

4. *Ентерококи у біотопах хворих на лейкемію / А.П. Рибальська, Л.М. Немировська, О.А. Мельник, Н.К. Скачкова, О.О. Федоровська // Укр. журн. гематол. та трансфузіології. — 2010. — № 4. — С. 31–34.*
5. *Кліменко С.В. Лікування інвазійних грибкових інфекцій у пацієнтів онкогематологічного профілю // Здоров'я України. — 2009. — № 1. — С. 16–17.*
6. *Критерії оцінки мікробіоценозу слизової оболонки глотки / Л.В. Колотилова, В.Б. Ломницька, Т.Д. Прунько, Г.В. Шишка // XIII з'їзд Українського наукового товариства мікробіологів, епідеміологів та паразитологів, Вінниця, 1996. — С.23.*
7. *Матлан В.Л. Профілактика та лікування інфекційних ускладнень в онкогематологічних хворих // Укр. журн. гематол. та трансфузіології. — 2006. — № 6. — С. 5–15.*
8. *Маянский А.Н. Микробиология для врачей. — Н. Новгород: Б.и., 1999. — 280 с.*
9. *Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений / Приказ МЗ СССР № 535 от 22 апреля 1985 года. — М., 1985. — 126 с.*
10. *Определитель бактерий Берджи / Под ред. Дж. Хоулта. — М.: Мир, 1997. — 800 с.*
11. *Янковский Д.С. Состав и функции микробиоценозов // Здоровье женщины. — 2003. — № 4 (16). — С. 145–148.*
12. *Rolston K.V.I. Challenges in the treatment of infections caused by gram-positive and gram-negative bacteria in patients with cancer and neutropenia // Clin. Infect. Diseases. — 2005. — № 40. — P. 246–252.*
13. *The yeasts. A taxonomic study / Ed. Kurtzman et Fell. — Elsevier: Amsterdam etc., 1998. — 1055 p.*
14. *Viscoli C., Varnier O., Machetti M. Infections in patients with febrile neutropenia: epidemiology, microbiology and risk stratification // Clin. Infect. Diseases. — 2005. — № 40. — P. 240–245.*

МИКРОФЛОРА ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ КАК ФАКТОР ИНФЕКЦИОННО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У БОЛЬНЫХ ЛЕЙКЕМИЕЙ МИЕЛОИДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Е.А. Мельник

Исследована микрофлора носовой полости и зева 28 больных острой миелоидной лейкемией и 28 больных хронической миелоидной лейкемией. Установлены дисбиотические нарушения в микробиоценозах верхних дыхательных путей пациентов. Определены прогностические микробиологические критерии риска возникновения инфекционно-воспалительных осложнений у больных лейкемией миелоидного происхождения.

MICROFLORA OF OVERHEAD RESPIRATORY TRACTS AS FACTOR OF INFECTIOUSLY-INFLAMMATORY COMPLICATIONS AT PATIENTS WITH MYELOID ORIGIN LEUKEMIA

Ye.A. Melnik

Microflora of nasal cavity and pharynx by 28 patients with acute myeloid leukemia and by 28 patients with chronic myeloid leukemia have been explored. Disbiotic violation in microbiocenoses of overhead respiratory tracts of patients have been directioned. Prognostic microbiological criteria of infectiously-inflammatory complications risk at patients with myeloid origin leukemia have been defined.

УДК 578.3+578.76+616.523

**І.В. Гомоляка¹, Д.Б. Старосила²,
Л.Д. Жаркова², С.Л. Рибалко²,
Н.Є. Ключкова¹**

МОРФОЛОГІЧНІ ТА ВІРУСОЛОГІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ, ВИКЛИКАНОЇ ВІРУСОМ ПРОСТОГО ГЕРПЕСУ 1 ТИПУ

*1 ДУ Національний інститут хірургії і трансплантології імені О.О. Шалімова НАМН України, м. Київ
2 ДУ Інститут епідеміології та інфекційних хвороб імені Л.В.Громашевського НАМН України, м.Київ*

Герпетичні інфекції — це група антропонозних інфекційних захворювань, які викликаються вірусами герпесу людини (ВГЛ) та перебігають у вигляді інапаратних, субклінічних і клінічно маніфестних форм.

