

Федеральное бюджетное учреждение науки
«Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и
благополучия человека»

На правах рукописи

ПЕРМЯКОВА АННА ВЛАДИМИРОВНА

**КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ И
ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФАЗЫ
ИНФЕКЦИОННОГО ПРОЦЕССА, ВЫЗВАННОГО
ГЕРПЕСВИРУСАМИ 4,5,6 ТИПА У ДЕТЕЙ ДО 7 ЛЕТ**

3.1.22. - инфекционные болезни

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Научный консультант
акад. РАН, д.м.н., профессор
Горелов Александр Васильевич

Москва – 2022

Оглавление	
Введение	5
Актуальность темы исследования.....	5
Степень разработанности темы исследования.....	6
Цель исследования.....	7
Задачи исследования	7
Научная новизна исследования.....	8
Практическая значимость исследования.....	9
Теоретическая значимость исследования	10
Методология и методы исследования	10
Положения выносимые на защиту	11
Личное участие автора в получении результатов.....	12
Внедрение результатов исследования	13
Степень достоверности и апробация результатов исследования.....	13
Соответствие диссертации паспорту научной специальности	15
Публикации	15
Объем и структура диссертаци.....	15
Глава 1. Обзор литературы	16
1.1.Современные представления об эпидемиологии и клинических формах инфекции, вызванной ВГЧ 4,5,6А/В А/В типа.....	17
1.2. Патогенез и иммунологические особенности инфекции, вызванной вирусом Эпштейна-Барр	19
1.3. Патогенез и иммунологические особенности инфекции, вызванной цитомегаловирусом	21
1.4. Патогенез и иммунологические особенности инфекции, вызванной вирусом герпеса человека 6А/В	23
1.5. Моделирование инфекционного процесса вызванного герпесвирусами 4,5,6	25
1.6. Реактивация инфекционного процесса, вызванного ВГЧ 4,5,6А/В	31
1.7. Клинико-лабораторные маркеры реактивации инфекции ВГЧ 4,5,6А/В	35
1.8. Факторы риска реактивации герпесвирусных инфекций 4,5,6А/В	44
1.9. Резюме по главе 1	47
Глава 2. Материалы и методы исследования	48
2.1.Системный подход к изучению инфекционного процесса ВГЧ 4,5,6	48
2.2. Классификация, термины и понятия инфекционного процесса ВГЧ 4,5,6	50
2.3. Программа исследования.....	53
2.4.Общая характеристика этапов исследования и пациентов.....	58

2.5. Методы исследования	64
2.5.1. Эпидемиологические методы исследования.....	64
2.5.2. Клинические методы исследования.....	65
2.5.3. Лабораторные и рентгенологические и методы исследования.....	69
2.5.4. Иммунологические исследования.....	69
2.5.5. Серологические исследования.....	70
2.5.6. Молекулярно-генетические методы исследования.....	70
2.5.7. Инструментальные методы исследования	71
2.5.8. Статистические методы и переменные, обоснование их применения	72
Глава 3 . Анализ частоты заболеваний, вызванных ВГЧ-4,5,6А/В у детей в Пермском Крае, метаанализ диагностических критериев инфекции.....	77
3.1. Особенности регистрации инфекций, вызванных ВГЧ 4,5,6А/В у детей в Пермском Крае.....	77
3.2. Анализ частоты встречаемости лабораторных маркеров активной ВГЧ4,5,6-инфекции у детей до 7 лет	82
3.3. Научное обоснование применения результатов ПЦР-анализа крови и слюны для диагностики активной ВГЧ 4,5,6-инфекции у детей дошкольного возраста	86
3.4. Анализ в подгруппах. Диагностика цитомегаловирусной инфекции	87
3.5. Анализ в подгруппах. Диагностика ЭБВ-инфекции	88
3.6. Анализ в подгруппах. ВГЧ6А/В-инфекция	90
3.7. Обсуждение результатов метаанализа.....	92
3.7. Резюме по главе 3	92
Глава 4. Активная фаза инфекционного процесса ВГЧ 4,5,6 А/В инфекции: первичная и реактивированная инфекция	94
4.1. Сравнительный анализ активной и неактивной ВГЧ 4,5,6А/В инфекции.....	94
4.2. Характеристика корреляционных взаимосвязей вирусной нагрузки активной ВГЧ 4,5,6А/В инфекции с основными клинико-лабораторными синдромами	96
4.3. Клинические особенности реактивированной формы ВГЧ 4,5,6А/В инфекции у детей.....	100
4.4. Сравнение реактивированной и первичной формы активной ВГЧ 4,5,6 инфекции у детей.....	102
4.5. Сравнительный анализ лабораторных показателей реактивированной и первичной формы активной ВГЧ 4,5,6А/В инфекции	107
4.6. Сравнительный анализ результатов количественного ПЦР-исследования крови и слюны.....	111
4.7. Изучение влияния анамнестических факторов на вероятность реактивации ВГЧ 4,5,6А/В инфекции	114

4.8. Клинические примеры реактивированных форм ВГЧ 4,5,6А/В инфекции	119
4.9. Резюме по главе 4	123
Глава 5. Клинические и лабораторные критерии активной фазы цитомегаловирусной инфекции	126
5.1. Клинические критерии активной цитомегаловирусной инфекции	126
5.2. Вирусная нагрузка ДНК ЦМВ в крови, моче и слюне, как критерий активной цитомегаловирусной инфекции	128
5.3. Информативность качественного определения ДНК ЦМВ в слюне	135
5.4. Многофакторный анализ критериев активной ЦМВИ у детей от 1 мес до 7 лет	137
5.5. Резюме по главе 5	138
Глава 6. Клинические и лабораторные критерии активной инфекции, вызванной вирусом Эпштейна-Барр.....	141
6.1. Клинико-лабораторные критерии активной ЭБВ-инфекции	141
6.2. Вирусная нагрузка ДНК ВЭБ в крови и слюне как критерий активной инфекции, вызванной вирусом Эпштейна-Барр	144
6.3. Оценка информативности качественного анализа слюны для определения активной фазы ЭБВ-инфекции	150
6.4. Многофакторный анализ критериев активной фазы ВЭБИ у детей до 7 лет	151
6.5. Резюме по главе 6	152
Глава 7. Клинические и лабораторные критерии активной инфекции, вызванной ВГЧ-6 А/В... ..	155
7.1. Клинико-лабораторные критерии активной инфекции, вызванной ВГЧ-6А/В	155
7.2. Вирусная нагрузка ДНК ВГЧ-6А/В в крови и слюне в активную фазу инфекции	157
7.3. Оценка информативности качественной ПЦР в определении активной ВГЧ-6А/В инфекции	163
7.4. Многофакторный анализ критериев активной ВГЧ-6А/В у детей до 7 лет	165
7.5. Резюме по главе 7	167
Глава 8. Определение фазы инфекционного процесса инфекции, вызванной ВГЧ 4,5,6А/В у детей	168
8.1.Примеры применения диагностического алгоритма	173
Заключение	180
Выводы	193
Перспективы дальнейшей разработки темы.....	195
Практические рекомендации	196
Список литературы	197

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

Согласно Концепции долгосрочного социально-экономического развития Российской Федерации, одной из приоритетных задач в современной России является повышение уровня социального благосостояния и здоровья населения, как взрослого, так и детского (Постановление Правительства Российской Федерации от 10.02.2017 г. N 172). Инфекционные болезни традиционно оказывали значительное влияние на детскую популяцию в целом. Благодаря успехам иммунопрофилактики, позволившей успешно справляться с наиболее значимыми бактериальными патогенами, все большее значение приобретают вирусные инфекции. Вирусы семейства Herpesviridae, а именно герпесвирусы 4,5,6 типа чрезвычайно широко распространены, по данным ВОЗ, почти 90% населения земного шара инфицированы одним или несколькими видами герпес-вирусов, для них характерно первичное инфицирование именно в детском возрасте, с последующим пожизненным сохранением в латентном состоянии в организме человека [65]. Находясь в латентном состоянии герпесвирусы создают постоянную угрозу реактивации инфекционного процесса, чему способствует незрелость иммунной системы, характерная для детей дошкольного возраста. Клиническая картина реактивированной инфекции в большинстве случаев неспецифична, заболевание протекает чаще под маской респираторной инфекции, что затрудняет своевременную постановку диагноза и назначение лечения. Имеется необходимость создания простых практических алгоритмов, так называемых систем поддержки врачебных решений, в отношении персистирующих герпесвирусных инфекций у детей, позволяющих интерпретировать множество первичных клинических данных, провести их классификацию, решить прогностические задачи, обосновать врачебную тактику.

Проведенный научный анализ состояния проблемы герпесвирусных инфекций в детском возрасте, изучение литературных источников и собственные

результаты позволили сформулировать общую концепцию настоящего исследования: универсальное свойство герпесвирусов, в виде пожизненного существования в клетках организма-хозяина обуславливает наличие инфекционного процесса в двух фазах - активной и неактивной, что имеет приоритетное значение для терапевтической тактики.

При проведении исследования, мы исходили из следующих предположений (гипотез): реактивация ВГЧ-4,5,6А/В инфекции у детей, в отличие от первичных форм, может быть спрогнозирована на основании клинико-лабораторных критериев, имеющих возрастные особенности; современные математические методы анализа данных позволяют решать задачи классификации и прогнозирования для любого типа медицинских данных, определяя наличие закономерностей как явных, так и скрытых. Таким образом, вышеприведенные концептуальные положения определили предметную область, объект и применяемые в данном исследовании методы.

Степень разработанности темы

Основанием для проведения данного исследования послужила значимость заболеваний, вызываемых герпесвирусами в детском возрасте. Существенный вклад в изучение этой проблемы внесли современные российские ученые: Боковой А.Г., Горелов А.В., Домонова Э.А., Исаков В.А., Краснов В.В., Кистенева Л.Б., Каражас Н.В., Калугина М.Ю., Крамарь Л.В., Мартынова Г.П., Мелехина Е.В., Михайлова Е.В., Музыка А.Д., Никольский М.А., Новосад Е.В., Савенкова М.С., Слепова О.С., Тимченко В.Н., Хмилевская С.А., Харламова Ф.С., Чешик С.Г., Чеботарева Т.А., Ярославцева Н.Г., а так же зарубежные исследователи: Cannon M.J, Lanzieri T.M., Agut H., Yamanishi K. Основы математического моделирования патогенеза герпесвирусных инфекций заложены Thorley-Lawson D.A, Delgado-Eckert, Hadinoto V, Hawkins J.B., Huynh G.T, Krueger GRF F. Исследований, сопоставляющих клиническую картину различных форм (первичной и реактивированной) герпесвирусных инфекций у детей с сохранным

иммунитетом, публикуется недостаточно, так как основное внимание исследователей привлечено к изучению ВГЧ 4,5,6 инфекций в трансплантологии и у ВИЧ-инфицированных. Реактивированные формы ВГЧ 4,5,6 инфекции не имеют четких клинических критериев, и часто протекают под маской других заболеваний, затрудняя своевременную постановку диагноза. Особую трудность для педиатрической практики составляет идентификация латентных форм, неверная интерпретация которых является поводом к необоснованным отводам от вакцинопрофилактики и лечению.

В настоящее время не существует единого универсального маркера, способного отличить фазу инфекционного процесса, вызванного ВГЧ 4,5,6. В то же время современная наука располагает научными инструментами моделирования позволяющими описать и выделить классифицирующие и прогнозирующие факторы, которые и составляют суть персонализированного подхода, применяемого в данной работе. В настоящее время в доступной литературе отсутствует описание подобного подхода к заболеваниям, вызванным ВГЧ 4,5,6 у иммунокомпетентных детей.

