

*На правах рукописи*

Бабик Рафия Касимовна

КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ  
ВИРУСНЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ У ДЕТЕЙ

14.01.09 – инфекционные болезни

14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

АВТОРЕФЕРАТ  
диссертации на соискание ученой степени  
доктора медицинских наук

Москва - 2013

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научные консультанты:**

академик РАМН,  
доктор медицинских наук, профессор

**Малеев Виктор Васильевич**

член-корреспондент РАМН,  
доктор медицинских наук профессор

**Долгушин Илья Ильич**

**Официальные оппоненты:**

**Милютина Людмила Никоновна**

доктор медицинских наук

*ведущий научный сотрудник клинического отдела инфекционной патологии ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора*

**Боковой Александр Григорьевич**

доктор медицинских наук, профессор

*профессор кафедры фундаментальной медицины Московского Государственного Университета им. М.В.Ломоносова*

**Караулов Александр Викторович**

член-корреспондент РАМН,  
доктор медицинских наук, профессор

*заведующий кафедрой клинической иммунологии и аллергологии ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова» Минздрава России.*

**Ведущая организация:** ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» Минздрава России

Защита состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2013 г. в \_\_\_\_\_ на заседании диссертационного совета Д 208.114.01 в ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора по адресу: 111123, г.Москва, ул.Новогиреевская, д. За.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора.

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2013 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор медицинских наук,  
профессор

**Горелов Александр Васильевич**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Высокая заболеваемость острыми кишечными инфекциями (ОКИ) детского населения, уступающая по своей частоте лишь респираторной патологии, частота неблагоприятных исходов болезни и низкий уровень лабораторной расшифровки диагнозов определили медицинскую и социальную значимость исследований, направленных на изучение этой проблемы. С открытием вирусных возбудителей кишечных инфекций человека (норо-, рота-, астро-, сапо-, аденовирусов группы F) и с разработкой методов их выявления появилась возможность уточнять причину большинства ОКИ неустановленной этиологии [Подколзин А.Т. и соавторы, 2004; Малеев В.В., Покровский В.И., 2004, 2005; Parashar U. et al., 2006, 2009; Ushijima H. et al., 2008; Rasanen S. et al., 2010 и др.]. Исследования последних лет показывают, что значение вирусных инфекций в кишечной патологии было недооценено во всем мире [Онищенко Г.Г., 2010; Logan C., O'Sullivan N., 2008]. Так, в ряде стран установлено, что в этиологической структуре ОКИ 60-90% составляют вирусы, вызывая заболевания, преимущественно, у детей раннего возраста [Glass R.I., et al., 2000; Giordano M. et al., 2001; Wit de M. et al., 2001; Chiba S. et al., 2002; Parashar U. et al., 2003, 2006 и др.]. В Российской Федерации из всех известных вирусных возбудителей ОКИ выявляются на практике только ротавирусы. При этом истинное место ротавирусной инфекции в структуре ОКИ не определено из-за ее гиподиагностики, в связи с применением несертифицированных диагностических методик.

С внедрением методов молекулярно-биологической диагностики возбудителей ОКИ в отдельных научно-исследовательских учреждениях Российской Федерации значительная доля кишечных заболеваний, относимых ранее к неустановленной этиологии, оказались вирусной природы [Малеев В.В., Покровский В.В., 2005; Тихомирова О.В. и соавт., 2005; Жираковская Е.В. и соавт., 2007; Боднев С.А. и соавт., 2008]. Представляет научно-практический интерес оценка клинических проявлений вирусных ОКИ, особенно, в возрастном аспекте. Тяжелые формы и неблагоприятные исходы кишечных инфекций отмечены у детей, преимущественно, в раннем возрасте [Мазанкова Л.Н., 2003; Новокшенов А.А., 2003; Горелов А.В., Милютин Л.Н., 2004; Тихомирова О.В., 2005; Mattner F. et al., 2006; Harris J.P. et al., 2008 и др.].

Вопросы патогенеза и формирования иммунных реакций при вирусных ОКИ во многом остаются неисследованными или спорными, что в значительной степени связано с трудностями этиологической диагностики. Согласно данным ряда зарубежных исследований, определенное влияние на течение заболевания мог оказывать генотип возбудителя, однако доступные результаты исследований неоднозначны [Cascio A. et al., 2001; Cunliffe N.A. et al., 2002; Griffin D.D. et al., 2002; Friesema I. et al., 2007]. Сведения о распространенности и клинической значимости отдельных генотипов вирусных возбудителей ОКИ, как в регионе, так и в Российской Федерации, к началу настоящего исследования отсутствовали.

Изучение вирусных ОКИ важно и для выявления особенностей сочетанных инфекций [Покровский В.И., Киселев О.И., 2002]. Клинические особенности микст инфекций недостаточно полно отражены в литературе, хотя в ряде работ есть указания на значительную их долю в структуре кишечной патологии у детей [Феклисова Л.В., 2003; Мазанкова Л.Н. и соавт., 2007; Милютин Л.Н., 2010].

Патогенами, способными к длительной персистенции, наиболее часто, являются вирусы простого герпеса I-II типов (ВПГ I-II) и цитомегаловирусы (ЦМВ) [Шахгильдян В.И. и соавт., 2004; Шульженко А.Е., 2005; Исаков В.А. и соавт., 2006; Боковой А.Г., 2007; Рябчук Ф.Н. и соавт., 2009]. Актуальность изучения герпетических инфекций ВПГ и ЦМВ этиологии обусловлена не только широкой циркуляцией этих вирусов, но и высокой частотой передачи их от матери ребенку [Долгих Т.И. и соавт., 2006]. Атипичный характер клинических проявлений герпетических инфекций при перинатальном заражении нередко затрудняет выявление заболеваний, потому и последствия

инфицирования для будущего здоровья детей явно недооцениваются [Нисевич Л.Л. и соавт., 2006; Долгих Т.Н. и соавт., 2011]. При этом манифестация внутриутробных герпетических инфекций (ВУИ) происходит не только у плода или у ребенка в периоде новорожденности, но и в более отдаленные сроки [Цинзерлинг В.А., Мельникова В.Ф., 2002]. Число детей с выраженными отдаленными последствиями ВУИ значительно превосходит число больных с герпетическими заболеваниями, диагностированными в периоде новорожденности [Учайкин В.Ф., 2004; Шабалов Н.П., 2006; Боковой А.Г., 2007; Черняховский О.Б. и соавт., 2009; Кулова А.А., 2009 и др.]. Хотя герпетические ВУИ как моно-инфекции исследованы достаточно детально, их влияние на течение ОКИ при суперинфицировании остается неясным.

Выявление иммунологических аспектов сочетанных инфекций приобретает особое значение, так как супрессивные свойства самих герпес вирусов, возможно, определяют снижение контроля и за другими возбудителями. Соотношение провоспалительных и противовоспалительных цитокинов недостаточно полно освещено в источниках научной литературы в аспекте иммунопатогенеза не только вирусных ОКИ, но и при герпетических инфекциях. В то же время исходы инфекций, в том числе и сочетанных, могут быть изменены в позитивную сторону при понимании механизмов развития системного воспалительного ответа в условиях ранней и достоверной диагностики уровня цитокинов [Караулов А.В. 2007, 2012; Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., 2008 и др.]. С этих позиций недостаточно полно оценена и роль метаболитов оксида азота (NO). Обладая свободно радикальными свойствами, NO контролирует многие биохимические процессы и функции организма [Марков Х.М., 2000; Ковальчук Л.В., Хараева З.Ф., 2003; Покровский В. И., Виноградов Н. А., 2005; Титов В.Н., 2007; Natoum O.A., Gauthier K.M., Binion D.G. et al., 2007]. Они являются не только вазодилататорами, но и медиаторами воспаления, иммуногенеза, о чем в последние годы получены убедительные данные [Покровский В. И., Виноградов Н. А., 2005]. Несмотря на определяющее патогенетическое значение NO, роль его при ряде инфекционных заболеваний изучена недостаточно, особенно, в педиатрии.

Таким образом, для повышения эффективности диагностики и лечения кишечных инфекций представляется необходимым исследование значимости вирусов в этиологической структуре ОКИ у детей на основе применения молекулярно-генетических методов, а также определение клинических, иммунологических, нитроксидергических аспектов моно- и сочетанных с герпес-вирусными инфекциями, выявление групп риска по неблагоприятному течению и развитию осложнений.

**Цель исследования:** оптимизация диагностики, прогнозирования и терапии вирусных кишечных инфекций моно- и сочетанных с герпетическими болезнями у детей путем выявления их клинико-иммунологических особенностей.

**Задачи исследования:**

1. Определить значимость рота-, норо-, астро- и аденовирусов группы F с учетом циркулирующих генотипов в этиологии моно- и сочетанных кишечных инфекций у детей.
2. Выявить клинико-лабораторные особенности моно- и микст - вирусных кишечных инфекций у детей в зависимости от их возраста, режимов вскармливания и наличия внутриутробного инфицирования ВПГ и/или ЦМВ, а также генотипов вирусов.
3. Оценить иммунологические показатели у детей, больных вирусными ОКИ, в том числе, сочетанными их формами с манифестными и латентными внутриутробными герпетическими инфекциями ВПГ и/или ЦМВ этиологии.
4. Оценить уровни метаболитов оксида азота и цитокинов при вирусных ОКИ и сочетанных с герпетическими инфекциями.

5. Выявить группы риска по тяжести форм заболевания вирусными ОКИ и разработать прогностические критерии неблагоприятного течения болезни.
6. Разработать алгоритм диагностики моно- и сочетанных вирусных кишечных с герпетическими (ВПГ и ЦМВ этиологии) инфекциями, и определить критерии прогнозирования их течения у детей.

### **Научная новизна**

Впервые показана роль различных генотипов ротавирусов, норовирусов, саповирусов, астровирусов, аденовирусов группы F в возникновении заболеваний у детей и определена значимость в течении моно - и микст кишечных инфекций. Установлена этиологическая роль и циркуляция редких генотипов G4[P8], P[8]G2, P[9]G3, G2[P4] ротавирусов группы A в клинических условиях. Выявлено преобладание GII.4 генотипа норовируса, а также второго генотипа астровирусов. Установлена связь генотипов вирусов с клиническими проявлениями ОКИ, в том числе, с синдромами токсикоза и эксикоза.

Показана зависимость особенностей течения вирусных ОКИ от возраста, вида вскармливания, функциональных нарушений кишечника ребенка. Доказана определяющая роль полноценного грудного вскармливания в повышении иммунологической реактивности и устранении метаболических нарушений при тяжелом течении ОКИ, герпетических инфекций.

В результате комплексного анализа иммунологических показателей крови выявлена дифференциальная значимость реакций отдельных звеньев иммунной системы в патогенезе моно- и сочетанных вирусных кишечных инфекций. Установлены неизвестные ранее взаимосвязи между увеличением показателей нитроксидергических процессов и снижением уровня провоспалительных цитокинов в крови детей, больных вирусными ОКИ, в зависимости от выраженности кишечных токсикозов и эксикозов.

Разработаны диагностические критерии и получены неизвестные ранее доказательства угнетения системного провоспалительного ответа, преимущественно, при манифестных формах внутриутробных герпетических инфекций у детей. Определены прогностические критерии развития и прогрессирования герпетических болезней, ВПГ и/или ЦМВ-ассоциированных.

Выявленная корреляционная взаимосвязь иммунологических маркеров вирусных кишечных инфекций и сочетанных их форм с герпетическими болезнями, обусловленными ВПГ I-II типа и ЦМВ, с тяжестью и клиническими проявлениями болезни позволили разработать прогностические критерии и сформировать группы риска по неблагоприятному течению заболеваний.

Патогенетически обоснована необходимость оптимизации комплексной терапии вирусных ОКИ в зависимости от риска развития неблагоприятного течения, в том числе и при сочетанных их формах с герпетическими болезнями.

### **Практическая значимость работы**

Показана необходимость в повседневной практике лабораторного круглогодичного скрининга вирусов возбудителей ОКИ молекулярно-генетическим методом.

Представлены дифференциально-диагностические критерии вирусных моно- и сочетанных ОКИ и алгоритм выявления латентных и манифестных форм внутриутробных герпетических инфекций, ассоциированных с ВПГ и ЦМВ.

Использование разработанных - на основании показателей иммунных и метаболических расстройств - прогностических критериев неблагоприятного течения вирусных кишечных инфекций и сочетанных форм с герпетическими болезнями ВПГ и ЦМВ этиологии позволит улучшить исходы заболевания и снизить экономические затраты на терапию.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Ведущую роль в этиологии ОКИ у детей занимают вирусы, которые оказывают существенное влияние на высокую частоту развития тяжелых форм болезни, протекающих с синдромами кишечного токсикоза и эксикоза в раннем возрасте.

2. Тяжесть и длительность течения вирусных ОКИ сопряжены с особенностями продукции цитокинов. Для легкой и среднетяжелой форм вирусных ОКИ характерна интенсивная секреция провоспалительных цитокинов. Тяжелая форма вирусных ОКИ протекала при низких концентрациях ряда провоспалительных и противовоспалительных цитокинов. Слабый ранний ответ интерферонов, а также противовоспалительных цитокинов замедляют элиминацию вируса.

3. Персистирующие герпес вирусы (ВПГ и ЦМВ) ингибируют раннюю продукцию цитокинов и нарушают формирование иммунного ответа у детей с сочетанными формами вирусных ОКИ.

4. Решающая роль в прогнозе течения вирусных кишечных инфекций отводится грудному вскармливанию. Наличие естественного вскармливания на первом году жизни ребенка уменьшает как шанс развития вирусных ОКИ, так и риск формирования тяжелых форм заболевания. Грудное вскармливание оказывает благоприятное влияние на цитокиновый статус ребенка, предупреждая симптоматику токсикоза и эксикоза при вирусных ОКИ.

5. Дефицит уровня провоспалительных цитокинов и чрезмерная нитроксидергическая продукция, ослабляя защитные механизмы организма, являются прогностическими факторами развития неблагоприятного течения вирусных кишечных инфекций.

### **Внедрения**

Основные положения и результаты исследования используются в повседневной практической работе инфекционных отделений Челябинской области, Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Челябинской области.

С учетом результатов исследования подготовлены клинично-организационные методические рекомендации Министерства здравоохранения Челябинской области для врачей-педиатров, инфекционистов: «Протоколы диагностики и лечения острых кишечных инфекций у детей» (2007), «Информационное письмо о критериях диагностики и лечения вирусных кишечных инфекций у детей» (2012), «Герпетические инфекции в практике педиатра» (2013).

Материалы диссертации используются в учебном процессе на кафедрах детских инфекционных болезней, педиатрии, микробиологии, иммунологии и аллергологии ГБОУ ВПО Южно-Уральского государственного медицинского университета, на циклах усовершенствования врачей-инфекционистов, педиатров дополнительного постдипломного образования ГБОУ ВПО Южно-Уральского государственного медицинского университета.

### **Апробация материалов диссертации**

Основные положения и результаты работы были представлены и доложены на областных научно-практических конференциях врачей-инфекционистов и эпидемиологов, педиатров (г. Челябинск, 2004, 2005, 2007, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013), Всероссийской конференции детских инфекционистов (г. Санкт-Петербург, 2005, 2007), Всероссийском Конгрессе педиатров-инфекционистов (г. Москва, 2009), Съезде педиатров России (г. Москва, 2009), профилактическом Форуме Уральского ФО (г. Челябинск, 2009), III Международном Форуме педиатров (Dubai, UAE, 2010), конференции иммунологов Урала (2010, 2011, 2012), педиатрическом форуме «Мать и дитя» (г. Челябинск, 2011, 2012).

По материалам диссертации опубликовано 43 печатных работ, из них 15 в рекомендуемых ВАК и 1 – зарубежных изданиях.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертационная работа изложена на 279 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы, посвященной описанию материала и методов исследований, трех глав собственных исследований, обсуждения результатов работы и заключения, выводов, практических рекомендаций, указателя литературы, включающего 222 отечественных и 330 зарубежных источников. Текст диссертации иллюстрирован 56 таблицами, 38 рисунками и 5 клиническими примерами.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материалы и методы исследования**

Работа выполнялась на базе инфекционных отделений МБУЗ "Детская клиническая больница № 8 г. Челябинска" с 2005 по 2011 гг. Объектом изучения были дети, больные вирусными ОКИ, в том числе и подвергшиеся внутриутробному инфицированию ВПГ и ЦМВ. Все диагностические и лечебные мероприятия у детей проводились с информированного согласия их родителей или официальных представителей.

В рамках проекта МНТЦ ВТЕР 58/ИСТС 2935 "Эпидемиология вирусных кишечных инфекций в России: разработка новых подходов для выявления и характеристики возбудителей" был проведен лабораторный скрининг фекалий методом ПЦР у 1378 детей, госпитализированных в стационар. Контрольную группу составили 120 здоровых детей с поликлинического приема областной детской клинической больницы, не имевшие в течение 14 дней перед обследованием повышения температуры тела, рвоты и диареи, а также контакта с больными кишечными инфекциями. Возраст обследованных 1378 детей с ОКИ варьировал от 1 недели до 14 лет, но преимущественно был ранний (85,06%). Группы наблюдения формировались с учетом возрастных анатомо-физиологических особенностей детей для проведения сравнительного анализа клинического течения моно- и микст вирусных кишечных инфекций: от 1 недели до 3 месяцев (8,64%), с 3 до 6 мес. (9,07%), с 6 до 12 мес. (21,63%), с 1 до 3 лет (45,72%), с 3 до 14 лет (14,94%). По гендерному признаку статистических отличий не выявлено: девочек 674 (48,9%), мальчиков 704 (51,1%).

Выбраны критерии включения пациентов в обследование: наличие клиники ОКИ; клиники ЦМВ, ВПГ-инфекции или, по данным анамнеза, - высокий риск реализации внутриутробной герпетической инфекции. Критерии исключения пациентов из клинко-иммунологического исследования: наличие наследственных, генетических заболеваний, хронической соматической патологии, наличие ВУИ иной - не герпетической - этиологии.

Из 1378 пациентов с ОКИ в дальнейшее исследование включены 855 детей с вирусными диареями, у которых на основании анамнеза, активного выявления жалоб, клинко-лабораторного обследования были выставлены следующие этиологические диагнозы: ротавирусной (n=259), норовирусной (n=158), аденовирусной (n=43), астровирусной (n=20) инфекций, сочетанных вирусных кишечных инфекций (n=375), в том числе с герпесвирусами.

Для оценки степени тяжести вирусных ОКИ: легкой, средней и тяжелой, - учитывали выраженность общей инфекционной симптоматики, рвоты, диареи, а также наличие синдрома кишечного токсикоза и эксикоза. Степень (ст.) токсикоза устанавливали по клиническим проявлениям неспецифической реакции сердечно-сосудистой системы и ЦНС, лабораторным показателям метаболических расстройств организма [Учайкин В.Ф., Молочный В.П., 2002]. Степень эксикоза устанавливали, согласно рекомендациям ВОЗ, по потерям массы тела ребенка, больного ОКИ, которая достигала 5% (I ст.), 6-9% (II ст.), при III ст. - 10% и выше [Учайкин В.Ф., Молочный В.П., 2002]. По изменению содержания электролитов в сыворотке крови больных, в

частности, натрия, соответственно, и осмолярности крови, определяли типы эксикоза или дегидратации, обезвоживания: вододефицитный, соледефицитный и изотонический [Учайкин В.Ф., Молочный В.П., 2002].

Принцип формирования групп детей для оценки клинико-иммунологических особенностей вирусных кишечных и сочетанных их форм с герпетическими инфекциями представлен на рис.1.

*Рис. 1. Критерии выделения групп детей для клинико-иммунологических исследований*

Когортное проспективное динамическое исследование проведено у 238 пациентов, инфицированных герпес-вирусами ВПГ и ЦМВ этиологии. Выбор когорты проводили в стационаре из популяции новорожденных и детей первых трех месяцев жизни по разработанному алгоритму выявления внутриутробных герпетических инфекций, в котором учитывали клинико-лабораторные данные и анамнестические сведения из выписных эпикризов роддомов, амбулаторных карт формы 112-у (рис. 2).