Розмаїття клінічних проявів, особливості збудників, можливість їхнього поширення практично усіма відомими шляхами передачі спонукало Європейське регіональне бюро ВОЗ зарахувати герпетичні інфекції до групи хвороб, що вагомо впливають на майбутнє інфекційної патології [1, 3].

Незалежно від того, яким шляхом віруси герпетичної групи потрапляють в організм, початкове розмноження вірусу відбувається у вхідних воротах, далі він проникає в регіональні лімфатичні вузли, у кров і гематогенно заноситься у внутрішні органи. У центральну нервову систему, у мозок, віруси можуть проникати гематогенно та по нервовим стовбурам. Потрапивши в організм людини і пройшовши стадію первинної інфекції, вірус герпесу зберігається в ньому протягом усього життя — в латентній формі, у формі персистуючої інфекції з періодами реактивації.

Віруси герпетичної групи поширені повсюди і належить до політропних збудників; уражають різні тканини і викликають різноманітні клінічні форми захворювання. До найбільш розповсюджених ушкоджень відносяться ураження шкіри та слизових оболонок різної локалізації, тканин ока, генітальний герпес, вісцеральні ураження (пневмонії, гепатит, нефрити); ушкодження периферичної та центральної нервової системи [2, 4].

Найтиповіший представник ВГЛ — вірус простого герпесу 1 типу — ВПГ-1, або інакше ВГЛ-1, що викликає орофасціальний герпес. Вірусоносійство при ньому зустрічається більше, ніж у 90% людей і є однією з особливостей ВПГ-1, причому, вірус може виявлятися тільки на фоні імунодефіциту — чим більше виражений імунодефіцит, тим складніше перебігає хвороба:

з генералізацією процесу, ураженням ЦНС, легень, печінки та інших органів. Морфологічні характеристики герпетичних уражень досліджені мало, оскільки є досить неспецифічними. Однією із типових ознак ВПГ-1 є виявлення в тканинах характерних гігантських багатоядерних клітин з внутрішньоядерними включеннями.

Метою роботи було дослідження морфологічних змін у внутрішніх органах тварин, інфікованих різними дозами вірусу ВПГ-1, визначення реплікації вірусу герпесу в різних органах та співставлення результатів морфологічних і вірусологічних досліджень.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

В експерименті було використано 22 білі неінбредні миші обох статей масою тіла 18–20 г, яких утримували в стандартних умовах віварію; 5 мишей склали групу порівняння. Для проведення вказаних досліджень була використана модель герпетичного менінгоенцефаліту. Дана модель зручна для оцінки вираженості симптоматики, характеризується 100% відтворенням, не потребує додаткових контролей. Миші були заражені ВПГ-1 в розведеннях 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} та 10^{-4} шляхом введення в тканину мозку вірусної суспензії в об'ємі 0,03 мл. Наявність гострої герпетичної інфекції підтверджували за допомогою визначення інфекційного титру вірусу в тканинах головного мозку методом інфікування культур клітин RK-13 10-кратним розведенням суспензії тканини головного мозку.

В роботі був використаний ліофілізований ВПГ 1-го антигенного типу, штам VC, одержаний із музею вірусів інституту вірусології ім. Д.І. Івановського РАМН. Інфекційний титр по ЦПД в культурі клітин RK-13 становив 5,0–5,5 lg ТЦД₅₀, при внутрішньомозковому зараженні білих мишей 10-кратним розведенням суспензії тканини головного мозку летальність мишей становила — 4,0–4,5 lg ЛД₅₀.