Цель исследования

На основании математического моделирования и использования комплекса новых диагностических технологий разработать клинико-лабораторные и прогностические критерии определения фаз инфекционного процесса, вызванного ВГЧ4,5,6 у детей.

Задачи исследования

1. Оценить частоту выявления и возрастные особенности острых инфекций, вызванных ВГЧ 4,5,6А/В, у детей от 1 мес до 7 лет в Пермском Крае.
2. Провести метаанализ частоты выявления и количества ДНК ВГЧ 4,5,6 в крови и слюне больных острыми формами ВГЧ 4,5,6 инфекции в сравнении со здоровыми.

3. Описать первичную и реактивированную ВГЧ 4,5,6 инфекцию, сравнить клинико-лабораторные характеристики, установить частоту выявления и количество ДНК ВГЧ 4,5,6 в крови и слюне, провести корреляционный анализ.
4. Осуществить математическое моделирование клинико-лабораторных характеристик первичной и реактивированной ВГЧ 4,5,6 инфекции.
5. Осуществить математическое моделирование количества ДНК ВГЧ 4,5,6 в крови, слюне больных первичной и реактивированной формой инфекции, определить прогностические значения.
6. Разработать и обосновать классификацию фаз инфекционного процесса, вызванного ВГЧ4,5,6А/В у детей.
7. Разработать диагностический алгоритм определения фаз инфекционного процесса, вызванного ВГЧ4,5,6А/В у детей до 7 лет.

Научная новизна

Впервые установлены возрастные особенности определения ДНК ВГЧ 4,5,6 в крови и слюне детей до 7 лет в Пермском Крае.

С помощью метаанализа впервые определена частота встречаемости и количество ДНК ВГЧ 4,5,6 определяемой в крови и слюне как больных острыми формами ВГЧ 4,5,6 инфекции, так и здоровых детей.

Впервые предложена диагностическая градация степени вирусной нагрузки ДНК ВГЧ 4,5,6, определяемой в слюне пациентов.

Впервые установлены диагностические интервалы количества ДНК ВГЧ 4,5,6 в крови и слюне детей с различными формами инфекции, в возрастные периоды.

Впервые установлены прогностические значения вирусной нагрузки ДНК ВГЧ 4,5,6 в крови и слюне детей с различными формами инфекции.

Впервые проведенный факторный анализ позволил установить клинико-лабораторные факторы определяющие вероятность активной фазы инфекционного процесса, вызванного, ВГЧ 4,5,6.

Впервые проведенное математическое моделирование инфекционного процесса, вызванного ВГЧ 4,5,6, позволило сформулировать персонафицированный алгоритм диагностики активной фазы инфекционного процесса, вызванного ВГЧ 4,5,6-инфекции у детей.

Впервые, разработан программный продукт, основанный на предложенном алгоритме, позволяющий определить вероятность активной инфекции, вызванной ВГЧ 4,5,6 и представляющий собой, систему поддержки принятия врачебного решения.

Практическая значимость исследования

На основании данных, полученных в исследовании разработан алгоритм диагностики активной инфекции, вызванной ВГЧ 4,5,6, способствующий своевременному распознаванию неспецифических проявлений заболевания у детей, оптимизации терапевтической тактики, позволяющий повысить качество оказываемой медицинской помощи. Данные полученные в ходе математического моделирования клинических и лабораторных характеристик активной ВГЧ 4,5,6-инфекции позволяют осуществить персонализированный подход к каждому ребенку, посредством использования IT-системы поддержки принятия врачебного решения, в рамках концепции цифровой медицины. Достоверная положительная корреляция уровня ДНК в крови позволяет использовать предложенные значения для прогнозирования клинического течения заболевания. Разработаны и защищены патентами способы оценки эффективности терапии в динамике болезни, что позволило определять индивидуальную (персонафицированную) стратегию и тактику этиотропного лечения. Полученные новые данные являются информативными, термины научно обоснованы и служат систематизации и

упорядочиванию имеющихся знаний. «Программный продукт по прогнозированию вероятности активной фазы инфекционного процесса, вызванного ВГЧ 4,5,6 у детей» создан в соавторстве с коллективом кафедры вычислительной математики, механики и биомеханики Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Пермский национальный исследовательский политехнический университет».

Теоретическая значимость исследования

На основании системного научного подхода обоснована бинарная классификация герпесвирусных инфекций, сформулированы понятия фаз инфекционного процесса вызванного ВГЧ 4,5,6 типа, дано определение понятия реактивации, и ее факторов. Впервые, на основании математического моделирования и использования комплекса новых медицинских технологий обоснованы концептуально-диагностические закономерности определения фазы инфекционного процесса и прогноза, при инфекции, вызванной ВГЧ 4,5,6 у детей.

Методология и методы исследования

В качестве методологической основы диссертационного исследования был выбран системный подход, предполагающий восприятие изучаемого объекта как системы – особого образования, где учитывается организация объекта на структурном и функциональном уровне [47]. Системный подход применяли в следующих аспектах: системно-элементном, системно-структурном и системно-функциональном. При изучении инфекционного процесса как системы, использовали универсальную схему взаимодействия, позволяющую оценить влияние элементов объекта друг на друга и на результат взаимодействия [47]. При формулировании терминов и понятий использовали формально-логический метод, предусматривающий последовательную реализацию следующих действий: выделение класса к которому относится объект; выделение универсума,

как множества объектов, в которое входят все объекты класса; выявление необходимых и достаточных условий отнесения объектов к классу. Теоретической основой исследования послужили труды отечественных и зарубежных исследователей в области клинической медицины, инфекционных болезней, и биомедицинской статистики. Исследование клинико-лабораторных особенностей реактивированной ВГЧ 4,5,6 инфекции проведено по принципу наблюдательного ретроспективного, сравнение с первичной формой инфекции проведено по дизайну случай-контроль. Первичный анализ данных проводили, используя методы описательной статистики, для анализа закономерностей применяли корреляционный анализ, прогностические задачи решали, используя регрессионный анализ, для решения классификационных задач применяли многофакторный анализ. Полученные в исследовании данные подвергали комплексному анализу – моделированию, представляющему собой упрощенное формализованное описание изучаемого объекта.

Положения выносимые на защиту

1. Инфекционный процесс, вызванный ВГЧ-4,5,6 А/В реализуется в виде двух фаз: активной и неактивной инфекции. На основании данных метаанализа активную ВГЧ 4,5,6А/В инфекцию у детей, как первичную, так и реактивированную, маркирует исключительно количественная оценка вирусной ДНК в двух биологических субстратах - крови и слюне.
2. Основной формой острой инфекции, вызванной ВГЧ 4,5,6, является инфекционный мононуклеоз, выявляемый у большинства госпитализированных детей старше одного года. Дефектами в регистрации заболеваний, вызванных ВГЧ 4,5,6А/В является гипердиагностика ЦМВ-заболеваний и гиподиагностика ВГЧ-6А/В заболеваний. Имеются возрастные отличия присутствия ДНК ВГЧ 4,5,6 в крови и слюне, коррелирующие между собой.

3. Активная фаза ВГЧ 4,5,6-инфекции протекает в виде лихорадочного заболевания с лимфопролиферативным синдромом, поражением органов ретикуло-эндотелиальной системы, разнонаправленными изменениями количества лейкоцитов, характеризуется преобладанием иммунного ответа Th2 типа. Активную фазу инфекционного процесса, вызванного ДНК ВГЧ 4,5,6 определяют прогностические значения вирусной нагрузки в крови и слюне.
4. Клиническая картина реактивированной ВГЧ 4,5,6 инфекции имеет неполную симптоматику, более легкое течение заболевания. Медианы вирусной нагрузки в крови при реактивированной и первичной ВГЧ 4,5,6 инфекции не имеют различий. Перенесенный мононуклеоз увеличивает вероятность клинической манифестации (реактивации) инфекции в 2-3 раза.
5. Активная фаза инфекционного процесса (первичная/реактивированная форма) определяется сочетанием критериев высокой специфичности: вирусная нагрузка ДНК ВГЧ 4,5,6А/В в крови, лихорадка длительностью более 5 дней, лимфаденопатия «пакетами», субфебрилитет, гепатомегалия, хроническая ЛОР-патология, лимфопения, атипичные мононуклеары, и фебрильный судорожный приступ в анамнезе. Математическое моделирование определяет вероятность активного инфекционного процесса ВГЧ 4,5,6А/В по совокупности критериев для каждого типа инфекции.

Личное участие автора в получении результатов

Данное исследование является полностью авторским, от идеи и основной гипотезы, до планирования, проведения и написания текста. Автором полностью самостоятельно статистически обработаны первичные данные, произведены вычисления с помощью компьютерных программ и осуществлено математическое моделирование, послужившее основой для разработки прикладного IT-решения. На основании полученных результатов автором разработан диагностический алгоритм, сформулированы термины, предложена

классификация. Автором самостоятельно оформлены патенты и подготовлены материалы для публикаций.

Внедрение результатов исследования

Результаты исследований внедрены в практику детского отделения Краевой инфекционной больницы города Перми (главный врач Чарушина Т.Н.), инфекционного отделения ГКБ № 13 (главный врач Токмакова О.Г.), используются во время подготовки студентов, ординаторов и врачей Пермского государственного медицинского университета имени Е.А. Вагнера. Получено 4 патента на изобретение: № RU 2566074 С1 Способ оценки эффективности терапии хронической цитомегаловирусной инфекции у детей, № RU 2646472С1 Способ оценки эффективности терапии инфекции, вызванной вирусом герпеса 6 типа у детей, № RU 2639С1 Способ оценки активности инфекции, вызванной вирусами 4,5, и 6 типа у детей, № RU 2618391С1 Способ оценки эффективности терапии инфекции, вызванной вирусом Эпштейна-Барр, у детей. Изданы методические рекомендации для студентов и врачей-педиатров «Современные аспекты инфекции, вызванной Human herpesvirus 4,5,6 типа у детей», Пермь, 2022. Получено Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ «Программный продукт по прогнозированию вероятности активной фазы инфекционного процесса, вызванного ВГЧ 4,5,6 у детей» № 2022660962 от 14.06.2022г.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Степень достоверности результатов диссертационного исследования определена его соответствием основным положениям доказательной медицины: выборки обследованных пациентов репрезентативны, объем проведенных наблюдений достаточен, использованы современные аналитические методы

исследования. В исследовании применены статистические методы адекватные, поставленным задачам, представленные к защите положения, полученные выводы и практические рекомендации имеют достаточную аргументацию и логически связаны между собой.

Материалы диссертации доложены и обсуждены на 14 конгрессах и научно-практических конференциях, на: I Всероссийской научно-практической конференции «Инфекционные аспекты соматической патологии у детей», Москва, 2008, I Всероссийском форуме с международным участием «Здоровье женщин и детей в Российской Федерации: социальные и медицинские аспекты» Москва, 2018, XI научно-практической конференции «Совершенствование педиатрической практики: от простого к сложному» Москва, 2016, Международном научном конгрессе, посвященном 100-летию Пермского государственного медицинского университета им. академика Е.А. Вагнера «Актуальные вопросы медицины – 21 век», Пермь 2016, Международной научно-практической конференции «Современная медицина: актуальные вопросы и перспективы развития» Воронеж, 2017, XVII-XVIII Ежегодных Всероссийских Конгрессах детских инфекционистов России «Актуальные вопросы инфекционной патологии и вакцинопрофилактики» Москва, 2018 – 2019, Ежегодном Всероссийском Конгрессе «Инфекционные болезни у детей: диагностика, лечение и профилактика» г.Санкт-Петербург 2017, Ежегодных научно-практических краевых конференциях «Актуальные вопросы педиатрии» Пермь, 2018-2021гг, Ежегодных научно-практических конференциях инфекционистов, г. Пермь 2015-2021, Всероссийской научно-практической интернет-конференции с международным участием «Молекулярная диагностика и биобезопасность» Москва, 2020, XXII Конгрессе Педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии», Москва, 2020 г .