*Рис.2. Алгоритм выявления детей с внутриутробными герпетическими инфекциями*



Все обследованные дети первого года жизни – из группы риска по манифестации внутриутробных инфекций, в том числе и больные вирусными ОКИ, рассматривались как инфицированные герпес-вирусами при наличии маркеров ДНК ЦМВ и/или ВПГ в крови и/или моче и низкоавидных специфических антител IgG (индекс авидности менее 40%). Высокоавидные специфические антитела IgG, выявленные у многих детей при отрицательных результатах поиска других маркеров герпес-вирусов, расценивали как носительство материнских антител при их исчезновении в завершении динамического наблюдения с интервалом 1-3-6-12 месяцев. У детей, серопозитивных к герпес-вирусам, дополнительно методом ПЦР определяли наличие в крови и моче ДНК-ЦМВ, ДНК-ВПГ I-II типа.

Из 238 детей с манифестными и латентными формами внутриутробных герпетических инфекций, с учетом выявления этиологии ВПГ и/или ЦМВ инфицирования, были сформированы 6 групп проспективного наблюдения (рис. 3).

*Рис. 3. Формирование групп наблюдения с определением диагностических критериев внутриутробной герпетической инфекции*

*Первую группу* составили 31 пациент (13,02 %) – с генерализованными формами ВПГ I-II типа: энцефалит, менингоэнцефалит, гепатит. *Во вторую группу* вошли 30 детей (12,60%) с выявленными при лабораторных исследованиях маркерами ВПГ I-II типа, но без клинических проявлений этой герпетической инфекции. *Третью группу* включила 32 ребенка (13,45%) с клиническими формами ЦМВ с поражением ЦНС, печени. *Четвертая группа* - 95 детей (39,92 %), инфицированных ЦМВ, но также без ее клинических проявлений. *Пятая группа* включила 18 больных (7,56%) микст - ВПГ I-II и ЦМВ, имеющих клинические признаки менингоэнцефалита, гепатита. *Шестую группу* составили из 32 детей (13,45%), инфицированных микст - ВПГ I-II типа и ЦМВ. Динамическое наблюдение за детьми с ВУИ продолжалось с интервалом в 1-3-6-9-12 месяцев и чаще - по клиническим показаниям.

Анализ иммунологических особенностей при моно- и сочетанных вирусных кишечных и герпетических инфекциях проводили в сравнении с соответствующими параметрами иммунного статуса 15 здоровых детей каждой возрастной группы (с 1 недели до 3 мес., с 3 до 6 мес., с 6 до 12 мес., с 1 до 3 лет, с 3 до 14 лет), проживающих в тех же условиях промышленного г. Челябинска в семьях и домах ребенка №1,2,3.

В иммунологическое обследование включено 114 больных ротавирусной и норовирусной ОКИ, 238 детей с герпетическими заболеваниями и наличием ВПГ и/или ЦМВ инфицирования, 75 пациентов с их сочетанными формами.

Иммунологические показатели исследовали в периферической крови детей с вирусными ОКИ в первые двое суток и на 7 день заболевания. Иммунный статус детей с ВУИ оценивали на 1-2 день манифестации или выявления латентных форм герпетических инфекций и в динамике наблюдения через 1-3-6-12 мес.

Анализ периода реконвалесценции и реабилитации детей с вирусной ОКИ (n=265) проведен по формам 112-у в кабинетах КИЗ поликлиник г. Челябинска. За 238 детьми с ВУИ продолжено динамическое наблюдение в течение 1-3-6-12 мес. и далее по клиническим показаниям (катамнез 3-5 лет).

У всех включенных в исследование больных собран анамнез заболевания и жизни, эпидемиологические данные. Осмотр и наблюдение пациентов осуществляли в динамике до момента выписки из стационара.

Объективные данные и результаты исследований фиксировали в медицинских картах стационарного больного. Эпидемиологическая, клиническая информация о пациентах фиксировалась также в картах клинических наблюдений, разработанных в рамках данного исследования. Схема клинического наблюдения включала регистрацию всех симптомов заболевания по срокам начала, выраженности и длительности их проявлений. Информация о каждом больном была внесена в компьютерную базу данных в формате "Microsoft Access 2003".

Стандартные исследования проводились в клинической, бактериологической и биохимической лабораториях МБУЗ ДГКБ №8 г. Челябинска (зав. лабораторией, к.м.н. Громова О.А., главный врач Борсук А.С.).

В работе использованы **стандартные лабораторные методы исследования**: гемограмма, общий анализ мочи, копрограмма, биохимические тесты с определением, по показаниям, белков, ферментов, низкомолекулярных азотистых веществ, пигментов, углеводов, уровня мочевины, креатинина в сыворотке крови (выполнены на анализаторе ФП-901М, «Лабсистемс»). Мониторинг электролитов в сыворотке крови, метаболических нарушений у детей проводили по показаниям. Газовый состав крови, кислотно-основной и водно-электролитный балансы оценивались с помощью следующих параметров: рН, рО<sub>2</sub>, рСО<sub>2</sub>, Na<sup>+</sup>, К<sup>+</sup>, ВЕсf, ВЕb, НСО<sup>3-</sup>. Измерения сделаны на газоанализаторе/измерителе крови «Bayer»-348 (Эссекс, Англия), на анализаторе AVL-988-4.

#### ***Стандартные методы верификации диагноза***

- Методы клинической микробиологии ОКИ применялись для дифференциации и идентификации шигелл, сальмонелл, условно-патогенной микрофлоры. Трехкратное бактериологическое исследование фекалий для выявления патогенной флоры проводилось у всех детей с ОКИ, однократное – детям без клиники ОКИ. Однократное обследование испражнений на УПФ, стафилококк проводили детям первого года жизни.

Бактериологические исследования промывных вод желудка, исследования фекалий для идентификации иерсиний и кампилобактерий проводили по показаниям.

Оценка наличия и степени дисбиотических нарушений осуществлялась в соответствии с приказом Министерства Здравоохранения Российской Федерации за №231 об утверждении отраслевого стандарта 91500.11.0004-2003 «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника».

- Исследование парных сывороток методом РПГА, с целью выявления антител к шигеллам Флекснера и Зонне, микроорганизмам рода Salmonella, УПФ, тифо-паратифозную группу проведены у больных с отрицательными результатами бактериологических исследований.

- Однократное исследование испражнений методом иммуноферментного анализа (ИФА) на ротавирусный антиген проводилось всем больным с диарейным синдромом при поступлении в стационар, контроль – по выздоровлении.

Методом ПЦР тестирование образцов фекалий проводилось на базе Центра молекулярной диагностики инфекционных заболеваний ФБУН Центрального НИИ

эпидемиологии Роспотребнадзора (г. Москва) с применением комплекта реагентов «АмплиСенс®».

*Сбор образцов фекалий* проводили согласно методическим указаниям МУ 1.3.1794–03 «Организация работы при исследованиях методом ПЦР материала, инфицированного микроорганизмами I-II групп патогенности». Для сбора материала использовались одноразовые пластиковые шпатели. Образцы фекалий в объеме 1-1,5 мл (г) помещались в одноразовые пластиковые контейнеры с транспортной средой, содержащей криопротектор и консервант (фосфатный буфер с 0,05% раствором азидата натрия и 20% раствором глицерола). Каждая емкость с фекалиями упаковывалась в zip-пакет с идентификационной карточкой. Хранение до проведения исследований осуществляли при температуре -15-20<sup>0</sup> С не более 1-1,5 месяцев (вирусологическая лаборатория клиники ЧелГМА, главный врач, д.м.н. Кремлев С.В.). Транспортировка образцов фекалий проводилась в условиях холодной цепи, с последующим хранением при температуре -70<sup>0</sup>С для дальнейших исследований.

*Лабораторное исследование образцов фекалий.* Тестирование собранных образцов фекалий выполняли с использованием реагентов производства ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора (Лицензия № 99-04-000058). Для выделения нуклеиновых кислот из фекалий использовались комплекты реагентов «Рибо-сорб» и «ДНК-сорб В», указанного выше производителя. Комплементарную ДНК получали с использованием комплекта «Реверта-L».

Исследование осуществлялось в две стадии: первая - скрининг образцов для выявления наиболее распространенных возбудителей ОКИ, вторая – целенаправленное исследование образцов, не содержащих искомых возбудителей, на наличие ротавирусов группы С и саповирусов с применением комплектов реагентов производства ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора.

В первый период выполнения работы материал исследовался с применением разработанных ранее в ЦНИИЭ тестов с электрофоретической детекцией продуктов амплификации. При скрининговом исследовании проводилось тестирование образцов на наличие: ротавирусов группы А, норовирусов 1 и 2 генотипов, астровирусов, аденовирусов, шигелл и ЕІЕС, сальмонелл, термофильных кампилобактерий.

*Метод гибридизационно-флуоресцентной детекции наиболее распространенных возбудителей ОКИ - «АмплиСенс® ОКИ - скрин».*

С 2006 г. часть образцов проходила тестирование с использованием комплекта реагентов для мультиплексной гибридизационно-флуоресцентной детекции наиболее распространенных возбудителей ОКИ - «АмплиСенс® ОКИ-скрин».

Выборочно проводилось типирование норо-, сапо-, астро- и ротавирусов гр. А. Для выявления наиболее часто выделяемых Р и G типов ротавирусов гр. А- [Р] 4,8 и G 1,2,3,4 использовалась методика их типирования с применением мультиплексной ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации, разработанная в ЦНИИЭ (2006 г.). Нетипируемые данным методом изоляты ротавирусов исследовались с применением методики типирования на биочипах. Часть нетипируемых изолятов ротавирусов изучалась методом прямого секвенирования VP4 участка генома.

Для норо- и астровирусов применяли методики типирования на основе применения специфических праймеров и зондов. Для выявления редких типов норовирусов использовали метод прямого секвенирования. Для оптимизации работ по выявлению редких типов норовирусов II генотипа были выбраны олигонуклеотиды, специфичные для преобладающего в настоящее время на территории РФ генетического кластера G2.4 (Бристоль).

Выявление аденовирусов в образцах проводилось с применением двух различных тест систем "AmpliSens Adenovirus-462", для детекции всех групп аденовирусов, и "AmpliSens ОКИ-скрин" для детекции аденовирусов гр. F.

Инфицирование детей герпес-вирусами определили по наличию серологических маркеров ЦМВ и/или ВПГ в их крови, в частности, IgM и низкоавидных (с индексом авидности менее 40%) специфических антител IgG (иммунологическая лаборатория МБУЗ ДГКБ №8 г. Челябинска, главный врач Борсук А.С.). Забор крови производился из вены согласно стандартной процедуре.

- В основе серологического метода ИФА лежит образование комплекса "антиген-антитело" на твердой фазе полистирольных планшет и дальнейшая трансформация ферментной метки в соответствующий сигнал, регистрируемый с помощью спектрофотометра. Результаты ИФА IgM регистрировали, измеряя оптическую плотность. Рассчитывали среднее значение оптической плотности (ОП) в лунках с отрицательным контрольным образцом (ОПсрК-). Качество тест систем считали удовлетворительным, если значение ОП контроля поглощения тетраметилбензидина (ТМБ) не превышало 0,1 о.е., а среднее значение оптической плотности положительного контроля образца (ОПсрК+) не менее, чем в 3 раза, превышало (ОПсрК-). Для оценки результатов анализа вычисляли контрольный уровень оптической плотности (ОП крит) по формуле:  $ОП_{крит} = ОП_{срК-} + 0,3$ .

Принцип метода определения IgG основан на твердофазном ИФА с применением моноклональных антител. В лунках планшета при добавлении исследуемого образца во время первой инкубации происходило связывание IgG к возбудителям с рекомбинантными антигенами, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок. Во время второй инкубации конъюгат моноклональных антител к IgG человека с пероксидазой хрена связывался с IgG к ЦМВ (ВПГ), иммобилизованным в ходе первой инкубации. На следующем этапе инкубации с ТМБ происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски прямо пропорциональна концентрации IgG. Реакцию останавливают добавлением стоп реагента и измеряют оптическую плотность растворов в лунках при длине волны 450 нм.

Детекцию "ранних" IgG-антител (низкоавидных антител) проводили ИФА методом. Показатель авидности менее 40% указывал на наличие первичной инфекции.

- Методом ПЦР выявляли в крови или в моче, иногда, в слюне, ликворе, исследованного по показаниям, наличие ДНК-ЦМВ, ДНК-ВПГ I-II типа (ЦНИЛ ЧелГМА, заведующая отделом молекулярно-биологической диагностики д.м.н. Абрамовских О.С.). Для проведения амплификации и детекции герпес-вирусной (ВПГ I и II типа), цитомегаловирусной (ЦМВ) инфекций использовались наборы реагентов «Амплисенс® HSV I, II-FL», «Амплисенс® CMV-FL». Все молекулярно-биологические исследования проводили методом ПЦР в режиме реального времени на приборах «Rotor-Gene» 3000 и «Rotor-Gene» 6000 («Corbett Research», Австралия) с использованием соответствующих тест-систем производства ФБУН «ЦНИИЭ» Роспотребнадзора (г. Москва).

Оценку содержания NO в сыворотке крови проводили по количеству метаболитов нитритов (NO<sub>2</sub>) и нитратов (NO<sub>3</sub>). Быстрый переход оксида азота в NO<sub>2</sub> и NO<sub>3</sub> создает трудности его выявления в биологических жидкостях, так как свободный радикал NO имеет короткий период полужизни (5–30 с). Сумму конечных продуктов метаболизма NO определяли в сыворотке крови по L.C. Green с соавторами с помощью реактива Грейса в модификации Корабейниковой Э.Н. (2002). Для этого к 0,4 мл сыворотки крови добавляли 0,8 мл 10% раствора ZnSO<sub>4</sub> и 0,8 мл 0,5 N раствора NaOH, после чего центрифугировали 10 минут в рефрижераторной центрифуге при 3000 об/мин (t +6°C). Центрифугат отбирали и к нему прибавляли коммерческий реактив Грисса 1:1. Через 10 минут измеряли оптическую плотность этой пробы при 530 нм в кювете с толщиной слоя 1 см на спектрофотометре (СФ-530, Россия). Контролем служила проба, обработанная аналогичным образом, но содержащая вместо сыворотки дистиллированную воду. Содержание NO<sub>x</sub> рассчитывали по предварительно построенному калибровочному графику. Результаты выражались в мкмольх NO<sub>x</sub> на 1 л сыворотки. Работа проводилась в биохимической лаборатории ЦНИЛ ЧелГМА (заведующая, к.м.н. Коробейникова Э.Н.).

Иммунологическое обследование проводилось в НИИ иммунологии Южно-Уральского государственного университета (заведующая лабораторией - к.м.н. Никушкина К.В.). Для оценки иммунологических показателей исследовалась периферическая кровь. Забор исследуемого материала производили из периферической вены ребенка утром натощак. В центрифужную пробирку с 1 мл раствора гепарина (10-15 единиц гепарина в 1 мл изотонического раствора хлорида натрия) набирали 5 мл крови, взятой из срединной локтевой вены. Для получения сыворотки, с целью определения концентрации иммуноглобулинов, лизоцима, лактоферрина и цитокинов, кровь забирали из локтевой вены в чистую сухую пробирку и центрифугировали 10 минут при 1500 об/мин.

• Подсчет общего числа лейкоцитов, абсолютного и относительного количества гранулоцитов, моноцитов, лимфоцитов и их субпопуляций в крови проведен методом проточной цитометрии на лазерных проточных цитометрах Epics™ XL™ и Cytomics FC (Beckman Coulter, США).

Количественная оценка В-лимфоцитов, естественных киллеров, Т-лимфоцитов и их субпопуляций основывалась на выявлении характерных для каждого типа клеток поверхностных мембранных маркеров, появляющихся в процессе дифференцировки. Они получили название CD – антигены. Для выявления поверхностных маркеров (антигенов) клеток использовали моноклональные антитела, имеющие соответствующую направленность и специфичность, которые конъюгируют с меткой, например, с люминесцирующим красителем. Используя методы количественного определения субпопуляций лимфоцитов в периферической крови, проведено CD-типирование.

• Иммунофенотипирование лимфоцитов проводили по методике в модификации Сибиряка С.В. и соавт. (1997) с использованием моноклональных антител серии ИКО (НПЦ «МедБиоСпектр», г. Москва): анти-CD3, анти-CD4, анти-CD8, анти-CD20 и т.д.

• Оценка функциональной активности нейтрофилов периферической крови проводилась с исследованием фагоцитарных реакций и содержания лизосом [Фрейдлин И.С., 1986].

• Оценка лизосомальной активности нейтрофилов периферической крови проводилась с учетом числа лизосом в цитоплазме фагоцитов – это показатель, отражающий их функциональную активность и способность к реагированию на внешние воздействия. Результаты выражали в процентах нейтрофилов, содержащих лизосомы.

• С помощью иммерсионной микроскопии оценивали активность фагоцитоза – процент нейтрофилов, захвативших хотя бы одну частицу латекса, и интенсивность фагоцитоза – среднее число поглощенных микросфер латекса на один фагоцит.

• Исследование внутриклеточного кислород зависимогo метаболизма нейтрофилов периферической крови осуществлялось при помощи НСТ-теста [Маянский А.Н., Виксман М.К., 1979]. Метод основан на учете интенсивности восстановления клетками нитросинего тетразолия (НСТ) в его нерастворимую форму – диформазан. Этот процесс происходит в результате резкого усиления окислительного метаболизма в активированных фагоцитах (респираторный взрыв), следствием чего является образование целого ряда первичных (супероксидный анион, перекись водорода, гидроксильный радикал, синглетный кислород) и вторичных (гипохлорная кислота, хлорамин, продукты перекисного окисления липидов) метаболитов, обладающих мощной бактерицидной активностью. При этом темные гранулы диформазана выпадают внутри нейтрофилов и на их цитоплазматической мембране. Нарушение способности нейтрофилов к восстановлению НСТ отражает дефекты кислород зависимых механизмов бактерицидности и может служить прогностическим критерием инфекционных осложнений.

Параллельно с помощью НСТ-теста определяли способность нейтрофилов крови отвечать повышением метаболической активности на стимуляцию частицами латекса. Для этого в пробирку с исследуемым материалом (200 мкл) и НСТ (100 мкл) добавляли 20 мкл

монодисперсного полистирольного латекса с диаметром частиц 1,7 мкм в концентрации  $1 \times 10^8$  частиц/мл.

Кроме того, рассчитывали функциональный резерв нейтрофилов (ФРН), который определялся как соотношение между коэффициентами интенсивности реакции НСТ-индуцированного и НСТ-спонтанного тестов.

- Определение концентрации иммуноглобулинов (IgA, IgM, IgG) в сыворотке крови проводили методом ИФА. С этой целью были использованы иммуноферментные тест-системы ООО «Стибиум» (г. Санкт-Петербург).

- Уровень общей гемолитической активности комплемента (СН 50) и его компонентов (С1, С2, С3, С4, С5) определяли методом молекулярного титрования.

- Для исследования цитокинов (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8, TNF- $\alpha$ , RAIL-1 и IL-4, IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , RAIL) были использованы соответствующие тест-системы для иммуноферментного анализа, произведенные ООО "Цитокин" (г. Санкт-Петербург), методом ИФА на приборе «Personal Lab» (Италия). Для оценки состояния иммунной системы у наблюдаемых детей исследованы цитокины, представляющие белки, вырабатываемые активированными клетками иммунной системы: провоспалительные цитокины: ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-8, ФНО- $\alpha$  и противовоспалительные медиаторы – РАИЛ-1; интерфероны.

Исследование уровня провоспалительного цитокина ИЛ-1 $\alpha$  проводили с использованием тест-системы (ООО «Цитокин», г. Санкт-Петербург), основанного на «сэндвич»-методе твердофазного ИФА с применением пероксидазы хрена в качестве индикаторного фермента. Строили калибровочную кривую по значениям оптической плотности в лунках с известным количеством внесенного стандарта. По данным кривой подсчитывали концентрацию ИЛ-1 $\alpha$  в исследуемых образцах - путем умножения полученного значения на коэффициент разведения образца. Результаты выражаются в нг/мл.

Для определения уровня ИЛ-1 $\beta$  использовали тест-систему ООО «Цитокин» (г. Санкт-Петербург). Эта тест-система основана на «сэндвич» - методе твердофазного ИФА с применением пероксидазы хрена в качестве индикаторного фермента и антител к ИЛ-1 $\beta$ .

РАИЛ, конкурируя с ИЛ-1 $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  за один и тот же рецептор, блокирует биологическую активность ИЛ-1, продукцию ИЛ-8, оксида азота, простагландина E<sub>2</sub>. Рецепторный антагонист, в основном, существует в секреторной форме, но часть этого белка не секретируется, а остается в цитоплазме клеток для блокирования внутриклеточного ИЛ-1 $\alpha$ . Для определения уровня РАИЛ использовали тест-систему ООО «Цитокин» (г. Санкт-Петербург). Определяли содержание РАИЛ в пробах по калибровочному графику. Результаты выражали в пг/мл.