Морфологічні та вірусологічні дослідження проводили на 3 (I гр.) та 5 (II гр.) добу від початку експерименту. В кожену групу увійшло по 8 мишей з різними дозами зараження. У 3 тварин було досліджено летальність, 3 тварини — здоровий контроль. Визначення інфекційного титру вірусу герпесу у внутрішніх органах інфікованих мишей проводили в культурі клітин RK13.

Внутрішні органи мишей (легені, нирки, печінку, серце, селезінку, мозок, периферичні нервові ганглії) фіксували в 10,0% нейтральному формаліні, обробляли за загальноприйнятою гістологічною методикою, парафінові зрізи забарвлювали гематоксиліном-еозином. Виявлені

зміни в органах мишей оцінювали напівкількісно за чотирма градаціями — не виявлено, 1+, 2+, 3+ з урахуванням ступеню вираженості дистрофічних та запальних змін, судинних реакцій.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У здорових тварин стан внутрішніх органів був в межах норми, мали місце незначні прояви дистрофічного процесу.

Летальність тварин, інфікованих ВПГ-1 складала 100% на 9 добу експерименту.

У тварин заражених ВПГ-1 патологічні зміни в органах були досить значними в усіх групах дослідження і їх вираженість залежала від дози вірусу. На 3 добу ураження мозку характеризувалось наявністю значних осередків некрозу, масивної гострої запальної інфільтрації, спостерігалась слабка дифузна лімфоїдна інфільтрація, набряк. Залежність від дози вірусу проявлялась зменшенням осередків ураження та зниженням інтенсивності запальної реакції (рис. 1). Репродукція вірусу герпесу у мозковій тканині була межах 2,5–3,0 lg ID₅₀.

В периферичній нервовій системі спостерігались різко виражені дистрофічні зміни, вакуолізація цитоплазми нервових клітин гангліїв, набряк, з чіткою залежністю від дози зараження та терміну дослідження (рис. 2).

Ураження легенів в даному експерименті було дифузним і помірним без осередків гострого запалення в альвеолярній тканині та перибронхіально, були також відсутні лімфоїдні реакції. Спостерігалась дифузна помірна інтерстиціальна інфільтрація, набряк, окремі крововиливи та осередки емфіземи, стази в капілярах. Репродукція вірусу герпесу була 2,0–2,5 lg ID₅₀. В залежності від дози спостерігалось поступове зменшення об'єму ураження і при дозі вірусу 10^{-1} легені майже повністю повітряні.

Ураження печінки виявилось дуже значним. Були виявлені крупні осередки білково-гідропічної дистрофії з переходом в лізис та некроз, крововиливи, дифузно-осередкова запальна інфільтрація. Виражені дегенеративні зміни супроводжувались значним поліморфізмом ядер гепатоцитів із значною часткою крупних ядер з майже прозорою каріоплазмою та дрібних темних ядер. Із підвищенням дози інфікування некротичні зміни зменшувались та зовсім зникали, але активувались печінкові макрофаги, зберігались осередки інтралобулярного запалення і дистрофії, посилювались запальна інфільтрація в області порталних трактів та явища пілефлебії. Інфекційний титр ВПГ-1 був вищий ніж у мозковій тканині і дорівнював 3,0 lg ID₅₀.

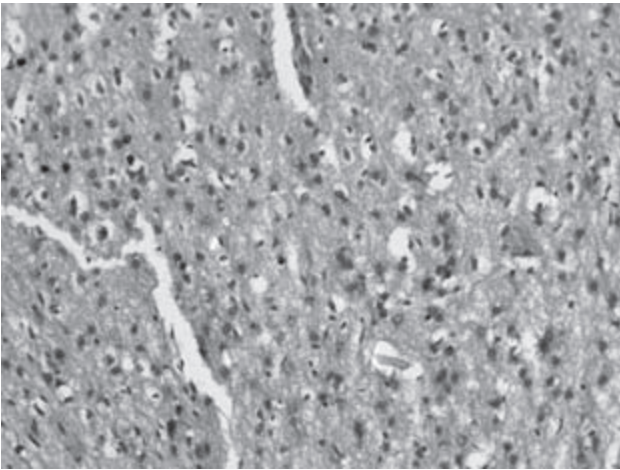


Рис. 1. Мозок тварини, інфікованої ВПГ-1. Вірусний енцефаліт, запальна інфільтрація тканини мозку. Забарвлення гематоксиліном-еозином. Збільшення ок. 10, об. 40

