

УДК 616.8-022.7:578.825.111-07



МАЛЬЦЕВ Д.В., ЄВТУШЕНКО С.К.

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ, Україна
Харківська медична академія післядипломної освіти, м. Харків, Україна

СУЧАСНІ ПІДХОДИ ДО ДІАГНОСТИКИ ГЕРПЕСВІРУСНИХ НЕЙРОІНФЕКЦІЙ (НАУКОВИЙ ОГЛЯД)

Резюме. У даній статті детально розглянуті діагностичні можливості сучасних лабораторних методів верифікації діагнозу герпесвірусних нейроінфекцій людини. Основні відомі методи лабораторної діагностики поділені за 3 діагностичними рівнями залежно від інформативності й вірогідності їх результатів. Сучасна діагностика герпесвірусних нейроінфекцій ґрунтується на трьох засадах: клінічній картині хвороби, даних нейровізуалізації та результатах лабораторних методів ідентифікації вірусу. Ґрунтовні знання клінічної картини герпесвірусних уражень нервової системи, включаючи характеристики основних клінічних форм нейроінфекцій, дозволяють правильно спланувати алгоритм інструментальних нейровізуалізаційних досліджень і підібрати доцільний пакет лабораторних тестів у кожному конкретному випадку. Наразі немає ідеального лабораторного методу верифікації діагнозу при герпесвірусних ураженнях нервової системи. Науково обґрунтованим є мультиплексний підхід до діагностики герпесвірусних нейроінфекцій з одночасним проведенням полімеразної ланцюгової реакції ліквору, порівняльних серологічних досліджень (розрахунок індексу специфічних сироваткових/лікворних IgG) і визначенням специфічних IgM у цереброспінальній рідині, що дозволяє подолати недоліки різних методів лабораторної діагностики і швидко встановити правильний діагноз навіть у складних клінічних випадках.

Ключові слова: герпесвірус, нейроінфекція, лабораторна діагностика.

Хоча на сьогодні запропоновано понад 30 різних методів діагностики герпесвірусних інфекцій людини, встановлення правильного діагнозу герпесвірусної нейроінфекції залишається складним завданням у багатьох клінічних випадках. Це пов'язано з гетерогенністю форм ураження нервової системи, зумовлених герпесвірусами, подібністю клініко-інструментальних ознак нейроінфекції і деяких інших нервових хвороб, різними шляхами проникнення вірусних агентів до центральної нервової системи (ЦНС), а також імуноскомпрометованим станом пацієнтів, що накладає відбиток на інфор-

мативність деяких діагностичних тестів [1, 3]. Згідно з поточною доказовою базою, всі доступні лабораторні дослідження для верифікації діагнозу герпесвірусних нейроінфекцій можна розділити на 3 групи, або рівні

Адреса для листування з авторами:
Мальцев Дмитро Валерійович
E-mail: dmaltsev@ukr.net

© Мальцев Д.В., Євтушенко С.К., 2016
© «Міжнародний неврологічний журнал», 2016
© Заславський О.Ю., 2016

діагностики, залежно від інформативності і доказовості їх результатів з урахуванням даних консенсусу з діагностики нейроінфекцій European Union Concerted Action on Virus Meningitis and Encephalitis [62].

Рівні діагностичного пошуку при герпесвірусних нейроінфекціях

Доведена нейроінфекція (перший рівень):

- 1) вірусологічне обстеження ліквору та біоптату мозку з енцефалітичного вогнища;
- 2) полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) або ДНК-гібридизація спинномозкової рідини (вірорахія) або біоптату мозку з енцефалітичного вогнища;
- 3) ідентифікація антигенів герпесвірусів імуноморфологічними методами у лікворі (антигенорахія) або біоптаті мозку з енцефалітичного вогнища;
- 4) олігоклональні смуги специфічних імуноглобулінів до герпесвірусу в лікворі;
- 5) порівняльні серологічні дослідження з виявленням аномального співвідношення сироваткових і лікворних специфічних антитіл до вірусу;
- 6) специфічні IgM до вірусу в лікворі;
- 7) патоморфологічне дослідження біоптату мозку з енцефалітичного вогнища з ідентифікацією в зоні запалення віріонів і внутрішньоклітинних тілець вірусних включень при електронній мікроскопії або специфічних цитологічних феноменів (тільця Коудрі типу А, клітини Тцанка, атипіві мононуклеари, цитомегалічні клітини, великі кулеподібні лімфоцити) при світловій мікроскопії.

Ймовірна нейроінфекція (другий рівень):

- 1) вірусологічне дослідження сироватки крові;
- 2) ПЛР або ДНК-гібридизація сироватки крові (віремія);
- 3) ідентифікація антигенемії імуноморфологічними методами;
- 4) метод парних сироваток;
- 5) сероконверсія (позитивна, негативна);
- 6) специфічні IgM у сироватці крові;
- 7) ПЛР слини (для вірусу простого герпесу (HSV) 1, HSV-2 і вірусу Varicella Zoster (VZV)) та матеріалу з уrogenітального тракту (для HSV-2 у разі крижового мієліту);
- 8) різко підвищений титр специфічних IgG до вірусу в лікворі;
- 9) виявлення в лікворі специфічних цитологічних феноменів (атипових мононуклеарів, клітин Молларе тощо).

Сумнівна нейроінфекція (третій рівень):

- 1) специфічна екзантема і/або енантема під час нейроінфекції;
- 2) ПЛР цільної крові та культури мононуклеарних клітин крові з високим вірусним навантаженням;
- 3) ПЛР або ДНК-гібридизація слини (для вірусу Епштейна — Барр (EBV), цитомегаловірусу (CMV), вірусу герпесу людини (HHV) 6, HHV-7) та сечі (CMV) з аномально високим вірусним навантаженням;

4) ідентифікація антигенів герпесвірусів у слині (для EBV, CMV, HHV-6, HHV-7) або сечі (CMV) імуноморфологічними методами з аномально високим вірусним навантаженням;

5) різко підвищений титр специфічних IgG до вірусу в сироватці крові в дорослого пацієнта (більше ніж в 10 разів вище від верхньої межі норми);

6) цитологічні феномени при дослідженні сироватки крові, сечі і/або біоптатів периферичних тканин (клітини Тцанка — при HSV-1, HSV-2 і VZV, атипіві мононуклеари — при EBV, цитомегалічні клітини — при CMV, великі кулеподібні клітини — при HHV-6).

Тести I рівня дозволяють з високою точністю підтвердити діагноз герпесвірусного ураження нервової системи, тому вони відіграють провідну роль у лабораторній діагностиці нейроінфекцій. Тим не менше у разі абсолютних протипоказань до проведення люмбальної або субокципітальної пункції, у складних для діагностики випадках, при поєднаних формах герпесвірусної інфекції, коли відзначається одночасне ураження кількох органів різних систем, доводиться застосовувати тести II рівня, результати яких не вказують на наявність саме нейроінфекційного ураження, хоча демонструють реактивований стан вірусу, наприклад, за ідентифікацією стану вірусемії, у зв'язку з чим у разі наявності відповідних клінічних симптомів є показання для проведення противірусного лікування. Натомість тести III рівня не доводять ні діагноз нейроінфекції, ні реактивований стан вірусу, тому їх результати не можуть бути підставою для встановлення клінічного діагнозу й призначення противірусного лікування за відсутності уточнюючих даних. Тим не менше результати досліджень III рівня надають певну додаткову інформацію, що може бути корисною при плануванні терапевтичної стратегії. Так, визначення сироваткової концентрації IgG до вірусу дозволяє встановити напруженість специфічної гуморальної імунної відповіді й допомагає в установленні діагнозу дефіциту специфічних антитіл до збудника, що є показанням для призначення замісної імуноглобулінотерапії [4].

Клінічна діагностика. Встановлення попереднього діагнозу за клінічними та інструментальними даними є наріжним каменем діагностики герпесвірусних нейроінфекцій. Неврологи, інфекціоністи й клінічні імунологи мають бути ґрунтовно поінформовані щодо клінічних та нейровізуалізаційних ознак різних форм герпесвірусних нейроінфекцій людини. Сьогодні змінилося саме розуміння клінічної картини нейроінфекції, зокрема, було з'ясовано, що кома або сопор, які вважалися раніше облігатними ознаками енцефаліту, можуть не реєструватися в багатьох випадках гострого герпесвірусного ураження нервової системи.

Під клінічною формою слід розуміти сукупність стійких репрезентативних ознак нейроінфекції, що зумовлені видом вірусу, шляхом його проникнення до нервової системи, станом нервової системи на момент