Для определения уровня ИЛ-4 использовалась тест-система ООО «Цитокин» (г. Санкт-Петербург). Тест-система основана на «сэндвич»-методе твердофазного ИФА с применением пероксидазы хрена в качестве индикаторного фермента, использовались мышиные моноклональные антитела к ИЛ-4.

Уровень ИЛ-8 определяли с использованием тест-системы ООО «Цитокин» (г. Санкт-Петербург) методом твердофазного ИФА с применением пероксидазы хрена в качестве индикаторного фермента и мышиных моноклональных антител к ИЛ-8.

ФНО- $\alpha$  - провоспалительный цитокин. Для определения уровня ФНО- $\alpha$  использовали тест-систему ООО «Цитокин» (г. Санкт-Петербург) методом твердофазного ИФА с применением пероксидазы хрена в качестве индикаторного фермента, антител анти-ФНО- $\alpha$ -биотин. Результаты выражаются в нг/мл.

Обследование больных включало, наряду с клиническим осмотром и оценкой лабораторных данных, ЭКГ, специальные инструментальные исследования по показаниям: рентгенологическое, ультразвуковое исследование (УЗИ) брюшной полости, головного мозга, которые проводились на аппарате «Aloka 3500» в отделении УЗИ и рентген-диагностики МБУЗ ДГКБ №8, заведующая отделением Клюкина Э.В.

Компьютерная и магнитно-резонансная томография головного мозга выполнены у детей с герпетическими поражениями ЦНС в диагностическом центре ОКБ.

Объем исследований представлен в таблице 1.

**Таблица 1. Методы и объем исследований**

Методы исследований	Субстрат	Количество обследованных	Количество проб
<u>Традиционные методы</u>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• гемограмма</li> <li>• общий анализ мочи</li> <li>• копрограмма</li> <li>• биохимические исследования: протеинограмма, билирубин, углеводы, мочевины, электролиты (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>), КОС (pH, pO<sub>2</sub>, pCO<sub>2</sub>, BE<sub>ef</sub>, BE<sub>b</sub>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>), креатинин</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>кровь</li> <li>моча</li> <li>кал</li> <li>кровь</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>1378 детей с ОКИ,</li> <li>238 детей с ВПГ и ЦМВ</li> <li>195</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>3232</li> <li>3232</li> <li>3232</li> <li>585</li> </ul>
<u>Инструментальные методы</u>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• УЗИ брюшной полости</li> <li>• УЗИ головного мозга</li> <li>• Компьютерная и магнитно-резонансная томография головного мозга</li> <li>• ЭКГ</li> <li>• ЭГГ</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>238</li> <li>30</li> <li>30</li> <li>30</li> <li>1616</li> <li>238</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>436</li> <li>56</li> <li>53</li> <li>30</li> <li>3232</li> <li>397</li> </ul>
<u>Методы верификации ОКИ</u>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Бакпосевы:</i></li> <li>✓ патогенная флора</li> <li>✓ стафилококк</li> <li>✓ УПФ</li> <li>✓ иерсинии</li> <li>✓ кампилобактерии</li> <li>• <i>ИФА:</i></li> <li>✓ ротавирусный антиген</li> <li>• <i>Серологические</i></li> <li>• <i>ПЦР</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>кал</li> <li>промывные воды желудка</li> <li>кал</li> <li>кровь</li> <li>кал</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>1378 чел. с ОКИ,</li> <li>238 чел. с ВПГ и ЦМВ</li> <li>1378</li> <li>265</li> <li>1498</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>4134</li> <li>714</li> <li>2756</li> <li>432</li> <li>1498</li> </ul>
Бактериологический метод обследования на дисбактериоз кишечника	кал	293	293
<u>Методы верификации герпесвирусов</u>			
<ul style="list-style-type: none"> <li><i>ПЦР:</i></li> <li>• выявление ДНК ВПГ и ЦМВ</li> <li><i>ИФА:</i></li> <li>• определение антител IgM и G к ВПГ и ЦМВ</li> <li>• определение avidности антител IgG к ВПГ и ЦМВ</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>кровь, моча, ликвор (по показаниям)</li> <li>кровь</li> <li>кровь</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>1616</li> <li>61</li> <li>1616</li> <li>1616</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>1616</li> <li>61</li> <li>1616</li> <li>1616</li> </ul>
Биохимический метод исследования оксида азота	кровь	120	240
<u>Иммунологические методы</u>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>Иммунный статус:</li> <li>абсолютное число лейкоцитов;</li> <li>абсолютное и относительного число нейтрофилов, моноцитов, лимфоцитов и их субпопуляций; концентрации иммуноглобулинов А, М, G;</li> <li>функциональная активность нейтрофилов;</li> <li>уровень комплементов.</li> </ul>	кровь	<ul style="list-style-type: none"> <li>114 чел. с вирусными ОКИ</li> <li>238 чел. с ВПГ и ЦМВ</li> <li>75 чел. с микст - ОКИ и ВПГ/ЦМВ-инфекциями</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>228</li> <li>476</li> <li>150</li> </ul>
Цитокиновый статус: уровни ИНФ-α, ИНФ-γ, ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-8, ФНО-α, РАИЛ-1	кровь	196	304

Статистический анализ полученных параметрических и непараметрических данных проводили с использованием пакетов прикладных программ "SPSS 13.0", "Biostatistica 4.03" и приложения Excel из пакета MS Office XP. Сравнение параметрических величин

проводили с использованием t-критерия Стьюдента. Для сопоставления групп по количественным признакам в связи с отсутствием нормального распределения совокупности использовали U-критерий Манна – Уитни и/или критерий Колмогорова – Смирнова (при сравнении двух выборок), Крускала-Уоллиса (при сравнении нескольких групп). При проведении анализа качественных признаков в двух независимых группах осуществляли с помощью точного критерия Фишера р (одно- и двустороннего), “Хи-квадрат” ( $\chi^2$ ) с поправкой Йетса. Для оценки взаимосвязей между изучаемыми иммунологическими показателями определяли коэффициент корреляции (r). Результаты сравнений считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . При составлении диагностических таблиц проведен предварительный отбор наиболее информативных признаков, для чего был использован точный критерий Фишера. Информативность каждого из диагностических коэффициентов рассчитывалась по формуле Кульбака, которая в отличие от критерия  $\chi^2$  оценивает не достоверность различия распределений, а степень этих различий. Малоинформативные ( $I < 0,5$ ) признаки были исключены из рассмотрения. Для оценки эффективности разработанного алгоритма врачебных действий был определен минимальный объем выборки с применением номограммы Альтмана, чтобы иметь 80%-й шанс обнаружения статистической разницы при 5%-м уровне значимости.

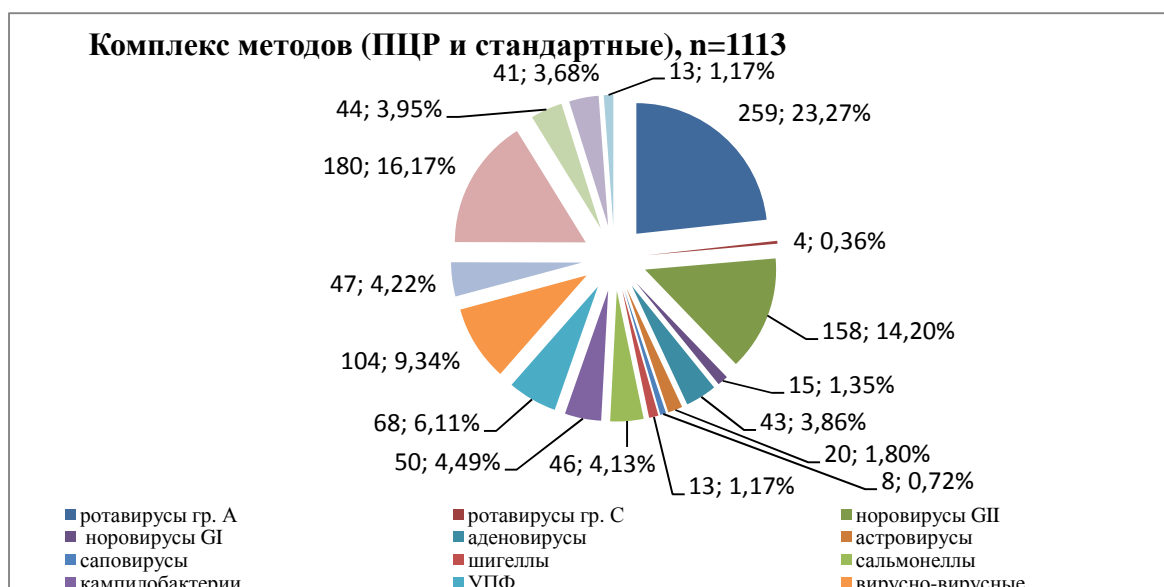
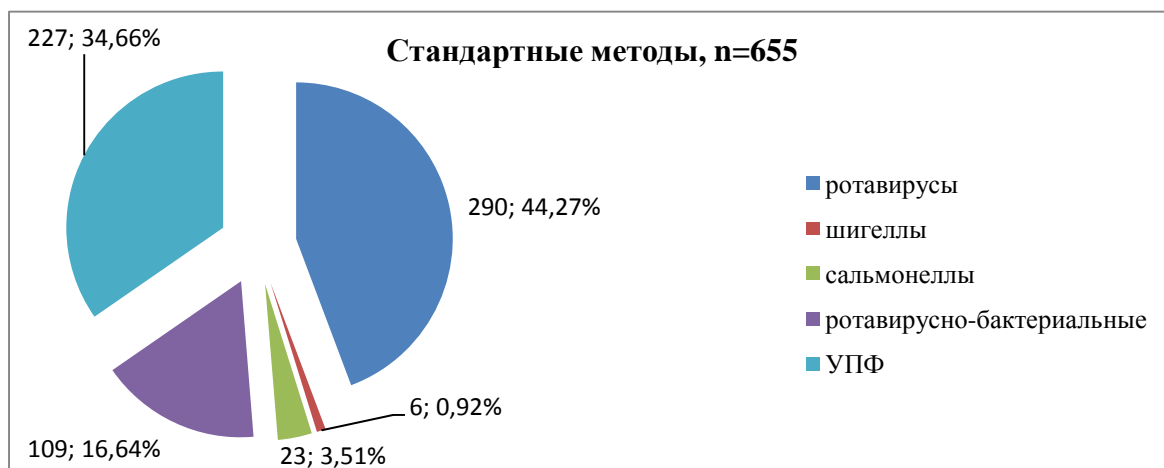
## ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Этиологическая структура и некоторые особенности эпидемиологии вирусных кишечных инфекций.** В результате обследования 1378 детей с ОКИ, госпитализированных в стационар, с использованием разных методов (молекулярно-генетического и стандартных бактериологических, ИФА) определена этиологическая роль наиболее распространенных вирусных патогенов. Применение метода ПЦР позволило верифицировать вирусную этиологию ОКИ, выявив, дополнительно к ротавирусной инфекции: норовирусы, аденовирусы, астровирусы, саповирусы. Полученные данные свидетельствовали о существенном месте вирусов в этиологии ОКИ у госпитализированных детей. Скрининг вирусных и бактериальных агентов кишечных инфекций молекулярно-генетическими методами позволил обнаружить их у 1004 из 1378 (72,86%,  $p = 0,0001$ , критерий  $\chi^2$ ) детей. При моно - ОКИ частота выделения вирусов у детей методом ПЦР была значительно выше, чем бактериальных возбудителей, соответственно – 84,4% и 15,6% ( $p = 0,0001$ , критерий  $\chi^2$ ). Наиболее частыми возбудителями кишечных инфекций у детей оказались ротавирусы (36,35%) и норовирусы (27,49%),  $p = 0,0001$ , критерий  $\chi^2$ , по сравнению с другими установленными патогенами ОКИ. В группе расшифрованных кишечных инфекций третье место заняли кампилобактерии (4,98%) и сальмонеллы (4,58%), несколько реже встречались аденовирусы (4,28%). Частота выделения астровирусов была невысокой и составила 1,99%, доля саповирусов – 0,8%, шигелл – 1,29%.

У большинства обследованных пациентов регистрировали моно инфекции; однако, нередко, выявляли ассоциации двух и более возбудителей в структуре расшифрованных ОКИ. Комплексное обследование ПЦР и стандартными методами позволило улучшить этиологическую расшифровку ОКИ до 80,8%,  $p = 0,240$  и  $p = 0,0001$ , критерий  $\chi^2$  соответственно в сравнении с информативностью каждого из них (72,86% и 47,53%). Уточнили комплексным обследованием частоту моно- и сочетанных форм при различных вирусных ОКИ. Сочетанные формы установлены в 44,66% случаев ротавирусной, в 51,23% - норовирусной, в 44,87% - аденовирусной и 25,9% - астровирусной этиологии ОКИ.

Результаты скрининга этиологии ОКИ, их сравнительная информативность при использовании молекулярно-генетического метода (ПЦР) и стандартного алгоритма обследования представлены на рисунке 4.





*Рис. 4. Этиологическая структура ОКИ к числу лабораторно расшифрованных случаев разными методами*

Проведенные исследования фекалий методом ПЦР позволили дополнительно уточнить этиологию кишечных инфекций, неустановленную стандартным обследованием, выявить сочетанные формы ОКИ. Однако стандартными методами дополнительно уточнили патогенную 2,62% и условно-патогенную этиологию моно- и микст ОКИ (9,8% и 20,1% соответственно).

Таким образом, определена ведущая роль вирусов в этиологической структуре ОКИ у госпитализированных детей, а среди них – рота- и норовирусов. Выявлена частота вирусно-вирусных ассоциаций. Доказано преимущество ПЦР перед стандартными методами диагностики и возможность максимальной этиологической расшифровки диагноза при использовании их в комплексе (80,8%).

**Результаты генотипирования вирусов.** Исследованные изоляты ротавирусов группы А принадлежали к числу наиболее распространенных в мире P[G]-типов.

Преобладающим оказался P[8]G1 тип, доля которого составила 70,7%. Генотипы P[4]G2 и P[8]G4 составили 12,12% и 14,14% соответственно. Редкие типы ротавирусов у детей: P[8]G2 – 2,02% и P[9]G3 – 1,01%. На протяжении 4 летнего периода исследований преобладал P[8]G1 тип ротавируса, но доля его снизилась в 2007-2008 гг. В эти же годы появились отсутствующие ранее G4[P8], G2[P8], G3[P9]

генотипы. В результате проведения генотипирования установлено снижение доли доминировавшего до настоящего времени генотипа ротавирусов P[8]G1 группы А - за счет появления других, более редких, генотипов.

Генотипы ротавируса: G1[P8], G4[P8], G2[P4], G2[P8], G3[P9], - обнаруживались у пациентов и изолированно, и в различных сочетаниях с другими возбудителями ОКИ. Так, генотип G1[P8] выявлен в моно- и сочетанных вариантах у 68,6% и 31,4 % соответственно. В их числе сочетания с норовирусами (14,28%) и аденовирусами (4,28%). Генотипы G2[P4], G4[P8] выявили, преимущественно, при моно-инфекции (2/3 случаев). Единичные случаи G2[P8], G3[P9] регистрировались только при моно-ротавирусной инфекции. Не установлено зависимости частоты регистрации моно- и микст форм от генотипов ротавируса,  $p=0,777$ .

Норовирусы второго генотипа, выделенные от больных, типировались праймерами GII.4 (свыше 70%), остальные принадлежали другим кластерам: GII.1. и GII.3. Норовирусы I генотипа были выявлены лишь у 15 детей. Все исследованные штаммы саповирусов принадлежали к 1 генотипу, разновидности G1/2, аналогичной референтным изолятам Parkville/1994/US и Houston/1990/US.

Методом прямого секвенирования ORF2 были типированы изоляты астровирусов NAstV4. У детей, больных астровирусной инфекцией, доминирующим оказался второй серотип астровирусов. Возбудители аденовирусной кишечной инфекции - представители группы F 40/41 типов.

Сезонные подъемы заболеваемости вирусных кишечных инфекций приходились на зимне-весеннее время (рис. 5).

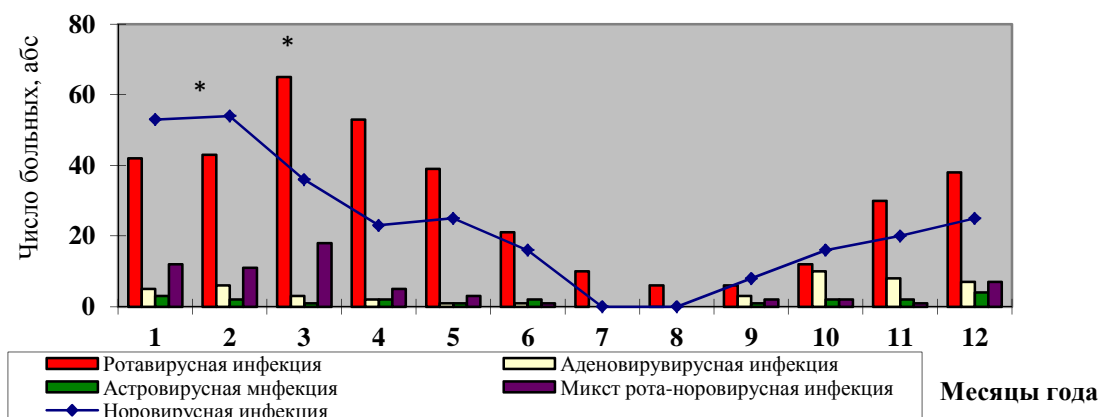


Рис. 5. Этиологическая структура вирусных ОКИ в зависимости от сезона года

В течение календарного года происходила смена доминирующих вирусных возбудителей ОКИ. С ноября по май наблюдался подъем регистрации ротавирусной инфекции, пик приходился на март (число случаев выше показателей летних месяцев более, чем в 6-9 раз, и в 1,5-2 раза - осенне-зимних и остальных весенних ( $p=0,0001$ ,  $p<0,05$ , критерий  $\chi^2$  соответственно). Подтверждена встречаемость ротавирусной инфекции и в летние месяцы года. Доля норовирусов увеличивалась столь же существенно в январе и феврале. Подъем аденовирусной инфекции приходился на октябрь. Рост в 2 раза числа случаев астровирусной инфекции пришелся на декабрь в сравнении с другими зимне-весенними месяцами ( $p<0,05$ , критерий  $\chi^2$  соответственно). Ассоциации рота- и норовирусов отмечались в большем числе случаев наблюдения в декабре-феврале, максимально - в марте, что в 1,5-3 раза чаще относительно аналогичных показателей других осенних и весенних месяцев ( $p<0,05$ , критерий  $\chi^2$  соответственно). В связи с низкой частотой выделения ротавирусов гр. С, норовирусов G1, саповирусов, судить о закономерности их сезонного распределения на изучаемой территории не представлялось возможным.

Полученные данные свидетельствовали о существенном месте вирусов в заболеваемости ОКИ у госпитализированных детей. Доминирующую роль играют рота- и норовирусы, что согласуется с результатами отечественных и зарубежных исследований [Подколзин А.Т. и соавт., 2004; Parashar U. et al., 2009; Ushijima H. et al., 2008; Räsänen S. et al., 2010]. Молекулярно-генетический метод лабораторной диагностики этиологии ОКИ повысил уровень выявления моно- и сочетанных рота-, норо-, адено-, астровирусной кишечных инфекций.

**Возрастные особенности наиболее распространенных вирусных монокишечных инфекций и влияние на них других факторов (преморбидный фон ребенка, генотип возбудителя, вид вскармливания).** Вирусные ОКИ регистрировались с одинаковой частотой у детей, начиная с 3-месяцев жизни (рис.6).