Соответствие работы паспорту научной специальности.

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности:

3.1.22. - «Инфекционные болезни», как области клинической медицины, изучающей этиологию, иммуногенез, особенности клинических проявлений, подходы к диагностике и лечению, прогнозированию исходов инфекционных болезней у человека. Результаты проведенного исследования соответствуют областям исследований: пунктам 1, 2, 3, 4 паспорта специальности «Инфекционные болезни».

Публикации

Научные результаты диссертационного исследования опубликованы в 33 печатных работах, в том числе 12 в журналах, рекомендованных ВАК для публикации основных научных результатов диссертаций, 2 в зарубежных изданиях, получено 4 патента РФ на изобретение.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 232 страницах, состоит из традиционных разделов: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, главы собственных исследований, заключения, выводов и практические рекомендации. Список литературы содержит 329 источников, в том числе 264 иностранных. В работе представлены 49 таблиц, 30 рисунков, 7 клинических примеров.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Семейство герпесвирусов (*Herpesviridae*) представлено двухцепочечными ДНК-содержащими вирусами человека и животных. Всего описано около 130 видов этого семейства, из них 8 патогенны для человека. Известно, что герпесвирусы эволюционировали 180-220 (по некоторым оценкам до 300) миллионов лет назад [157]. На основании биологических особенностей и геномных признаков члены семейства *Herpesviridae* были классифицированы на три подсемейства, включая *Alpha-herpesvirinae*, *Beta-herpesvirinae* и *Gamma-herpesvirinae*. В подсемейство *Alpha-herpesvirinae* входят герпесвирусы 1 и 2 типов (ВПГ-1, ВПГ-2) и вирус *Varicella zoster* (ВЗВ). Подсемейство *Beta-herpesvirinae* включает цитомегаловирус человека, вирус герпеса человека 6А/В и вирус герпеса человека 7, тогда как подсемейство *Gamma-herpesvirinae* включает в себя вирус Эпштейна-Барра (ЭБВ) и герпесвирус человека 8 типа [73]. Все вирусы этого семейства имеют одно уникальное свойство – после первичного инфицирования они способны устанавливать латентное существование в организме хозяина в течение всей его жизни. Все три подсемейства различаются местами сохранения в организме хозяина (сайтами латентности): ВПГ-1, ВПГ-2 приспособились существовать в сенсорных ганглиях [265], ЦМВ сохраняет свой геном в клетках-предшественниках моноцитов, эндотелиальных клетках сосудов, макрофагах и клетках костного мозга [258], ЭБВ приспособился существовать в В-лимфоцитах [193]. Внутри латентно инфицированных клеток вирусный геном герпесвирусов способен существовать в виде замкнутого кольца – эписомы, которая при реактивации разворачивается в линейную структуру. Каждое подсемейство *Herpesviridae* имеет свои клинические корреляции, связанные с линейной и кольцевой структурой. Характерной чертой всей группы является то, что первичная инфекция может быть как бессимптомной, так и ярко клинически выраженной. Во время реактивации происходит репликация вируса, с возможной его передачей, степень клинической выраженности также варьирует. Понятие

«активной», «латентной» инфекции и клинически выраженного заболевания, имеют решающее значение для интерпретации диагностических тестов и выбора стратегии лечения [265].

1.1. Современные представления об эпидемиологии и клинических формах инфекции, вызванной ВГЧ 4,5,6А/В

Герпесвирусные инфекции являются одними из наиболее распространенных инфекционных заболеваний, с широким спектром клинических проявлений, занимающими второе место после ОРВИ и гриппа, в структуре всей инфекционной патологии [30]. Наименее изученным вопросом, связанным с герпесвирусными инфекциями, особенно в нашей стране, является их эпидемиология [19]. Это подтверждается отсутствием четкой информации об учете заболеваемости, вызванной ВГЧ-4,5,6А/В, поскольку согласно форме №2 (приказ Росстата от 20.12.2014 №52) «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» регистрации подлежат только такие заболевания как, ветряная оспа, инфекционный мононуклеоз, цитомегаловирусная болезнь и врожденная цитомегаловирусная инфекция. Однако, предполагается, что и по этим нозологиям данные не соответствуют действительности [23]. Причиной тому, широкий полиморфизм клинической картины затрудняющей своевременную диагностику, вариабельность лабораторных показателей и неоднозначность их интерпретации, а также недостаточная изученность ВГЧ-4,5,6А/В, как факторов ко-инфицирования как при соматических, так и при других инфекционных заболеваниях. Источником инфицирования ВГЧ 4,5,6А/В является больной, имеющий активную форму инфекции (манифестную), а также вирусоносители. Механизмы передачи ВГЧ-4,5,6А/В: аэрозольный (воздушно-капельный), оральный (орально-оральный), контактный, гемоконтактный, вертикальный. В качестве факторов передачи могут служить большинство биологических жидкостей человека (слюна, кровь, моча и др.), органы для трансплантации, медицинские инструменты [31].

Данные по частоте выявления ВГЧ 4,5,6А/В -инфекции во всем мире весьма вариабельны и зависят от социально-экономических, географических, этнических факторов. Так, инфицированность среди взрослого населения составляет более 90% для вируса Эпштейн-Барр, от 45% до 100% для цитомегаловируса [105], и более 80-90% для вируса герпеса 6А/В типа [236]. Серопозитивность детей 12-17 лет по данным отечественных авторов к ЦМВ составляет 80%, ВЭБ – 61,7%, ВГЧ-6А/В - 13% [17]. В Российской Федерации заболеваемость цитомегаловирусной инфекцией регистрируется не так давно, и, составляет в среднем 1,16 на 100 тыс. населения (2,8-8,5%% по отдельным регионам РФ) (Здравоохранение в России. 2015), а распространенность инфицированности - около 77% (от 41,3 до 97,1%) [34]. В отношении вируса Эпштейна-Барр зарубежные исследователи утверждают о широком варьировании показателей серопозитивности у детей (от 20% до почти 100%), в зависимости от возраста, этнических и географических факторов [82]. Серопозитивность к ВГЧ-6А/В по данным российских и зарубежных авторов, варьирует от 72 до 95%, в зависимости от географического положения, причем общей тенденцией является снижение уровня антител с возрастом [72]. Заболеваемость, вызванная ВЭБ, оценивается по основной клинической форме – инфекционному мононуклеозу (ИМ), регистрируемой как при первичном инфицировании (10-20%), так и при реактивации. При этом следует учитывать, что по данным разных авторов, этиологической причиной инфекционного мононуклеоза (до 34%) является цитомегаловирус [16], с ним же связано от 12% до 45% случаев заболевания «ВЭБ-негативного» мононуклеоза [4]. На территории Российской Федерации в период 2000-2016гг. эпидемический порог заболеваемости ИМ у детей до 14 лет составил 73,9 на 100 тыс. населения, с тенденцией ежегодного его превышения примерно в 1,2 раза. Абсолютный прирост заболеваемости за анализируемый период в этой возрастной группе составил 59,6 случая на 100 тыс. населения [39]. Следует учитывать, что клинической маской ВГЧ-4,5,6А/В инфекции у детей младшего и дошкольного возраста могут быть частые «простудные» заболевания. Так, маркеры различных форм ВГЧ-4,5,6А/В

инфекции определяются у 80% детей с ОРВИ [44], причем в 4-10% определяется активная форма (IgM) ЦМВ-инфекции, в 10-14% острая ВЭБ-инфекция и до 30% - острая ВГЧ-6А/В инфекция [37]. Относительно распространенности реактивированных форм ВГЧ-4,5,6А/В инфекции у детей, то они описаны, в основном, в виде инфекционного мононуклеоза. Так, по данным Хмилевской С.А. между возрастом и формой инфекции установлена статистически значимая связь - доля реактивированной формы ВЭБ-инфекции при мононуклеозе у детей до 7 лет составляет 68%, снижаясь с возрастом [58]. Та же тенденция отмечена в исследовании Симованьян Э.Н. [53]. ЦМВ-инфекция в стадии реактивации соответствовала клинической картине мононуклеоза у 50% детей 1-3 лет [37]. Таким образом, имеющиеся данные подтверждают широкую распространенность ВГЧ-4,5,6А/В в детской популяции. Однако не существует окончательной концепции эпидемического процесса, вызванного ВГЧ-4,5,6А/В, система эпидемиологического надзора за герпесвирусными инфекциями не совершенна, отсутствуют достоверные сведения об уровне заболеваемости и т.п.

1.2. Патогенез и иммунологические особенности инфекции, вызванной вирусом Эпштейна-Барр

Вирус герпеса человека 4 типа, представляет собой γ -герпесвирус, с размером частиц от 150 до 200 нм, состоящих из двухцепочечной ДНК, капсида, белкового тегумента и липидсодержащей внешней оболочки. Исследователями установлено, что вирус обладает способностью к персистенции – сохранению в В-лимфоцитах любого человека в течение всей его жизни [80], кроме того с ним связано развитие различных лимфоидных и эпителиальных новообразований [300]. На сегодняшний день определено, что суть биологического поведения вируса Эпштейна-Барр заключается в том, что он для своей жизнедеятельности приспособился использовать различные аспекты нормального функционирования В-лимфоцитов и эволюционировал так, чтобы минимально нарушить их.

Существование ЭБВ в клетках организма- хозяина может быть представлено замкнутым циклом из чередующихся стадий: стадия бластной клетки (когда происходит пролиферация); стадия «герминативного центра» в лимфатическом фолликуле; стадия клеток памяти, инфицированных ЭБВ; литическая стадия, когда происходит генерация новых вирионов [298]. Как и другие представители *Herpesviridae*, ЭБВ характеризуется наличием латентного и литического типов инфекции. Установлено, что первоначальная репликация вируса происходит в В-лимфоцитах лимфоглоточной ткани кольца Пирогова-Вальдейера (аденоиды, миндалина). Литическая инфекция сопровождается разрушением пораженных клеток и образованием новых вирионов и [51]. Затем инфицированные В-лимфоциты попадают в кровеносное русло, где становятся пролиферирующими клетками-бластами – это первая стадия цикла. На второй стадии цикла, в герминативном центре, происходит экспрессия вирусных генов, кодирующих белки латентности. Именно на этом этапе возможна злокачественная трансформация инфицированных клеток» [51]. Таким образом, согласно современным исследованиям, основным сайтом латентности ЭБВ являются В-лимфоциты памяти, в которых вирус способен сохраняться в течение всей жизни хозяина. Контакт вирусных антигенов с клетками иммунной системы приводит осуществлению ответных иммунных реакций. Ведущую роль в надзоре и элиминации клеток, инфицированных ЭБВ играет Т-клеточный тип иммунного ответа, при участии цитотоксических CD8-лимфоцитов. В случае здорового вирусоносительства имеется равновесие между ЭБВ-инфицированными клетками, и направленным на них Т-ответом. Особенностью иммунного ответа при ЭБВ-инфекции является способность инфицированных В-клеток к неконтролируемому росту за счет угнетения апоптоза. Таким образом, основное значение для длительной персистенции ЭБВ имеет подавление клеточного иммунного ответа [3].