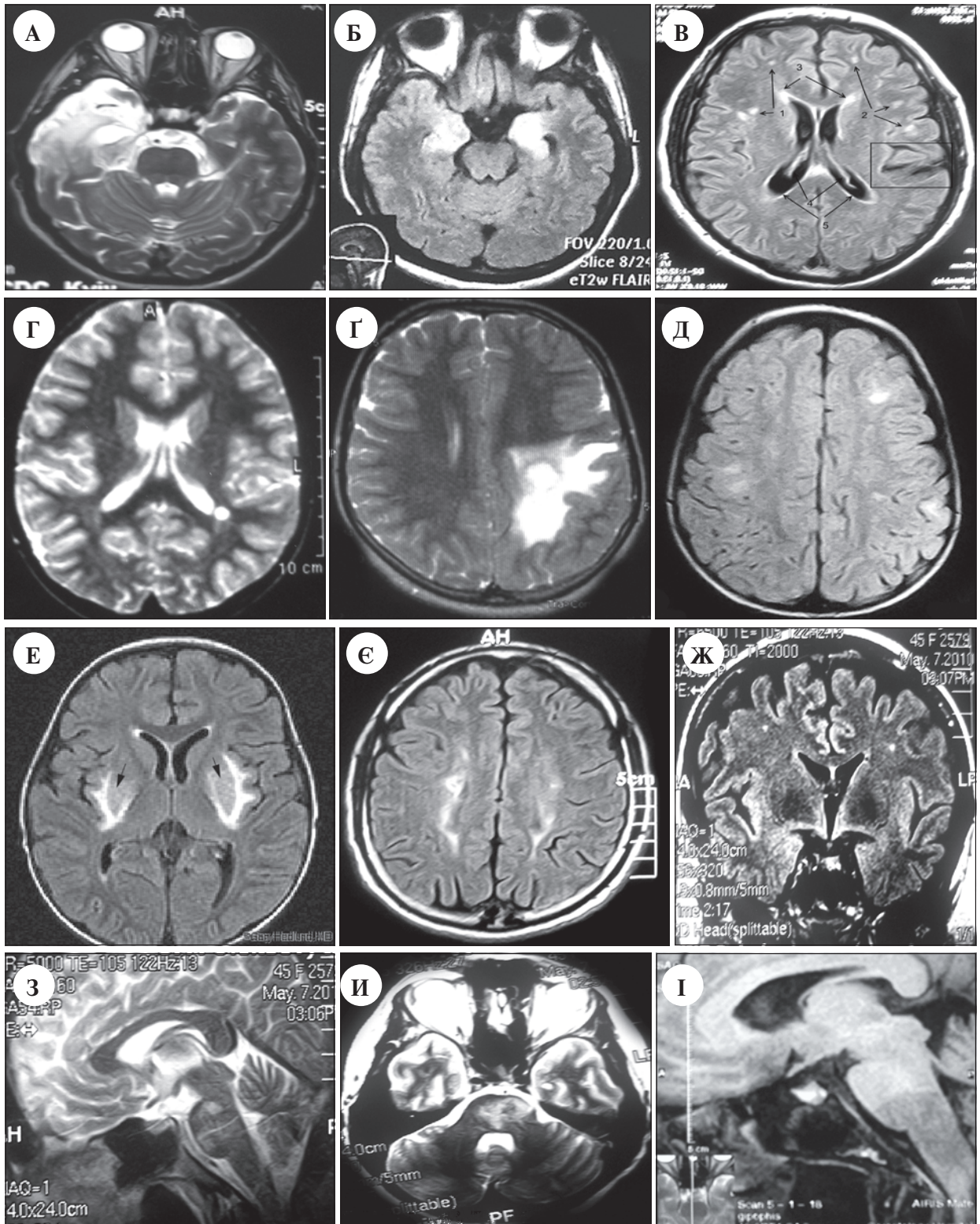


Рисунок 1. Гетерогенність клінічних форм герпесвірусних нейроінфекцій: а) скроневий частковий некротично-геморагічний енцефаліт; б) білатеральний лімбичний енцефаліт; в) дифузна васкулопатія дрібних церебральних судин у басейні середньої мозкової артерії; 1, 2 – субкортикальні лакунарні інфаркти, 3, 5 – лейкоареоз, 4 – розширення шлуночка; квадратом позначено зону фокальної атрофії; г) монофокальний дрібновогнищевий лейкоенцефаліт; г) монофокальний великовогнищевий лейкоенцефаліт з перифокальним набряком; д) мультифокальний лейкоенцефаліт із розсіяними вогнищами в білій речовині півкуль великого мозку; е) субкортикальний енцефаліт; е) вентрикулоенцефаліт; ж) дифузний мікрогліальний мікронодулярний енцефаліт; з) стовбуровий енцефаліт; и) церебеліт з ураженням черв'яка; і) діенцефальний енцефаліт із залученням заднього й переднього гіпофіза

інфікування, імунним статусом та коморбідною патологією. Так, HSV-1 викликає здебільшого скроневий частковий енцефаліт, тоді як HSV-2 — попереково-крижовий мієліт, VZV — васкулопатію церебральних судин, CMV — вентрикулоенцефаліт, а HHV-6 — лімбічний енцефаліт (рис. 1). Розроблена нами оригінальна класифікація герпесвірусних нейроінфекцій дозволяє раціонально структурувати клінічний діагноз відповідно до сучасних досягнень у вченні про герпесвірусні інфекції людини [8].

Знання типових асоціацій між видом збудника і клінічною формою нейроінфекції дозволяє правильно підібрати діагностичні тести для верифікації діагнозу. Шлях надходження вірусу до ЦНС також накладає відбиток на клінічну форму нейроінфекційного ураження та інформативність лабораторних методів дослідження. Так, трансневральна міграція через нюхові або трійчасті нерви характерна для HSV-1 [35] і HHV-6 [45] і зумовлює формування лімбічного енцефаліту, який нерідко має перебіг без залучення мозкових оболонок і формування вірорахії, що зумовлює хибнонегативні результати рутинно застосовуваної ПЛР ліквору. Натомість при гематогенній дисемінації вірусу (EBV, CMV, HHV-7) здебільшого розвиваються випадки менінгіту, менінгоенцефаліту і вентрикулоенцефаліту із залученням мозкових оболонок, вірорахією і високою інформативністю ПЛР спинномозкової рідини. Отже, знання асоціацій між шляхом проникнення вірусу до ЦНС і клінічними формами ураження дозволяє уникнути діагностичних помилок при плануванні лабораторних методів для ідентифікації вірусу.

Стан нервової системи також впливає на формування нейроінфекцій. Так, існують хвороби, які сприяють нейроінфекційному ураженню, такі як туберозний склероз, гемохроматоз і метахроматична лейкоцистозія [50], а інші, навпаки, супроводжуються на перший погляд парадоксальною резистентністю до певних герпесвірусів, як це має місце в разі сімейної дизавтономії, при якій відсутні волокна типу C, необхідні для трансневральної міграції альфа-герпесвірусів [66].

Певні порушення імунного статусу тісно асоційовані з деякими формами нейроінфекцій. Так, первинний дефіцит TLR3 є вирішальним у формуванні скроневого енцефаліту HSV-1-етіології, оскільки критично полегшує доцентрову міграцію вірусу вздовж волокон нюхового нерва [60]. Натомість неврологічні ускладнення, зумовлені VZV, здебільшого пов'язані з дефіцитом природних кілерів [9], а мультифокальний лейкоенцефаліт, викликаний HHV-6 і HHV-7, найбільш ймовірно, пов'язаний з дефіцитом мієлопероксидази [6].

Коморбідна патологія часом може відігравати принципово важливу роль у розвитку певної форми герпесвірусної нейроінфекції. Наприклад, саме комбінація EBV зі збудником тропічної малярії розглядається на сьогодні як головна передумова для виникнення ендемічної лімфоми Беркітта, про неврологічні ураження в разі якої повідомляли неодноразово.

Слід чітко відрізнити різні клінічні форми герпесвірусних нейроінфекцій і точно зазначити відповідну форму в діагнозі, оскільки мають місце суттєві відмінності в частоті виникнення, видовому спектрі збудників, шляхах їх міграції до ЦНС, тяжкості клінічного стану, типових ускладнень, ризиках рецидивів у найближчій і віддаленій перспективі, стані імунорезистентності організму. Це впливає на інформативність діагностичних лабораторних тестів, підходи до прогнозування й потребу в певних лікувальних втручаннях (табл. 1). У зв'язку з цим очевидним видається диференційований підхід до надання медичної допомоги при різних клінічних формах герпесвірусного ураження нервової системи.

Коротка характеристика найбільш інформативних лабораторних тестів

Завдяки впровадженню сучасних методів ДНК-аналізу й удосконаленню підходів до серологічної діагностики на сьогодні біопсія мозку не є обов'язковою складовою процесу верифікації діагнозу енцефаліту герпесвірусної етіології.

Вірусологічний метод. Досі вважається золотим стандартом діагностики, однак на практиці застосовується зрідка через малодоступність, трудомісткість, високу вартість, відтермінованість результатів. Специфічність становить 100 %, однак чутливість не перевищує 60 % випадків, оскільки герпесвіруси погано репродукуються *in vitro*. Безперечними перевагами методу є можливість подальшої візуалізації вірусу за допомогою електронної мікроскопії, вивчення структурних особливостей вірусних часток і чутливості вірусу до проти-вірусних препаратів.

Полімеразна ланцюгова реакція. Наразі майже повністю витіснила вірусологічний метод із клінічної практики. Деякі автори обстоюють думку, що ПЛР і сьогодні є справжнім золотим стандартом діагностики. Специфічність і чутливість методу перевищує 90 %. Однак відзначаються суттєві відмінності у результатах в різних лабораторіях, пов'язані з використанням неоднакових методик ПЛР і різних праймерів. Цей факт продемонстрований у кількох контрольованих випробуваннях [19]. Заміна лише одного нуклеотиду в ділянці ДНК вірусу, комплементарній застосовуваному праймеру, призводить до псевдонегативного результату ПЛР, який, однак, може бути подоланий при застосуванні праймера іншого виробника, який комплементарний до іншої консервативної ділянки вірусного геному, що не зазнала мутації в даного штаму збудника [53]. Тому клініцистів не повинні дивувати розбіжності в результатах ПЛР, виконаних у різних лабораторних центрах. Крім того, на інформативність тесту впливає застосовувана методика ПЛР. Так, *real-time* ПЛР дозволяє точно підрахувати кількість вірусних часток, однак може давати псевдонегативні результати при низькому вірусному навантаженні,

Таблиця 1. Типові асоціації між найпоширенішими клінічними формами герпесвірусних інфекцій, видом вірусу, шляхом міграції до ЦНС, імунним статусом, інформативними лабораторними тестами й типовими ускладненнями