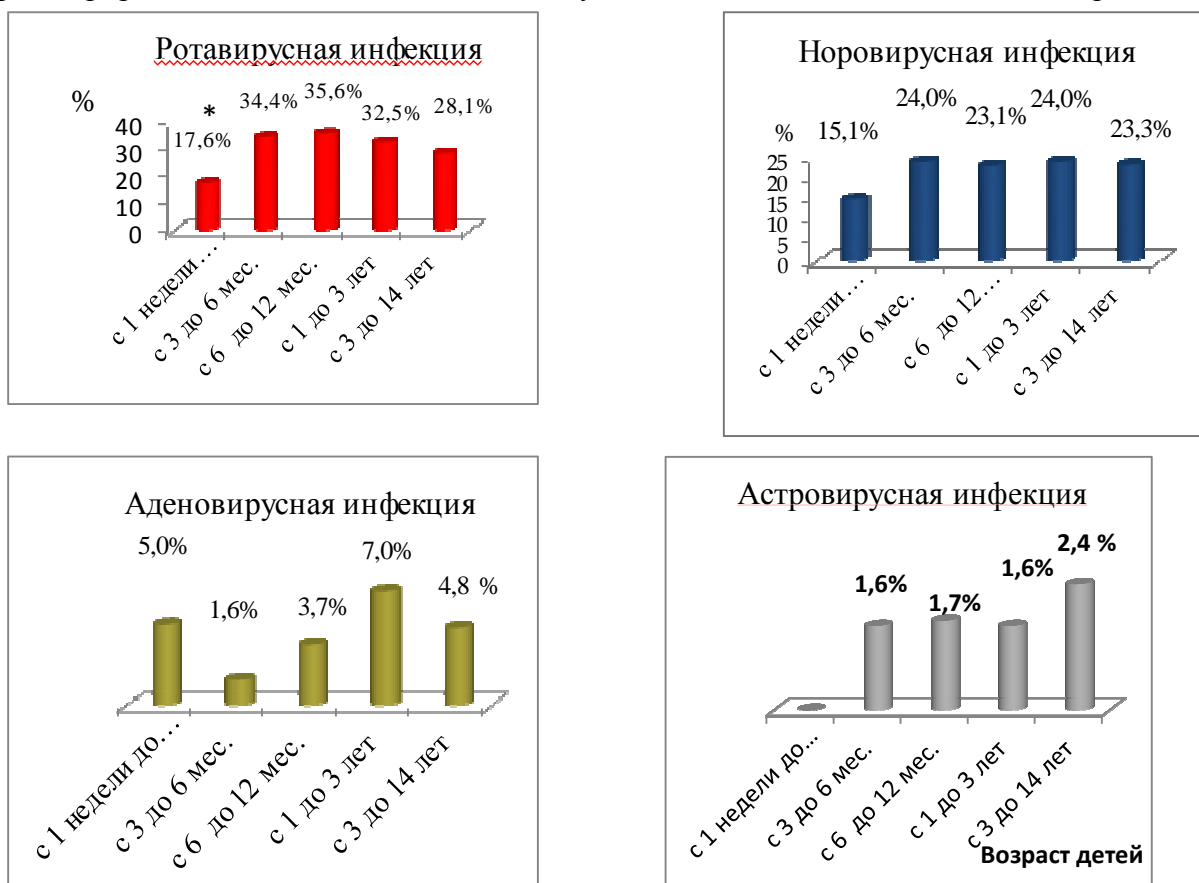


Рис. 6. Частота вирусных кишечных инфекций разной этиологии у детей в зависимости от их возраста (%)

Ротавирусы достоверно реже регистрировались в первые 3 месяца жизни ребенка. Не выявили корреляции для наиболее распространенного G1[P8] генотипа (70,71%) с возрастом детей ( $r=0,52$ ;  $p=0,367$ ), как и для G2[P8] ( $r=0,28$ ;  $p=0,637$ ), G4[P8] ( $r=0,48$ ;  $p=0,410$ ). Сильная прямая связь с возрастом установлена лишь для G2[P4] типа ротавируса ( $r=0,87$ ;  $p=0,05$ ).

Характерно, что в исследованиях, лишь по выраженности общей инфекционной симптоматики, т.е., по частоте регистрации фебрильной температуры тела (у 62,5%), в 1,6 и 2 раза более продолжительной по срокам рвоте ( $3,14 \pm 0,39$  дня,  $p < 0,001$ ), удалось найти статистические отличия в сравнении аналогичных клинических показателей ОКИ, вызванной появившемся в циркуляции редко регистрируемым у детей G4[P8] генотипом, с G1[P8], G2[P4] ротавирусами. Однако проявление, с одинаковой частотой, синдрома эксикоза у пациентов групп сравнения ОКИ, установленных G1[P8], G2[P4], G4[P8] генотипов ротавирусов, не позволяет судить о влиянии последних на различие тяжести заболевания. Ряд авторов отрицали наличие корреляции определенных серотипов с тяжестью ротавирусной инфекции [Cunliffe N.A. et al, 2002; Parashar U. et al, 2003].

Норовирусная инфекция - вторая по распространенности в этиологической структуре ОКИ среди детей, - не отличалась от ротавирусов аналогичными показателями частоты выявления в зависимости от возраста, как и ОКИ аденовирусной этиологии. Моно - астровирусная инфекция не регистрировалась у детей до 3 месяцев жизни, но проявлялась у пациентов не только раннего возраста, а и старше 3 лет. Более трети случаев моно-астровирусной ОКИ приходилось на детей старшей возрастной группы. По данным некоторых авторов, астровирусы вызывают инфекции только у детей младшего возраста [Matsui S.M., 2002; Soares C.C. et al., 2008 и др.]. У больных астровирусной инфекцией, доминирующим оказался второй генотип возбудителя, тогда, как в исследованиях Oh D.Y. et al., 2003; Marshall J.A. et al., 2007, – первый.

Обращает на себя внимание, что моно- вирусные диареи встречаются не только у детей раннего возраста, но столь часто и у пациентов старше 3 лет,  $p > 0,05$  (рис.7).

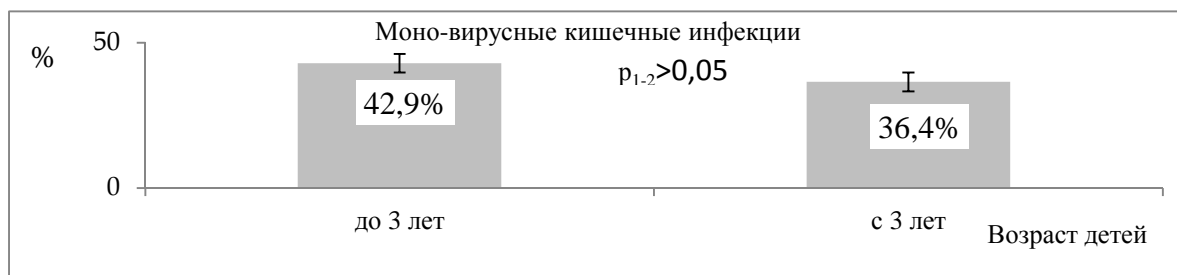


Рис.7. Частота вирусных кишечных инфекций у детей в зависимости от возраста, %

В каждой возрастной группе детей проанализированы клинические проявления вирусной ОКИ. Коэффициенты корреляции симптомов ротавирусной инфекции с возрастом пациентов представлены в таблице 2.

Таблица 2

Коэффициент корреляции (r) симптомов ротавирусной ОКИ с возрастом пациентов

Общезинфекционный синдром ОКИ							
Субфебрильная температура тела	Фебрильная лихорадка	Подъем температуры тела с первого дня болезни	Продолжительность лихорадки	Наличие рвоты	Рвота с первого дня болезни	Продолжительность рвоты	Синдром интоксикации
<b>r= -0,94</b> <b>p=0,05</b>	<b>r=0,95</b> <b>p=0,041</b>	r=0,65 p=0,344	<b>r=0,97</b> <b>p=0,021</b>	r=0,75 p=0,242	r=0,71 p=0,284	r=0,04 p=0,96	<b>r=0,95</b> <b>p=0,041</b>
Локальные симптомы ОКИ и синдром эксикоза							
Учащение стула с 1-го дня болезни	Водянистая диарея	Жидко-кашицеобразный стул	Продолжительность диареи	Наличие катаральных проявлений	Синдром Эксикоза		
r=0,59 p=0,630	r=0,36 p=0,630	r=-0,47 p=0,526	<b>r=-0,94</b> <b>p=0,05</b>	r=-0,24 p=0,751	<b>r=0,90</b> <b>p=0,01</b>		

Примечание. r – сила корреляции, p-статистическая значимость показателя; жирным шрифтом выделено наличие и сила статистической связи.

В симптомокомплексе вирусных ОКИ сочетались общезинфекционная симптоматика и диарейный синдром. Однако, симптомы интоксикации, характеризующиеся температурной реакцией и рвотой, диарейный синдром у заболевших ротавирусной инфекцией детей имели возрастные отличия. Характерно, что по таким симптомам, как фебрильная лихорадка, продолжительность температурной реакции, синдрому интоксикации и эксикоза, - удалось выявить прямую зависимость частоты признака с ранним возрастом ребенка. Обратная зависимость установлена для таких характеристик, как продолжительность диареи и начало заболевания с субфебрильной температуры тела.

Установлены более выраженная лихорадочная реакция, абдоминальный синдром, частота рвоты у детей старших возрастных групп и большая выраженность и длительность диарейного синдрома у детей раннего возраста при всех моно вирусных ОКИ.

Оценка преморбидного фона у 1378 больных ОКИ выявила частоту аллергического диатеза, что составили 11,1% и 10,08%, на первом году и с 1 до 3 лет жизни соответственно. Несколько реже у детей этих же возрастных групп выявлялся лимфатико-гипопластический диатез, соответственно у 1,9% и 2,9%. Проявления нервно-артритического диатеза отмечены у детей старше года: с 1 года до 3 лет – у 2,8%, старше 3 лет – у 1,95%. Дистрофия в виде: гипотрофии I ст. - у 0,72%, паратрофии I-II ст. - соответственно у 9,36% и 2,53%, гипостатура – у 1,16%. Дефицитная анемия легкой степени тяжести регистрировалась наиболее часто у детей первого года жизни (у 21,77%), как то и проявления рахита (у 18,57%). Герпесвирусы (у 17,27%) среди возбудителей патологии, сопутствующей ОКИ, у госпитализированных детей занимали лидирующую позицию.

Установили различие в продолжительности вскармливания материнским молоком среди обследованных детей. При этом естественное вскармливание в 12 месяцев осталось у 15% детей. Поскольку 1/3 детей были переведены на искусственное вскармливание до 3 месяцев жизни, а к 6 месяцам 62,8% пациентов не получали грудное молоко, то шанс устойчивости к заболеванию вирусными ОКИ при ранней замене естественного питания уменьшился в 1,68 раза.

Анализ влияния вида вскармливания и степени дисбиоза кишечника на функциональные показатели желудочно-кишечного тракта при ротавирусной инфекции у детей представлен в таблице 3.

Таблица 3

Влияние вида вскармливания и степени дисбиоза кишечника на функциональные показатели желудочно-кишечного тракта при ротавирусной инфекции у детей

Показатели	Группа здоровых детей, n=30	Вид вскармливания больных ротавирусной ОКИ					
		грудное, n= 40			искусственное, n=55		
		Степень дисбактериоза					
		I (n=15)	II (n=10)	III(n=15)	I (n=15)	II(n=20)	III(n=20)
Лактоза, г/%	0,07±0,003	0,12±0,01	0,21±0,04	<b>0,1±0,02</b>	0,14±0,03	<b>0,12±0,02</b>	<b>0,25±0,01</b>
Глюкоза, г/%	0,05±0,002	0,08±0,006	0,11±0,03	<b>0,21±0,03</b>	0,15±0,01	<b>0,18±0,01</b>	<b>0,27±0,06</b>
Длительность диареи, дн.	-	5,5±0,53	7,1±0,99	<b>9,0±1,07</b>	9,8±0,84	11,2 ±0,92	<b>14,2±1,29</b>
Кишечные колики, баллы	-	1,2±0,23	1,8±0,21	1,93±0,15	1,46±0,08	1,8±0,12	1,95±0,18

Примечание. Различия статистически значимые сравниваемых показателей групп наблюдения и здоровых детей выделены жирным шрифтом

Более выраженное увеличение содержания глюкозы в кале было у больных ротавирусной инфекцией при их искусственном вскармливании. С усугублением дисбиотических нарушений отмечено, наряду со снижением рН кала и нарастанием содержания в испражнениях углеводов, увеличение продолжительности диарейного синдрома, выраженности кишечных колик. Выраженность синдрома кишечных колик оценили по 3 бальной шкале: 1 балл - кишечные колики единичные, не связанные с каждым кормлением; 2 балла - кишечные колики после каждого кормления; 3 балла - кишечные колики на протяжении всех суток независимо от кормления.

По оценке результатов исследования показателей копрограмм отмечены изменения в пищеварении и углеводов, и жиров (табл. 4). Жирные кислоты и нейтральный жир выявили в копрограммах пациентов каждой возрастной группы в 1/3 и более случаев наблюдений.

Таблица 4. Изменение показателей микроскопических исследований кала у детей, больных моно-ротавирусной инфекцией

Показатели	Возрастные группы					Контроль 6	Статистические различия
	1	2	3	4	5		
	1 нед-3мес.,	3-6 мес., n=15	6-12 мес., n=55	1-3 года, n=140	3-14лет, n=34		

	n=15												
	abc	%	abc	%	abc	%	abc	%	abc	%	abc	%	
Жирные кислоты, %	5	33,3	7	46,7	25	45,5	78	55,7	15	44,1	-	-	P <sub>1-2</sub> =0,061; P <sub>1-3</sub> =0,083; P <sub>1-4</sub> =0,002; P <sub>1-4</sub> =0,146 P <sub>6-1,2,3,4,5</sub> <0,001
Жир нейтральный, %	5	33,3	8	53,3	23	41,8	80	57,1	10	29,4	-	-	P <sub>1-2</sub> =0,007; P <sub>1-3</sub> =0,243; P <sub>1-4</sub> =0,001; P <sub>1-4</sub> =0,646 P <sub>6-1,2,3,4,5</sub> <0,001
Растительная клетчатка перевариваемая, %	8	53,3	9	60	27	49,1	84	60	19	55,9	-	-	P <sub>1-2</sub> =0,392; P <sub>1-3</sub> =0,671 P <sub>1-4</sub> =0,392; P <sub>1-4</sub> =0,776 P <sub>6-1,2,3,4,5</sub> <0,001
Крахмал, %	12	80	11	73,3	34	61,8	91	65	29	85,3	-	-	P <sub>1-2</sub> =0,317; P <sub>1-3</sub> =0,008; P <sub>1-4</sub> =0,027; P <sub>1-4</sub> =0,457 P <sub>6-1,2,3,4,5</sub> <0,001
Слизь, %	10	66,7	8	53,3	42	76,4	62	44,3	13	38,2	2	6,6	P <sub>1-2</sub> =0,064; P <sub>1-3</sub> =0,210; P <sub>1-4</sub> =0,002; P <sub>1-4</sub> =0,001 P <sub>6-1,2,3,4,5</sub> <0,001
Лейкоциты, % • 10-12 • более 12	2 1	13,3 -	1 1	6,7 -	3 2	5 -	10 3	7,14 -	5 3	14,7 -	3	10	P <sub>6-1</sub> =0,650; P <sub>6-2</sub> =0,612; P <sub>6-3</sub> =0,283; P <sub>6-4</sub> =0,612; P <sub>6-5</sub> =0,392
Частота снижения рН, %	14	93,3	13	86,6	48	87,3	104	74,2	14	41,2	-	-	P <sub>1,2,3,4,5</sub> =0,0001
рН кала, M <sub>±m</sub>	5,0±0,14 p<0,001		4,9±0,11 p<0,001		5,25±0,14 p<0,001		5,15±0,03 p<0,001		5,4±0,08 p<0,001		6,9±0,09		p<0,001 с контролем

Примечание. Различия значимы при p<0,05 в сравнении с показателями возрастных групп, обозначенных соответствующими номерами 1-5, и группой 6 – здоровых детей, не имеющих соответствующих отклонений.

Типичные проявления ротавирусной диареи в виде водянистого или обильного жидко-кашицеобразного стула, чаще желтого цвета, пенистого, жирного, не зловонного, характеризовалось и его кислой реакцией, что подтверждало снижение рН кала, в среднем, ниже 5,5. В остром периоде ротавирусной инфекции рН кала ниже нормальных показателей контрольной группы отмечено у 88,2% детей первого года жизни, несколько реже - у 1-3 летних пациентов - в 74,2%, старше 3 лет – в 41,2% случаев наблюдения.

Изучена частота и выраженность метаболических нарушений у 128 больных с ротавирусным гастроэнтеритом, протекающих с синдромом эксикоза. В зависимости от наличия метаболических нарушений больные были разделены на 2 группы: 1-я группа с ацетонемическим синдромом – 52 пациента - и 2-я группа - без ацетонемического синдрома – 76 человек. Группы были сопоставимы по возрасту и полу, видам вскармливания. Ацетонемический синдром характеризовался повторной рвотой, вялостью, сонливостью, запахом ацетона изо рта. В 59,6 % случаев наблюдений детей с ацетонемическим синдромом регистрировался эксикоз II степени: гипотонического (у 22,6%) и изотонического (у 77,3%) типов, при этом изменения показателей КОС были в виде декомпенсированного метаболического ацидоза. Выявлено снижение показателя рН крови, в среднем, до  $7,2 \pm 0,02$  (p<0,05), значения ВЕ до  $-14,7 \pm 0,48$  ммоль/л (p<0,05), кетонурия проявилась средним значением  $8,2 \pm 0,2$  ммоль/л (p<0,05). В группе пациентов без ацетонемического синдрома чаще (у 78,9%) выявлялся эксикоз I; показатели КОС были характерны для компенсированного метаболического ацидоза, не было отмечено значимых электролитных изменений содержания натрия и калия, показателей осмолярности крови.

Вирусные кишечные инфекции одинаково часто встречаются в различные возрастные периоды, более тяжело протекают у детей от 6 месяцев до 3 лет жизни.

**Сравнительная характеристика кишечных инфекций рота-, норо-, адено-, астровирусной этиологии и клинико-лабораторные критерии их дифференциальной диагностики.** Число детей, поступивших в стационар в первые сутки от начала заболевания было больше при норовирусной, чем при рота-, адено- и астровирусной инфекциях. Дети с ротавирусной инфекцией госпитализированы в первые сутки от начала заболевания в 25,8 % случаев, что значительно меньше (в 1,49 раза), чем при

норовирусной инфекции (38,6%),  $p=0,0001$ , критерий  $\chi^2$ . В первые сутки от начала заболевания аденовирусной инфекцией поступили 20,9% , астровирусной ОКИ – 20,0% обследованных детей.

При ротавирусной инфекции тяжелые формы нередко выявлялись в 6-12 месяцев, но в 3,4 раза чаще были в возрасте 1-3 лет,  $p=0,028$ ,  $p=0,0001$ , критерий  $\chi^2$  в сравнении соответственно с младшими детьми (рис.8).

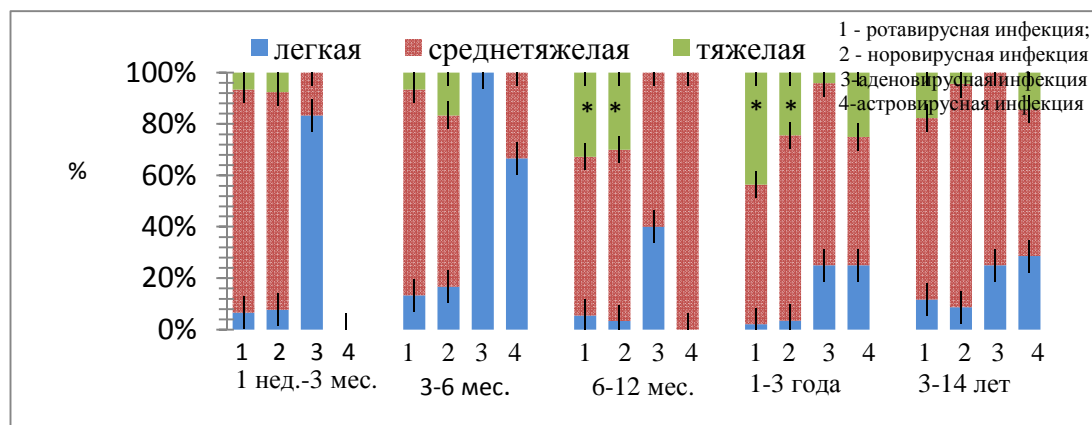


Рис. 8. Структура тяжести болезни при вирусных ОКИ у детей в разных возрастных группах, \*  $p < 0,05$

Частота тяжелых форм у больных РВИ старше года была в сравнении с НВИ выше ( $p=0,0023$ , критерий  $\chi^2$ ). Аденовирусная инфекция чаще протекала в легкой форме по сравнению с РВИ и НВИ (35,71%, 4,03% и 5,69% соответственно,  $p=0,0001$ , критерий  $\chi^2$ ). Аденовирусная инфекция чаще протекала в легкой форме по сравнению с рота- и норовирусной инфекциями (35,71%, 4,03% и 5,69% соответственно,  $p=0,0001$ , критерий- $\chi^2$ ). Легкое течение астровирусной инфекции зарегистрировано в 35,5% случаев наблюдения. Госпитализация по причине развития синдрома эксикоза у 12,5% больных астровирусной инфекцией, в возрасте 13-36 мес., не позволяет, однозначно, отнести эту вирусную ОКИ к заболеваниям только с легким течением. Однако, в отличие от проявлений рота- и норовирусной ОКИ, синдром эксикоза регистрировали при астровирусной инфекции реже – в 4,3-4,9 раза (соответственно,  $p=0,0001$  и  $p=0,0001$ , критерий  $\chi^2$ ). Синдром эксикоза у наблюдаемых детей с вирусными ОКИ не зарегистрирован только при аденовирусной инфекции.