1.3. Патогенез и иммунологические особенности инфекции, вызванной цитомегаловирусом

Цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ) вызывается условно патогенным внутриклеточным β -герпесвирусом человека 5 типа (HHV-5) [18]. Распространенность ЦМВИ зависит от географических и социально-экономических факторов, так в США и Европе серопозитивность взрослого населения составляет от 40% до 60%, в странах третьего мира достигает 80% [64]. Возрастные особенности ЦМВ-серопозитивности напоминают таковые для вируса Эпштейна-Барр, всего 10-12% детей инфицируются на первом году жизни, к 5 годам – уже более 30% [206]. На первом году жизни ребенок инфицируется через грудное молоко, одновременно получая анти-цитомегаловирусные антитела, препятствующие репликации вируса, что способствует развитию приобретенной бессимптомной формы заболевания [28]. У детей дошкольного возраста инфицирование происходит воздушно-капельным и контактно-бытовым путем. Первичное инфицирование ЦМВ может быть как бессимптомным, так и клинически значимым, с развертыванием клинической картины инфекционного мононуклеоза. Независимо от пути инфицирования при проникновении вируса в кровь, кратковременная виремия быстро завершается локализацией возбудителя в лейкоцитах и мононуклеарных фагоцитах, где происходит его репликация [267]. Клетки, инфицированные цитомегаловирусом имеют типичную морфологию с характерными включениями в ядре, называемыми «совиный глаз», которые являются не чем иным как скоплением вируса [64]. Исследованиями современных ученых показано, что при ЦМВИ морфологические изменения затрагивают всегда несколько органов, причем высокоспецифичные цитомегалические клетки часто обнаруживаются в тех органах, поражение которых клинически не проявлялось. Характерными изменениями в тканях под влиянием ЦМВ, являются интерстициальный (кистозный) фиброз и кальцификаты [28].

Значительные усилия исследователей в последние годы направлены на изучение механизмов установления и поддержания вирусной латентности и реактивации. В результате, за последние несколько лет наше понимание латентности изменилось, стало ясно, что латентный вирус далек от абсолютного покоя и латентная инфекция оказывает глубокое воздействие на клетку и манипулирует многочисленными клеточными функциями [279]. Предполагается, что антивирусный ответ организма-хозяина не способен справиться с латентной инфекцией, что приводит к персистенции вируса, его укрытию в иммунологически привилегированных участках (сайтах персистенции). Одним из важных сайтов, в котором ЦМВ устанавливает латентность, являются клетки миелоидного происхождения. Латентные вирусные геномы могут быть обнаружены в периферических моноцитах [294], а также в их CD34 предшественниках в костном мозге [231]. Хотя CD34-клетки дают начало лимфоидной линии, но не имеется доказательств носительства вирусного генома в В- или Т-лимфоцитах [294]. Экспериментально установлено, что слюнные железы так же являются местом укрытия вируса от иммунного ответа. Предполагается, что ЦМВ способен подавлять экспрессию МНС I и II класса на инфицированных клетках, что препятствует распознаванию антигена CD8 Т-лимфоцитами [218]. Таким образом, весь иммунный контроль над цитомегаловирусом в слюнной железе осуществляют CD4 Т-лимфоциты, секретируя γ -IFN [51]. Экспериментальная модель мышинного цитомегаловируса показала, что CD8⁺ Т-клетки достаточны для контроля литической репликации ЦМВ во всех органах, за исключением слюнных желез, которые в данном случае являются привилегированным сайтом иммунного уклонения [296]. Таким образом, при латентной форме инфекции не происходит репродукции инфекционного вируса, вирус присутствует в форме генома в предшественниках моноцитов, клетках эндотелия сосудов, костного мозга и пр.

1.4. Патогенез и иммунологические особенности инфекции, вызванной вирусом герпеса человека 6А/В

Вирус герпеса человека 6 типа (ВГЧ-6А/В) впервые был выделен в 1986г. из крови пациентов с лимфопролиферативными заболеваниями и СПИД [272]. В настоящее время доказано, что ВГЧ-6 существует в двух различных вариантах: ВГЧ-6А и ВГЧ-6В. В 2012 году в новой международной классификации вирус герпеса человека 6А типа (ВГЧ-6А) и вирус герпеса человека 6В типа (ВГЧ-6В) представлены как самостоятельные таксономические единицы на основании различий в эпидемиологии, тропизме и ассоциациях с заболеваниями [307]. Оба варианта ВГЧ-6 относят к подсемейству бета-герпесвирусов, роду *Roseolovirus*, единственным известным природным хозяином которых является человек. ВГЧ-6А и ВГЧ-6В имеют много общих свойств с другими вирусами герпеса, включая возникновение персистирующей латентной инфекции, характеризующейся крайне ограниченной экспрессией вирусных генов, и способность реактивировать из латентного периода для репродукции инфекционного вируса. Вирусы имеют различные клеточные рецепторы - CD46 служит основным клеточным рецептором для ВГЧ-6А [274], в то время как CD134 был недавно идентифицирован как новый рецептор для ВГЧ-6В [293]. Тропизм этих вирусов *in vivo* включает CD4 Т-лимфоциты, эпителиальные клетки слюнных желез и печени, эндотелиальные клетки и клетки центральной нервной системы [103]. ВГЧ-6А реплицируется в культуре нервных клеток более эффективно, чем ВГЧ-6В, и считается более нейротропным (De Volle L, 2005). ВГЧ-6В инфекция широко распространена среди людей во всем мире, с очень высокой серопозитивностью (более 90%) уже к двухлетнему возрасту [245]. Первичное инфицирование в подавляющем большинстве случаев происходит с появлением симптомов внезапной экзантемы или лихорадки без сыпи у новорождённых и детей младшего возраста, в редких случаях с развитием фебрильных судорог, менингита и менингоэнцефалита [329]. С первичной острой ВГЧ-6-инфекцией, может быть ассоциирован

мононуклеозоподобный синдром (вне связи с инфицированием вирусом Эпштейна–Барр), синдром хронической усталости, гистиоцитарный некротический лимфаденит, длительная лимфаденопатия [204]. Для ВГЧ-6А нет четкой связи с заболеванием, хотя имеются данные, свидетельствующие о его роли в развитии осложнений при трансплантации гемопоэтических стволовых клеток и твердых органов [207], болезни «трансплантат против хозяина» [71], и рассеянного склероза [87]. Проявления заболеваний как ВГЧ-6А, так и ВГЧ-6В часто коррелируют с иммуносупрессией хозяина, которая может способствовать реактивации вируса из состояния латенции. Распространенность инфекции ВГЧ 6А все еще в значительной степени не определена из-за отсутствия серологических анализов, которые могли бы четко различать инфекции ВГЧ-6А и ВГЧ-6В.

Вирус проникает в организм воздушно-капельным путем, и размножается в слюнных железах и окружающей лимфоидной ткани. Репликация ВГЧ-6А/В состоит из нескольких этапов, вначале вирус прикрепляется к клеточному рецептору при помощи гликопротеинов Н, L, Q1 и Q2 [293]. Затем, путем пиноцитоза, вирус проникает в клетку где происходит высвобождение ДНК в нуклеоплазму, с непрерывной экспрессией генов [71]. Временной порядок экспрессии генов строго определен, вначале экспрессируются непосредственно ранние (IE) гены из локуса IE-A, состоящего из двух генетических единиц, IE1 и IE2 [303]. Предполагается, что процесс репликации ДНК представляет собой замкнутый цикл репликации, который длится около 3 дней, и может оказывать серьезное влияние на клетки организма хозяина [72]. В состоянии латенции вирусная ДНК способна сохраняться, используя два принципиально различных пути, это классическая вирусная кольцевая структура – эписома и интеграция в геном хозяина. Эписомальный вариант характерен для ЦМВ и ЭБВ, распространен в 99% случаев в популяции – линейные молекулы образуют кольцо, из которого вирус способен к репликации, синхронизированной с делением клетки-хозяина [326], но сборки нового вируса не происходит, инфицированная клетка не лизируется. Второй вариант латентной инфекции заметно отличает инфекцию

ВГЧ-6А/В от других герпесвирусных инфекций человека, он заключается в способности вирусного генома к интеграции (встраиванию) в хромосомы организма хозяина, так называемый хромосомно-интегрированный ВГЧ-6 (хи-ВГЧ-6), встречающийся примерно у 1% в популяции. Предполагается, что данное явление представляет основной путь латенции для ВГЧ-6А/В. При первичной инфекции вирус может встроиться в герминативные клетки, что обеспечивает его передачу потомству, кроме того возможен и горизонтальный путь передачи, например при пересадке стволовых гемопоэтических клеток, органов и тканей [260]. Характерной особенностью хи-ВГЧ-6 является высокая вирусная нагрузка в цельной крови, достигающая 1–5 копий вирусного генома на клетку, или более $3,3 \cdot 10^6$ копий на миллион ядросодержащих клеток периферической крови (Jeulin Н., 2009). В интегрированном состоянии вирус может находиться в любых клетках, которые экспрессируют рецепторы CD46: моноциты/макрофаги, стволовые клетки костного мозга, фолликулы волос, ногтевые пластины [263]. Таким образом, ВГЧ-6А/В, являясь представителем группы герпесвирусов, имеет как характерные черты, так и уникальные особенности, что, вероятно, обуславливают широкую его распространенность в популяции и высокую значимость в развитии патологии человека.

1.5. Моделирование инфекционного процесса вызванного герпесвирусами 4,5,6

Одним из современных методов научного познания мира является метод моделирования. Сущность моделирования как метода исследования состоит в том, что отдельные признаки изучаемого объекта могут быть воспроизведены с помощью модели. В медицинских исследованиях с помощью моделирования могут быть решены следующие задачи: классификация, выделение наиболее вероятных сценариев развития некоторого заболевания с точки зрения последовательного возникновения его симптомов; классификация совокупности пациентов по

перенесенным ранее заболеваниям; упрощение принятия решения при многомерном поисковом прогнозе осложнений некоторого заболевания; мониторинг состояния пациента, описываемого дихотомическим признаками; задача диагностики при дихотомических диагностических признаках и другие задачи.