Клінічна форма	Типовий збудник	Типовий шлях проникнення до ЦНС	Особливості імунного статусу	Найбільш інформативний діагностичний тест	Типові ускладнення
Скроневий частковий енцефаліт	HSV-1	Трансневральный через волокна нюхового, трійчастого нервів або реактивація <i>in situ</i>	Первинний дефіцит TLR3, UNC93B і деяких пов'язаних з ними молекул	ПЛР ліквору та індекс сироваткових/лікворних IgG	Трансенторіальне вклинчення скроневої частки, гострий ретинальний некроз
Лімбичний енцефаліт	HHV-6	Трансневральный через волокна нюхового нерва до гіпокампів та інших структур лімбичної системи скроневих часток	Вторинний імунodefіцит у реципієнтів аlogenних стовбурових гемопоетичних клітин	Індекс сироваткових/лікворних IgG	Скроневий медіанний склероз і пов'язана з цим скронева медіанна епілепсія
Вентрикуло-енцефаліт	CMV	Гематогенний, через хоріоїдальні сплетення бокових шлуночків півкуль великого мозку або інтра-лікворний з мозкових оболонок у ділянці попереково-крижового відділу спинного мозку	Дефіцит CD4+ T-лімфоцитів при СНІДі або ідіопатичній CD4+ T-клітинній лімфоцитопенії	ПЛР ліквору, ПЛР сироватки крові	Внутрішньошлуночковий крововилив, компресія краніальних нервів, гідроцефалія
Васкулопатія церебральних судин	VZV	Трансневральный із гасерового ганглію доцентрово через волокна на трійчастих нервів до адвентиції інтракраніальних артерій	Дефіцит природних кілерів, дефіцит природних кілерних T-клітин	Індекс сироваткових/лікворних IgG	Тромбоз уражених церебральних судин, ішемічні інсульты, аневризми та дисекції краніальних і церебральних артерій
Дієнцефальний енцефаліт	HHV-6	Гематогенна дисемінація через зону підвищеної проникності гематоенцефального бар'єру в дієнцефальній ділянці або інтрацеребральне поширення з осередку лімбичного енцефаліту	Первинна або вторинна гіпоімунoglobulinемія, вторинний імунodefіцит у реципієнтів аlogenних стовбурових гемопоетичних клітин	ПЛР ліквору, ПЛР сироватки крові	Зневоднення у зв'язку з індукцією центральної форми нецукрового діабету, гіперпролактинемія, гіпогонадізм
Лейкоенцефаліт (моно-, мультифокальний, дифузний)	EBV, HHV-6, HHV-7	Гематогенна дисемінація	Первинний дефіцит мієлопероксидази фагоцитів, у тому числі мікрогліальних клітин мозку	ПЛР ліквору, ПЛР сироватки крові	Мас-ефект у зв'язку з формуванням псевдотуморозних вогнищ з вираженим перифокальним набряком
Стовбуровий енцефаліт	HSV-1	Трансневральный, із гасерового вузла ретроградно через цистернальну порцію трійчастого нерва	Не встановлено, найбільш ймовірно — первинний дефіцит TLR3	ПЛР ліквору та індекс сироваткових/лікворних IgG	Пригнічення серцевої діяльності й дихання внаслідок залучення стовбурових центрів контролю
Попереково-крижовий мієліт	HSV-2	Трансневральный з крижового сенсорного ганглію по доцентровим волокнам до мозкових оболонок або через дорзальні корінці до задніх канатиків спинного мозку	Дефіцит природних кілерів, дефіцит природних кілерних T-лімфоцитів	ПЛР ліквору	Порушення уродинаміки, бактеріальні уроінфекції, уро-сепсис
Гострий гангліорадикуло-неврит	VZV	Трансневральный, із сенсорного ганглію краніального або спінального нерва відцентрово до шкіри й слизових оболонок	Дефіцит природних кілерів, дефіцит природних кілерних T-лімфоцитів	Типова екзантема, специфічні IgM у сироватці крові, метод парних сироваток (при оперізуючому герпесі), а також ПЛР слини (при синдромі Рамзая Ханта)	Постгерпетична невралгія, синдром рухової вогнищевої слабкості, синдром Огів'є, ізо-топічна реакція Вольфа

хоча мала кількість вірусної ДНК може бути виявлена при застосуванні конвенційної методики ПЛР з підрахунком результату в кінці постановки. Відкриті методики ПЛР можуть іноді призводити до псевдопозитивних даних через контамінацію проб. Крім того, при деяких формах герпесвірусних нейроінфекцій, включаючи лімбічний енцефаліт, вірорахія формується зрідка, тому в таких випадках не слід покладати великих сподівань на ПЛР ліквору. Так, при VZV-васкулопатії позитивні результати ПЛР спинномозкової рідини трапляються не частіше ніж у 30 % випадків, а клінічний діагноз здебільшого підтверджують на підставі розрахунку індексу сироваткових/лікворних IgG. Так звані інгібітори ПЛР можуть відзначатися в цереброспінальній рідині (ЦСР) на тлі високого плеоцитозу, зумовлюючи псевдонегативні результати ДНК-діагностики.

Індекс сироваткових/лікворних IgG. Застосування цього методу може подолати псевдонегативні результати ПЛР ліквору, включаючи такі, що зумовлені відсутністю вірорахії, що часто має місце при деяких клінічних формах нейроінфекцій, або наявністю так званих інгібіторів ПЛР у цереброспінальній рідині. Метод заснований на ідентифікації феномену інтрацеребрального синтезу специфічних IgG до вірусу, що відзначається тільки у разі проникнення збудника до ЦНС. Безперечною перевагою методу є можливість встановлення діагнозу ретроспективно, протягом 1–2 місяців після усунення вірусу (період напіврозпаду IgG становить 21–23 доби), якщо належний діагностичний пошук не був здійснений у гостру фазу. Хибнонегативні результати можуть бути зумовлені гуморальними імунодефіцитами, зокрема ізольованими дефіцитами субкласів IgG, що трапляються з частотою 1 випадок на 100 мешканців [5].

У нормі лише кожна 20-та молекула IgG долає гематоенцефалічний бар'єр, надходячи із сироватки крові до ліквору. Тож нормальний індекс сироваткових/лікворних антитіл до вірусу має становити 20 : 1 і більше. Якщо кількість специфічних IgG до вірусу більше в лікворі, ніж у сироватці крові, це свідчить з високою вірогідністю про інтрацеребральну локалізацію патогену, однак на практиці такі випадки трапляються зрідка. Зменшений рівень індексу (< 20) має зароджувати підозри щодо проникнення збудника до ЦНС. Однак підвищення проникності гематоенцефалічного бар'єру, що часто трапляється в разі нейроінфекцій,

може призвести до зниження індексу у зв'язку з посиленням дифузії імуноглобулінів із сироватки крові. Тому слід не тільки враховувати абсолютний рівень індексу, а й порівнювати його значення з індексами інших молекул — альбуміну, тотального IgG або специфічних IgG до інших герпесвірусів. Позитивним вважається результат тесту, коли отриманий індекс принаймні вдвічі менший за індекси інших молекул, що здійснюють дифузію через гематоенцефалічний бар'єр.

Аномальне співвідношення противірусних IgG у сироватці крові й цереброспінальній рідині отримало назву індексу Delpesch — Lichtblau. Для його розрахунку використовують спеціальні формули. Одна із них запропонована Р.Е. Klapper зі співавт. [52]: *концентрація IgG у ЦСР/концентрація IgG у сироватці крові; концентрація альбуміну в ЦСР/концентрація альбуміну в сироватці крові.*

Позитивним результатом вважається значення індексу вище від 1,9. Замість альбуміну в даній формулі можна використовувати вміст загального IgG. Припустимо застосування спрощеної розрахункової формули, яку рекомендує експерт Israel Steiner: *концентрація специфічних IgG у сироватці крові/концентрація специфічних IgG у ЦСР.*

У такому разі позитивним результатом вважається значення менше, ніж 20 : 1. Якщо рівень індексу менше одиниці, то результат розглядається як безумовно позитивний, оскільки в такому разі концентрація антитіл у лікворі вища, ніж у сироватці крові, що не може бути пояснено дифузиею імуноглобулінів через пошкоджений гематоенцефалічний бар'єр. Однак такий підхід має певні недоліки, про які йшлося вище.

Ми удосконалили методику вивчення феномену інтрацеребральної продукції антитіл, запропонувавши зручнішу та інформативнішу для клінічної практики розрахункову формулу [7]: *концентрація IgG в ЦСР до вірусу 1/концентрація IgG в сир. крові до вірусу 1; концентрація IgG в ЦСР до вірусу 2/концентрація IgG в сир. крові до вірусу 2.*

Позитивним вважається результат, що перевищує 1,9. Така формула досить зручна, коли не відомо, який саме герпесвірус викликав церебральне ураження в пацієнта. Визначаються антитіла принаймні до чотирьох різних герпесвірусів. Запорукою інформативності є наявність хоча б одного негативного результату, з яким порівнюють позитивні (табл. 2).

Таблиця 2. Приклад результатів дослідження специфічних IgG у сироватці крові й лікворі при діагностиці герпесвірусної нейроінфекції

Вид вірусу	Сироваткова концентрація специфічних IgG, ум.од.	Лікворна концентрація специфічних IgG, ум.од.	Значення індексу	Інтерпретація результату
HSV-1	1,9	0,9	2,1	Позитивний
EBV	7,6	1,2	6,3	Негативний
CMV	8,4	1,3	6,5	Негативний
HHV-6	5,5	0,8	6,9	Негативний

Необхідно звернути увагу (табл. 2), що вміст специфічних IgG як у сироватці крові, так і в лікворі вищий щодо EBV, CMV і HHV-6, однак результати тесту підтверджують діагноз саме HSV-1-нейроінфекції, оскільки для встановлення факту компартменталізації вірусу до ЦНС важливий не рівень специфічних IgG, а дані, що вказують на феномен їх інтрацелюлярного синтезу. Перший висновок, який можна зробити з табл. 2, це те, що в даного пацієнта відзначається патологічна проникність гематоенцефалічного бар'єру — замість кожної 20-ї молекули IgG його бар'єр пропускає кожен 6-ту — 7-му. Другий висновок полягає в тому, що розподіл антитіл до HSV-1 в сироватці й лікворі (2 : 1) не відповідає такому в інших герпесвірусів і не може бути пояснений простою дифузійною цих молекул із сироватки крові. І нарешті, третій висновок: індекс щодо HSV-1 втричі нижчий за такий в інших герпесвірусів, що перевищує діагностичний поріг методу (щонайменше вдвічі). Це дозволяє підтвердити діагноз HSV-1-нейроінфекції за умови наявності відповідних клінічних та інструментальних даних.

