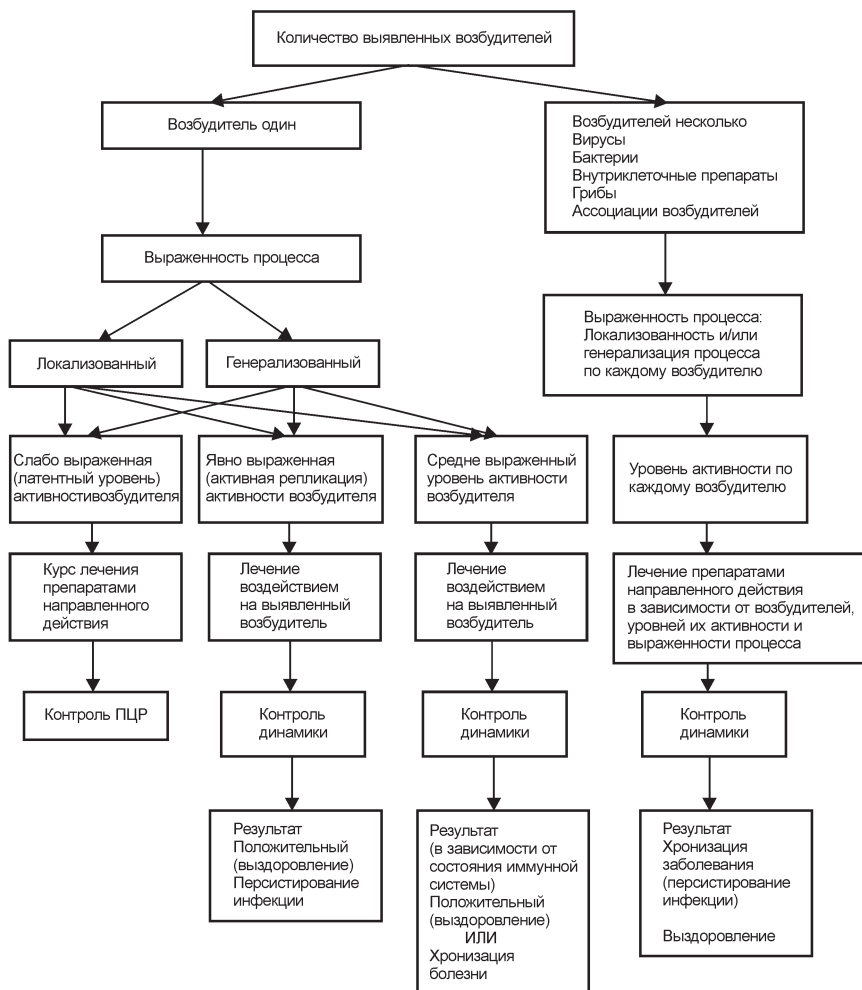


позволяющими установить этиологию заболевания. Врач-неонатолог в своей деятельности должен стремиться не только к проведению симптоматической терапии, но и к этиопатогенетическому воздействию. Выбор предлагаемой стратегии представлен в схеме 1 и показывает, что применение метода ПЦР в диагностике внутриутробных инфекций у новорожденных позволяет лечить заболевание препаратами направленного действия. В случае отрицательных результатов ПЦР встает вопрос о дифференциальной диагностике заболеваний инфекционного и неинфекционного генеза, вызывающих аналогичные клинические проявления.