Экспериментальное моделирование предусматривает использование в качестве моделей животных и культуры клеток различных типов, выделенные из организма и поддерживаемые в жизнеспособном состоянии в искусственных условиях. Герпесвирусы человека высоко специфичны к виду хозяина в организме животных не могут размножаться, что является серьезной проблемой для экспериментальных моделей *in vivo*. Для изучения ЦМВ-инфекции *in vitro*, имеются довольно разнообразные модели, такие как фибробласты кожи и легких, гладкие мышцы сосудов [305], дифференцированные макрофаги моноцитарного происхождения [182], эпителиальные клетки почки [170], дендритные клетки моноцитарного происхождения [173], эндотелиальные клетки сосудов [44], и др. Для изучения особенностей ЭБВ-инфекции широко используется моделирование *in vivo* на макаках-резус, на модели этих животных воспроизводят серологический ответ, передачу вируса со слюной, латентную персистенцию в тропных органах (периферической крови и эпителии). Однако, имеется множество ограничений по применению моделирования ЭБВ-инфекции на животных, так например, из-за широкого распространения серопозитивности к обезьяньему вирусу в природе, трудно найти неинфицированных особей [235]. ВГЧ-6А/В хорошо реплицируется в первичных моноклеарных клетках и поэтому легко поддается *in vitro* культивированию [72]. Постоянные клеточные линии также способны поддерживать литическую репликацию ВГЧ-6А/В. Экспериментальное моделирование инфекционного процесса как *in vivo*, так и *in vitro* имеет ряд ограничений, поскольку даже в культуре клеток человека герпесвирусы ведут себя не так как в макроорганизме, в котором одновременно действуют многочисленные разнонаправленные сложные факторы. Во многих случаях, в условиях реальной

жизни исследовать функционирование живого объекта затруднительно, ввиду высокой изменчивости, подверженности влиянию многочисленных факторов, которыми сложно управлять одновременно, тогда на помощь приходит математика, а именно, математическое моделирование биологического объекта и событий происходящих с ним. При помощи математического моделирования создается некое математическое описание, которое и называется математической моделью. Существует два основных типа математических моделей: аналитические и имитационные. В случае аналитического моделирования математическими зависимостями описывается и исследуется оригинал [24], в том случае, когда система-оригинал сложна и состоит из множества подсистем, к тому же зависящих от неких случайных внешних факторов, за основу математического моделирования принимают алгоритмы – это имитационные модели. Математически описать можно любую биологическую модель, если она выстроена правильно. Математическое моделирование, это всего лишь более строгий способ организации данных и более логичный способ прогнозирования на основе гипотез [299]. Имунная система является одной из самых сложных известных биологических систем, ее функциональные возможности огромны и нелинейны. Математические подходы могут облегчить анализ и понимание взаимодействия компонентов таких систем. Изучение патогенеза герпесвирусных болезней неразрывно связано с иммунной системой, потому рассматривая поведение вирусов в живом организме, однозначно приходится разбираться и в функциональном (или патологическом) иммунном ответе. Сложность задачи состоит в том, что необходимо формулировать описание рассматриваемой системы на нескольких уровнях: генетическом, молекулярном, клеточном и системном. И, конечно, ни одна модель не может включать все аспекты реальной системы, она и не должна пытаться это делать, потому что модели должны быть достаточно простыми, чтобы обеспечить точность анализа. Исследователь решает сам, на каких аспектах системы сосредоточиться, а какими - пренебречь [230]. Основными методами моделирования, используемыми до сих пор в иммунологии,

являются: модели динамики популяции с использованием обыкновенных дифференциальных уравнений (ОДУ), включая дифференциальные уравнения с запаздывающим аргументом, или - в случае, если число объектов (например, клеток или молекул) не очень велико и стохастические эффекты важны - стохастические дифференциальные уравнения (СДУ). Другой метод, ставший популярным благодаря доступности высокоскоростных вычислений, а также более интуитивно понятный и доступный для медиков и биологов, - это моделирование на основе агентов (agent-based modeling, ABM), когда отдельные объекты (т.н. агенты), такие как молекулы или клетки смоделированы как программные объекты, которые перемещаются, реагируют на свое окружение и/или изменяют свое внутреннее состояние на основе заранее определенных правил [110]. Для математического описания патогенеза герпесвирусных инфекций исследователями выбраны модели с использованием дифференциальных уравнений, как наиболее полно описывающие сложное поведение вируса в организме человека.

Биологическое поведение вируса Эпштейна-Барр заключается в том, что он для своей жизнедеятельности приспособился использовать различные аспекты нормального функционирования В-лимфоцитов и эволюционировал так, чтобы минимально нарушить их. Данное утверждение наглядно описывает циклическая модель патогена (cyclic pathogen model, CPM) предложенная Thorley-Lawson D.A. в 2000г., которая, на сегодняшний день, является единственной моделью, последовательно обеспечивающей концептуальную основу для понимания сложной биологии вируса [298]. Основной вывод циклической модели заключается в понимании того, что если у патогена есть цикл инфекции, регулируемый иммунным ответом, то он может быть использован для установления чрезвычайно стабильной стойкой инфекции. Вообще говоря, циклическая модель предсказывает, что вылечить ЭБВ-инфекцию довольно трудно, потому, что установившаяся постоянная инфекция не только устойчива в отношении случайных изменений системы, она также устойчива в отношении значительных изменений значений параметров, например, вызванных введением антивирусного

или вакцинного средства. Согласно расчетам, произведенным по модели, для устранения ЭБВ-инфекции лечебное воздействие должно снизить генерацию вируса в 10^4 раза или более. Это может быть трудной задачей, учитывая проблемы связанные с применением противовирусных препаратов, и неспособность антигерпесвирусных препаратов значительно воздействовать на генерацию вируса Эпштейна-Барр [299]. Терапевтическое вмешательство также должно учитывать существование двух возможных механизмов сохранения вируса - через гомеостаз в В-клетках памяти и через циклическое чередование зараженных стадий. Противовирусные препараты не должны оказывать действия на уровень инфицированных В-клеток памяти. Вывод математической модели о существовании стадий инфекционного процесса как регулируемых, так и нерегулируемых иммунным ответом, предполагает возможность выбора как стратегий лечения ЭБВ-инфекции, так и ее специфической профилактики. Важный практический вывод, полученный в результате моделирования ЭБВ-инфекции имеет описание роли эпителиальных клеток миндалин лимфоглоточного кольца. Инфекция эпителиальных клеток целиком и полностью объясняет известный феномен вирусывыделения со слюной у здоровых вирусоносителей, который не коррелирует с количеством инфицированных В-клеток крови [161]. Кроме того, установленные различия в восприимчивости эпителиальных клеток к ЭБВ-инфекции объясняют разницу в уровнях вирусывыделения со слюной и, возможно, определяют различный риск развития заболеваний, связанных с ЭБВ.

Острая первичная инфекция, вызываемая ВГЧ-6А/В в виде инфекционного мононуклеоза, представляет собой доброкачественное, самоограниченное лимфопролиферативное заболевание, которое может служить идеальной моделью для изучения влияния вирусной инфекции на клетки иммунной системы [202]. Математическое моделирование при помощи дифференциальных уравнений представляет изменения, происходящие в системе Т-клеток, в течение инфекции ВГЧ-6А/В. Математическое моделирование Т-клеточного ответа на ВГЧ-6А/В показало, вирус может быстро распространяться в пределах популяция CD4 Т-

клеток в латентный период до появления клинических симптомов. Далее соотношение CD4/CD8 быстро увеличивается с 1,6 в первый день наблюдения до 2,0 с последующим резким снижением до $<1,0$ в течение нескольких месяцев, что указывает на активацию и пролиферацию цитотоксических CD8 Т-лимфоцитов, в то время как инфицированные CD4 Т-лимфоциты исчезают. Нормализация достигается примерно через полгода, что согласуется с наблюдениями, проведенными на пациентах с острыми вирусными инфекциями, в том числе с ВГЧ-6А/В [136]. Полученные в результате математического моделирования результаты, показывают, что острая ВГЧ-6А/В инфекция, протекающая по типу инфекционного мононуклеоза, действительно является самоограничивающимся лимфопролиферативным заболеванием. Данная модель, может быть использована для мониторинга популяции Т-клеток, при хронической персистирующей инфекции ВГЧ-6А/В у реципиентов костного мозга [108]. и в других случаях атипичной поликлональной лимфопролиферации. Модель может быть использована для имитации дальнейшего течения этих состояний и, следовательно, может иметь прогностическую значимость.

В 2015-17гг. группа ученых из разных стран провела проспективное исследование герпесвирусных инфекций у детей Уганды: согласно результатам исследования 12-месячная частота послеродовой инфекции составила 76% для ВГЧ-6В, 59% для ЦМВ, 47% для ЭБВ, 8% для ВПГ-1 [145]. Авторами исследования был установлен феномен, названный ими «переходящая (переходная) или временная инфекция», который был характерен для всех типов тестируемых герпесвирусов. Временная инфекция, по мнению авторов, характеризуется кратковременным (до 2-х недель) выделением небольшого количества вируса со слюной без сероконверсии, то есть не является первичной инфекцией. Так, для ЦМВ медианное значение копий ДНК ЦМВ (log) при «переходящей» инфекции составило 3,5 (межквартильный размах от 3,0 до 3,9), при достоверной разнице с первичной инфекцией - медиана 7,5, межквартильный размах 7,2-8,6 [161]. В этом же исследовании, методом математического

моделирования произведена оценка вероятности «преходящих» оральных ВГЧ-4,5,6 инфекций, сравнением наблюдаемой частоты с частотой установленных первичных инфекций, характеризующихся постоянным выделением высокого уровня, виремией и сероконверсией. Для ЦМВ такая вероятность составила 76%, для ЭБВ- 70% и для ВГЧ-6 – 0%. Проведенные наблюдения показали, что оральная ЦМВ-инфекция у детей обычно начинается с одного вируса, который имеет удивительно низкую вероятность заражения соседних клеток, что приводит к его стохастическому вымиранию. Обычно ЦМВ-инфекции бывают кратковременными и самоограниченными, и относительно редко манифестируют острой формой. Данное исследование, хотя и является первым, в котором дано определение «преходящих» инфекций, согласуется с результатами более ранних работ посвященных персистирующей герпесвирусной инфекции [237].

1.6. Реактивация инфекционного процесса, вызванного ВГЧ 4,5,6А/В

Группой герпесвирусов в процессе эволюции выработана своеобразная стратегия взаимоотношений с организмом хозяина. Стратегия состоит в феномене латентности и максимальном приспособлении к сосуществованию с организмом хозяина, без нанесения ему значительного вреда, что является оптимальным для вируса, так как позволяет избежать гибели клетки. Исследования последних лет показали, что ни вирус, ни иммунный ответ хозяина не дремлют во время латентности. Использование чувствительных методов указывает на то, что члены всех трех подсемейств герпесвирусов производят инфекционные вирионы на слизистых и в эпителиальных тканях практически непрерывно, причем у здоровых людей [161]. Таким образом, клинически, латентная инфекция имеет значительный компонент реактивации, во время которой некоторая доля пула латентно инфицированных клеток повторно входит в продуктивную репликацию с высокой частотой. Клинические явления при реактивации определяются уровнем вирусной репликации, низкий уровень всего лишь стимулирует постоянный

иммунный ответ, и симптомы отсутствуют, более высокий уровень экспрессии вирусных генов и репликации вируса способен вызывать тяжелый воспалительный ответ и повреждение тканей [319]. Повторяющаяся в период латентности экспрессия вирусного белка оказывает глубокое влияние на адаптивный противовирусный ответ. Величина Т-клеточного ответа во время клинической латентности необычайно высока. Приблизительно 10–20% CD4 и CD8 Т-клеток циркулирующей памяти у здоровых взрослых людей специфично для антигенов ЦМВ [290]. Во время острой симптоматической ЭБВ-инфекции, проявляющейся как инфекционный мононуклеоз, эти пропорции даже выше, до 80% всех циркулирующих CD8 Т-клеток, специфичных для антигенов ЭБВ [102]. С разрешением острой инфекции этот уровень быстро снижается, но даже у здоровых носителей ЭБВ сохраняется приблизительно 5–10% CD8-клеток специфичных для литических и латентных эпитопов ЭБВ [292]. В миндалинах, главном сайте латентности и реактивации, вирус-специфическая фракция приближается к 20% [172]. Интересным фактом, обнаруженным современными учеными является то, что на протяжении большей части жизни человека-хозяина у герпесвирусных лимфоцитов не развиваются признаки функционального истощения, наблюдаемые при других хронических высокопродуктивных вирусных инфекциях, таких как вирус гепатита С или вирус иммунодефицита человека [195]. Гораздо меньше известно о реакции CD4 Т-клеток на герпесвирусы во время латентного периода, но этот сегмент памяти также, по-видимому, устойчиво и стабильно увеличен и способен быстро оказывать эффекторную функцию [290]. Таким образом, несмотря на отсутствие явного клинического заболевания, латентность герпесвируса представляет собой период постоянного и интенсивного взаимодействия между вирусом и хозяином, что приводит к образованию значительного пула высокофункциональных CD4 и CD8 Т-клеток, который постоянно поддерживается. Латенцию вируса не следует путать с клинической латентностью, то есть инкубационным периодом, в течение которого вирус активен, но симптомы еще не появились.