Олігоклональні смуги імуноглобулінів до вірусу. Тест здійснюється шляхом ізоелектричного фокусування спинномозкової рідини після взаємодії зі специфічним діагностиком, що містить кілька антигенів певного вірусу. Метод також дозволяє подолати псевдонегативні результати ПЛР ліквору. Заснований на ідентифікації типової олігоклональної гуморальної відповіді до вірусу, що відповідає специфічній імунній відповіді на полівалентний антиген, яким і є вірусна частинка, на відміну від поліклональних смуг імуноглобулінів, які відзначаються в нормі та є результатом звичайної дифузії антитіл різної специфічності з сироватки крові до ліквору через гематоенцефалічний бар'єр, або моноклональної смуги при гематологічних пухлинах із плазматичних клітин, так званих гаммапатіях. Хибнонегативні результати також відзначаються при гуморальних імунодефіцитах.

Специфічні IgM у лікворі. Метод дозволяє ідентифікувати гостру фазу нейроінфекції за появою специфічних IgM до вірусу, інтрацелюлярно синтезованих похідними В-лімфоцитів, які мігрували до ЦНС з лімфоїдних органів при генерації локальної імунної відповіді до збудника. Макромолекули IgM на відміну від бівалентних IgG не проникають через гематоенцефалічний бар'єр, тому вважають, що ідентифіковані в лікворі IgM мають виключно інтрацелюлярне походження. Як відомо, IgM найінтенсивніше виробляються з 5–7-ї по 14-ту добу гострого інфекційного процесу, що обмежує застосування цього методу вказаними часовими межами. Хибнонегативні результати можуть бути зумовлені передчасним або запізнілим тестуванням, а також наявністю вибіркового дефіциту IgM у пацієнта, що трапляється в популяції з частотою 1 випадок на 300–400 мешканців [2].

Вимоги до вичерпної діагностики. Оскільки жоден відомий лабораторний метод не є ідеальним, для адек-

ватної діагностики нейроінфекції у випадку відповідних клінічних та інструментальних даних доцільним є мультиплексний підхід з одночасним визначенням ПЛР ліквору, розрахунком індексу сироваткових/лікворних специфічних IgG (або як альтернатива — олігоклональних смуг специфічних імуноглобулінів) та ідентифікацією IgM до вірусу в цереброспинальній рідині. Тільки така комплексна діагностика дозволяє обґрунтовано виключити діагноз нейроінфекції в складних випадках, коли за клінічними й інструментальними даними картина дуже нагадує нейроінфекційний процес.

Семіотика інформативності діагностичних тестів при нейроінфекціях, зумовлених герпесвірусами різних підродин

HSV-1 як приклад альфа-герпесвірусу. Т. Akter зі співавт. показали доцільність культивування HSV-1 у хоріоамніотичній мембрані курячих ембріонів [14]. J.M. Middeldorp зі співавт. продемонстрували інформативність застосування культури клітин Vero при вірусологічній діагностиці HSV-1-нейроінфекції. D.H. Percy зі співавт. запропонували біологічну пробу для діагностики HSV-1/-2-інфекції, що полягає в індукції офтальміту в новонароджених шурів. Утім на сьогодні біологічна проба в клінічній практиці використовується зрідка з багатьох причин, включаючи етичні міркування.

Чутливість ПЛР становить 98 %, а специфічність досягає 94 %. I. Mih ly зі співавт. засвідчили інформативність гніздової ПЛР спинномозкової рідини при діагностиці HSV1-нейроінфекції. C. Frías зі співавт. показали інформативність мультиплексної гніздової ПЛР ліквору в діагностиці герпесвірусних нейроінфекцій у дослідженні за участю 45 осіб з типовими клініко-інструментальними симптомами [40]. R.V. Domingues зі співавт. описали 5 випадків атипичних HSV-1-енцефалітів з рецидивним або прогресуючим перебігом, при яких саме результати ПЛР ліквору дозволили встановити правильний діагноз [36].

Справді, ПЛР ліквору з видоспецифічними праймерами HSV-1 є інформативним тестом для ідентифікації патогену, однак часто трапляються хибнонегативні результати цього дослідження, що вимагає проведення порівняльних серологічних тестів. Загалом інформативність ПЛР ліквору при HSV-1-енцефаліті не перевищує 76 % випадків, як це показали в спеціально спланованому дослідженні F. Sheybani зі співавт. Зокрема, A.C. Adler зі співавт. описали випадок скроневого HSV-1-енцефаліту в 35-річній імунокомпетентній жінки, у якої, незважаючи на типову МРТ-картину й виражений позитивний ефект від терапії ацикловіром, відзначалися два псевдонегативних результати ПЛР ліквору з видоспецифічним праймером HSV-1 [11]. ПЛР погано виявляє ДНК HSV-1 у разі лімбічного енцефаліту, що пов'язано з глибинним ураженням мозку,

і набагато інформативніша при серозному HSV-1-менінгіті. V.M. Ratnamohan зі співавт. рекомендують видаляти інгібітори ПЛР з ліквору для уникнення псевдонегативних результатів діагностики. До таких інгібіторів належать, зокрема, підвищений вміст білка й клітин у спинномозковій рідині. M. Koskiniemi зі співавт. показали, що позитивна ПЛР ліквору зустрічається частіше в пацієнтів віком понад 40 років, особливо в осіб віком 60–64 роки [54]. A. Lackner зі співавт. довели інформативність використання ПЛР слини для діагностики неврити лицьового нерву HSV-1-етіології, а також синдрому Рамсея Ханта, викликаного VZV [57]. A. Stjernquist-Desatnik зі співавт. продемонстрували, що ПЛР біоптату заднього вушного м'яза й ліквору дозволяють верифікувати діагноз неврити лицьового нерву HSV-1-етіології лише в 10 % випадків і не можуть вважатися методами вибору.

Застосування методики ПЛР у режимі зворотної транскрипції дозволяє ідентифікувати мРНК HSV-1 у зразках тканини мозку, отриманих із вогнищ паренхіматозного ураження під час біопсії або автопсії. Це допомагає виявити не тільки присутність вірусу, але й довести його активну репродукцію в нервовій тканині [15].

У зв'язку з непоодинокими хибнонегативними результатами ПЛР при HSV-1-нейроінфекції часто використовують інші доказові методи виявлення інфекційного агенту. Так, S. Kamei зі співавт. запропонували визначати антигени HSV-1 у лікворі імунофлуоресцентним методом і продемонстрували відповідність цих результатів даним гніздової ПЛР [51]. J.M. Middeldorp зі співавт. апробували сендвіч-методику ELISA для ідентифікації антигенів HSV-1, порівнюючи отримані результати з даними вірусологічного методу. Показана специфічність і чутливість імуноморфологічного методу на рівні 77,2 і 97,8 % відповідно.

Серологічні тести при раціональному їх застосуванні можуть бути інформативними в діагностиці HSV-1-нейроінфекції. Чутливість і специфічність серологічної діагностики перебуває на рівні 50–70 %. Інтерпретація результатів серологічних тестів часом утруднена у зв'язку з убиквітарністю патогену. G. Chauplannaz зі співавт. підтвердили діагноз скроневого HSV-1-енцефаліту на підставі виявлення специфічних IgM у лікворі [26]. H.S. Wang, S.C. Huang визначили підвищений вміст специфічних IgM у сироватці крові всіх 7 пацієнтів з верифікованим HSV-1-енцефалітом. У 2 із 59 пацієнтів з іншими нейроінфекціями відзначалися хибнопозитивні результати. L.E. Davis, L.C. McLaren верифікували діагноз шляхом ідентифікації надзвичайно високого титру специфічних IgG до HSV-1 у спинномозковій рідині (1 : 8192) [30]. Виявлення олігоклональних смуг імуноглобулінів у лікворі методом ізоелектричного фокусування також може бути інформативним у діагностиці HSV-1-нейроінфекції. Однак S.C. Akhan зі співавт. засвідчили хибнонегативні

результати ПЛР ліквору та олігоклональних смуг анти-тіл до HSV-1 у 54-річної жінки з типовою клінічною, нейровізуалізаційною та електроенцефалографічною картиною скроневого HSV-1-енцефаліту й драматичною позитивною відповіддю на ацикловір [13]. Метод парних сироваток, що традиційно застосовується в інфектології, корисний у разі підгострого розвитку енцефаліту, коли є час для проведення діагностики [55].

E. Denes зі співавт. продемонстрували інформативність ідентифікації інтратекального синтезу специфічних IgG при герпесвірусному енцефаліті на підставі аномального співвідношення цих імуноглобулінів у сироватці крові та лікворі порівняно з альбуміном при хибнонегативних результатах ПЛР ліквору в 3 пацієнтів [31]. A. Hjalmarsson зі співавт. також засвідчили діагностичну користь від виявлення феномену інтратекальної продукції специфічних антитіл при герпесвірусному енцефаліті в 53 пацієнтів, показавши відповідність таких даних результатам ПЛР ліквору [46]. M. Koskiniemi зі співавт. використовували визначення аномального індексу специфічних антитіл у разі HSV1-енцефаліту при негативній ПЛР ліквору і типовій клініко-нейровізуалізаційній картині хвороби [54]. V. Mayer зі співавт. виявили підвищену продукцію інтратекальних IgM та IgG, а також альфа-інтерферонів у ранню фазу HSV1-енцефаліту. M.D. Charman зі співавт. показали відповідність результатів діагностики за феноменом синтезу інтратекальних антитіл і ПЛР ліквору з видоспецифічними праймерами при скроневого енцефаліту HSV-1-етіології [25]. C. Denne зі співавт. показали, що визначення аномального індексу антитіл можна використовувати для діагностики не лише HSV-1-нейроінфекції, але й уражень нервової системи, обумовлених VZV, EBV, CMV і вірусом епідемічного паротиту [32]. Такий метод незамінний у разі малопродуктивної нейроінфекції з низьким вірусним навантаженням на організм людини.