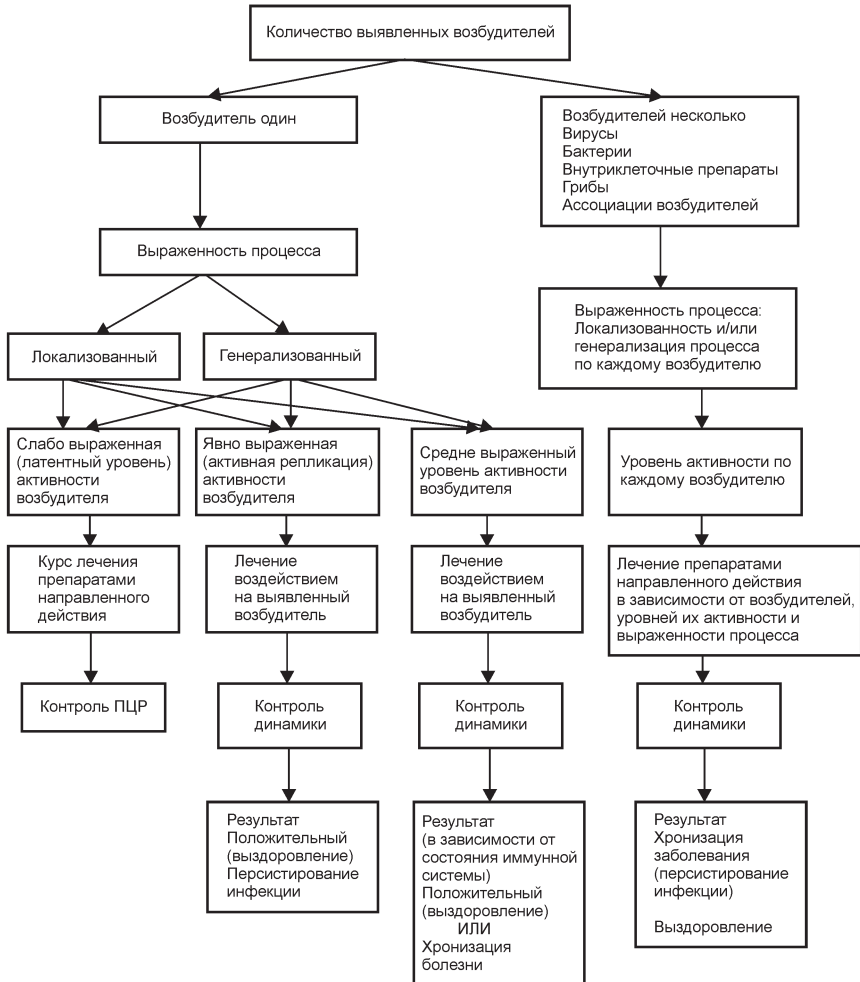
Рассматривая схему 2, следует отметить, что лечение с последующим контролем динамики создает условия для исключения дальнейшей хронизации заболевания, значительно снижающей качество жизни новорожденных детей в будущем. Применение целенаправленной терапии внутриутробных инфекций в отделении патологии новорожденных как препаратами противовирусной направленности (ацикловир), антибиотиками, воздействующими на внутриклеточных возбудителей (эритромицин, сумамед), так и препаратами интерферона (виферон) позволяет получать обнадеживающие положительные результаты. Поражение центральной нервной системы при внутриутробном инфицировании делает актуальной проблему наиболее ранней верификации возбудителя и назначения этиопатогенетического лечения с целью предотвращения инвалидизации детей.

Сочетанная патология при внутриутробных инфекциях часто оказывается несовместимой с жизнью, несмотря на все использованные возможности интенсивной терапии и реанимации. Следует отметить, что в связи с высоким риском развития отсроченных осложнений, свойственных ряду внутриутробных инфекций, лечение новорожденных детей должно проводиться даже при выделении латентных возбудителей.