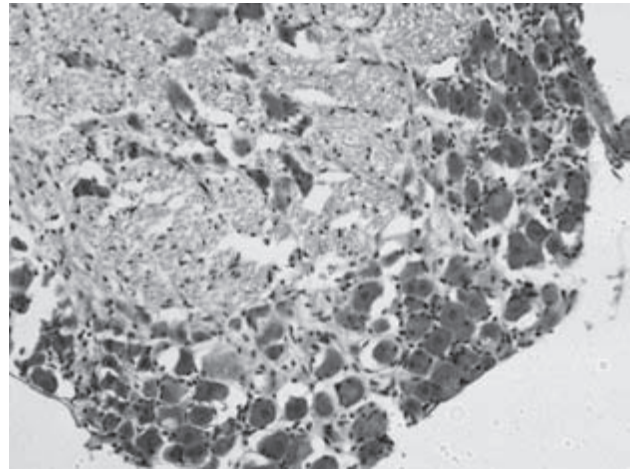


Рис. 2. Нервовий ганглії тварини, інфікованої ВПГ-1. Частковий некроз нервового ганглію. Забарвлення гематоксиліном-еозином. Збільшення ок. 10, об. 40

Герпетичне ураження нирок супроводжувалось вираженим каналіцевим некрозом, підвищенням клітинності клубочків, повнокров'ям, набряком та слабкою запальною інфільтрацією інтерстицію. Спостерігались також помірно розповсюджені явища артеріїту, ендотеліїту. Як і відносно інших органів спостерігалась зворотня залежність між вираженістю морфологічних змін та дозою вірусу. Репродукція вірусу герпесу для різних інфікуючих доз була на рівні 2,0–3,0 lg ID₅₀.

Вірусне ураження селезінки супроводжувалось або гіперплазією Т-клітинних зон, або при дозі інфекта 10⁻³ редукцією білої пульпи, появою осередків некрозу, колонізації селезінки коками. Реакція мегакаріоцитів, які є маркером проліферативної активності лімфоїдної тканини, досить різноманітна — мегакаріоцити або від-

сутні, або мають ознаки апоптозу, або навпаки, різко активовані. Доза 10⁻² викликала інтенсивну проліферацію лімфоїдної тканини, гіперплазію білої пульпи з формуванням реактивних центрів та появу великої кількості мегакаріоцитів, що свідчило про активну проліферативну активність лімфоїдної тканини (рис. 3). Рівень репродукції вірусу герпесу був 2,0–2,5 lg ID₅₀.

В міокарді спостерігались дифузні дистрофічно-запальні зміни з наявністю окремих досить значних периваскулярних лімфоїдних інфільтратів, осередкова виражена білкова дистрофія кардіоміоцитів та лізис окремих волокон. Зміни міокарду чітко залежали від дози зараження і зменшувались із збільшенням дози інфекту (рис. 4).

На 5 добу (II гр. спостереження) зміни у внутрішніх органах були помітно менш виражені-

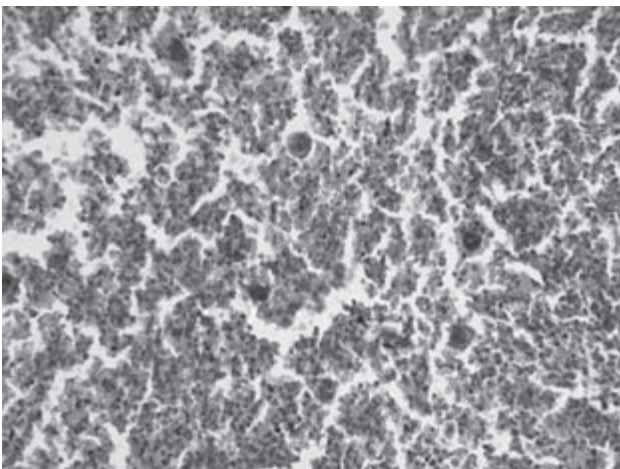


Рис. 3 Селезінка тварини, інфікованої ВПГ-1. Мегакаріоцити в червоній пульпі селезінки. Забарвлення гематоксиліном-еозином, збільшення ок. 10, об. 40