G. Scalia зі співавт. показали інформативність визначення специфічних IgA до HSV-1 у сироватці крові при діагностиці сенсоневральної приглухуватості, викликаній цим вірусом (n = 93). Діагностичний титр перевищує рівень 1 : 80. Відзначалася нормалізація титру після курсу ацикловіру. Слід пам'ятати, що серологічні методи дають некоректні результати в пацієнтів з гіпо- і дисімуноглобулінемією [18]. Також необхідно враховувати, що наявність герпетичної екзантеми або інших екстрацеребральних вірус-індукованих уражень робить малоінформативними серологічні тести для діагностики нейроінфекції, окрім методики ідентифікації інтратекального синтезу антитіл та виявлення специфічних IgM у лікворі [49].

J. Chen зі співавт. вважають найінформативнішим діагностичний підхід з одночасним застосуванням мультилокусної традиційної ПЛР, ПЛР у режимі зворотної транскрипції й електроспрейної іонізуючої мас-спектрометрії [27], хоча впровадження такої трудо-

місткої і затратної діагностики видається в найближчій перспективі малоімовірним.

EBV як приклад гамма-герпесвірусу. Вірусологічний метод з використанням клітинних культур є малоприматним для діагностики EBV-нейроінфекції, оскільки вірус чинить обмежену цитопатичну дію. Однак можливе застосування тесту лімфоцитарної трансформації для виявлення EBV у лікворі з метою підтвердження діагнозу в складних клінічних випадках.

ПЛР ліквору є інформативним тестом верифікації діагнозу в переважній більшості випадків, оскільки майже завжди має місце віроракія. Це пов'язано з гематогенним шляхом поширення вірусу й частим залученням мозкових оболонок. В. Sundén зі співавт. показали високу інформативність real time ПЛР при гострому EBV-енцефаліті з вираженою клінічною симптоматикою, однак малу кількість позитивних результатів при млявих нейроінфекціях, що вимагало застосування інших методик ПЛР. Зазвичай паралельно мають місце позитивні результати ПЛР сироватки крові, що відображає стан віремії й також пов'язано з гематогенною дисемінацією вірусу. Дослідження крові може бути використане в разі протипоказань до люмбальної пункції або категоричної відмови пацієнта від цієї маніпуляції як винятку з правил, однак за наявності типових клініко-інструментальних ознак нейроінфекції. За даними Q.F. Liu зі співавт., ДНК EBV визначається у сироватці крові за 3–14 днів до моменту маніфестації нейроінфекції в реципієнтів алогенного кісткового мозку, що дозволяє здійснювати профілактику нейроінфекцій у багатьох імуноскомпрометованих хворих [63]. Крім того, дослідження сироватки крові показано при поєднаних і дисемінованих формах первинної або реактивованої EBV-інфекції [42]. При локальній реактивації EBV в ЦНС, що можлива в імуноскомпрометованих пацієнтів, які раніше перенесли епізоди EBV-нейроінфекції, дослідження сироватки крові є неінформативним [23]. Слід паралельно проводити діагностичний пошук щодо інших герпесвірусів, оскільки часто трапляються випадки мікстнейроінфекцій.

Результати ПЛР слини вказують на безсимптомну персистенцію або ураження верхніх дихальних шляхів, однак нещодавнє дослідження, проведене V. Descamps зі співавт. при DIHS/DRESS, асоційованому з герпесвірусною інфекцією, змушує серйозніше ставитися до цього зручного діагностичного підходу [34].

Імуноморфологічні методики з визначенням вірусних білків у лікворі можуть бути альтернативою ПЛР, однак характеризуються нижчою чутливістю, що не перевищує 70 %. Зокрема, ідентифікація вірусного антигену p72 свідчить про реактивацію EBV [41].

S. Imai зі співавт. повідомили про 5 дітей з неврологічними ураженнями під час первинної або реактивованої EBV-інфекції. Діагноз підтверджували на підставі результатів ПЛР ліквору й підвищення титру специфічних антитіл у цереброспинальній рідині [48].

Можливе застосування методики вивчення феномену інтрацелюлярного синтезу антитіл, виявлення олігоклональних смуг імуноглобулінів та методу парних сироваток. Диференційовані серологічні тести з визначенням антитіл до різних антигенів вірусу допомагають у діагностиці цієї нейроінфекції. Так, у гостру фазу енцефаліту відзначаються IgM до VCA, аномально підвищений титр IgG до VCA і вірогідний приріст концентрації IgG до EBNA в сироватці крові [39]. Визначення сироваткових IgG до EA EBV є інформативним тестом для діагностики активної інфекції, однак такі імуноглобуліни реєструються протягом короткого терміну [56]. При EBV-асоційованому синдромі хронічної втоми можуть знадобитися специфічні серологічні методики з визначенням антитіл до ДНК-полімерази й dUTPази вірусу при неінформативності інших діагностичних підходів [59]. Тест на гетерофільні антитіла може бути позитивним у разі розвитку енцефаліту під час інфекційного мононуклеозу, однак часто трапляються хибнонегативні результати [16]. Слід враховувати, що в пацієнтів із X-зчепленими лімфопроліферативними синдромами рутинні серологічні тести до EBV є хибнонегативними [64]. Також необхідно пам'ятати, що при EBV-нейроінфекції відзначається поліклональна активація В-лімфоцитів, що може зумовити хибно-позитивні результати серологічної діагностики інших вірусних інфекцій, зокрема корової [61].

Паралельне проведення ПЛР і раціонально спланованих серологічних тестів підвищує якість діагностики інфекції. Натомість J. Legoff зі співавт. показали інформативність поєднання ПЛР та електроспрейної іонізуючої мас-спектрометрії при діагностиці EBV-та CMV-інфекції [58].

HHV-6 як приклад бета-герпесвірусу. Біопсія мозку й вірусологічний метод використовуються наразі рідко, здебільшого у складних для діагностики випадках. Методика ранньої культури при додаванні периферичної крові полегшує застосування вірусологічного методу в клінічній практиці. Вірусологічний метод був інформативним лише у 8 із 11 пацієнтів з первинною HHV-6-інфекцією [17]. У культурі клітин вірус індукує специфічний цитопатичний ефект, що полягає в появі великих кулеподібних лімфоцитів із тільцями вірусних включень [22]. J. Luka зі співавт. показали можливість використання культури людських фібробластів MRC-5 для діагностики HHV-6-інфекції за допомогою вірусологічного методу [65]. Вірус також може бути культивований у лімфоцитах периферичної крові [20].

На сьогодні ПЛР витіснила вірусологічний метод у діагностиці HHV-6-нейроінфекції в людей. K. Wada зі співавт. використали мультиплексну real-time ПЛР для одночасної ідентифікації ДНК HSV-1, HHV-6 і HHV-7 у лікворі у 105 пацієнтів з клінічною картиною енцефаліту. Позитивні результати були отримані у 6,7 % випадків для HSV-1, у 9,5 % — для HHV-6 і 1,9 % — для HHV-7. J. Sassenscheidt зі співавт. використали 5'-ек-

зонуклеазну (TaqMan) кількісну *real-time* ПЛР для діагностики герпесвірусних інфекцій у реципієнтів алогенного кісткового мозку. Автори показали тісну асоціацію CMV і HHV-6, однак не HHV-7 з посттрансплантаційними ускладненнями в цієї категорії хворих.

J.O. Virtanen зі співавт. застосували паралельне проведення ПЛР і серологічних тестів для пошуку HHV-6 при клінічній картині неуточненого енцефаліту в 53 дітей. Визначалися IgG до HHV-6A (штам GS) і HHV-6B (штам Z29) методом непрямой імуофлуоресценції. Враховувалася авідність антитіл для діагностики нещодавньої інфекції. За серологічними даними діагноз HHV-6-енцефаліту було підтверджено в 11,3 % випадків. Однак тільки у 6 хворих ПЛР ідентифікувала ДНК HHV-6 у сироватці крові й лише у 2 — у лікворі. J. Fotheringham зі співавт. показали невідповідність між вірусним навантаженням, що демонструють ПЛР ліквору і патоморфологічні дослідження при лімбічному енцефаліті HHV-6-етіології. В астроцитах гіпокампів відзначалася активна репродукція вірусу, тоді як ПЛР цереброспінальної рідини не показувала високого вірусного навантаження [32].

Встановлено, що HHV-6A можна ідентифікувати методом ПЛР у сироватці крові й лікворі, у той час як HHV-6B — здебільшого в слині й клітинах крові. ДНК HHV-6A не відзначається в слині [10].

F. Vrossolo зі співавт. підкреслюють необхідність спеціального калібрування методик ПЛР при діагностиці HHV-6-нейроінфекції, що може зменшити наявні відмінності у результатах у різних клінічних центрах [19]. K. Kondo зі співавт. показали, що поліморфізм геному різних штамів HHV-6 може бути причиною хибнонегативних результатів ПЛР при реактивованій HHV-6-інфекції [53].