При сравнении клинической картины ОКИ разной этиологии выявлены: наибольшая тяжесть болезни - при ротавирусной, наибольшая частота рвоты - при норовирусной и наибольшая длительность основных симптомов - при аденовирусной инфекциях.

Анализ особенностей клинической картины ОКИ рота-, норо- адено-, астровирусной этиологии у детей старше года определил дифференциальные критерии: подострое начало заболевания для аденовирусной инфекции; в частности, манифестация её в 57,89 % случаев была с диарейного синдрома, преимущественно, за счет измененной консистенции и без существенного увеличения кратности; острое начало с трех симптомов (лихорадки, диареи, рвоты) – для ротавирусной инфекции; острое начало с двух симптомов (лихорадки, упорной рвоты) – для норовирусной инфекции; лихорадки и диареи – для астровирусной инфекции. Причем у пациентов с аденовирусной инфекцией редко наблюдали стул с кратностью более 3-5 раз (5,26%), в сравнении с выраженной его частотой у больных рота- (у 38,57%) и норовирусной ОКИ (у 19,3 %),  $p=0,0001$ ,  $p < 0,05$ , критерий  $\chi^2$ , соответственно). Однако диарея более 10 дней отмечалась, чаще, при аденовирусной, чем у больных при рота- и норовирусной инфекциях (соответственно  $3,99 \pm 0,14$  дн. и  $4,7 \pm 0,44$  дн.) и астровирусной ОКИ ( $8,2 \pm 0,6$  дн.). При норовирусной инфекции достоверно чаще выявляли гастритическую форму (у

12,6%), в отличие от единичных случаев при ротавирусной инфекции (у 2,1%,  $p < 0,05$ , критерий  $\chi^2$ ) и отсутствии при других вирусных ОКИ.

Статистические отличия отмечены у больных ротавирусными ОКИ по частоте выявления копрологических показателей: крахмала, нейтрального жира, жирных кислот, более низких показателей рН кала в сравнении с соответствующими данными при норо-, адено- и астровирусных ОКИ.

**Клинико-лабораторная характеристика сочетанных вирусно-вирусных кишечных инфекций.** Наиболее часто сочетанными вирусными кишечными инфекциями болели дети первого года жизни (40,98%) в сравнении с детьми 1-3 лет (29,46%) и старше (27,58%,  $p = 0,052$ ). Вирусно-бактериальные ОКИ встречались у детей до года в 2 раза чаще, чем у 1-3 летних пациентов ( $p = 0,012$ , критерий  $\chi^2$ ) (рис. 10).

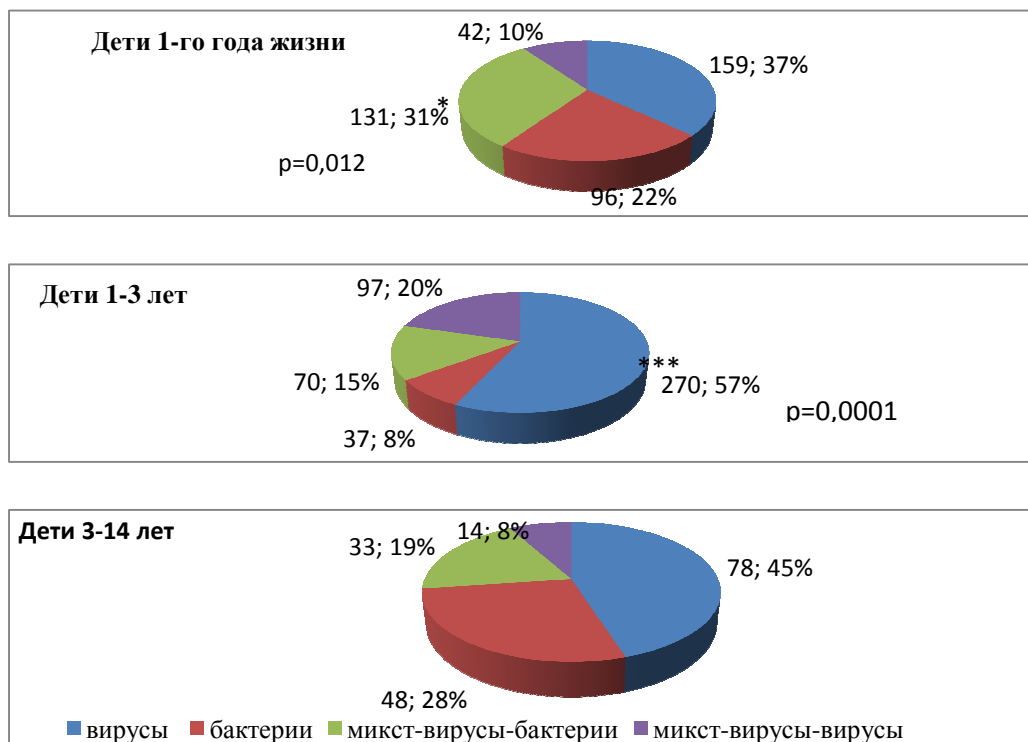


Рис. 10. Доля моно - и сочетанных вирусных расшифрованных ОКИ у детей в разных возрастных группах (%)

В структуре вирусных ОКИ у детей первого года жизни нередко отмечались сочетания вирусов с условно-патогенной флорой (УПФ) - 21,99%.

Сочетанные ротавирусные кишечные инфекции выявлялись у детей чаще в 3-6 месячном возрасте, реже – с 1 до 3 лет жизни (рис. 11).

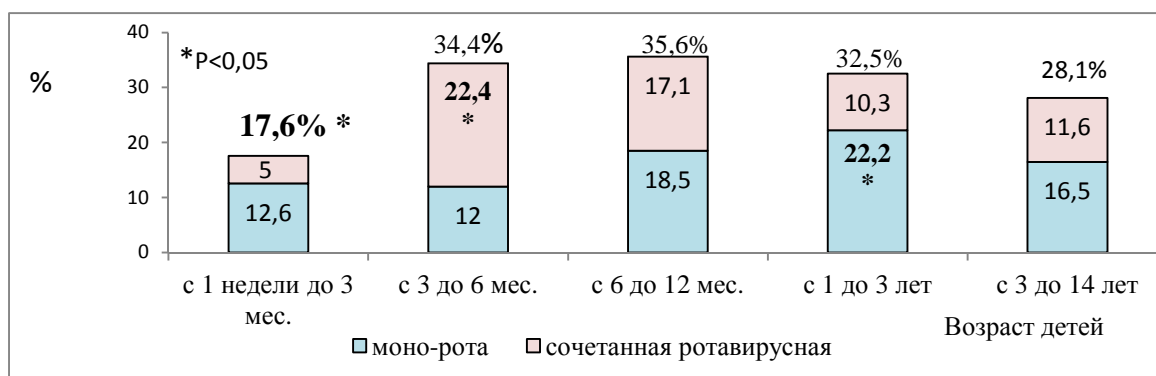


Рис. 11. Частота моно - и сочетанных форм ротавирусной инфекции у детей в зависимости от возраста (%),  $n = 468$



Норовирусная инфекция встречалась в микст-форме заболеваний чаще - в 59,1% случаев ( $p=0,016$ , критерий  $\chi^2$  соответственно к моно-норовирусной ОКИ). В структуре сочетанных норовирусно-вирусных ОКИ (22,13%) превалировали норо-ротавирусные (73,8%), реже встречались норо-астровирусные (7,1%) и норо-аденовирусные (19,1%) ОКИ. Менее половины всех случаев аденовирусной инфекции протекали в ассоциации с другими возбудителями (44,87%). В структуре микст аденовирусных ОКИ отмечено сочетание с вирусами: ротавирусами (54,3%) и норовирусами (45,7%). Исключение составили дети самой ранней возрастной группы 1 недели-3 месяцев жизни, у которых не наблюдали микст вариантов аденовирусной инфекции. Треть случаев астровирусной инфекции составили сочетанные варианты с другими вирусами.

Статистически значимые отличия начальных и основных симптомов моно- и сочетанных вирусных ОКИ выявили в зависимости от возраста детей (рис.12).

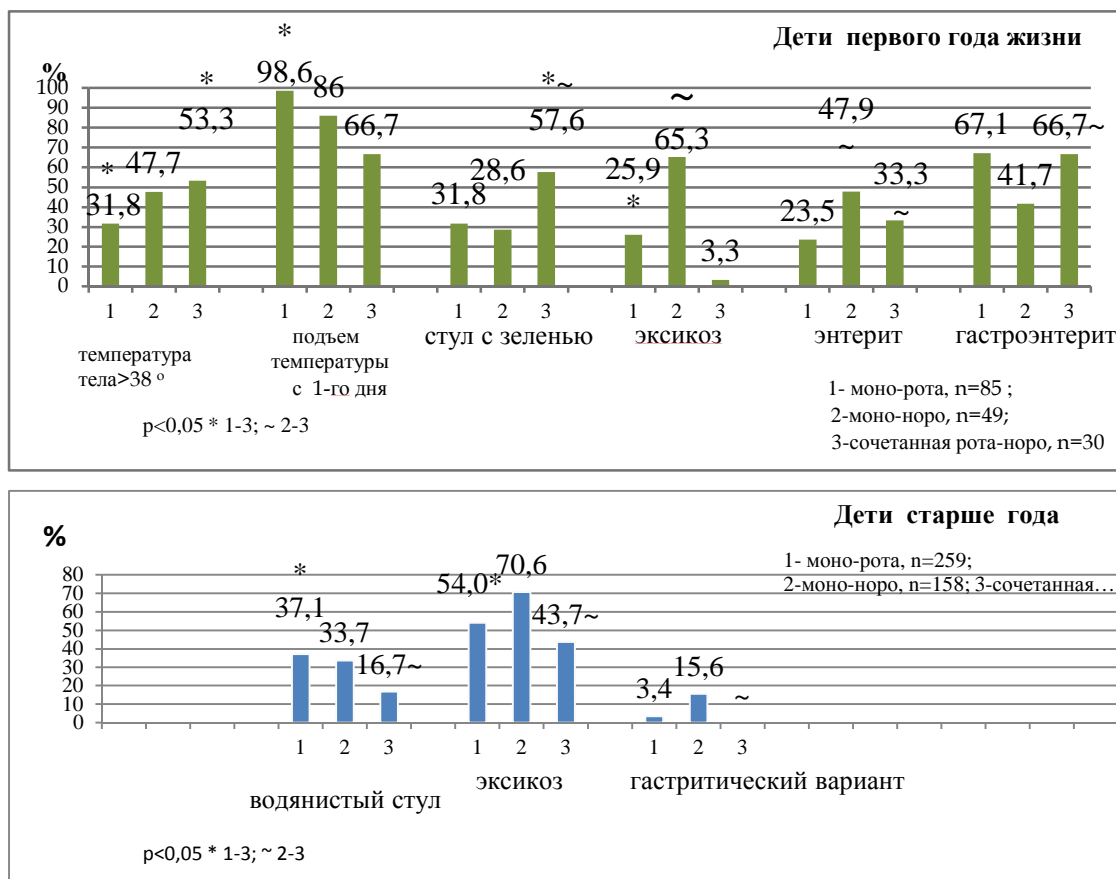


Рис.12. Различия в клиническом течении моно- и сочетанных вирусных кишечных инфекций у детей в зависимости от возраста

У детей первого года жизни сочетанная вирусно-вирусная ОКИ протекала чаще с высокой лихорадкой, но реже начиналось заболевание подъемом температуры тела с первого дня болезни. Стул с зеленью при сочетанной вирусно-вирусной инфекции – чаще, а энтеритных и гастроэнтеритных вариантов не больше, чем при ротавирусной ОКИ. Значительно реже синдром эксикоза сопровождал сочетанную вирусно-вирусную инфекцию в отличие от моно рота- и норовирусных ОКИ. У детей старше года при сочетанной вирусно-вирусной кишечной инфекции, в отличие от моно- вирусных заболеваний: нет гастритического варианта, увеличения кратности стула водянистого характера, редкие проявления эксикоза. Сочетанные вирусно-вирусные инфекции не утяжеляют, а пролонгируют ОКИ.

**Клинико-лабораторные особенности внутриутробных моно- и микст герпетических инфекций и сочетанных их форм с вирусными диареями у детей.** Одним из факторов, влияющих на течение вирусной ОКИ, явилось фоновое состояние герпес инфицированных детей (рис.13).

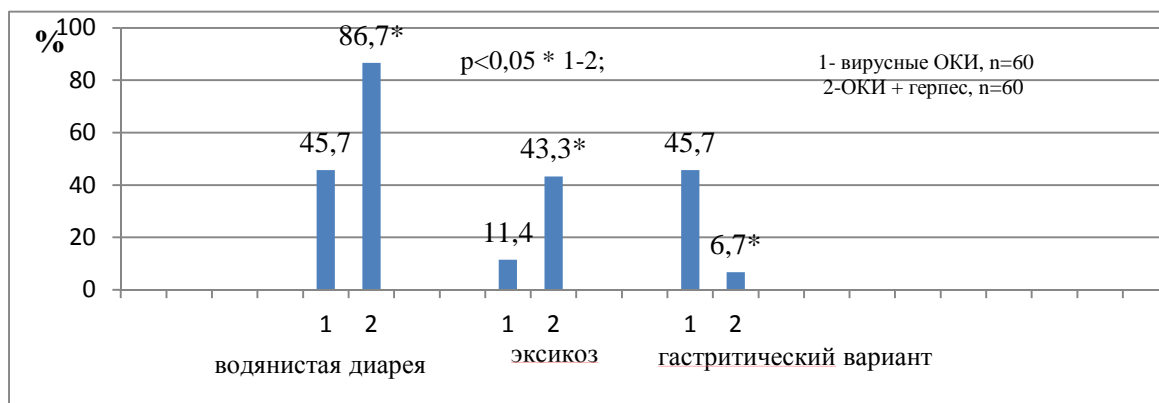


Рис.13. Различие в клиническом течении моно- и сочетанных вирусных кишечных и герпетических инфекций

Показаны особенности течения ротавирусной инфекции на фоне внутриутробных герпетических инфекций. Клиническая симптоматика сочетанных вирусных ОКИ и герпетических инфекций проявилась увеличением частоты водянистого характера стула и эксикоза. Выявлена достоверно большая частота вовлечения кишечного тракта, что подтверждает данные литературы о возможности поражения кишечника герпетическими вирусами.

У 45 детей инфицированных ВПГ I-II и микст - ВПГ I-II и ЦМВ при сочетанной форме с вирусной ОКИ клинические проявления были более демонстративны. Острое начало заболевания: с высокой температурой тела, повторной рвотой и учащенным жидким стулом, - через 3-5 дней усугубилось общемозговой и очаговой симптоматикой поражения центральной нервной системы герпесвирусами, подтвержденной выявлением ДНК ВПГ в ликворе и инструментальными исследованиями топики поражения с помощью компьютерной и магнитно-резонансной томографии.

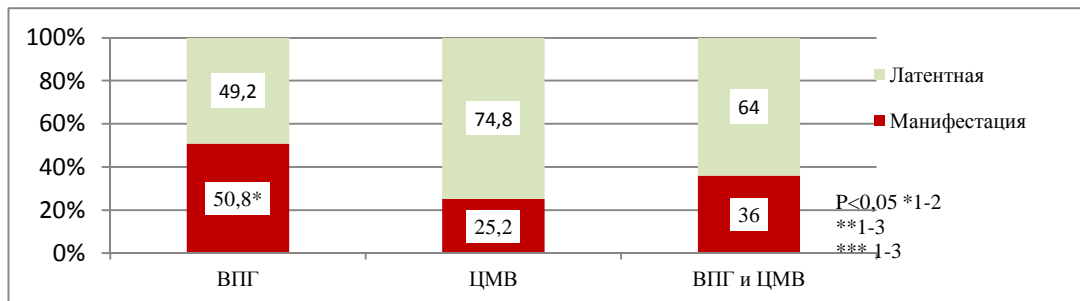


Рис. 14. Частота манифестации герпетической инфекции разной этиологии

Установлено, что наиболее часто манифестация инфекционного процесса встречалась при ВПГ (у половины детей) и проявлялась в виде энцефалитов, гепатитов, тромбоцитопении.

Для оценки факторов риска внутриутробного инфицирования герпесвирусами у 238 детей провели ретроспективный анализ анамнестических данных. Отобраны наиболее существенные факторы и оценена их диагностическая значимость при сопоставлении с результатами этиологического подтверждения герпетических инфекций (табл.5).

Таблица 5. Показатели статистической силы и статистической значимости связи герпетической инфекции, ВПГ и ЦМВ этиологии, с некоторыми данными анамнеза и преморбидного фона ребенка

Показатели	Величина показателя силы связи	Статистическая значимость
<b>Лабораторное подтверждение инфицированности матери герпесвирусами</b>	<b>0,64</b>	<b>0,000</b>
Проявление герпетической инфекции у матери во время беременности	0,03	0,656
Отягощенный акушерско-гинекологический анамнез у матери (исход	0,08	0,159

предыдущих беременностей: выкидыш, мертворождения, младенческая гибель)		
<b>ОРВИ у матери во время беременности</b>	<b>0,59</b>	<b>0,000</b>
Низкая оценка ребенка по шкале Апгар, асфиксия	0,05	0,381
Недоношенность	0,03	0,656
Задержка внутриутробного развития	0,09	0,124
<b>Гипербилирубинемия, синдром цитолиза в неонатальном периоде</b>	<b>0,29</b>	<b>0,000</b>
<b>Гепатомегалия</b>	<b>0,57</b>	<b>0,000</b>

Примечание: статистически значимые связи отмечены жирным шрифтом

Таким образом, доношенные новорожденные дети с перинатальным контактом ВПГ и/или ЦМВ представляют группы риска по развитию герпетических болезней, что определяет необходимость алгоритма диагностики манифестных и латентных форм. Все обследованные дети первого года жизни – из группы риска по манифестации внутриутробных инфекций, в том числе и больные вирусными ОКИ, рассматривались как инфицированные герпесвирусами при наличии маркеров ЦМВ и/или ВПГ в крови и/или моче и низко avidных специфических антител IgG (индекс avidности менее 40%). У детей, серопозитивных к герпесвирусам, дополнительно методом ПЦР определяли наличие в крови и моче ДНК-ЦМВ, ДНК-ВПГ I-II типа.

В ходе расчета коэффициента независимых переменных бинарной логистической регрессии сделан вывод о том, что по результатам первичного исследования периферической крови методом ПЦР выявлен только 21 пациент, из общего числа 81 больных ВПГ и/или ЦМВ инфекциями. У остальных 60 больных были «ложноотрицательные» результаты исследования периферической крови методом ПЦР. При первичном исследовании мочи у этих же больных «положительных» результатов – 64,19%. Вероятность, выявить больного, при наличии данных исследования уже двух сред, возрастает значительно,  $p=0,65$ ,  $p=0,001$ . Использование показателей двух диагностических методов повышает долю правильно спрогнозированных результатов. Для подтверждения наличия ВПГ и/или ЦМВ инфекции проводилось иммунологическое исследование пациентов методом ИФА в динамике наблюдения. Низкая частота выявления анти-ЦМВ класса IgM (у 7,54 %), анти ВПГ IgM (у 6,3 %) у детей раннего возраста отмечалась и другими авторами [Долгих Т.И., 2008; Кравченко Л.В., 2009]. У пациентов всех 6 групп наблюдения с манифестными и латентными формами ВПГ и/или ЦМВ инфекций выявлялись в крови антитела класса IgG к соответствующим антигенам. Оценка avidности IgG показала, что у обследованных детей с клиническими формами герпетических инфекций были выявлены низкие индексы,  $\leq 40\%$ . В динамике наблюдения увеличение титра IgG антител отмечено при манифестных и латентных формах герпетических инфекций. Диагностика ЦМВ и ВПГ при оценке риска развития активного инфекционного процесса у детей требовала использования комплекса лабораторных методов в динамике наблюдения. Установлены лабораторные критерии оценки активности герпетических инфекций – наибольшая значимость avidности IgG ( $<40\%$ ) и ДНК в моче, в то время как выявление IgM и ДНК в крови оказались менее информативными.