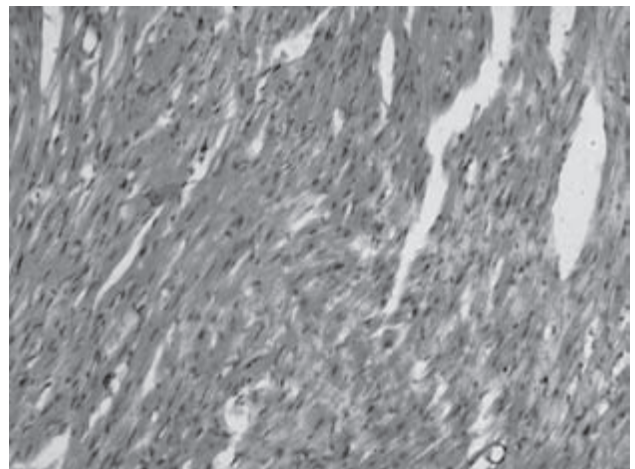


Рис. 4. Міокард тварини, інфікованої ВПГ-1. Дрібно осередкові дистрофічні зміни в міокарді. Нерівномірне забарвлення кардіоміоцитів. Забарвлення гематоксиліном-еозин. Збільшення ок. 10, об. 40

**Морфологічні зміни в органах експериментальних мишей,
заражених вірусом герпесу I типу в різних розведеннях**

Органи	Морфологічні зміни в органах мишей при різних дозах зараження							
	10 ⁻⁴		10 ⁻³		10 ⁻²		10 ⁻¹	
	1 гр., 3 доба	2 гр., 5 доба	1 гр., 3 доба	2 гр., 5 доба	1 гр., 3 доба	2 гр., 5 доба	1 гр., 3 доба	2 гр., 5 доба
Мозок	+++	++	+++	++	++	++	++	++
Легені	+++	+	++	+	++	++	+/-	++
Печінка	Н+++ 3+, Д+++	++	Н+ 3+, Д++	+++	Н+ 3++, Д++	++	Н-	.+
Селезінка	ГБП++ МКЦ+	+	ГБП- МКЦ-	+	ГБП- МКЦ-	+	ГБП+++ МКЦ+++	+
Ганглії	+++	+	++	+	+	+	+/-	+
Міокард	+++	+	++	++	++	+	+	+
Епікард	+++	+	++	+	++	+	+	+
Нирки	+++	+	++	+	++	+	+	+

Примітка. Н — некроз; 3 — запальна інфільтрація; Д — дистрофія; ГБП — гіперплазія білої пульпи; МКЦ — мегакаріоцити.

ми, ніж на 3 добу, хоча тип морфологічних змін залишався незмінним і полягав у переважанні дистрофічних процесів, в той час як запальні реакції були менше вираженими.

В табл. 1 наведені результати напівкількісної оцінки морфологічних змін в досліджених органах. В I гр. (3 доба) для печінки і селезінки наведені окремо дані щодо некрозу, запалення, дистрофії, гіперплазії білої пульпи та мегакаріоцитів, оскільки це має суттєве значення для оцінки процесу. В II гр. (5 доба) морфологічні зміни більш рівномірні, відсутні суттєві відмінності в їх вираженості. Тому напівкількісна оцінка представлена в узагальненому вигляді.