ПЛР сироватки крові може бути використана для встановлення діагнозу в разі протипоказань до люмбальної та субокципітальної пункції, однак діагностична інформативність таких тестів при нейроінфекції обмежена. За даними мультицентрового проспективного дослідження, проведеного M. Ogata зі співавт., ДНК HHV-6 з'являється у сироватці крові реципієнтів алогенних стовбурових клітин крові на 14-ту — 27-му добу після трансплантації в 48 % випадках, що є предиктором подальшого розвитку енцефаліту. Однак D.A. Clark зі співавт. показали, що ПЛР сироватки крові позитивна лише в 50 % випадків при первинній HHV-6-інфекції, що потребує застосування додаткових методів діагностики [28]. Це пов'язано із використанням вірусом трансневрального шляху міграції до ЦНС [45]. S. Yalcin зі співавт. продемонстрували діагностичну користь ПЛР лейкоцитів крові при синдромі хронічної втоми HHV-6-етіології. G.S. Magalhães зі співавт. показали інформативність ПЛР сироватки крові або феномену антигенемії в діагностиці HHV-6-нейроінфекції в реципієнтів алогенної печінки (n = 20) за наявності типової клінічної картини, що дозволяє уникнути

багаторазового проведення травматичної люмбальної пункції в імуноскомпрометованих пацієнтів, які переносять множинні епізоди вірусного ураження нервової системи [67].

M. Pira зі співавт. показали доцільність використання прямої ідентифікації HHV-6 у зразках сироватки крові за допомогою методу LAMP (loop-mediated isothermal amplification). Чутливість, специфічність, позитивний і негативний предиктивний індекси становили 93,8; 96,0; 95,8 і 94,2 % відповідно [47].

V. Descamps зі співавт. засвідчили інформативність ПЛР слини при діагностиці DHS/DRESS, асоційованого з HHV-6 [34]. M. Tanaka зі співавт. продемонстрували доцільність визначення ДНК HHV-6 у слині методом ПЛР з розрахунком вірусного навантаження при синдромі хронічної втоми, асоційованому з цим вірусом. Ми встановили, що в пацієнтів з HHV-6-індукованою скроневою медіанною епілепсією в слині відзначається вірогідно вище вірусне навантаження, сформоване HHV-6, ніж у здорових осіб із безсимптомним носійством вірусу.

Використання ПЛР у режимі зворотної транскрипції з визначення фрагмента U27 мРНК HHV-6 є інформативнішим, ніж *real time* ПЛР, при патоморфологічному аналізі оскільки не лише показує присутність геному вірусу в тканині, але й вказує на активну транскрипцію, що відзначається при продуктивній інфекції. Цей метод дозволяє коректно відрізнити хромосомно-інтегровану HHV-6-інфекцію від реактивованої за наявністю мРНК вірусу в останньому випадку. Крім того, при хромосомно-інтегрованій інфекції відзначається велика кількість ДНК HHV-6 у волосяних фолікулах, що може бути використане як диференційний тест.

Імуноморфологічні тести з ідентифікацією антигенів GS HHV-6A і Z29 HHV-6B можуть бути альтернативою ПЛР, однак мають меншу чутливість [24]. D. Buchwald зі співавт. також застосували ідентифікацію білків HHV-6 у лікворі за допомогою моноклональних антитіл, однак чутливість цього методу була нижчою, ніж така при культивуванні вірусу в лімфоцитах периферичної крові [20].

Серологічні тести проводять за допомогою непрямой імуофлуоресценції, імуоферментного аналізу або імуносорбентного дослідження. Під час гострої інфекції відзначаються специфічні IgM у сироватці крові, хоча часто трапляються хибнонегативні результати. Так, C. Rudin, H.H. Hirsch виявили специфічні IgM тільки в 16 із 22 дітей з раптовою екзантемою HHV-6-етіології. Визначення концентрації IgM до раннього антигену HHV-6 (p41/38) є інформативним тестом для діагностування синдрому хронічної втоми, асоційованого з цим вірусом. J.D. Fox зі співавт. показали, що специфічні IgM з'являються в сироватці крові не тільки під час первинної HHV-6-інфекції, а й у гостру фазу реактивації вірусу після тривалого періоду персистенції [38].

Вивчення феномену інтратекального синтезу IgG до раннього антигену HHV-6 інформативне в діагностиці енцефаліту й менінгіту, викликаного цим вірусом, особливо в разі хибнонегативних результатів ПЛР. Підвищення концентрації специфічних IgG у лікворі є менш інформативним, оскільки можлива дифузія цих імуноглобулінів із сироватки крові при порушенні проникності гематоенцефалічного бар'єру, однак цей підхід іноді застосовувався на практиці. Олігоклональні смуги імуноглобулінів у лікворі також можуть бути використані для підтвердження діагнозу в складних клінічних випадках.

Серологічні тести з визначенням специфічних імуноглобулінів у крові можуть бути застосовані при діагностиці синдрому хронічної втоми, асоційованому з HHV-6, однак не енцефалітів, менінгітів і мієлітів. S.E. Carricart зі співавт. продемонстрували, що в разі персистенції вірусу синтезуються специфічні IgG1, тоді як при його реактивації має місце одночасна продукція IgG1 і IgG4, що може бути використане в диференціальній діагностиці [21]. P.V. Coyle зі співавт. вивчили інформативність трьох методів ідентифікації антитіл проти HHV-6 і показали, що циркулярна імунодетекція й радіоімунний метод чутливіші за непрямую імунофлуоресценцію [29]. С. Cermelli зі співавт. підтвердили ідентичність результатів ELISA та імуоферментного аналізу при серологічній діагностиці реактивованої HHV-6-інфекції [24].

K.N. Ward зі співавт. показали можливість вивчення авідності специфічних антитіл для диференціації первинної й реактивованої HHV-6-інфекції. Натомість J. Gutiérrez зі співавт. продемонстрували, що визначення авідності специфічних IgA є чутливішим і специфічнішим методом діагностики реактивованої HHV-6-інфекції, ніж вивчення авідності противірусних IgG [44].

Сероконверсія й метод парних сироваток застосовувалися деякими дослідниками [43], однак у цілому ці підходи використовуються на практиці досить обмежено у зв'язку з ретроспективністю підтвердження діагнозу. К. Yao із співавт. показали майже повну відповідність результатів ПЛР цереброспінальної рідини й визначення в лікворі специфічних IgM й аномально підвищеної концентрації противірусних IgG при HHV-6-енцефаліті. Однак виявлення високої концентрації специфічних IgG у сироватці крові не є прямим доказом реактивованої HHV-6-інфекції, а ідентифікація високого титру противірусних IgG в лікворі — наявності збудника в ЦНС, окрім пацієнтів з гіпо- і агаммаглобулінемією.

При інтерпретації результатів серологічних досліджень слід враховувати, що антитіла до CMV при первинній інфекції можуть перехресно реагувати з протеїнами HHV-6 [12]. При поліклональній активації В-лімфоцитів під час EBV-інфекції можуть синтезуватися антитіла, які проявляють певну специфічність

до HHV-6, що слід враховувати у хворих із розсіяним склерозом і EBV-нейроінфекцією [33].

Висновки

Сучасна діагностика герпесвірусних нейроінфекцій ґрунтується на трьох засадах: клінічній картині хвороби, даних нейровізуалізації та результатах лабораторних методів для ідентифікації вірусу. Ґрунтовні знання клінічної картини герпесвірусних уражень нервової системи, включаючи характеристики основних клінічних форм нейроінфекцій, дозволяють правильно спланувати алгоритм інструментальних нейровізуалізаційних досліджень і підібрати доцільний пакет лабораторних тестів у кожному конкретному випадку. Для визначення потреби у виконанні тих чи інших лабораторних досліджень, спрямованих на виявлення інфекційного агента, слід визначити досліджуваний спектр збудників, поточну клінічну форму нейроінфекції, найбільш ймовірний шлях проникнення вірусу до ЦНС, тяжкість стану хворого й враховувати особливості результатів нейровізуалізації та оцінки імунного статусу. На сьогодні немає ідеального методу верифікації діагнозу при герпесвірусних ураженнях нервової системи. Негативні результати ПЛР ліквору не дозволяють повністю виключити нейроінфекцію, якщо мають місце позитивні клінічні та інструментальні дані, так само як навіть різко підвищений, маргінальний титр IgG до вірусу в сироватці крові не є прямим показанням для призначення противірусної терапії. Натомість ПЛР сироватки крові може бути застосована для діагностики синдрому хронічної втоми, асоційованого з реактивованою герпесвірусною інфекцією, а ПЛР слини — для верифікації індукованих альфа-герпесвірусами уражень трійчастого і лицього нервів, з яких вірус трансневрально може потрапити до слинних залоз. Науково обґрунтованим є мультиплексний підхід до діагностики герпесвірусних нейроінфекцій з одночасним проведенням ПЛР ліквору, порівняльних серологічних досліджень і визначенням специфічних IgM у цереброспінальній рідині, що дозволяє подолати недоліки різних методів діагностики та швидко встановити правильний діагноз навіть у складних клінічних випадках.

Список літератури

1. Евтушенко С.К., Москаленко М.А. Случай менингомиелополирадикулоневрита, ассоциированного с вирусом герпеса 6-го типа, у ребенка в возрасте 1 года 5 месяцев // *Международный неврологический журнал*. — 2012. — № 5. — С. 134-137.
2. Евтушенко С.К., Воронова А.В. Герпесвирусный энцефалит и эпилептический синдром у детей // *Детская неврология*. — 2014. — № 2. — С. 34-39.
3. Лісяний М.І., Мальцев Д.В., Мішина В.В. Ізольований дефіцит IgM: клініка, діагностика і лікування // *Лабораторна діагностика*. — 2015. — № 3. — С. 45-56.
4. Мальцев Д.В. Дефіцит специфічних антитіл: клініка, діагностика, лікування // *Лабораторна діагностика*. — 2015. — № 2 (72). — С. 40-49.