## Выбор стратегии этиопатогенетического лечения у новорожденных детей при внутриутробных инфекциях



## Тактика лечения инфекционных заболеваний у новорожденных



## Список литературы

1. Воропаев Е.В., Матвеев В.А., Черновицкий М.А., Жаворонок С.В. Герпесвирусная инфекция, краснуха при врожденных пороках развития // Рос. вестн. перинатол. и пед. – 1999. – № 3. – С. 55.
2. Дэвис П.А., Готефорс Л.А. Бактериальные инфекции плода и новорожденного. – М.: Медицина, 1987. – 496 с.
3. Лещинская Е.В., Мартыненко И.Н., Демидова С.А. и др. Поражение центральной нервной системы у детей при цитомегалии // Вопр. охр. мат. – 1985. – № 5. – С. 61–65.
4. Серопегин А.Д. Неврологические аспекты хламидийной инфекции: Автореф. дис. ... канд.мед.наук. – С.-Петербург, 1995.
5. Сидорова И.С., Макаров И.О., Сидоров А.А. и др. Особенности течения беременности и исходы родов при внутриутробном инфицировании плода // Рос. вест. перинат. и педиатр. – 1997. – № 1. – С. 15–20.
6. Цинзерлинг А.В., Индикова М.Г. Герпетическая инфекция (простой герпес) // Арх. патол. – 1988. – Вып. 12. – С. 3–12.
7. Abele-Horn M., Wolff C., Dressel P. et al. Polymerase chain reaction versus culture for detection of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* in the urogenital tract of adults and the respiratory tract of newborns // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. – 1996. – Vol. 15. – № 7. – P. 595–598.
8. Adler S.P. Cytomegalovirus and pregnancy // Curr. Opin. Obstet. Gynecol. – 1992. – Vol. 4. – № 5. – P. 670–675.
9. Baker D.A., Herpes simplex virus infection // CARR. OPIN. OBSTIHI. Gynecology. – 1992. – Vol. 4. – № 5. – P. 676–681.
10. Bowden R.A. Transfusion-transmitted cytomegalovirus infection // Hematol. Oncol. Clin. North. Am. – 1995. – Vol. 9. – № 1. – P. 155–166.
11. Climent C., Velez R., Capriles J.A. Cytomegalovirus infection // Bul. Asoc. Med. P.-R. – 1992. – Vol. 84. – № 1. – P. 31–33.
12. Daniel Y., Gull I., Peyser M.R., Lessing J.B. Congenital cytomegalovirus infection // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. – 1995. – Vol. 63. – № 1. – P. 7–16.
13. Dyke M.P., Grauaug A., Kohan R. et al. *Ureaplasma urealyticum* in a neonatal intensive care population // J. Paediatr. Child. Health. – 1993. – Vol. 29. – № 4. – P. 295–297.

14. Eschenbach D.A. *Ureaplasma urealyticum* and premature birth // *Clin. Infect. Dis.* – 1993. – Vol. 17. – Suppl. 1. – P. S100–106.
15. Fullana M.A., *Ureaplasma Urealiticum* and *Mycoplasma hominis* incidence and clinical significance of their isolation in the perinatal period// *Ann. ESP. Pediatr.* – 1992. – Vol. 36. – № 4. – P. 285–288.
16. Galea G., Urbanik S.J. The incidence and consequences of cytomegalovirus transmission via blood transfusion to low birth weight, premature infants in north east Scotland // *Vox. Sang.* – 1992. – Vol. 62. – № 4. – P. 200–207.
17. Harrison C.R., Sawyer P.R. Special issues in transfusion medicine // *Clin. Lab. Med.* – 1992. – Vol. 12. – № 4. – P. 743–757.
18. Horowitz S., Landau D., Shinwell E.S. et al. Respiratory tract colonization with *Ureaplasma urealyticum* and bronchopulmonary dysplasia in neonates in Southern Israel // *Pediatr. Infect. Dis. J.* – 1992. – Vol. 11. – № 10. – P. 847–851.
19. Hufert F.T., Diebold T., Ermisch B. et al. Liver failure due to disseminated HSV-1 infection in newborn twin // *Scand. J. Infect. Dis.* – 1995. – Vol. 27. – № 6. – P. 627–629.
20. Jenkins M., Kohl S. New aspects of neonatal herpes // *Infect. Dis. Clin. North. Am.* – 1992. – Vol. 6. – № 1. – P. 57–74.
21. Jones C.L. Herpes simplex virus infection in the neonate: clinical presentation and management // *Neonatal Netw.* – 1996. – Vol. 15. – № 8. – P. 11–15.
22. Le Gall M.A., Boccara J.F., Francoual C. et al. Neonatal herpes: recurrence after treatment with acyclovir // *Pediatric Bucur.* – 1992. – Vol. 47. – № 6. – P. 445–449.
23. Mijanovic D. Cytomegalovirus infections and pregnancy // *Srp. Arh. Celoc. Lec.* – 1992. – Vol. 120. – № 9-10. – P. 293–295.
24. Numazaki K., Chiba S., Umetsu M. Detection of IgM antibodies to *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumonia*, and *Chlamydia psittaci* from Japanese infants and children with pneumonia // *In. Vivo.* – 1992. – Vol. 6. – № 6. – P. 601–604.
25. Raynor B.D. Cytomegalovirus infection in pregnancy // *Semin. Perinatol.* – 1993. – Vol. 17. – № 6. – P. 394–402.
26. Rudd P.T., Carrington D. A prospective study of chlamydial, mycoplasmal, and viral infections in a neonatal intensive care unit // *Arch. Dis. Child.* – 1984. – Vol. 59. – P. 120–125.