В течение первого года наблюдения детей с манифестацией герпетической ВПГ и/или ЦМВ инфекций выявлены: энцефалит – 38,2%, прогрессирующая перинатальная патология ЦНС – 43,7%, субкомпенсированная форма гидроцефалии – 24,7%, кисты сосудистых сплетений и кальцинаты головного мозга – 43,2%, сопровождающиеся задержкой психо-моторного развития – в 24,7% случаев, стойкими нарушениями двигательных функций – в 12,6%, атрофией зрительных нервов – в 11,1%, нейросенсорной тугоухостью – в 4,9%, хориоретинитом – 6,1%. Кроме того, диагностированы: гепатит – 25,9%, гастроэнтерит – 24,7%, бронхит – 34,6%, пневмонии – 7,4%, гипотрофия – 11,1%, анемии средней и тяжелой степени тяжести – 28,4%, распространенные алергодерматозы (атопический дерматит – 19,6% и крапивница – 9,8%). Среди клинических проявлений ЦМВ-инфекции высокий процент регистрации длительной желтухи с первого месяца жизни ребенка (40,6%), наряду с синдромом цитолиза, и гастроэнтериты (92,8%).

Неврологическая симптоматика характеризовалась высокой частотой гипоксически-ишемического поражения ЦНС (90,6%), гипертензионно-гидроцефальным синдромом (84,4%) и синдромом гипервозбудимости (53,1%). Наиболее тяжелые исходы герпетических ВПГ и ЦМВ-инфекций: симптоматическая эпилепсия с частыми пароксизмами и задержкой психо-моторного и речевого развития - у 11,1 %; детский церебральный паралич – у 9,8%, а у 3,7% детей с гидроцефалией сохранялась клиника внутричерепной гипертензии и отмечалась грубая задержка психо-моторного развития.

Многие авторы [Савенкова Т.С. и соавт., 2008; Исаков В.А. с соавт., 2006; Боковой А.Г., 2008 и др.], при персистенции герпесвирусов с возможной реактивацией и иммуносупрессией не исключали участие этих возбудителей в развитии сочетанных инфекций. Проведенные исследования Барановой И.П. с соавт. (2007, 2008), о широкой распространенности ВПГ и ЦМВ инфекций у детей 1-го года жизни, подтверждают результаты по значимости сочетанных инфекций. Доказано вирусные ОКИ сочетанные с герпетическими провоцируют их манифестацию.

### **Состояние иммунной системы детей с различными клиническими вариантами вирусных кишечных, герпетических и сочетанных форм этих инфекций.**

Оценить благоприятность исхода вирусной кишечной инфекции у детей можно было при следующих изменениях показателей системного иммунитета в сыворотке их крови: увеличение Т-хелперов, Т-цитотоксических лимфоцитов, IFN- $\gamma$  при одновременно низких значениях нейтрофильных гранулоцитов, ЦИК, IL-4 и высоких показателях ИЛ-1  $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  и RAIL-1. Изначально низкие уровни цитотоксических клеток и нарушенная готовность к апоптозу у ряда пациентов компенсировались ранним неспецифическим ответом с повышенной продукцией IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1  $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , значительным увеличением RAIL-1. У пациентов с вирусной ОКИ в среднетяжелой форме регистрировалось преобладание Th1 типа иммунного ответа. Активное участие провоспалительных цитокинов соответствовало кратковременности клинического течения среднетяжелой формы вирусной ОКИ. Так, повышение уровня цитокинов Th1 типа иммунного ответа у пациентов в данной группе соответствовало своевременному завершению острого инфекционного процесса. У больных вирусными ОКИ, в частности, и ротавирусной, и норовирусной инфекций, при тяжелых их формах, регистрировали однонаправленное нарушение Th1 цитокинового профиля. Кроме того, при тяжелых формах ОКИ на фоне отсутствия увеличения уровня провоспалительных цитокинов отмечены низкие значения фенотипически незрелых CD34+ клеток.

Результаты анализа продукции провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в зависимости от тяжести ОКИ, проявившиеся синдромами токсикоза и эксикоза, иллюстрирует таблица 6.

**Таблица 6. Сравнительная характеристика содержания цитокинов у детей с острыми кишечными инфекциями вирусной этиологии в зависимости от тяжести болезни**

Цитокины	Больные вирусной ОКИ средней тяжести, n=15	Больные вирусной ОКИ тяжелой формы с синдромами токсикоза, эксикоза, n=12	Условно здоровые дети, n=15
IL-1 $\alpha$	883,55 $\pm$ 28,34*** `	32,41 $\pm$ 8,66*** `	155,32 $\pm$ 31,88
IL-1 $\beta$	73,04 $\pm$ 15,51*** `	14,32 $\pm$ 3,17`	12,81 $\pm$ 4,13
IL-8	279,48 $\pm$ 39,29***	155,53 $\pm$ 64,35	54,0 $\pm$ 6,02
IL-4	5,35 $\pm$ 0,86	5,09 $\pm$ 0,17	6,61 $\pm$ 1,03
TNF- $\alpha$	1,85 $\pm$ 0,06	2,11 $\pm$ 0,22	2,37 $\pm$ 0,89
IFN- $\alpha$	13,23 $\pm$ 1,61*	9,08 $\pm$ 1,68	8,01 $\pm$ 0,84
IFN- $\gamma$	688,18 $\pm$ 140,96*** `	92,06 $\pm$ 24,95* `	38,28 $\pm$ 2,08
RAIL-1	681,88 $\pm$ 236,26*	181,33 $\pm$ 88,79	152,97 $\pm$ 42,16

Примечание. Различия значимы при \*- p<0,05, \*\*-p<0,01 и \*\*\*-p<0,001 в сравнении с показателями контрольной группы здоровых детей, при ` - p<0,05, ``-p<0,01 и ```-p<0,001 в сравнении с показателями групп больных детей.

При тяжелых формах ОКИ, осложненных синдромами токсикоза и эксикоза, у детей показатели содержания ряда цитокинов были значимо ниже, нежели в группе пациентов с ОКИ средней тяжести, и не отличались существенно от таковых в контрольной группе.

Поскольку тяжесть течения и исход кишечных инфекций, вызванных вирусами, сопровождалась изменениями в состоянии иммунной системы заболевшего ребенка, изучение показателей клеточного и гуморального звеньев иммунитета проводилось и в зависимости от влияния персистенции других возбудителей, таких как ВПГ и ЦМВ.

Проведенные иммунологические исследования выявили перераспределение субпопуляционного состава Т-лимфоцитов за счет уменьшения числа экспрессирующих на своей мембране CD4+ на фоне снижения содержания CD3+ клеток в периферической крови у преимущественного числа обследованных пациентов с ВПГ и ЦМВ инфекциями (табл.7).

**Таблица 7. Показатели иммунофенотипирования лимфоцитов у детей с ВПГ и ЦМВ**

Показатели, %	1 группа-больные ВПГ инфекцией, n=31	2 группа-инфицированные ВПГ I-II типа, n=30	3 группа-больные ЦМВ, n=30	4 группа-инфицированные ЦМВ, n=30	5 группа-микст ВПГ и ЦМВ, n=18	6 группа-инфицированные ВПГ и ЦМВ, n=30	Здоровые дети, n=39
CD3+	<b>25,9±2,88</b>	<b>26,4±0,43</b>	<b>29,57±2,74</b>	<b>28,93±2,22</b>	33,23±1,56	<b>26,25±1,92</b>	38,87±2,54
CD4+	<b>20,2±1,73</b>	<b>20,0±1,07</b>	22,66±2,16	<b>20,53±1,28</b>	28,0±1,35	26,5±1,95	25,12±1,41
CD8+	19,8±2,78	<b>17,4±0,76</b>	21,38±1,86	19,8±1,48	27,53±0,72	19,75±1,03	22,97±1,90
CD4/ CD8	1,2±0,18	1,3±0,10	1,12±0,10	1,09±0,05	1,01±0,03	1,4±0,06	1,25±0,07
CD11b+	<b>14,7±1,79</b>	<b>14,2±1,17</b>	16,4±1,51	17,07±1,15	15,05±2,3	18,25±2,04	19,79±1,77
CD16+	16,2±3,04	<b>12,6±1,05</b>	12,71±1,39	<b>11,4±1,1</b>	14,53±2,59	13,5±1,83	17,33±2,25
CD25+	<b>17,2± 0,31</b>	13,0±1,13	13,85±1,81	13,64±1,3	<b>22,76±1,72</b>	15,25±1,6	14,28±1,15
CD34+	-	-	<b>8,85±1,60</b>	12,66±0,76	12,66±0,76	-	13,69±1,56
CD56+	13,3±1,71	16,6±1,45	14,05±1,11	13,5±1,16	11,53±0,56	12,5±0,41	14,10±0,89
CD95+	12,8±2,21	<b>13,2±0,88</b>	12,8±2,21	<b>12,71±1,24</b>	<b>14,46±1,47</b>	<b>14,75±1,41</b>	21,53±1,92
HLA-DR	<b>21,1±4,48</b>	<b>22,0±1,58</b>	14,95±1,87	17,21±1,33	<b>3,84±0,47</b>	21,0±3,04	16,30±1,00

Примечание. Различия статистически значимые сравниваемых показателей групп

наблюдения и здоровых детей выделены в данной таблице и далее жирным шрифтом.

Кроме того, у больных с генерализованной герпетической инфекцией отмечено повышение в периферическом кровотоке числа ранних предшественников Т- и В-лимфоцитов, незрелых Т-лимфоцитов, числа клеток, экспрессирующих рецепторы CD25+, что в сумме указывало на выраженную активацию клеточного иммунитета. Проявилось также в этой группе изменение процессов презентации антигена (повышение экспрессии HLA-DR антигена) и способности к адгезии (снижение CD11b+). Уменьшение числа зрелых В-лимфоцитов (CD20+) указывало на нарушенную активацию гуморального звена иммунитета (табл.8,9).

**Таблица 8. Показатели гуморального звена иммунитета у детей с ВПГ и ЦМВ**

Показатели	1 группа-больные ВПГ I-II типа, n=31	2 группа-инфицированные ВПГ I-II типа, n=30	3 группа-больные ЦМВ, n=30	4 группа-инфицированные ЦМВ, n=30	5 группа-микст ВПГ и ЦМВ, n=18	6 группа-инфицированные ВПГ и ЦМВ, n=30	Здоровые дети, n=39
CD20 (%)	<b>14,6±1,95</b>	18,2±1,48	23,52±2,56	20,46±1,61	<b>27,7±2,56</b>	26,0±1,36	21,66±1,60
Ig A (г/л)	0,6±0,21	0,28±0,08	0,3±0,08	0,32±0,07	0,36±0,06	0,34±0,05	0,25±0,04

Ig M (г/л)	1,13±0,15	0,83±0,12	1,04±0,08	1,01±0,05	0,96±0,05	1,3±0,06	0,98±0,06
Ig G (г/л)	5,82±0,64	6,37±0,58	5,13±0,48	<b>4,68±0,36</b>	5,66±0,39	5,5±0,47	7,77±0,97
ЦИК (у.е)	88,30±8,29	61±11,94	86,36±9,49	90,62±8,46	73,4±7,33	64,25±4,95	89,77±9,49
СН50	<b>63,78±4,27</b>	60,14±1,84	<b>53,86±2,1</b>	52,55±1,95	65,15±2,76	66,4±1,6	50,11±1,24
С1 (x10 <sup>8</sup> /л)	<b>67,8±6,54</b>	87,92±3,3	<b>75,62±7,1</b>	<b>69,03±5,64</b>	85,03±9,36	<b>73,86±3,9</b>	101,4±6,7
С2 (x10 <sup>8</sup> /л)	65,11±9,63	91,88±3,27	75,45±8,0	<b>62,78±5,31</b>	97,17±6,22	77,18±4,37	83,01±6,21
С3 (x10 <sup>8</sup> /л)	<b>61,16±7,86</b>	<b>71,52±4,90</b>	<b>70,73±7,72</b>	64,20±5,55	82,91±8,74	70,96±5,88	90,35±6,01
С4 (x10 <sup>8</sup> /л)	74,89±13,8	<b>93,58±3,09</b>	84,25±7,70	75,53±5,0	86,63±9,69	85,97±6,78	78,03±5,9
С5 (x10 <sup>8</sup> /л)	74,82±12,28	<b>129,1±7,64</b>	92,93±7,82	79,21±4,66	100,15±18,6	100,4±6,04	87,78±7,10

Таблица 9. Особенности изменений иммунологических факторов у детей с ВПГ и ЦМВ

Показатели	1 группа-больные ВПГ I-II типа, n=31	2 группа-инфицированные ВПГ I-II типа, n=31	3 группа-больные ЦМВ, n=30	4 группа-инфицированных ЦМВ, n=30	5 группа-микст ВПГ и ЦМВ, n=18	6 группа-инфицированных ВПГ и ЦМВ, n=30	Здоровые дети, n=39
Количество нейтрофилов, %	44,56±6,77	45,0±1,09	<b>34,59±3,71</b>	36,37±2,99	36,92±6,15	<b>23,75±2,94</b>	42,89±2,43
Общее количество нейтрофилов, (x10 <sup>9</sup> /л)	5,28±0,78	3,3±0,23	<b>3,0±0,41</b>	3,47±0,36	4,47±0,82	<b>2,36±0,32</b>	4,48±0,45
Количество моноцитов, %	<b>13±1,36</b>	13,6±1,17	11,63±1,2	<b>12,18±1,06</b>	<b>15,07±1,12</b>	<b>15,5±1,12</b>	9,11±0,8
Общее количество моноцитов, (x10 <sup>9</sup> /л)	<b>4,68±0,38</b>	1,01±0,4	1,44±0,49	<b>2,39±0,62</b>	<b>2,23±0,39</b>	<b>1,56±0,12</b>	0,94±0,09
Фагоцитоз нейтрофилов, %	34,1±3,48	<b>42,4±2,58</b>	41,45±3,32	<b>43,31±3,03</b>	<b>26,76±1,6</b>	<b>45,0±1,93</b>	34,7±1,6
Интенсивность фагоцитоза нейтрофилов	1,05±0,20	1,22±0,12	1,27±0,15	1,27±0,13	0,68±0,10	1,5±0,07	1,09±0,05
Фагоцитарное число нейтрофилов	2,85±0,37	2,64±0,18	2,94±0,21	<b>2,71±0,15</b>	<b>2,08±0,15</b>	3,0±0,11	3,14±0,08
НСТ нейтрофилов спонтанная активность, %	<b>32,4±4,93</b>	<b>28,4±2,73</b>	28,31±3,3	<b>29,43±2,9</b>	<b>40,92±6,17</b>	26,5±3,33	21,56±1,9
НСТ-тест нейтрофилов спонтанная, индекс, усл.ед.	<b>0,49±0,08</b>	<b>0,47±0,03</b>	<b>0,44±0,04</b>	<b>0,46±0,04</b>	<b>0,59±0,11</b>	<b>0,39±0,05</b>	1,24±0,19
НСТ нейтрофилов (%) индуцированная активность,	38±7,52	49,4±3,35	34,72±4,6	36,12±3,8	46,3±6,32	<b>29,75±2,29</b>	41,17±2,85
НСТ нейтрофилов (усл.ед). индуцированный, индекс,	0,59±0,12	0,83±0,07	0,55±0,08	0,57±0,07	0,7±0,11	<b>0,37±0,02</b>	0,66±0,05
Лизосомальная активность нейтрофилов, усл. ед.	264,8±17,3	203,8±7,3	206,09±7,6	207,37±6,2	244,07±13,5	<b>173,25±2,05</b>	203,47±12,1

Иммунологический статус детей больных ЦМВ характеризовался снижением числа зрелых Т-лимфоцитов (CD3+), и снижением количества CD34+, нарушением фагоцитарной функции при сниженном количестве нейтрофилов - снижение НСТ-теста и тенденция уменьшения фагоцитарного числа. Отмечена тенденция к понижению числа клеток с маркером апоптоза (CD95+), снижению CD16+. Увеличение количества лимфоцитов, обладающих цитотоксическим эффектом (27,7±2,56, p=0,045) проявилось в группе наблюдения, - у больных микст ВПГ и ЦМВ инфекциями, что сопровождалось еще и выраженностью процессов ранней активации иммунокомпетентных клеток. Об этом свидетельствовали повышенные значения CD25+ клеток (22,76±1,72, p=0,0001) в периферической крови этих больных. Снижение защитных реакций у пациентов в этой группе наблюдения проявилось низкими значениями как показателя поздней активации Т-клеток - HLA-DR (3,84±0,47, p=0,0001), так и показателей фагоцитарной активности, и нарушением респираторного взрыва нейтрофилов.

Установлено наличие общих закономерностей в изменении ряда иммунологических данных и у детей, инфицированных ВПГ и ЦМВ, но при латентном течении процесса. В частности, определили изменение содержания в их периферической крови CD3+, CD16+, CD95+, моноцитов, фагоцитарной активности нейтрофилов, в сравнении значений аналогичных показателей здоровых детей. Кроме того, у пациентов, инфицированных ВПГ, как и у больных ВПГ-инфекциями, были низкими значениями CD11b – лимфоцитов (14,2±1,17, p=0,0161; 14,7±1,79, p=0,05, соответственно).

У всех детей, инфицированных ВПГ и/или ЦМВ, и больных этими инфекциями, имело место уменьшение готовности лимфоцитов к апоптозу, что отмечено снижением количества CD95+ клеток. Уровни иммуноглобулинов классов IgA, IgM и IgG в периферической крови обследованных детей, преимущественно, оставались в пределах нормы. За исключением, снижения значения IgG ( $4,68 \pm 0,36$ ,  $p=0,009$ ) в сыворотке крови у ЦМВ-инфицированных детей.

Анализ корреляции показателей иммунограмм свидетельствовал о слабых резервных возможностях организма детей, особенно, при сочетанных вирусных кишечных и герпетических инфекциях (табл.10).

**Таблица 9.** Характеристика зависимых показателей в иммунограммах детей при моно и сочетанных герпетических и вирусных кишечных инфекциях

Зависимые переменные	Количество анализируемых показателей	Количество зависимых показателей при ВПГ, n=15	Количество зависимых показателей при ВПГ и ОКИ, n=15
моноциты	47	6	2
нейтрофилы	47	5	3
лимфоциты	47	4	1
CD3+	47	-	-
CD4+	47	5	-
CD4+/ CD8+	47	10	-
CD10+	47	7	-
CD11b+	47	3	-
CD16+	47	3	1
CD20+	47	2	-
CD25+	47	3	-
CD34+	47		
CD56+	47	4	-
CD95+	47	7	-
НСТ спонтанный	47	4	1
НСТ индуцированный	47	4	1
IgM	47	4	-
IgA	47	5	1
IgG	47	1	-
C1	47	1	1
C5	47	1	-
Итого:		77	11

Наибольшая потеря связей при сочетанных ВПГ и вирусных ОКИ отмечена между моноцитами и лимфоцитами.

При ЦМВ-инфекции отметили еще и снижение связей, объединяющих клеточные и гуморальные факторы иммунитета (таблица 11).

**Таблица 11.** Характеристика зависимых показателей в иммунограммах детей при моно- и сочетанных цитомегаловирусной и вирусных кишечных инфекциях

Зависимые переменные	Количество анализируемых показателей	Количество зависимых показателей при ЦМВ, n=25	Количество зависимых показателей при ЦМВ и ОКИ, n=30
моноциты	47	1	2
нейтрофилы	47	2	2
лимфоциты	47	3	1
CD3+	47	-	-
CD4+	47	-	-
CD8+	47	-	1
CD4+/ CD8+	47	-	-
CD11b+	47	-	-
CD34+	47	1	4

CD95+	47	1	-
НСТ спонтанный	47	1	1
НСТ индуцированный	47	1	1
IgM	47	-	1
C2	47	-	-
C3	47	1	-
C4	47	-	-
Итого		11	13

Таким образом, ВПГ-инфекция характеризовалась увеличением показателя связеобразования, ЦМВИ – снижением его в иммунограммах больных детей. Однако сочетанные формы вирусных ОКИ с ВПГ, как и тяжелые формы вирусных кишечных инфекций, были сопряжены со снижением количества взаимосвязей между зависимыми и независимыми переменными иммунного статуса. Как показали исследования, абсолютное содержание лейкоцитов в крови больных вирусными ОКИ, герпетическими инфекциями и сочетанными их формами не имело статистических различий, в том числе и с показателями контрольной группы, что может быть обусловлено как отсутствием гиперергического иммунного ответа на антигены возбудителей, так и относительным истощением возможностей иммунной системы. Изменения в иммунном статусе отражали способность микст ВПГ и ЦМВ угнетать ответ Т-лимфоцитов, снижая показатель HLA-DR более, чем в 4 раза. Практически идентичные изменения значений показателей клеточного иммунитета отмечались у больных ОКИ и в миксте с ВПГ, ЦМВ. Однако индексы иммунорегуляторный и л/Тл были выше у больных с ОКИ, чем с герпетическими инфекциями. Пациенты с вирусными ОКИ отличались от детей других групп и по более высоким показателям гуморального звена иммунитета.