Результати наведені в табл. 1 свідчать, що в паренхіматозних органах спостерігається чітка тенденція до зменшення вираженості ураження при збільшенні дози ВПГ-1 при зараженні тварин. Виключення складає селезінка, оскільки встановлено, що при збільшенні дози ВПГ-1

при зараженні тварин зростає активність гіперпластичних процесів в лімфоїдній тканині. Відповідна залежність спостерігається і при порівнянні різних строків спостереження. Можливо, зменшення вираженості дистрофічно-запальних процесів в залежності від дози та терміну спостереження обумовлене зростанням опірності тварин до вірусу герпесу за рахунок відновлення та посилення лімфоїдних та гемопоетичних процесів.

Якщо розглянути виявлені морфологічні зміни відносно інтенсивності їх проявів в різних органах, то стає очевидним, що найбільш виражені зміни були виявлені в мозковій тканині, які є воротами інфікування, а наступна послідовність змін була такою — печінка, нирки, серце, селезінка, легені, ганглії.

В табл. 2 наведені показники інфекційного титру ВПГ-1, одержані при зараженні тварин різними дозами вірусу на 3 і 5 добу дослідження.

Таблиця 2

Інфекційні титри ВПГ-1 в експерименті

Органи	Інфекційні титри ВПГ-1 в органах мишей, заражених різними дозами (в lg ID ₅₀)								
	10 ⁻⁴		10 ⁻³		10 ⁻²		10 ⁻¹		Підсумок
	на 3 добу	на 5 добу	на 3 добу	на 5 добу	на 3 добу	на 5 добу	на 3 добу	на 5 добу	
Мозок	2,5	2,5	2,0	2,0	2,5	2,0	3,0	2,5	2,38 (2-3)
Легені	2,0	2,0	2,0	2,5	2,0	3,5	2,5	2,0	2,31 (2-3,5)
Печінка	3,0	3,0	3,0	2,5	2,5	3,0	3,0	2,0	2,75 (2-3,5)
Селезінка	2,5	2,5	2,0	2,5	2,0	2,0	2,0	2,0	2,19 (2-2,5)
Ганглії	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0 (2)
Міокард	3,0	2,5	2,0	3,0	2,5	2,0	2,0	2,0	2,38 (2-3)
Нирки	3,0	2,5	2,0	3,0	2,0	3,0	2,0	3,0	2,56 (2-3)
Підсумок	2,57 (2-3)	2,43 (2-3)	2,14 (2-3)	2,5 (2-3)	2,2 (2-2,5)	2,5 (2-3,5)	2,36 (2-3)	2,2 (2-3)	

За даними наведеними в табл. 2 рівень інфекційних титрів ВПГ-1 коливається в межах від 2,0 до 3,5, що свідчить про майже однаковий рівень вірусного навантаження в усіх досліджених органах. Якщо розглянути окремі органи, то стає очевидним, що розподіл інфекційних титрів дещо різний і за їх величиною органи розташовуються в такому порядку — печінка, нирки, мозок, серце, легені, селезінка, нервові ганглії. Ці дані майже повністю співпадають з результатами морфологічних спостережень, що свідчить про можливість наявності певного зв'язку між інфекційними титрами та морфологічними змінами в органах. Крім того, наявність вираженого вірусного навантаження в органах дає підстави вважати, що виявлені морфологічні зміни є результатом саме впливу вірусу.

Загалом при ураженні ВПГ-1 в органах переважають дистрофічні процеси різного ступеню вираженості — некротичні, некробіотичні зміни, білково-гідропічна та інші види дистрофій, набряк на фоні значного пригнічення лімфоїдної та гемопоетичної тканини. Виявлені зміни в паренхіматозних органах за своїми характеристиками відповідають гепатиту, гломерулонефриту, енцефаліту, міокардиту, невриту, неспецифічному ураженню легенів, реактивним змінам лімфоїдної тканини. Незважаючи на те, що виявлені зміни вважаються неспецифічними і можуть бути викликані різними чинниками, дистрофічно-запальний процес є типовим проявом вірусної інфекції, особливо за наявності інфекційного агента. Оскільки розповсюдженість вірусів герпетичної групи майже 100% досить вірогідним є припущення, що більшість дистрофічно-запальних процесів в значній мірі обумовлена наявністю персистуючої герпесвірусної інфекції.