Следует заметить, что термин «реактивация» имеет разный смысл в биологии и медицине. В биологии (генетике) реактивация вирусов описывается как превращение неактивного, неполного вируса в активный [56], а также имеется определение реактивации как восстановления жизнеспособности вируса, утраченной в результате воздействия мутагенного или летального фактора [45]. В клинической практике определение термина чаще встречается в исследованиях по трансплантологии, так например, для детей после трансплантации аллогенных стволовых клеток реактивация ЭБВ описывается как обнаружение вирусной нагрузки у ранее серопозитивного человека, с или без клинических проявлений [97]. В работе американских ученых, дано определение реактивации герпесвирусов как биологического механизма (mechanism), посредством которого происходит переключение латентной стадии на литическую репродукцию с генерацией вирусного потомства и выходом его из клетки [327]. Реактивация вируса у здоровых людей сопровождается выделением вирионов в жидкости организма, таких как моча и слюна, и передачей вируса новым хозяевам. У каждого из вирусов этой группы имеются тропные клетки, преимущественно поражаемые при инфицировании: для ЭБВ это В-лимфоциты, для ЦМВ - моноциты, для ВГЧ-6 - Т-лимфоциты. И все они также способны заражать эпителиальные клетки. Причем особую роль играют клетки эпителия ротовой полости. Слизистая оболочка полости рта обеспечивает эффективную передачу вируса, вирус может диспергироваться в аэрозоли, либо выделяться при нормальном дыхании, но более эффективно выделение вирусов со слюной. ЭБВ, ЦМВ и ВГЧ-6А/В реплицируются в клетках эпителия и выделяются со слюной у здоровых индивидуумов [139]. Так например, для ЦМВ установлено, что ключевым фактором передачи вируса среди людей является инфекционная реактивация в клетках слюнных желез, причем источником в большинстве являются не дети, а взрослые [94]. Для сохранения ЦМВ в популяции передачи только от первично инфицированных мало, значительная роль в этом отводится реактивированной инфекции. Кроме того, только для ЦМВ описана реактивация ЦМВ у здоровых иммунокомпетентных серопозитивных женщин в период лактации. Вирусная ДНК

обнаруживается уже в молозиве и сохраняется еще около 3 месяцев после рождения. Материнская ЦМВ-реактивация матерей в период лактации является локальным процессом, в крови вирус не обнаруживается [101]. Известно также, что грудное молоко может содержать и ЭБВ, но этот путь передачи пока малоизучен [160]. Вирус Эпштейна-Барр, которым инфицировано 90% населения, постоянно обнаруживается в слюне и крови на различных уровнях. Математическое моделирование предсказывает, что стабильная латентная инфекция ЭБВ требует динамического равновесия между реактивацией и повторным заражением [299]. По оценкам, равновесная скорость реактивации составляет 1-3 активирующих локуса в лимфоидной ткани ротоглотки, при этом каждая реактивирующая область содержит от 1 до 10 литически инфицированных эпителиальных клеток [161]. Инфицированные эпителиальные и В-клетки становятся источником инфекции. Вирусный геном при латентной форме инфекции заглушен не полностью. Молекулярной основой латентной инфекции является эписома - экстрахромосомная нуклеиновая кислота, способная к самостоятельному размножению (репликации), ДНК в данном случае замкнута в кольцо [289]. Латентный ЭБВ продолжает экспрессировать небольшую часть генов [74]. При реактивации инфекция принимает литический характер, ЭБВ размножается с разрушением клетки хозяина и ДНК вируса принимает линейную структуру. ВГЧ-6А/В как и другие герпесвирусы человека, способен сохраняться неопределенно долго в организме хозяина и также способен к реактивации. Эти свойства зависят от предполагаемой способности его генома поддерживаться в скрытой ядерной форме или стимулировать низкоуровневую продуктивную инфекцию в некоторых клетках, одновременно вызывая полностью литическую инфекцию в других клетках. Если геномы ДНК ЭБВ и ЦМВ при латенции, имеют форму ковалентно замкнутой эписомы, связанной с клеточными ядерными белками, то для ВГЧ-6А/В существование такой ядерной формы формально не было продемонстрировано [72]. Предполагается, что вирусный ген U94, который экспрессируется во время латентной инфекции, играет главную роль в установлении и поддержании внутриклеточной латентности [268]. Хромосомно-интегрированный ВГ-6А/В

также способен к реактивации, заключающейся в продукции вирусных транскриптов, белков и трансмиссивных вирионов [153]. Вирусный ген U94 способствует поддержанию латентности и в отношении хи- ВГЧ-6. Таким образом, реактивация является частью такого высокодинамичного процесса как латентность, которая, в свою очередь описывается как длительная постоянная инфекция с резервуарами, которые не могут продуцировать инфекционный вирус, и, которые способны к реактивации для повторения инфекционного цикла [211].

1.7. Клинико-лабораторные маркеры реактивации инфекции ВГЧ 4,5,6А/В

Инфекции вызываемые ВГЧ 4,5,6А/В, являются типичными представителями оппортунистических инфекций, манифестация клинических проявлений которых и характер течения обусловлены функциональным состоянием иммунной системы. Учитывая особенности инфекционного процесса, вызванного ВГЧ-4,5,6 (способность к длительной латенции, периодическая реактивация) диагностика его формы основывается на данных клиники, эпидемиологии с лабораторным подтверждением, которое является обязательным [22]. В отечественной инфектологии классически сложилось так, что диагностика герпесвирусных инфекций многие годы базировалась на серологических методах обнаружения специфических антител (анти-IgG и анти-IgM), наличие которых свидетельствует о размножении вируса в клетках как при первичной инфекции, так и при реактивации. Известен ряд недостатков серологического метода, ограничивающих его диагностическое значение. Не удалось получить достоверных сведений о корреляции роста титра IgG и уровня активного размножения вирусов [1]. Российскими учеными под руководством Каражас Н.В. разработана классификация форм герпесвирусных инфекций, согласно которой выделяют острую первичную инфекцию (врожденную/приобретенную), латентную инфекцию, хроническую персистирующую с реактивацией и без.

Реактивации, таким образом, соответствует состояние, когда определяется: антиген вируса методом ПЦР в крови/слюне, нарастание титра высокоавидных антител и обнаруживаются иммуноглобулины М [21]. Известна классификация инфекционного процесса по Покровскому В.И (1989г.), в которой описываются три его формы: манифестная, инapparантная (латентная) и носительство. Последние две формы протекают без клинических проявлений, но с развитием иммунных реакций.

На сегодняшний день, серологические исследования используются в двух случаях: для подтверждения первичной инфекции посредством сероконверсии антител и для диагностики реактивации идентификацией специфических IgM в сочетании с серопозитивностью. Серологические методы имеют особое значение для диагностики ВЭБ-инфекции, где с их помощью возможно определение стадии инфекционного процесса, а также сроков инфицирования [30]. Дополнительным маркером, позволяющим определить реактивацию инфекционного процесса ВГЧ-4,5,6А/В является индекс авидности (ИА), определяющий сродство специфических антител и антигена. Полноценная характеристика инфекционного процесса возможна только при дополнении серологических методов обнаружением вирусной ДНК в исследуемых образцах [19]. Прямым методом диагностики ВГЧ-4,5,6А/В, обладающим высокой прогностической ценностью является полимеразная цепная реакция (ПЦР), которая позволяет идентифицировать ДНК вируса, оценивать его количество, и определять «отсекающие» (cut-off) значения. Для характеристики активной фазы инфекции может быть использована технология ПЦР с обратной транскрипцией (РНК), но она пока доступна лишь в исследовательских целях [183]. Интерпретация количественных методик ПЦР, определяющих количество вируса (вирусную нагрузку, ВН), представляет значительный практический интерес, так как может использоваться в прогнозировании течения инфекционного процесса (реактивации). Клинической интерпретации результатов обнаружения ДНК ВГЧ-4,5,6А/В, в различных биологических образцах придается большое значение в исследованиях последних

лет. Дискуссионными являются вопросы о предпочтительной значимости сред между собой при различных вариантах инфекционного процесса. В клинической практике основное значение имеет установление количества вируса в крови больного (цельная кровь, мононуклеары, лейкоциты, плазма). Идея количественной интерпретации значений вирусной нагрузки в клинической практике, привлекает множество исследователей, и многое в этом направлении уже сделано. Так, о возможной зависимости между ЦМВ-заболеванием и значениями вирусной нагрузки имеются указания еще в 1975 S. Stagno и соавт., которые производили подсчет в культуре клеток [282]. Впоследствии их выводы были подтверждены ПЦР-анализом сухих образцов крови [306]. В работах последующих авторов было убедительно показано, что манифестация цитомегаловирусной инфекции достоверно чаще происходит в случае высоких значений вирусной нагрузки ДНК ЦМВ в крови. Так, по данным Р.Р. Климовой (2013) [25] в крови часто болеющих детей в острый лихорадочный период определяется ДНК ВГЧ-4,5,6А/В. Причем на фоне текущего ОРВИ, реактивация ВГЧ-4,5,6А/В была отмечена в большинстве случаев - 94%. Среднее значение вирусной нагрузки составило 3,9lg копий/мл для ЦМВ, 3,5lg для ВЭБ, и 3,0lg для ВГЧ-6А/В [25]. У больных ЭБВ-мононуклеозом в мононуклеарах периферической крови ДНК ЭБВ обнаруживается как в острый период заболевания, так и в течение последующего времени (год и больше), медиана вирусной нагрузки в острый период составляет около 3,0lg, снижаясь далее до 2,0lg. У здоровых носителей ЭБВ в крови ДНК вируса выявляется непостоянно, в низких количествах (от 0,9 до 1,8 lg) [136]. В другом исследовании сообщается, что чувствительность, специфичность, положительные и отрицательные прогностические значения, для количественной ПЦР ЭБВ в реальном времени составляют 95,7%, 100,0%, 100,0% и 94,4% соответственно [146]. Для ВГЧ-6А/В в случае очень высокой вирусной нагрузки в крови (миллионы копий ДНК на миллилитр цельной крови) предполагается хромосомная интеграция [252]. При этом полагается, что подтверждением интеграции служит факт обнаружения ДНК ВГЧ-6А/В в волосяных фолликулах и ногтях [114]. Кроме цельной крови ДНК ВГЧ 4,5,6А/В

может быть обнаружена практически в любом биологическом материале, и огромное значение в этом случае имеет верная клиническая интерпретация. В ряде опубликованных исследований предполагается, что, например, часто обнаруживаемая репликация ВГЧ-4,5,6А/В на слизистой ротоглотки не влияет на состояние здоровья и не имеет связи с симптомами заболевания [145]. В исследовании Laura Matrajt [225] утверждается, что все ВГЧ 4,5,6 А/В имеют пероральное вирусовыделение, уникальное для каждого вируса, зависящее от возраста и особенностей иммунной системы пациента. В исследовании определено, что медианные значений вирусной нагрузки достоверно выше при первичной инфекции, чем при хронической: для ЦМВ это 5,7 и 3,9lg копий/мл, для ЭБВ - 5,6 и 5,3lg копий/мл, для ВГЧ-6А/В - 3,9 и 4 lg копий/мл [225].