У пациентов с генерализованными герпетическими инфекциями выявили невысокие уровни IFN- $\gamma$  (таблица 12). Продукция IL-1  $\alpha$  была снижена, низкими были значения RAIL-1. У пациентов больных цитомегаловирусной инфекцией, способность лейкоцитов к продукции IFN- $\alpha$ , а лимфоцитов к синтезу IFN- $\gamma$ , были несколько ниже, чем у детей с иммунологическим вариантом ВПГ-инфекции. В отличие от больных ВПГ, на более высоком уровне в сыворотке крови этих детей с ЦМВ определили циркулирующие IL-8, значительно выше было у них значение RAIL-1. Притом, что значения провоспалительных цитокинов в периферической крови пациентов с ЦМВ определялись несколько ниже, чем у детей с ВПГ, содержание противовоспалительного цитокина IL-4 было меньше среднего уровня в контрольной группе.

**Таблица 12. Содержание цитокинов у детей с сочетанными вирусными кишечными и герпетическими инфекциями (пг/мл)**

Группы наблюдения	ИЛ-1 $\alpha$	ИЛ-1 $\beta$	ИЛ-8	ИЛ-4	ФНО- $\alpha$	ИФН- $\alpha$	ИФН- $\gamma$	РАИЛ-1
Вирусная ОКИ у инфицированных ЦМВ, n=30	<b>38,34<math>\pm</math>3,5</b> ***	<b>6,46<math>\pm</math>0,5*</b>	61,08 $\pm$ 3,05	8,62 $\pm$ 1,21	1,98 $\pm$ 0,13	13,48 $\pm$ 2,8	<b>27,3<math>\pm</math>2,26</b> **	<b>53,6<math>\pm</math>4,04</b> **
Вирусная ОКИ у инфицированных ВПГ, n=15	<b>36,72<math>\pm</math>6,4</b> ***	24,53 $\pm$ 8,5	<b>465,6<math>\pm</math>187,6</b> *	<b>0,94<math>\pm</math>0,10</b> ***	2,21 $\pm$ 0,9	<b>5,72<math>\pm</math>0,76*</b>	<b>32,5<math>\pm</math>0,79*</b>	<b>17,7<math>\pm</math>3,4</b> **
Вирусная ОКИ у инфицированных ВПГ и ЦМВ, n=15	<b>294,71<math>\pm</math>0,8</b> ***	<b>45,94<math>\pm</math>0,2</b> ***	<b>276,24<math>\pm</math>99,9</b> *	8,45 $\pm$ 0,24	2,65 $\pm$ 0,2	<b>10,70<math>\pm</math>0,7*</b>	<b>87,7<math>\pm</math>19,26*</b>	<b>23,6<math>\pm</math>3,6</b> **
ВПГ с клиническими проявлениями, n =16, бессимптомная, n=15	87,16 $\pm$ 20,1 <b>496,9<math>\pm</math>147,7</b> *	15,72 $\pm$ 2,3 <b>196,1<math>\pm</math>56,1</b> ***	64,5 $\pm$ 16,07 <b>555,9<math>\pm</math>152,0</b> **	6,31 $\pm$ 1,01 8,25 $\pm$ 1,65	3,21 $\pm$ 0,65 <b>24,45<math>\pm</math>7,96</b> *	31,5 $\pm$ 15,2 <b>14,32<math>\pm</math>2,9*</b>	<b>172,5<math>\pm</math>40,7**</b> <b>652,8<math>\pm</math>291,1*</b>	<b>45,7<math>\pm</math>6,8*</b> <b>47,2<math>\pm</math>19,5*</b>
ЦМВ с клиническими								



проявлениями, n =15, бессимптомная, n=14	107,95±29,1 <b>496,58±126,1</b> *	11,34±3,3 <b>103,36±23,2</b> ***	213,15±90,49 <b>1061,1±258,0</b> ***	<b>3,75±0,60*</b> 7,79±0,85	5,03±2,93 2,68±0,30	12,96±4,5 <b>14,21±2,6*</b>	37,3±4,08 <b>553,09±49,8</b> ***	186,3±67,1 272,5±104,1
Микст-ВПГ и ЦМВ с клиническими проявлениями, n=8, бессимптомная, n=9	70,29±22,1 172,53±53,8	11,30±3,9 <b>34,29±8,8*</b>	<b>345,25±190,0*</b> <b>358,84±79,16*</b>	3,86±1,60 8,57±0,16	4,53±1,15 3,0±0,17	10,09±0,8 <b>13,51±1,2*</b> *	38,72±3,35 <b>132,19±28,2</b> ***	48,16±9,9 254,2±114,4
Здоровые дети, n=15	155,32±31,8	12,81±4,1	54,0±6,02	6,61±1,03	2,37±0,89	8,01±0,84	38,28±2,08	152,9±42,16

Примечание. Различия значимы при \*- p<0,05, \*\*-p<0,01 и \*\*\*-p<0,001 в сравнении с показателями контрольной группы здоровых детей.

Состояние цитокинового ответа детей, инфицированных ВПГ, при бессимптомном течении, характеризовалось увеличением содержания провоспалительных цитокинов, незначительно повышенной способностью клеток к продукции IFN- $\alpha$  и высоким уровнем IFN- $\gamma$  в сыворотке их крови. В то время как, содержание IL-4 у них не изменилось, а RALP-1 - значительно снизилось. В периферической крови ЦМВ-инфицированных детей содержание IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8, IFN- $\alpha$  и IFN- $\gamma$  были выше, чем у здоровых детей.

В сыворотке крови детей с вариантом бессимптомного течения микст ВПГ и ЦМВ инфекций выявили высокие величины интерферонов, у них же были выше и уровень IL-1 $\beta$ , и значение RALP-1, чем у больных с клиническими проявлениями сочетанной герпетической инфекции. Кроме того, в сыворотке крови пациентов с клиническими проявлениями микст ВПГ и ЦМВ инфекций уровень цитокина IL-8, более чем в 6 раз, превышал значение такого показателя здоровых детей.

Динамика противовоспалительных и провоспалительных цитокинов, в частности, снижение концентрации IL-4 и повышение уровня IL-8, при низких значениях IFN- $\gamma$ , характеризовала прогрессирующую генерализованную герпетическую инфекцию и риск ее манифестации при сочетанных с кишечными инфекциях.

Статистически значимое повышение содержания INF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  и IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  в сыворотке крови у больных среднетяжелыми формами ОКИ свидетельствовало о важной роли указанных цитокинов в реализации механизмов противовирусной защиты. Напротив, выявленные в исследованиях низкие значения провоспалительных цитокинов, были сопряжены с дисбалансом клеточного иммунного ответа при тяжелых формах вирусных ОКИ.

Недостаточную продукцию показателей провоспалительных цитокинов отметили в большинстве случаев манифестных герпесвирусных инфекций и сочетанных их форм с вирусными ОКИ. Тяжелое течение как при моно-, так и сочетанной вирусной кишечной с герпетическими болезнями характеризовалось высоким содержанием IL-8 на фоне ограниченного синтеза противовоспалительного цитокина IL-4 и низких значениях IFN- $\gamma$ . Вероятно, на фоне двойной антигенной нагрузки произошел срыв адаптационно-компенсаторных возможностей иммунной системы организма.

Таким образом, одним из патогенетических механизмов, обуславливающих развитие инфекции, являются нарушения в системе цитокинов, но при этом нельзя не учитывать метаболические изменения в организме.

**Показатели уровня метаболитов оксида азота и цитокинов при вирусных кишечных инфекциях.** Для выяснения роли оксида азота при вирусных ОКИ определили содержание стабильных метаболитов NO, выступающих в качестве маркеров биологических эффектов (табл. 13).

*Таблица 13. Содержание оксида азота в периферической крови больных, в зависимости от тяжести течения острых кишечных инфекций*

Группы наблюдения	NO мкМ/л	NO3 мкМ/л	NO2 мкМ/л
-------------------	-------------	--------------	--------------

Больные ротавирусной ОКИ, среднетяжелая, n=30	20,76±1,23 <sup>``</sup>	11,99±1,11*	8,76±0,89***
тяжелая форма, n=30	34,24±2,36***	20,73±3,67 <sup>^</sup>	13,46±2,32***
Здоровые дети, n=39	<b>18,56±0,81</b>	<b>15,26±1,15</b>	<b>3,3±0,18</b>

Примечание. Различия значимы при \*- p<0,05, \*\*-p<0,01 и \*\*\*-p<0,001 в сравнении с показателями контрольной группы здоровых детей, при <sup>^</sup>- p<0,05, <sup>``</sup>-p<0,01 и <sup>````</sup>-p<0,001 в сравнении с показателями групп больных детей.

Проведенные исследования показали, что содержание метаболитов оксида азота в сыворотке крови детей, больных среднетяжелыми формами ОКИ, в сумме было незначительно выше (20,76±1,23, p>0,05), чем у здоровых детей (18,56±0,81), за счет повышения концентрации NO<sub>2</sub> (8,76±0,89, p<0,001) и снижения уровня NO<sub>3</sub> (11,99±1,11, p<0,05). При тяжелых формах вирусных ОКИ, с синдромами токсикоза и эксикоза, у больных отмечали, более чем 1,5-2-х кратное, в среднем, в 1,84 раза, повышение содержания суммы метаболитов оксида азота (NO<sub>2</sub> и NO<sub>3</sub>) в плазме крови, преимущественно, за счет нитритов, среднее значение которых было в 4,07 раза выше. Проведенный сравнительный анализ показателей КОС у детей, больных среднетяжелыми и тяжелыми формами ОКИ, свидетельствовал о том, что при более интенсивном изменении показателей течения нитроксидергических процессов развивается декомпенсация гемодинамики. Нарастающий уровень NO был сопряжен с метаболическими изменениями и нарушениями микроциркуляции. Обратная корреляция величин NO определена с показателями pH крови (-0,72, p=0,02). Установлена корреляционная зависимость повышенного содержания NO в крови обследованных больных с сердечно-сосудистыми нарушениями: максимальным числом сердечных сокращений (r=0,71, p=0,018), снижением артериального давления (r=-0,77, p=0,0087). Появление судорожного синдрома было также сопряжено с повышением значений NO (r=0,83, p=0,0046).

Тенденция увеличения продукции NO при среднетяжелых формах ОКИ была сопряжена значимым увеличением цитокинов. Следует подчеркнуть, что подобная взаимосвязь высокого содержания цитокинов и продукции метаболитов NO оказалась наиболее благоприятной в течение вирусных ОКИ. При анализе взаимосвязей результатов NO с иммунологическими данными периферической крови регистрировалась корреляция отдельных показателей, как системного иммунитета, так и уровня цитокинов. Причем их образование, исчезновение и характер изменения зависели от динамики течения заболевания.

Так, у детей с благоприятной динамикой течения заболевания установлены прямые взаимосвязи между уровнем NO и следующими показателями периферической крови: относительным количеством нейтрофилов, CD 3+, CD8+ лимфоцитами и TNFα, кроме того, IFN-γ, и такими провоспалительными цитокинами, как IL-1, RAIL-1. Напротив, резкое нарастание NO в периферической крови больных ОКИ, коррелирующее с тяжестью процесса, не сопровождалось усилением продукции цитокинов.

Это противоречие, вероятно, объяснит влияние различных NO-синтетаз. Известно, индуцирующими агентами для iNOS являются эндотоксин, IFN-γ, IL-1 и TNF-α [Hatoum O.A., Gauthier K.M., Binion D.G., et al., 2005]. Факт повышения содержания NO в периферической крови обследованных детей, больных среднетяжелыми формами ОКИ, был обусловлен активацией, вероятно, индуцибельной формы NO-синтазы под влиянием цитокинов.

Нарастание метаболитов NO у детей с тяжелыми формами вирусных ОКИ, ассоциированных с синдромами токсикоза и эксикоза, не сопровождалось усилением продукции цитокинов, в частности, и интерферонов. Современные данные литературы, рассматривающие оксид азота в качестве медиатора, способствующего расширению сосудов, определяют значимость поддержания гомеостаза NO и при кишечных инфекциях

[Покровский В. И., Виноградов Н. А., 2005; Титов В.Н. , 2007; Hatoum O.A., Gauthier K.M., Vinion D.G., et al., 2005]. Повышенное содержание NO явилось одним из существенных компонентов в патогенезе ОКИ, что сопровождалось избыточной потерей жидкости и гемодинамическими нарушениями. Выявленная различная направленность изменений уровня цитокинов и метаболитов NO у больных вирусными ОКИ, в зависимости от тяжести заболевания, определила патогенетический подход в дезинтоксикационной терапии.

При сочетанных формах вирусных ОКИ бессимптомных герпетических инфекций показатели нитроксидергических процессов были ниже аналогичных моно герпес-вирусных вариантов (рис. 15).

*Рис.15. Содержание метаболитов оксида азота в периферической крови детей с моно- и сочетанными формами ротавирусной ОКИ и герпетических инфекций ВПГ и ЦМВ этиологии, мкМ/л.*

Различия значимы при \* -  $p < 0,05$ , \*\*\* -  $p < 0,001$  в сравнении с показателями контрольной группы здоровых детей, при ' -  $p < 0,05$  и "' -  $p < 0,001$  в сравнении с показателями групп больных детей.

Увеличение продукции NO при сочетанных вирусных кишечных и латентных герпетических инфекций с благоприятным исходом как и при среднетяжелых формах ОКИ сопровождалось значимым повышением уровня провоспалительных цитокинов. Напротив, при резком нарастании NO в периферической крови у больных с манифестацией герпетических инфекций не отмечено увеличения показателей цитокинов.

При оксидативном стрессе реактивные формы кислорода, вероятно, способны индуцировать апоптоз с формированием иммунносупрессии. Так, снижение в периферическом кровотоке ранних предшественников Т- и В-лимфоцитов (CD34) отмечалось у детей с тяжелыми формами вирусных ОКИ, генерализованной ЦМВ инфекцией и при сочетанных формах вирусных кишечных с клинически выраженными герпетическими инфекциями.

Обнаруженная корреляция между содержанием интерферонов, CD34+ клеток в периферической крови и особенностями клиники ВПГ, ЦМВ-инфекций, ОКИ определяет значимость уровня цитокинов и кинетики клеточного пула стволовых кроветворных клеток для объяснения патогенеза тяжести инфекционного процесса.

**Прогностические критерии неблагоприятного течения болезни и способы прогнозирования эффективности проводимой терапии у детей с вирусными кишечными и сочетанными с герпетическими инфекциями.** При проведении оценки показателей противовирусного иммунитета, нитроксидергических процессов у детей, больных вирусными кишечными инфекциями, с целью прогноза неблагоприятного течения заболевания был применен метод логистической регрессии. Статистическая модель для прогнозирования вероятности наступления события строилась по имеющимся данным независимых признаков возраст, наличие ВПГ, ЦМВ инфекций, вид вскармливания. Отношения шансов (ОШ) развития синдрома кишечного эксикоза и токсикоза при ротавирусной инфекции, определивших тяжесть болезни у детей 1-3 лет ( $n=140$ ) и первого года жизни ( $n=85$ ), составило  $1,19/0,262=4,42$ . Шанс развития эксикоза у детей первого года при искусственном вскармливании (ОШ= $0,5/0,008$ ) определен в 6,25 раза выше, чем при грудном вскармливании. Однако и на 2-3 году жизни детей шанс развития синдрома эксикоза остается высоким ( $3,28/0,6=5,46$ ), именно, у пациентов находившихся ранее на искусственном вскармливании. ОШ манифестации герпетической инфекции при сочетанной вирусной ОКИ и ВПГ равно 3,52; а при микст- ЦМВ ОШ=3,15. Клинико-анамнестические данные 73 детей первых 6 месяцев жизни, заболевших ротавирусной инфекцией, были сопоставлены с анамнестическими данными контрольной группы, в которую включили 72 ребенка в возрасте 6 мес., с рождения получавших грудное вскармливание и не заболевших ОКИ. Оценка иммунного статуса проведена у детей с учетом вида вскармливания, исходов моно- и сочетанных ОКИ.

Активация клеток и усиление продукции провоспалительных цитокинов является необходимой при формировании противовирусного иммунитета, однако становится проблемной, если степень активации перестает быть адекватной, когда первоначально защитный механизм перерастает в патологический. Подтверждением этого в нашем исследовании стало повышение уровней провоспалительных цитокинов относительно контрольной группы, которое наблюдалось как у больных с ОКИ, так и при латентных формах герпетических инфекций. При этом, необходимо отметить, что гиперпродукция ФНО- $\alpha$  является одним из основных механизмов активации инфекционного процесса при его переходе из латентного состояния в фазу клинических проявлений и может свидетельствовать о прогрессировании заболевания. При сравнительном анализе уровней цитокинов между изучаемыми группами установлено изменение не только IFN- $\gamma$ , но и уровней как про-, так и противовоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-8, и ФНО- $\alpha$ ), у больных ВПГ и ЦМВ относительно пациентов с латентными формами ВПГ и ЦМВ инфекций. Выявленные изменения цитокинового профиля соотносятся с недостаточной активностью лимфоцитарного звена, нарушением функционального профиля нейтрофилов и неэффективной работой гуморальных факторов иммунной системы, установленных, более, выражено, в группе ЦМВ-инфицированных, что, в свою очередь, поддерживает персистенцию вируса дальнейшую прогрессию заболевания. В условиях вирусной инфекции IL-4, ФНО- $\alpha$  как напрямую, так и опосредованно могут выполнять функции супрессорных факторов, обуславливая истощение и дисрегуляцию иммунной системы, и тем самым создавать благоприятные условия для прогрессии заболевания. Прогрессирующее увеличение RAIL-1 у больных имеет компенсаторный характер. Результаты анализа иммунологических показателей детей с перинатальным контактом ВПГ и ЦМВ, позволили установить наиболее значимые информативные показатели для каждой из 6 вариантов клинических групп. Для прогнозирования реализации ВУИ был использован дискриминантный анализ, который позволил выделить группы риска среди обследованных детей по выделенным показателям иммунного статуса. Внутриутробная герпетическая инфекция, затруднена в своевременной диагностике. Манифестация может проявиться в отдаленные сроки, нередко, неврологическими расстройствами. Кроме того, эти дети представляют группу риска по неблагоприятному течению сочетанных заболеваний. В связи, с чем следующий фрагмент исследований состоял в

изучении показателей нитроксидергических процессов и иммунного статуса у детей с вирусными ОКИ и сочетанными с герпетическими инфекциями в случаях раннего (1 день болезни) и позднего поступления в стационар (3-5 дней от начала заболевания). Для изучения корреляционных взаимосвязей NO с иммунологическими показателями периферической крови больных был исследован его уровень в сыворотке крови до лечения и в динамике течения заболевания. Проведен ретроспективный анализ клинко-лабораторных данных 30 детей раннего возраста с неспецифической клинической симптоматикой кишечного токсикоза/эксикоза и 25 пациентов с подобной клиникой, но еще и инфицированных герпесвирусами. Показатели этих детей оценивали в сравнении с данными двух других групп больных моно – микст ОКИ, сопоставимых по этиологии заболеваний, возрасту, полу, количеству наблюдений, но с патогенетической терапией, начатой в более ранние сроки (первые сутки от начала заболевания). Всем пациентам была проведена ДНК диагностика ВПГ и ЦМВ методом ПЦР мочи или крови, ИФА периферической крови для выявления Ig G с определением авидности. Для более глубокого анализа полученных данных были использованы количественные показатели, показывающие тенденцию изменений NO, активации, апоптоза иммунокомпетентных клеток, провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в периферической крови. При проведении многомерного нелинейного анализа уровня цитокинов в периферической крови были выделены статистически значимые: IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1  $\alpha$ , IL- $\beta$ , IL-8, RAIL-1.