5. Мальцев Д.В. Дефіцит субкласів IgG: клініка, діагностика, лікування // *Клінічна імунологія, алергологія, інфектологія*. — 2015. — № 5–6 (84–85). — С. 8–18.
6. Мальцев Д.В. Прогресуюча мультифокальна лейкоенцефалопатія, асоційована з вірусом герпесу людини 6-го типу // *Укр. мед. часопис*. — 2012. — 1 (87). — С. 136–142.
7. Мальцев Д.В., Казмірчук В.Є. Модифікована методика порівняльних серологічних досліджень для діагностики персистуючої герпесвірусної нейроінфекції // *Лабораторна діагностика*. — 2011. — № 3 (57). — С. 24–30.
8. Мальцев Д.В., Казмірчук В.Є., Євтушенко С.К. До питання сучасної клініко-вірусологічної класифікації герпесвірусних нейроінфекцій // *Міжнародний неврологічний журнал*. — 2012. — № 2 (48). — С. 65–71.
9. Мальцев Д.В., Недопако Я.Я. Дефіцит природних кілерів: гетерогенність, клініка, діагностика, лікування, клінічні приклади // *Український медичний часопис*. — 2013. — № 2 (94). — С. 129–142.
10. Adler A.C., Kadimi S., Apaloo C., Marcu C. Herpes simplex encephalitis with two false-negative cerebrospinal fluid PCR tests and review of negative PCR results in the clinical setting // *Case Rep. Neurol.* — 2011. — Vol. 3(2). — P. 172–178.
11. Akter T., Tabassum S., Jahan M. et al. Isolation of herpes simplex viruses by chick embryo culture // *Mymensingh. Med. J.* — 2013. — Vol. 22(2). — P. 365–369.
12. An S.F., Groves M., Martinian L. et al. Detection of infectious agents in brain of patients with acute hemorrhagic leukoencephalitis // *J. Neurovirol.* — 2002. — Vol. 8 (5). — P. 439–446.
13. Barón J., Herrero-Velázquez S., Ruiz-Piñero M. et al. Encephalitis due to the Epstein-Barr virus: a description of a clinical case and review of the literature // *Rev. Neurol.* — 2013. — Vol. 57 (10). — P. 451–454.
14. Borish L., Ayars A.G., Kirkpatrick C.H. Common variable immunodeficiency presenting as herpes simplex virus encephalitis // *J. Allergy Clin. Immunol.* — 2011. — Vol. 127 (2). — P. 541–543.
15. Broccolo F., Lusso P., Malnati M. Calibration technologies for correct determination of Epstein-Barr Virus, human herpesvirus 6 (HHV-6), and HHV-8 antiviral drug susceptibilities by use of real-time-PCR-based assays // *J. Clin. Microbiol.* — 2013. — Vol. 51(6). — 2013.
16. Carricart S.E., Bustos D., Biganzoli P. et al. Isotype immune response of IgG antibodies at the persistence and reactivation stages of human herpes virus 6 infection // *J. Clin. Virol.* — 2004. — Vol. 31 (4). — P. 266–269.
17. Caserta M.T. Human Herpesvirus 6 Infection of the Central Nervous System // *Curr. Infect. Dis. Rep.* — 2004. — Vol. 6(4). — P. 316–321.
18. Caucheteux N., Maarouf A., Daelman L. et al. Acute disseminated encephalomyelitis in two renal transplant patients: is there a role for Epstein-Barr virus reactivation? // *Mult. Scler.* — 2013. — Vol. 19 (9). — P. 1222–1225.
19. Chapman M.D., Thompson E.J., Candler P.M. et al. Quantitative demonstration of intrathecal synthesis of high affinity immunoglobulin G in herpes simplex encephalitis using affinity-mediated immunoblotting // *J. Neuroimmunol.* — 2007. — Vol. 185 (1–2). — P. 130–135.
20. Chen J., Fu Y., Ju L. et al. Detection and identification of viral pathogens in patients with hand, foot, and mouth disease by multilocus PCR, reverse-transcription PCR and electrospray ionization mass spectrometry // *J. Clin. Virol.* — 2014. — Vol. 59 (2). — P. 115–119.
21. Denes E., Labach C., Durox H. et al. Intrathecal synthesis of specific antibodies as a marker of herpes simplex encephalitis in patients with negative PCR // *Swiss Med. Wkly.* — 2010. — Vol. 140. — w13107.
22. Denne C., Kleines M., Dieckhöfer A. et al. Intrathecal synthesis of anti-viral antibodies in pediatric patients // *Eur. J. Paediatr. Neurol.* — 2007. — Vol. 11 (1). — P. 29–34.
23. Derfuss T., Hohlfeld R., Meinl E. Intrathecal antibody (IgG) production against human herpesvirus type 6 occurs in about 20 % of multiple sclerosis patients and might be linked to a polyspecific B-cell response // *J. Neurol.* — 2005. — Vol. 252 (8). — P. 968–971.
24. Descamps V., Avenel-Audran M., Valeyrie-Allanore L. et al. Saliva polymerase chain reaction assay for detection and follow-up of herpesvirus reactivation in patients with drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms (DRESS) // *JAMA Dermatol.* — 2013. — Vol. 149 (5). — P. 565–569.
25. Fotheringham J., Donati D., Akhyani N. et al. Association of human herpesvirus-6B with mesial temporal lobe epilepsy // *PLoS Med.* — 2007. — Vol. 4 (5). — e180.
26. Francisci D., Sensini A., Fratini D. et al. Acute fatal necrotizing hemorrhagic encephalitis caused by Epstein-Barr virus in a young adult immunocompetent man // *J. Neurovirol.* — 2004. — Vol. 10 (6). — P. 414–417.
27. Frías C., Matas L., Ferré X. et al. Usefulness of adding multiplex nested-polymerase chain reaction assay of cerebrospinal fluid samples to routine diagnostic testing for herpesvirus encephalitis // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* — 2001. — Vol. 20 (9). — P. 670–672.
28. Gärtner B.C., Hess R.D., Bandt D. et al. Evaluation of four commercially available Epstein-Barr virus enzyme immunoassays with an immunofluorescence assay as the reference method // *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* — 2003. — Vol. 10 (1). — P. 78–82.
29. Gautschi O., Berger C., Gubler J., Laube I. Acute respiratory failure and cerebral hemorrhage due to primary Epstein-Barr virus infection // *Respiration.* — 2003. — Vol. 70 (4). — P. 419–422.
30. Go T., Nakamura K. Frequent seizures with elevated interleukin-6 at the eruptive stage of exanthema subitum // *Eur. J. Paediatr. Neurol.* — 2002. — Vol. 6 (4). — P. 221–223.
31. Harberts E., Yao K., Wohler J.E. et al. Human herpesvirus-6 entry into the central nervous system through the olfactory pathway // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2011. — Vol. 108(33). — P. 13734–13739.
32. Hjalmarsson A., Granath F., Forsgren M. et al. Prognostic value of intrathecal antibody production and DNA viral load in cerebrospinal fluid of patients with herpes simplex encephalitis // *J. Neurol.* — 2009. — Vol. 256 (8). — P. 1243–1251.
33. Ihira M., Sugiyama H., Enomoto Y. et al. Direct detection of human herpesvirus 6 DNA in serum by variant specific loop-mediated isothermal amplification in hematopoietic stem cell transplant recipients // *J. Virol. Methods.* — 2010. — Vol. 167 (1). — P. 103–106.
34. Ito T., Watanabe A., Akabane J. Acute disseminated encephalomyelitis developed after acute herpetic gingivostomatitis // *Tohoku J. Exp. Med.* — 2000. — Vol. 192 (2). — P. 151–155.
35. Julin J.E., van Burik J.H., Krivit W., Webb et al. Ganciclovir-resistant cytomegalovirus encephalitis in a bone marrow transplant recipient // *Transpl. Infect. Dis.* — 2002. — Vol. 4 (4). — P. 201–206.