Исследователями установлено, что вирусовыделение ЦМВ со слюной после первичного инфицирования протекает длительно, от нескольких месяцев до года, причем вирусные нагрузки, как правило, очень высокие (в среднем 8,2lg копий/мл, диапазон 7,0-8,9lg) [226]. Вирусовыделение ЭБВ также зависит от стадии инфекционного процесса: до 90,0% детей выделяют ДНК вируса со слюной при инфекционном мононуклеозе [227], и в 38,0% случаев вирусовыделение отмечается у здоровых детей [184]. Было отмечено, что частота вирусовыделения ЭБВ у пациентов с инфекционным мононуклеозом (средний возраст 6,3 года), сопоставима с частотой выделения у пациентов того же возраста с гипертрофией миндалин без мононуклеоза, и значительно превышает вирусовыделение у пациентов без гипертрофии миндалин [177]. Что касается значений вирусной нагрузки, то в том же исследовании показано, что у пациентов с гипертрофией миндалин она была в 17 раз ниже, чем при инфекционном мононуклеозе, и в 5 раз выше, чем у серопозитивных ЭБВ-носителей без гипертрофии миндалин. Причем, авторами отмечается корреляция уровня ВН в слюне и крови пациентов, вне острой стадии инфекции (мононуклеоз), однако специфичность данного феномена еще подлежит обсуждению и исследованию.

Клинические маркеры реактивации (клиническая картина заболевания) ВГЧ 4,5,6А/В инфекции, протекающей по типу симптоматической инфекции крайне неспецифична, зависит от возраста ребенка, и имеет множество «масок». Одной из самых распространенных из них является моноклеозоподобное заболевание. Так, реактивация ЭБВ-инфекции по типу моноклеоза чаще встречается у детей первых лет жизни, причем при реактивации основные клинико-лабораторные показатели подвержены меньшим изменениям в сравнении с первичной инфекцией, а течение характеризуется как более легкое. При реактивации ЭБВ-инфекции в форме моноклеоза более часто отмечается развитие генерализованной лимфаденопатии, а также более длительное восстановление ряда нарушенных лабораторных показателей. В случае ЦМВ-этиологии инфекционного моноклеоза реактивация инфекционного процесса определяется у половины детей младшего возраста. В целом, заболевание характеризуется более легким течением, отсутствием гепато- и спленомегалии, невыраженными изменениями в гемограмме. У детей дошкольного возраста с реактивацией ВГЧ-6А/В инфекции клиническая картина инфекционного моноклеоза определяется нечасто (10-11%), преобладают неспецифические симптомы характерные для ОРВИ, типичные проявления в виде внезапной экзантемы и фебрильных судорог определяются в единичных количествах [37]. Известно, что реактивация ВГЧ 6А/В индуцируется некоторыми лекарствами, способствуя развитию DRESS-синдрома (drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms), синдром гиперчувствительности к лекарствам и эозинофилии [301]. Среди лекарств, ассоциированных с реактивацией ВГЧ 6 – антибиотики (амоксциллин), противосудорожные средства, НПВС (ибупрофен, напроксен), а также сульфасалазин, аллопуринол, дексаметазон [238]. Патогенез появления сыпи в этом случае остается неизвестным. Однако, поскольку сыпь возникает, когда исчезает вирус и появляются нейтрализующие антитела, предполагается ее иммунная природа [187]. Относительно влияния реактивации хромосомно-интегрированной формы ВГЧ-6 на состояние здоровья, то на сегодняшний день

однозначные данные отсутствуют, каких-либо клинических проявлений врожденной ВГЧ-6А/В также не выявлено [163].

Таким образом, реактивация инфекции, вызванной герпесвирусами ВГЧ 4,5,6А/В может протекать симптоматически, без типичной клинической картины, и затруднительна в диагностике. Предполагается, что при массивной репликации вирусов, процесс реактивации ВГЧ 4,5,6А/В может принимать характер болезни с определенными ведущими синдромокомплексами. Так, например, при реактивации ЭБВ могут развиваться лимфопролиферативные заболевания, такие состояния как лимфома Беркитта, назофарингеальная карцинома, хроническая активная ЭБВ-инфекция, интерстициальная пневмония, увеит, волосатая лейкоплакия [78]. Реактивация ЦМВИ приводит к развитию сиалоаденита, гепатита с холестатическим компонентом, интерстициальной пневмонии, эзофагита, энтероколита, в том числе язвенно-некротического [133]. Самые выраженные клинические изменения при реактивации ВГЧ 4,5,6А/В отмечены у пациентов с иммунодефицитными состояниями, у которых возможно развитие цитомегаловирусной болезни, посттрансплантационного лимфопролиферативного заболевания (ассоциированного с ЭБВ) [123], реакции трансплантат против хозяина (ВГЧ-6А/В) [256]. Высказывается предположение о том, что ВГЧ-6А/В можно рассматривать как прогнозирующий показатель клеточной иммуносупрессии, предшествующей началу инфекции ЦМВ у пациентов после трансплантации гемопоэтических клеток (частота реактивации ЦМВ достоверно в 14,5 раз выше у пациентов с предшествующей реактивацией ВГЧ-6А/В по сравнению с пациентами без нее) [119].

Реактивация инфекций, вызванных ВГЧ 4,5,6, во многом еще не полностью изучена. Одним из основных вопросов, на который пока нет однозначного ответа, является вопрос о том, играет ли реактивация ВГЧ-4,5,6 определяющую роль в патогенезе ассоциированных тяжелых заболеваний и послеоперационных осложнений, или она является только их маркером. Многочисленные исследования и метаанализы утверждают, что реактивация ВГЧ-4,5,6 у больных, находящихся в

критическом состоянии положительно связана с более высокой смертностью пациентов [188, 214, 116]. Понятие критического состояния широко используется в зарубежной литературе, хотя и не существует четкого определения этого термина. Чаще всего критическое состояние пациента рассматривается как состояние, при котором «основное заболевание требует интенсивной терапии в течение определенного периода времени» [15]. На сегодняшний день, данные о распространенности реактивации ВГЧ 4,5,6 в отделениях интенсивной терапии (ОИТ) у детей, являются неполными, отсутствуют методики точного определения реактивации у таких пациентов, способы ведения пациентов остаются весьма ограниченными и неубедительными. В опубликованной литературе описано несколько механизмов для объяснения повреждающего действия вирусов при реактивации у пациентов в критическом состоянии. Так например, для цитомегаловируса описан прямой цитопатологический эффект при ЦМВ-пневмонии [85]. Второй механизм предполагает иммунопатологический эффект, при котором повреждение тканей вызывается чрезмерным иммунным ответом на ЦМВ [158]. Третий механизм связан с изменением собственного иммунитета пациентов, которые становятся более восприимчивыми ко вторичной бактериальной и грибковой флоре [311]. Исследование, проведенное у пациентов с сепсисом, сердечной недостаточностью, травмами, ожогами [214] показало, что частота реактивации ЦМВ у пациентов, находящихся на ИВЛ, составляет от 16% до 20%, в 27% случаев отмечалась коинфекция с вирусом простого герпеса, однако отрицательного синергетического влияния на исход отмечено не было. В более недавнем исследовании у 49,0% пациентов с реактивацией ЦМВ, одновременно отмечалась и реактивация ВГЧ-6 [216]. В данном случае отмечался значительный синергизм, пациенты с реактивацией ко-инфекции ЦМВ-ВГЧ6 имели наибольший риск смерти или длительной госпитализации. Что касается реактивации ЦМВ, то у больных находящихся в ОИТ, по большей части не отмечается типичной клинической картины ЦМВ-болезни, так, как например, это бывает у пациентов с ВИЧ [247]. Интерстициальная пневмония у них развивается крайне редко, наблюдаемый цитолиз и холестаза носят дискретный характер, колит отмечается в

единичных случаях, а ретинит не описан вовсе. Гемофагоцитарный синдром может быть связан с реактивацией ВГЧ 4,5,6, но для подтверждения этиологии необходимо исследование костного мозга, которое таким пациентам не проводится. В некоторых исследованиях утверждается что реактивация ЦМВ у критически больных пациентов может быть просто индикатором их клинического статуса, а не причиной утяжеления состояния [171]. Тем не менее, метаанализ показывает, что при объединении большого числа исследований можно утверждать, что реактивация ЦМВ значительно влияет на исход случая и повышает уровень смертности до 81% [189]. Что касается педиатрической популяции, то подобные исследования пока не проводились. На сегодняшний день патогенность реактивации ЦМВ широко обсуждается. Известные сведения о наличии связи с продолжительностью ИВЛ и длительностью госпитализации, являются результатами эпидемиологических исследований. В оценке влияния реактивации у данной категории пациентов, необходимо опираться на рандомизированные исследования оценивающие эффективность противовирусной терапии. Так, например, в исследовании [214] определяли эффективность ганцикловира (в сравнении с плацебо) в отношении интерлейкина-6, который, был выбран в качестве конечной точки, потому что в некоторых исследованиях он был положительно связан со смертностью. Результаты данного исследования, проведенного у взрослых пациентов, показали, что ганцикловир не приводил к достоверному снижению интерлейкина-6, следовательно, невозможно обоснованно утверждать о значимом влиянии ЦМВ на исход заболевания.

Относительно реактивации ЭБВ у пациентов, находящихся в критическом состоянии, имеется очень ограниченное число исследований, и результаты их противоречивы. N. Libert с соавт. (2015) сообщили о вирусной реактивации ЭБВ у 71,0% серопозитивных иммунокомпетентных пациентов, находящихся более 5 дней в отделении интенсивной терапии [210]. В многоцентровом исследовании у пациентов в сепсисом ЭБВ-реактивация отмечена в 53,0% случаев [310]. Что касается длительности госпитализации в ОИТ, то в исследовании Friedrichs I

(2013), не было обнаружено существенных различий между ЭБВ–положительными и отрицательными пациентами, в то время как основной диагноз, тяжесть заболевания, назначенная терапия, наличие госпитальной инфекции, сопутствующие заболевания были сопоставимы [141]. Сообщения о смертности ЭБВ-положительных пациентов в ОИТ противоречивы: как более высокие [210], так и низкие [311]. В исследовании О. Соşkun (2016) рекомендовано предполагать вирусную реактивацию ВГЧ у иммунокомпетентных пациентов ОИТ, при наличии рефрактерной, к соответствующей антибиотикотерапии лихорадке, а Parazian L (2016), предлагает проводить превентивное противовирусное лечение таким пациентам, при наличии лабораторно подтвержденной реактивации ВГЧ (положительная антигенемия и/или ПЦР), связанной с клиническими признаками инфекционной болезни, такими, как, например, инфильтраты в легких, и наличием факторов риска [247].