Определение роли оксида азота в патогенезе ОКИ и клиническая оценка изменения его уровня явились перспективными как в диагностике, так и в прогнозировании неблагоприятного течения инфекционного процесса.

Учитывая результаты, полученные при иммунологическом обследовании детей различных групп наблюдения, следующим фрагментом исследования явилась разработка математической модели прогноза течения вирусных ОКИ и сочетанных их форм с герпетическими инфекциями. Для создания диагностической модели методом случайной выборки были сформированы обучающие группы из 10 пациентов. Применение пошагового метода дискриминантного анализа позволило выявить переменные, такие как абсолютное количество лимфоцитов, NO, IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1 $\alpha$ , IL- $\beta$ , IL-8, RAIL-1 в периферической крови, влияющих на распределение пациентов на 2 подгруппы: 1 – это пациенты с благоприятным прогнозом, до лечения; 2 – пациенты с неблагоприятным прогнозом, до лечения. Применение формул подразумевает формальную подстановку значений иммунологических показателей, полученных при обследовании, и вычисление значений дискриминантных функций. В качестве точек разделения используются значения середины расстояний между координатами центров распределений. Если значение дискриминантной функции больше значения середины расстояния, то больного необходимо отнести к последующей группе, если меньше, то к предыдущей. В нашем случае координаты точки разделения для обеих формул равны 0. Таким образом, формально, если значение дискриминантной функции  $F(x_1)$  больше 0, то больного необходимо отнести к группе с благоприятным прогнозом, если меньше, то к группе с неблагоприятным прогнозом. Результаты валидации полученных линейных дискриминантных функций показали, что точность диагностики при помощи данной модели составляет 87,5% между исходами в 1 подгруппе, во 2-ой – 90 %.

С помощью метода «деревьев классификаций» разработан дифференцированный подход к терапии больных вирусными кишечными и сочетанными их форм с герпетическими болезнями. При разработке программы лечения больных вирусной ОКИ и сочетанной с герпесвирусной инфекцией использовался патогенетический подход. В комплекс терапии входили следующие препараты: ферменты, пробиотики; регидратационная терапия, соответствующая степени и типу эксикоза; ацикловир и интерфероны использовали в лечении больных с ВПГ, иммуноглобулины для внутривенного введения (цитотект, пентаглобин, иммуноглобулин) для пациентов с ЦМВ.

Больные были разделены на группы. Первую группу составили дети с ВПГ, получавшие наряду с патогенетической терапией противовирусную терапию препаратом ацикловир (n=22). Вторую группу составили дети с ЦМВ, получавшие помимо общепринятого стандартного симптоматического лечения, иммунозаместительную (n=22)

Группы сравнения составили 20 детей с вирусными ОКИ без герпесвирусной инфекции и по 20 детей с сочетанными вирусными ОКИ и герпетическими ВПГ и ЦМВ заболеваниями.

После проведенного этиопатогенетического лечения у больных герпесвирусной инфекцией проведен анализ изменений клинического состояния и иммунного статуса.

У больных, после курса этиотропной, иммуномодулирующей терапии на фоне общепринятой, отмечено улучшение ряда исследуемых показателей клеточного иммунитета: достоверное нарастание абсолютного количества CD3+, CD4+ и CD8+. Установлено, что комплексная терапия способствовала также стабилизации гуморального звена иммунитета, проявляющейся в снижении как абсолютного, так и относительного количества В - лимфоцитов (CD20+) при сочетанной вирусной ОКИ и ЦМВ инфекциях.

Катамнестическое наблюдение в течение 1,5 лет проведено за 235 детьми с вирусными кишечными и сочетанными их формами с герпетическими ВПГ и ЦМВ инфекциями. Выделены группы с благоприятным и неблагоприятным исходами вирусных ОКИ. Клинико-anamнестические данные в каждой группе сопоставлены с изменениями в иммунном статусе, показателями уровня цитокинов и оксида азота, что позволило определить оценку параметров тяжести заболеваний.

Таким образом, полученные данные углубляют представление о патогенезе вирусных кишечных и сочетанных форм с герпетическими инфекциями (рис. 16).

*Рис.16. Схема патогенеза вирусных кишечных и сочетанных с герпетическими формами инфекций*

Результаты проведенного исследования позволили получить новые сведения о механизмах развития вирусных ОКИ, сочетанных их форм с герпетическими инфекциями, и явились основой для разработки ранней диагностики, прогнозирования неблагоприятного течения вирусных кишечных инфекций и сочетанных форм с герпетическими болезнями у детей и обоснования комплексной патогенетической фармакотерапии с потенцированием защитных сил организма.

### **Выводы**

1. Вирусная этиология ОКИ у детей является преобладающей. Доминирующую роль играют рота- и норовирусы, которые часто выявляются в ассоциациях. Внедрение молекулярно-генетических методов в лабораторную диагностику инфекционных заболеваний существенно повышает уровень этиологической структуры ОКИ за счет выявления моно- и сочетанных рота-, норо-, адено-, астровирусной кишечных инфекций.
2. Кишечные инфекции вирусной этиологии одинаково часто регистрируются во всех возрастных группах, начиная с 3 месяцев, и более тяжело протекают у детей от 6 месяцев до 3 лет жизни. Клиническая картина вирусного гастроэнтерита с выраженным диарейным синдромом, преимущественно, осмотического типа, усугубляется развитием дегидратации у детей 1-3 лет жизни.

3. Сочетанные вирусно-вирусные кишечные инфекции отличаются более продолжительным клиническим течением.

4. Повышенные содержания INF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$ , IL-1 $\alpha$  и IL-1 $\beta$ , высокий показатель RAIP-1, при одновременном снижении числа нейтрофильных гранулоцитов, ЦИК, IL-4 в крови у больных моно- и микст вирусными ОКИ являются критериями благоприятного менее длительного течения заболевания.

5. Дети с перинатальным контактом ВПГ и/или ЦМВ представляют группы риска для супер-инфицирования вирусных ОКИ. Способствуют манифестации герпетических инфекций изменения естественной цитотоксичности недостаточной продукцией цитокинов, в частности, IFN- $\gamma$ .

6. Динамика цитокинов: снижение концентрации противовоспалительного IL-4 и повышение уровня IL-8, при низких значениях провоспалительных IFN- $\gamma$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , - характерна для тяжелых форм вирусных кишечных и прогрессирующего течения генерализованных герпетических инфекций.

7. При тяжелых формах сочетанных вирусных ОКИ и ЦМВ на фоне отсутствия увеличения уровня провоспалительных цитокинов отмечены низкие значения фенотипически незрелых CD34+ клеток.

8. Выраженное увеличение уровня метаболитов оксида азота при тяжелых вирусных кишечных инфекциях и прогрессирующих генерализованных герпетических заболеваниях сопряжено с иммуносупрессивным характером противовирусного иммунного ответа.

Грудное вскармливание предупреждает развитие тяжелых форм вирусных ОКИ, затяжного течения на первом году жизни ребенка.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для повышения качества диагностики ОКИ в комплекс обследования необходимо включить молекулярно-генетические методы исследования кала, что позволит выявлять, кроме ротавирусной, и другие вирусные патогены (норо-, сапо-, ротавирусы группы гр. С, аденовирусы гр. F, астровирусы). Обследование на вирусы в алгоритме диагностики кишечных инфекций проводить круглогодично, независимо от клинических проявлений.

2. Наличие факторов риска перинатального инфицирования ребенка от матери, в сочетании выявления маркеров герпесвирусов в его крови или в моче, нарастание в динамике уровня специфических иммуноглобулинов G или низкой их авидности определяют манифестацию герпетических инфекций.

3. Для диагностики активной формы герпетической инфекции целесообразно выявление – кроме IgG их низкой авидности, и кроме IgM и ДНК в крови, ДНК в моче.

4. Для выделения группы риска по неблагоприятному течению вирусных инфекций у герпесинфицированных детей использовать параметры иммунного ответа. Этим детям целесообразно раннее назначение иммуномодулирующей терапии.



7. Для повышения эффективности терапии сочетанных вирусных кишечных инфекций с герпетическими болезнями рекомендуется оптимизировать стандартное лечение с учетом прогностических параметров иммунного статуса, изменения показателей нитроксидергических процессов.

#### **Список работ, опубликованных по теме диссертации**

1. Дарджания, Р.А. Клинико-лабораторная диагностика кишечных токсикозов у детей раннего возраста /Р.А. Дарджания, Р.К. Галлямова, Ф.Г. Ситдикова //Детские инфекции. - 2004. - №3 (8). - С.23-27. \*
2. Бабик, Р.К. Особенности суперинфекций у детей с внутриутробными герпетическими заболеваниями /Р.К. Бабик, И.А. Огошкова //Материалы III конгресса педиатров-инфекционистов. – Москва, 2004 г. – С.50
3. Бабик, Р.К. Роль ротавирусной инфекции при энтеральной недостаточности у детей раннего возраста /Р.К. Бабик, Ф.Г. Ситдикова, М.В. Пучкова //Материалы III конгресса педиатров-инфекционистов. – Москва, 2004 г. – С.50.
4. Бабик, Р.К. Герпесвирусы в генезе инфекционной патологии центральной нервной системы и кишечника у детей /Р.К. Бабик, В.Н. Богайчук, Е.А. Богайчук, Ф.Г. Ситдикова, М.В. Пучкова // Сб. научно-пр. трудов. II съезд акушеров - гинекологов и педиатров Челябинской области. - Челябинск, 2005. – С. 147-149.
5. Бабик, Р.К. Клинико-иммунологические особенности герпетических инфекций у детей /Р.К. Бабик, И.А. Огошкова, К.В. Никушкина, О.С. Абрамовских //Юбилейный сборник научных тр. ЦНИЛ. – Челябинск, 2005. - С. 35-36.
6. Бабик, Р.К. Клинико-иммунологические особенности некоторых герпетических инфекций у детей раннего возраста /Р.К. Бабик Р.К., И.А. Огошкова //Материалы четвертого конгресса педиатров-инфекционистов России. - Москва, 2005. - С. 49.
7. Огошкова, И.А. Прогностические критерии при герпесвирусных инфекциях у беременных и новорожденных / И.А. Огошкова, Р.К. Бабик //Сб. научно-пр. трудов. II съезд акушеров - гинекологов и педиатров Челябинской области. - Челябинск, 2005. - С. 113-115.
8. Бабик, Р.К. Герпетические инфекции у детей раннего возраста /Р.К. Бабик //IV Российский Съезд инфекционистов. – Нижний Новгород, 2006. – С.148.
9. Бабик, Р.К. Герпетические моно- и микст-инфекции у детей раннего возраста, клинико-лабораторные способы диагностики /Р.К. Бабик Р.К., И.А. Огошкова, К.В. Никушкина, О.С. Абрамовских, И. Ю. Орнер //Новые лабораторные технологии в диагностике и лечении заболеваний человека: материалы конф., посвящ. 25-летию ЦНИЛ ЧелГМА/ под ред. И.И.Долгушина. - Челябинск: Челябинская государственная медицинская академия, 2006. – С. 120-122.
10. Бабик, Р.К. Обследование детей раннего возраста с генерализованными, осложненными герпетическими инфекциями /Р.К. Бабик //V Российский Конгресс детских инфекционистов. – Москва, 2006.- С. 26.
11. Бабик, Р.К. Варианты течения внутриутробных герпетических инфекций у детей раннего возраста / Р.К. Бабик, И.А. Огошкова // Новые технологии в здравоохранении: сб. научных тр. - Челябинск, 2007. - С.185.
12. Бабик, Р.К. Клинические формы заболеваний детей раннего возраста, инфицированных герпесвирусами /Р.К. Бабик //Актуальные проблемы смешанных инфекций: материалы юбилейной Всероссийской науч. пр. конференции. - Санкт-Петербург, 2007. - С. 20.

13. Бабик, Р.К. Роль вирусных диарей в структуре острых кишечных инфекций у детей /Р.К. Бабик, Ф.Г. Ситдикова, Е.В. Корнеева, М.В. Воробьева //Новые технологии в здравоохранении: сб. научных тр. - Челябинск, 2007. - С.189-191.
14. Сагалова, О.И. Характеристика циркулирующих штаммов ротавирусов группы А у детей и взрослых в г. Челябинске /О.И.Сагалова, Р.К. Бабик, А.Т. Подколзин, В.В. Малеев //Молекулярная диагностика, 2007: сб. тр. 6-ой Всерос. Науч.-практ. конф. с международным участием. –М., 2007. – Т.3. – С. 275-278.
15. Бабик, Р.К. Факторы, влияющие на продолжительность ротавирусной диареи у детей /Р.К. Бабик, Е.В. Корнеева //Материалы VI Конгресса детских инфекционистов России. - Москва, 2007. - С.23.
16. Бабик, Р.К. Клинико-эпидемиологические особенности ротавирусной инфекции у детей /Р.К. Бабик, Ф.Г. Ситдикова, Е.В. Корнеева //Актуальные проблемы физиологии и патологии детей: материалы научно-пр. конф. - Челябинск, 2008. - С.153-155.
17. Бабик, Р.К. Вирусные диареи у детей первых месяцев жизни /Р.К. Бабик, Е.В. Корнеева, Н.В. Никушкина //Актуальные проблемы медицинской науки и практического здравоохранения: сб. тр. научно-пр. сессии, посв. 65-летию медакадемии. - г. Челябинск, 2009. - С. 4-5.
18. Бабик, Р.К. Изучение иммунного статуса детей при смешанных герпетических инфекциях /Р.К. Бабик // Инфекционные болезни. - 2009, Т.7, приложение 1. - С.18.
19. Бабик, Р.К. Клинико-эпидемиологические иммунологические особенности генерализованной менингококковой инфекции, течение сочетанной ее формы с вирусом простого герпеса /Е.А. Богайчук, Р.К. Бабик, В.Н. Богайчук //Актуальные вопросы неврологии: материалы Всерос. научно - пр. конф. - СПб, 2009. –С.73.
20. Бабик, Р.К. Менингококковая инфекция в ассоциации с вирусом простого герпеса у детей /Е.А. Богайчук, Р.К. Бабик, В.Н. Богайчук //Материалы VIII Конгресса детских инфекционистов России. - Москва, 2009. - С. 9.
21. Бабик, Р.К. Ротавирусная моно- и микст кишечная инфекция у детей / Р.К. Бабик, Е.В. Корнеева, Ф.Г. Ситдикова //Материалы VIII Конгресса детских инфекционистов России. - Москва, 2009. - С. 9-10.
22. Бабик, Р.К. Дисадаптационные варианты течения стрессопосредованных реакций на тканевом, клеточном и субклеточном уровнях /И.И. Долгушин, М.В. Пешикова, Р.К. Бабик, С.И. Малахова, Е.В. Жуковская //Материалы межрегиональной научно-практической конференции с международным участием. - Челябинск, 2010. - С. 81-83.
23. Бабик, Р.К. Иммунологические аспекты диагностики и терапии сочетанных вирусных диарей у детей с герпетическими инфекциями /Р.К. Бабик //Вестник Уральской медицинской академической науки. - 2010. - №2/1 (29). - С.90-91.\*
24. Бабик, Р.К. Клинико-иммунологический статус, цитокиновый ответ у детей с норовирусной инфекцией /Р.К. Бабик //Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия "Образование, здравоохранение, физическая культура". - 2010. - вып. 24, № 24. - С. 102-105.\*
25. Бабик, Р.К. Клиническая значимость генотипирования ротавирусов группы А у детей /Р.К. Бабик, Е.В.Корнеева //Журнал инфектологии. – 2010. - Том 2, №3. - С. 48-49.\*
26. Бабик, Р.К. Клинические проявления и изменения показателей интерферонов при моно- и сочетанных формах ротавирусной инфекции у детей /Р.К. Бабик, В.В. Малеев //Инфекционные болезни. - 2010. - N 1. - С.34-38.\*
27. Бабик, Р.К. Клинические особенности ротавирусной диареи у детей первых месяцев жизни /Р.К. Бабик, Е.В. Корнеева, Ф.Г. Ситдикова //Актуальные

- проблемы педиатрии: материалы научно-практической конференции, посв. 50 летию МУЗ детской городской клинической больницы №8 г. Челябинска. - Челябинск, 2010. - С. 110-112.
28. Долгушин, И.И. Особенности кинетики CD34 клеток у детей при разных вариантах воспаления /И.И. Долгушин, М.В. Пешикова, Р.К. Бабик, С.И. Малахова, Е.В. Жуковская //Медицинская иммунология. – 2010. - Т.12, №.4-5. - С. 319-324.\*
  29. Бабик, Р.К. Различие серотипов возбудителей и клинических проявлений ротавирусной инфекции у детей //Молекулярная диагностика-2010: VII Всероссийская научно-пр. конф. с международн. участием. - Москва, 2010. - Т. 2. - С. 319-322
  30. Бабик, Р.К. Цитокиновый ответ и динамика CD34+ клеток при различных клинических вариантах герпетических инфекций у детей /Р.К. Бабик, М.В. Пешикова //Вестник Уральской медицинской академической науки. - 2010. - №2/1 (29). - С.91-92.\*
  31. Бабик., Р.К. Цитокиновый статус детей с внутриутробными герпетическими инфекциями // Молекулярная диагностика - 2010: VII Всероссийская научно-пр. конф. с международн. участием. - Москва, 2010. - Т. 2. - С. 319-322.
  32. Бабик, Р.К. Этиологическая характеристика вирусных кишечных инфекций /Р.К. Бабик //Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия "Образование, здравоохранение, физическая культура". - 2010. - вып. 24, № 24. - С. 34-37.\*
  33. Babik, R.K. Realisation of immunological distress at the level of CD34 cells // International Journal on Immunorehabilitation. – 2010. - Vol. 12 No 1. - P.78-79.
  34. Бабик, Р.К. Клинико-иммунологические особенности ротавирусной инфекции у детей /Р.К. Бабик, Е.В. Корнеева //Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия "Образование, здравоохранение, физическая культура". - 2011. - вып. 28, № 26 (243). - С. 53-58. \*
  35. Бабик, Р.К. Реализация противовирусной защиты при моно- и сочетанных вирусных кишечных и герпетических инфекциях у детей /Р.К. Бабик //Инфекционные болезни. – 2011, том 9, приложение 1; Материалы III Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням. – Москва, 2011. – С. 30.
  36. Бабик, Р.К. Уровни цитокинов у детей с манифестными и латентными формами внутриутробных герпетических инфекций /Р.К. Бабик //Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2011. - №2/1 (35). - С. 92-93.\*
  37. Бабик, Р.К. Иммунологические показатели детей с моно- и сочетанными вирусными кишечными и герпетическими инфекциями /Р.К. Бабик, И.И. Долгушин, В.В. Малеев // Инфекционные болезни. - 2011. –Том 9, № 4. - С. 35-39.\*
  38. Бабик, Р.К. Цитокиновый статус детей при сочетанных вирусных кишечных и герпетических инфекциях /Р.К. Бабик //Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2011.- №2/1 (35). - С. 93-94.\*
  39. Бабик, Р.К. Эпидемиологические, иммунологические особенности бактериальных и вирусных острых нейроинфекций у детей /Р.К. Бабик, Е.А. Богайчук //Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия "Образование, здравоохранение, физическая культура". - 2011. - вып. 28, № 26 (243). - С. 91- 95.\*
  40. Бабик, Р.К. Уровень оксида азота при вирусных кишечных инфекциях у детей /Р.К. Бабик //Актуальные вопросы инфекционной патологии и

вакцинопрофилактики: материалы X Конгресса детских инфекционистов России. - Москва, 2011. - С. 7.

41. Бабик, Р.К. Клиническая характеристика вирусных кишечных инфекций у детей /Р.К. Бабик //Инфекционные болезни. – 2012, том 10, приложение 1; Материалы IV Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням. – Москва, 2012. – С. 32. \*
42. Бабик, Р.К. Изменение содержания CD34+ клеток и уровней цитокинов у детей с герпетическими инфекциями /Р.К. Бабик, М.В. Пешикова //Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2012.- №. - С. 2012.- №4 (41). - С. 84-85\*
43. Бабик, Р.К. Показатели оксида азота при ротавирусной инфекции у детей /Р.К. Бабик // Инфекционные болезни. – 2013.-Том 11, приложение 1. Материалы V Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням. – Москва, 2013. – С. 39. \*

\*- издания, рекомендуемые ВАК для публикации диссертационных исследований