27. Sanchez P.J. Perinatal transmission of *Ureaplasma urealyticum*: current concepts based on review of the literature // *Clin. Infect. Dis.* – 1993. – Vol. 17. – Suppl. 1. – P. S107–111.
28. Shariat H., Young M., Abedin M. An interesting case presentation: a possible new route for perinatal acquisition of *Chlamydia* // *J. Perinatol.* – 1992. – Vol. 12. – № 3. – P. 300–302.
29. Stancombe B.B., Walsh W.F., Derdak S. et al. Induction of human neonatal pulmonary fibroblast cytokines by hyperoxia and *Ureaplasma urealyticum* // *Clin. Infect. Dis.* – 1993. – Vol. 17. – Suppl. 1. – P. S154–157.
30. de Stasio G. Transfusion risks and alternatives to transfusion // *Recenti. Prog. Med.* – 1992. – Vol. 83. – № 6. – P. 321–329.
31. Sollecito D., Midulla M., Bavastrelli M. et al. *Chlamydia trachomatis* in neonatal respiratory distress of very preterm babies: biphasic clinical picture // *Acta Paediatr.* – 1992. – Vol. 81. – № 10. – P. 788–791.
32. Whitley R.J. Neonatal herpes simplex virus infections // *J. Med. Virol.* – 1993. – Suppl. 1. – P. 13–21.

## Оглавление

Основные представления о внутриутробных инфекциях .....	3
Метод ПЦР в диагностике инфекционных заболеваний .....	4
Организация работ по выявлению ДНК методом ПЦР .....	7
Диагностическое значение выявления ДНК возбудителей внутриутробных инфекций в неонатальном периоде .....	10
Диагностическое значение выявления ДНК вируса гепатита В в неонатальном периоде .....	12
Диагностическое значение выявления ДНК вируса простого герпеса в неонатальном периоде .....	15
Диагностическое значение выявления ДНК цитомегаловируса в неонатальном периоде .....	20
Диагностическое значение выявления ДНК хламидий в неонатальном периоде .....	24
Диагностическое значение выявления ДНК микоплазм и уреаплазм в неонатальном периоде .....	26
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b> .....	29
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	36

# Закрытое акционерное общество «Вектор-Бест»

Международные сертификаты ISO 9001 и ISO 13485

## НАБОРЫ РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОЙ И ПЦР-ДИАГНОСТИКИ В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ

ВИЧ-инфекции, вирусных гепатитов А, В, С, D, E;  
TORCH-инфекций; инфекций, передаваемых половым путем;  
паразитарных и желудочно-кишечных заболеваний; клещевых  
инфекций, аутоиммунных и системных заболеваний; беременности  
и ее мониторинга; выявления опухолевых маркеров и гормонов;

## НАБОРЫ РЕАГЕНТОВ ДЛЯ КЛИНИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ

глюкоза, холестерин, мочеви́на, мочева́я кислота, креатинин,  
общий белок, белок в моче, альбумин, билирубин,  
щелочная фосфотаза, АЛТ, АСТ, ЛДГ, ГГТ, железо,  $\alpha$ -амилаза, кальций,  
хлориды, фосфор, триглицериды, гемоглобин гемихромным методом  
и др.

***Максимальный выбор  
диагностической продукции!***

---

### ЗАО «Вектор-Бест»

---

630117, г. Новосибирск-117, а/я 492

тел.: (383) 332-37-58, 332-36-34

тел./факс: 332-67-49, 332-67-52

e-mail: [vbmarket@vector-best.ru](mailto:vbmarket@vector-best.ru)

Internet: <http://www.vector-best.ru>

---

### Представительства:

---

**Москва:** (495) 710-76-96;

**С.-Петербург:** (812) 495-55-99;

**Ростов-на-Дону:** (863) 295-15-61;

**Уфа:** (347) 246-23-34;

**Екатеринбург:** (343) 372-90-50;

**Хабаровск:** (4212) 335-946;

**Нижний Новгород:** (831) 272-35-47

**Киев** (10 380 44) 220-04-04