36. Kamei S., Takasu T., Morishima T., Mizutani T. Serial changes of intrathecal viral loads evaluated by chemiluminescence assay and nested PCR with acyclovir treatment in herpes simplex virus encephalitis // *Intern. Med.* — 2004. — Vol. 43 (9). — P. 796-801.
37. Kondo K., Yamanishi K. HHV-6A, 6B, and 7: molecular basis of latency and reactivation // Arvin A., Campadelli-Fiume G., Mocarski E., Moore P.S., Roizman B., Whitley R., Yamanishi K., ed. *Human Herpesviruses: Biology, Therapy, and Immunoprophylaxis.* — Cambridge: Cambridge University Press. — 2007. — Chapter 47.
38. Kuriki A., Ishihara K., Satoh H. et al. Syndrome of inappropriate secretion of anti-diuretic hormone associated with limbic encephalitis due to herpes simplex virus infection — a case report // *Rinsho Shinkeigaku.* — 2008. — Vol. 48 (3). — P. 184-190.
39. Kuwahara S., Kawada M., Uga S., Mori K. A case of cerebellar meningo-encephalitis caused by Epstein-Barr virus (EBV): usefulness of Gd-enhanced MRI for detection of the lesions // *No To Shinkei.* — 2000. — Vol. 52 (1). — P. 37-42.
40. Lackner A., Kessler H.H., Walch C. et al. Early and reliable detection of herpes simplex virus type 1 and varicella zoster virus DNAs in oral fluid of patients with idiopathic peripheral facial nerve palsy: Decision support regarding antiviral treatment? // *J. Med. Virol.* — 2010. — Vol. 82 (9). — P. 1582-1585.
41. Legoff J., Feghoul L., Mercier-Delarue S. et al. Broad-range PCR-electrospray ionization mass spectrometry for detection and typing of adenovirus and other opportunistic viruses in stem cell transplant patients // *J. Clin. Microbiol.* — 2013. — Vol. 51 (12). — P. 4186-4192.
42. Lerner A.M., Ariza M.E., Williams M. et al. Antibody to Epstein-Barr virus deoxyuridine triphosphate nucleotidohydrolase and deoxyribonucleotide polymerase in a chronic fatigue syndrome subset // *PLoS One.* — 2012. — 7 (11). — e47891.
43. Lim H.K., Seppänen M., Hautala T. et al. TLR3 deficiency in herpes simplex encephalitis: high allelic heterogeneity and recurrence risk // *Neurology.* — 2014. — Vol. 83 (21). — P. 1888-1897.
44. Liu Q.F., Ling Y.W., Fan Z.P. et al. Epstein-Barr virus (EBV) load in cerebrospinal fluid and peripheral blood of patients with EBV-associated central nervous system diseases after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation // *Transpl. Infect. Dis.* — 2013. — Vol. 15 (4). — P. 379-392.
45. Majid A., Galetta S.L., Sweeney C.J. et al. Epstein-Barr virus myeloradiculitis and encephalomyeloradiculitis // *Brain.* — 2002. — Vol. 125 (Pt 1). — P. 159-165.
46. Mihály I., Kolozsi T., Liptai Z. et al. Experience with multiplex nested PCR and fluorescent antibody tests in the diagnosis of acute central nervous system infections with herpes simplex virus type 1 and 2 // *Orv. Hetil.* — 2010. — Vol. 151 (46). — P. 1896-1903.
47. Mirkinson L.J., Nagle D., Kadom N., Jones O.Y. Anakinra therapy in a child with systemic-onset juvenile rheumatoid arthritis after human herpesvirus 6 encephalitis // *J. Clin. Rheumatol.* — 2006. — Vol. 12 (2). — P. 83-86.
48. Miyashita T., Koayashi Z., Numasawa Y. et al. Epstein-Barr virus-associated meningitis presenting with hearing impairment // *Intern. Med.* 2012. — Vol. 51 (13). — P. 1755-1757.
49. Mori T., Tanaka-Taya K., Satoh H. et al. Transmission of chromosomally integrated human herpesvirus 6 (HHV-6) variant A from a parent to children leading to misdiagnosis of active HHV-6 infection // *Transpl. Infect. Dis.* — 2009. — Vol. 11 (6). — P. 503-506.
50. Moschetti D., Franceschini R., Vaccaro N.M. et al. Human herpesvirus-6B active infection associated with relapsing bilateral anterior optic neuritis // *J. Clin. Virol.* — 2006. — Vol. 37 (4). — P. 244-247.
51. Nagel M.A., Gilden D. Update on varicella zoster virus vasculopathy // *Curr. Infect. Dis. Rep.* — 2014. — Vol. 16 (6). — P. 407.
52. Ogata M., Satou T., Kadota J., Saito N. et al. Human herpesvirus 6 (HHV-6) reactivation and HHV-6 encephalitis after allogeneic hematopoietic cell transplantation: a multicenter, prospective study // *Clin. Infect. Dis.* — 2013. — Vol. 57 (5). — P. 671-681.
53. Ringelstein E.B., Sobczak H., Pfeifer B., Hacke W. Polyradiculomeningoencephalitis caused by Epstein-Barr virus infection — description of a case with fatal outcome // *Fortschr. Neurol. Psychiatr.* — 1984. — Vol. 52 (3). — P. 73-82.
54. Sassenscheidt J., Rohayem J., Illmer T., Bandt D. Detection of beta-herpesviruses in allogeneic stem cell recipients by quantitative real-time PCR // *J. Virol. Methods.* — 2006. — Vol. 138 (1-2). — P. 40-48.
55. Scalia G., Palermo C., Maiolino L. et al. Detection of serum IgA to HSV1 and its diagnostic role in sudden hearing loss // *New Microbiol.* — 2013. — Vol. 36 (1). — P. 41-47.
56. Sheybani F., Arabikhan H.R., Naderi H.R. Herpes Simplex Encephalitis (HSE) and its outcome in the Patients who were Admitted to a Tertiary Care Hospital in Mashhad, Iran, over a 10-year Period // *J. Clin. Diagn. Res.* — 2013. — Vol. 7 (8). — P. 1626-1628.
57. Shoji H. Herpes encephalitis // *Nihon Rinsho.* — 2006. — Vol. 64 (3). — P. 264-267.
58. Steiner I., Benninger F. Update on herpes virus infections of the nervous system // *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* — 2013. — Vol. 13 (12). — P. 414.
59. Stjernquist-Desatnik A., Skoog E., Aurelius E. Detection of herpes simplex and varicella-zoster viruses in patients with Bell's palsy by the polymerase chain reaction technique // *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* — 2006. — Vol. 115 (4). — P. 306-311.
60. Strick L.B., Wald A. Diagnostics for herpes simplex virus: is PCR the new gold standard? // *Mol. Diagn. Ther.* — 2006. — Vol. 10 (1). — P. 17-28.
61. Sundén B., Larsson M., Falkeborn T. et al. Real-time PCR detection of human herpesvirus 1-5 in patients lacking clinical signs of a viral CNS infection // *BMC Infect. Dis.* — 2011. — Vol. 11. — P. 220.
62. Tanaka M., Shigihara Y., Funakura M. et al. Fatigue-associated alterations of cognitive function and electroencephalographic power densities // *PLoS One.* — 2012. — Vol. 7 (4). — P. e34774.
63. Virtanen J.O., Herrgård E., Valmari P. et al. Confirmed primary HHV-6 infection in children with suspected encephalitis // *Neuropediatrics.* — 2007. — Vol. 38 (6). — P. 292-297.
64. Wada K., Mizoguchi S., Ito Y. et al. Multiplex real-time PCR for the simultaneous detection of herpes simplex virus, human herpesvirus 6, and human herpesvirus 7 // *Microbiol. Immunol.* — 2009. — Vol. 53 (1). — P. 22-29.
65. Ward K.N., Turner D.J., Parada X.C., Thiruchelvam A.D. Use of immunoglobulin G antibody avidity for differentiation of primary human herpesvirus 6 and 7 infections // *J. Clin. Microbiol.* — 2001. — Vol. 39 (3). — P. 959-963.
66. Yao K., Honarmand S., Espinosa A. Detection of human herpesvirus-6 in cerebrospinal fluid of patients with encephalitis // *Ann. Neurol.* — 2009. — Vol. 65 (3). — P. 257-267.
67. Zephir H., De Seze J., Ferriby D. et al. Epstein-Barr meningoencephaloradiculitis in a immunocompetent woman // *Rev. Neurol. (Paris).* — 2002. — Vol. 158 (8-9). — P. 830-832.

Отримано 22.02.16 ■

Мальцев Д.В., Евтушенко С.К.

Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, г. Киев, Украина

Харьковская медицинская академия последипломного образования, г. Харьков, Украина

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ДИАГНОСТИКЕ ГЕРПЕСВИРУСНЫХ НЕЙРОИНФЕКЦИЙ (НАУЧНЫЙ ОБЗОР)

Резюме. В данной статье детально рассмотрены диагностические возможности современных лабораторных методов верификации диагноза герпесвирусных нейроинфекций человека. Основные известные методы лабораторной диагностики разделены по 3 диагностическим уровням в зависимости от информативности и достоверности их результатов. Современная диагностика герпесвирусных нейроинфекций основывается на трех опорных пунктах: клинической картине болезни, данных нейровизуализации и результатах лабораторных методов идентификации вируса. Основательные знания клинической картины герпесвирусных поражений нервной системы, включая характеристики основных клинических форм нейроинфекций, позволяют правильно спланировать рациональный алгоритм инструментальных нейровизуализационных исследований и по-

добрать целесообразный пакет лабораторных тестов в каждом конкретном случае. На данный момент нет идеального лабораторного метода верификации диагноза при герпесвирусных поражениях нервной системы. Научно обоснованным является мультиплексный подход к диагностике герпесвирусных нейроинфекций с одновременным проведением полимеразной цепной реакции ликвора, сравнительных серологических исследований (расчет индекса специфических сывороточных/ликворных IgG) и определением специфических IgM в цереброспинальной жидкости, который позволяет преодолеть недостатки различных методов лабораторной диагностики и быстро установить правильный диагноз даже в сложных клинических случаях.

Ключевые слова: герпесвирусы, нейроинфекция, лабораторная диагностика.

Maltsev D.V., Yevtushenko S.K.

National Medical University named after O.O. Bohomolets, Kyiv, Ukraine

Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Kharkiv, Ukraine

CURRENT APPROACHES TO THE DIAGNOSIS OF HERPESVIRUS NEUROINFECTIONS (SCIENTIFIC REVIEW)

Summary. This article carefully considered the diagnostic capabilities of modern laboratory methods for verification of the diagnosis of human herpesvirus neuroinfections. The main known methods of laboratory diagnostics are divided based on 3 diagnostic levels depending on the informativeness and accuracy of their results. Modern diagnostics of herpesvirus neuroinfections is based on three reference points: the clinical picture of the disease, neuroimaging data and the results of laboratory methods to identify the virus. Thorough knowledge of clinical picture in herpesvirus lesions of the nervous system, including the characteristics of the main clinical forms of neuroinfection, enables to plan the rational algorithm of instrumental neuroimaging studies and

to choose the suitable package of laboratory tests in each case. At the moment, there is no ideal laboratory method for verifying the diagnosis in herpesvirus lesions of the nervous system. A multiplex approach to the diagnosis of herpesvirus neuroinfections with simultaneous polymerase chain reaction of the liquor, comparative serological studies (calculation of the index of specific serum/cerebrospinal fluid IgG) and the determination of specific IgM in the cerebrospinal fluid is scientifically sound, which makes it possible to overcome the disadvantages of the various methods of laboratory diagnostics and to establish quickly the correct diagnosis even in difficult clinical situations.

Key words: herpesviruses, neuroinfection, laboratory diagnostics.