Таким чином, в результаті проведених досліджень було показано, що при моделюванні герпетичного менингоенцефаліту з використанням низьких доз ВПГ-1 була отримана генералізована герпетична інфекція: менингоенцефаліт, неврит, гепатит, міокардит, пневмонія, нефрит на фоні вираженого ушкодження лімфоїдної тканини. Найбільш вираженими були зміни у тварин, заражених ВПГ-1 в розведенні 10^{-4} , найменш вираженими — 10^{-1} — спостерігалась зворотня залежність між рівнем інфікованості та вираженістю морфологічних змін в органах. Це нагадує феномен Магнуса, який спостерігається при пасажах нерозведеного вірусу грипу, коли виявляється невелика кількість вірусних часточок. Неповні або дефектні вірусні часточки (неповний вірус Магнуса) не проявляють інфекційних

властивостей, але аглютинують еритроцити і знаходяться у популяції вірусу у великій кількості [5]. Знання про цей феномен може мати важливе клінічне значення, оскільки відсутність лабораторних даних про наявність вірусу в організмі не виключає можливості активації неповних або дефектних вірусних часточок, які стають причиною розгортання картини вірусного ушкодження органів. Оцінка отриманих результатів з точки зору феномену Магнуса може пояснити виявлений зворотній зв'язок між дозою вірусу та вираженістю морфологічних змін, а також появу ознак вірусного ураження в органах при негативних результатах лабораторних досліджень.

ЛІТЕРАТУРА

1. Глинских Н.П. Герпесвирусы человека. Неизвестная эпидемия / Герпес. Сборник статей. — Смоленск: Полиграмма, 1997. — С. 57–65.
2. Исаков В.А., Архипова Е.И., Исаков Д.В. Герпесвирусные инфекции человека. — СПб.: СпецЛит., 2006. — 304 с.
3. Казмирчук В.Е., Мальцев Д.В. Клиника, диагностика и лечение герпесвирусных инфекций человека. — К.: Феникс. — 2009. — 247 с.
4. Хахалин Л.Н., Соловьева В.В. Герпесвирусные заболевания человека. Клиническая фармакология, терапия, 1995. — С. 78–81.
5. Magnus P. The influenza virus: its morphology, immunology and kinetics of multiplication // Influenza-la grippe, Bull. World Health Org. — 1953. — Vol. 8/5–6. — P. 647.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ВИРУСОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ ПРОСТОГО ГЕРПЕСА 1 ТИПА

И.В. Гомоляко, Д.Б. Старосила, Л.Д. Жаркова, С.Л. Рибалко, Н.Е. Клочкова

Моделирование генерализованной герпетической инфекции показало, что дистрофически-воспалительный процесс на фоне выраженного повреждения лимфоидной ткани является типичным проявлением вирусной инфекции. Существует обратная зависимость между дозой вируса и выраженностью морфологических изменений в органах схожая с феноменом Магнуса при гриппе. Полученные результаты объясняют развитие вирусных повреждений в органах при отрицательных результатах лабораторных исследований.

MORPHOLOGIC AND VIRUSOLOGIC CHARACTERISTICS OF HERPES SIMPLEX EXPERIMENTAL VIRAL INFECTION

I.V. Gomolyako, D.B. Starosyla, L.D. Jarkova, S.L. Ribalko, N.E. Klotchkova

Simulation of generalization herpetic infection showed, that dystrophic and inflammatory process in combination with pronounced injure of lymphoid tissue appears to be a typical manifestation of viral infection. The inverse relation exists between the dose of virus and expression of morphologic changes, which is similar to Magnus phenomenon when grippе. The resultes obtained make clear the origin of virus alteration in organs when negative laboratory tests.