1.8. Факторы риска реактивации герпесвирусных инфекций 4,5,6А/В

Процесс реактивации сам по себе является довольно опасным вариантом для вируса, поскольку активная репликация провоцирует иммунный ответ организма-хозяина, что может привести к гибели зараженной клетки. В условиях, когда качество иммунологического надзора снижается, особенно в случаях подавления иммунной функции Т-клеток, баланс между вирусной активностью и иммунитетом может быть нарушен. В основном, это касается людей, страдающих от врожденного или приобретенного иммунодефицита, примером которого является СПИД. В этой же группе риска пациенты после трансплантации органов, получающие иммунодепрессивную терапию [139]. В качестве ко-факторов реактивации нарушающими баланс между вирусной активностью и иммунным ответом, могут быть физический или психологический стресс [112], а также возрастное снижение иммунной функции организма, связанной со старением [249]. Стареющая иммунная система теряет способность эффективно

контролировать вирус, что приводит к более хроническому, медленному, а не латентному типу инфекции [284]. Ожидается, что ряд неблагоприятных иммунологических изменений будет коррелировать со старением, но точно не известно, что вызывает сопутствующее повышение активности герпесвирусов. Одной из вероятных причин увеличения активности ЭБВ в позднем возрасте является предварительное повышение активности ЦМВ, которое приводит к размножению стареющих CD8⁺ Т-клеток, не имеющих CD28, но направленных на эпитопы ЦМВ. Другими словами, когда ЦМВ (и, возможно, другие герпесвирусы) постепенно продуцирует больше вирусных белков и частиц, сопутствующая попытка противодействия ситуации со стороны стареющей иммунной системы может ослабить способность бороться с этими вирусами [249]. Другие клеточные стрессоры, такие как кратковременное прерывание синтеза белка или гипоксия, достаточны для индукции вирусной активности - эффект, который может быть опосредован нарушением активности киназы m-TOR [198]. Этот фермент играет центральную роль в ответе на пищевые или связанные со стрессом клеточные события, воздействуя на трансляцию м-РНК. В системах культивирования клеток также возможно индуцировать реактивацию путем химического вмешательства, которое влияет на активность генов, используя соединения, которые, например, блокируют метилирование гистонов, или соответствующим образом мешающие РНК [320]. Вопрос в том, какие факторы оказывают подобное влияние на экспрессию генов *in vivo* остаётся открытым. Многочисленные наблюдательные исследования установили связь реактивации ЦМВ с худшими клиническими исходами, включая повышенную смертность, более длительную продолжительность искусственной вентиляции легких, длительность пребывания в отделении интенсивной терапии, а также более высокие показатели вторичных инфекций [214]. Для объяснения связи между реактивацией ЦМВ и неблагоприятными исходами было предложено несколько биологически правдоподобных версий, включая вирусно-опосредованное повреждение легких, иммуносупрессию, ведущую к вторичным инфекциям, и усиление легочного или

системного воспаления. В качестве биомаркера реактивации у пациентов в критическом состоянии было предложено использовать интерлейкин-6, однако терапия ганцикловиром не приводила к статистически значимому его снижению [214].

Реактивация ЦМВ при трансплантации часто происходит одновременно с ВГЧ-6А/В и связана с тяжелыми осложнениями у пациентов, получающих иммуносупрессивную терапию. Реактивация ВГЧ-6А/В происходит примерно у половины или двух третей аллогенных реципиентов, в основном в течение первого месяца после трансплантации. Отсутствие противовирусной профилактики является значительным фактором риска виремии высокого уровня. ВГЧ-6А/В также действует иммуносупрессивно на Т-клетки [109], так как реактивация этого вируса обычно происходит в случаях Т-клеточной лимфопении, при СПИД [50], или после трансплантации костного мозга [241]. Среди клинических осложнений связанных с реактивацией ВГЧ-6А/В у посттрансплантационных пациентов являются энцефалит, пневмония, гепатит, геморрагический цистит, кроме того, были описаны такие отсроченные осложнения ВГЧ-6А/В, как эритроцитарная аплазия и вторичная недостаточность трансплантата [205]. Высокая вирусная нагрузка ВГЧ-6А/В, предполагает выделение пациентов в группу высокого риска, поскольку однозначно коррелирует с показателями смертности [322].

В трансплантологии ведущими факторами риска развития ЦМВ-заболевания является ЦМВ-отрицательный статус донора и ЦМВ-положительный серостатус реципиента, а также развитие острой или хронической болезни "трансплантат против хозяина" [131]. Снижение иммунологического надзора за однородностью клеточных популяций является фактором реактивации ЭБВ-инфекции, провоцируя развитие ЭБВ-ассоциированных лимфопролиферативных заболеваний. Достоверно установлено, что у пациентов, перенесших трансплантацию солидных органов, частота развития посттрансплантационного лимфопролиферативного заболевания коррелирует с величиной вирусной нагрузки ЭБВ [117]. Латентный

вирус, содержащийся в В-клетках, может быть реактивирован *in vitro* путем стимуляции В-клеточных рецепторов, что позволяет предположить, что реактивация *in vivo* может возникать, когда инфицированная В-клетка реагирует на неродственные инфекции [240]. Это может помочь объяснить, почему реактивация ЭБВ иногда проявляется как вторичная инфекция. Также неизвестно, какая доля ЭБВ-инфицированных клеток находится в литической или латентной фазе в любое время [240]. Беременность, рассматриваемая как состояние физиологической иммуносупрессии, также может быть фактором реактивации герпесвирусных инфекций. Реактивация или реинфекция ЦМВИ у серопозитивных беременных, может быть причиной врожденной инфекции у ребенка, несмотря на имеющиеся ЦМВ-специфические материнские антитела, известно, что частота врожденной ЦМВ-инфекции, коррелирует с уровнем анти-ЦМВ антител. Внутриутробная ЦМВИ составляет по разным оценкам от 0,4% до 0,7% живорождений в Соединенных Штатах, в европейских странах показатель аналогичен [90]. Тяжесть течения и последствия врожденной ЦМВИ значительно различаются при первичной или реактивированной ЦМВИ [91].

1.9. Резюме по главе 1.

Проведенный нами анализ литературы показывает, что вопрос прогнозирования активной инфекции, вызванной ВГЧ 4,5,6А/В имеет несомненное клиническое значение и, вызывает интерес к этой теме исследователей всего мира. Исследований, сопоставляющих клиническую картину различных активных форм (первичной и реактивированной) герпесвирусных инфекций у детей с сохранным иммунитетом, публикуется недостаточно, так как основное внимание исследователей привлечено к изучению ВГЧ 4,5,6А/В инфекций в трансплантологии и у ВИЧ-инфицированных. Учитывая то, что первичная инфекция ВГЧ 4,5,6А/В это процесс стохастический, не прогнозируемый, реактивация ВГЧ 4,5,6А/В всегда сопровождается

клиническими проявлениями и следовательно может быть спрогнозирована. Данные литературы совершенно определенно показывают, что реактивация ВГЧ-4,5,6 является процессом мультифакториальным, и в клинической практике трудно понять порой, в результате каких именно процессов происходит иницирование и прогрессирование заболевания. Среди клиницистов существует значительная путаница в терминах, понятиях (биологических и клинических) и принципах трактовки тех или иных состояний, связанных ВГЧ 4,5,6А/В. Вместе с тем, анализ литературы указывает на то, что риск развития реактивации индивидуален для каждого пациента, хотя, вместе с тем, имеются и некоторые общие черты. Таким образом, в настоящее время не существует единого универсального маркера, способного отличить стадию инфекционного процесса, вызванного ВГЧ 4,5,6А/В. В то же время современная наука располагает научными инструментами моделирования позволяющими описать и выделить классифицирующие факторы (критерии), а также определить прогнозирующие факторы, которые и составляют суть персонализированного подхода, применяемого в данной работе. В настоящее время в доступной литературе отсутствует описание подобного подхода к заболеваниям, вызванным ВГЧ 4,5,6А/В у иммунокомпетентных детей до семи лет.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Системный подход к изучению инфекционного процесса ВГЧ 4,5,6

Предметом изучения данного исследования определили инфекционный процесс, вызываемый герпесвирусами 4,5,6 типа, рассматриваемый как часть структуры эпидемического процесса - сложной системы обеспечивающей существование, воспроизведение и распространение этой группы вирусов. Инфекционный процесс, вызванный герпесвирусами 4,5,6 типа представили в виде универсальной схемы [47], где: E - источник энергии (ресурса), необходимого для данного преобразования; P_1, P_2 - взаимодействующие элементы, определяющие содержание данного процесса; i - специфическая реакция между элементами; R - результат, образование продукта взаимодействия элементов, характерного для i ; F - эффект, последствия от образования R для объекта, внешней среды, других объектов, рисунок 1.

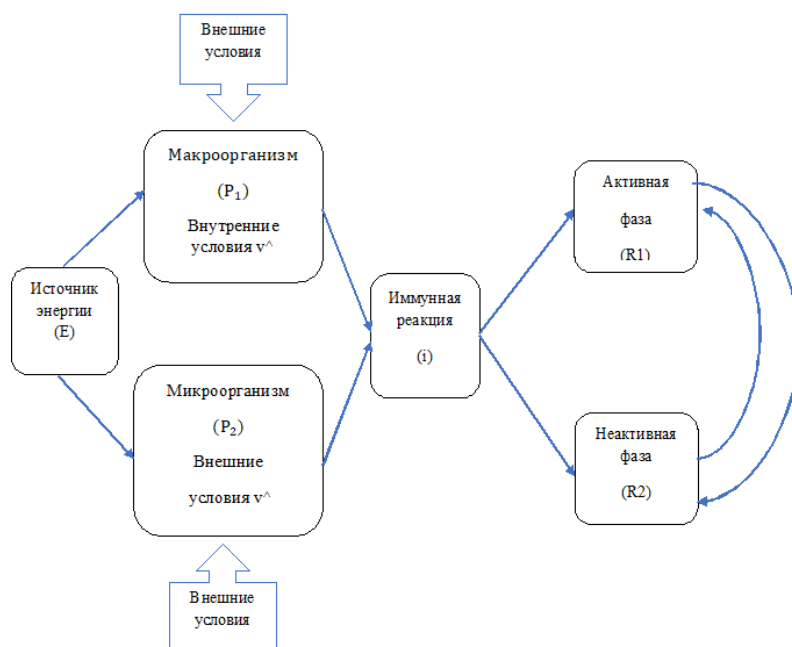


Рисунок 1. Инфекционный процесс, вызванный ВГЧ 4,5,6А/В.

Данная схема предусматривает, что все этапы реализуются последовательно, циклично. В нашем случае, инфекционный процесс являющийся объектом исследования, рассматривается как целенаправленное взаимодействие микро- и макроорганизмов, в ходе которого происходит преобразование его (процесса) в новое качество. Роль источника энергии (E), необходимого для преобразования играют генетические ресурсы, та наследственная информация, которая заключена в генетическом коде макро- и микроорганизма, представляющая потенциальную ценность. Взаимодействующие элементы P_1, P_2 – это макро- и микроорганизм, человек и вирус. Взаимодействие i - специфическая иммунная реакция между элементами. Результат R , продукт взаимодействия элементов, характерный для иммунной системы. В данном случае роль результата играет форма, которую принимает инфекционный процесс в результате взаимодействия составляющих предыдущего этапа. Эффект F – указывает как полученный результат (форма инфекционного процесса) влияет на элементы процесса, макроорганизм в частности, формируя состояние болезни или здоровья.

Для более полного понимания инфекционного процесса, вызванного ВГЧ 4,5,6А/В, необходимо пояснить роль всех его составляющих. Роль источника энергии (E) в инфекционном процессе герпесвирусов отводится генетическим ресурсам как вируса, так и человека. Специфическая реакция между элементами P_1, P_2 – i , иммунный ответ организма. Контакт вирусных антигенов с клетками иммунной системы приводит к запуску иммунного ответа. В иммунном ответе на ЦМВ задействованы клетки иммунной системы такие как естественные киллеры, В-лимфоциты, Т-лимфоциты хелперы (CD4+) и цитотоксические (CD8+). Эти клетки способны как к непосредственной элиминации вирусов, так и к продуцированию биоактивных молекул, воздействующих на врожденный и адаптивный иммунный ответ [261]. Результат R , продукт взаимодействия элементов (микро- и макроорганизмов), характерный для иммунной системы. В данном случае роль результата играет форма, которую принимает инфекционный процесс в результате взаимодействия составляющих предыдущего этапа. Для

клинической практики, инфекционный процесс, вызванный ВГЧ 4,5,6А/В, можно представить двумя фазами, различающимися наличием/отсутствием клинических проявлений:

- Активная фаза ВГЧ 4,5,6А/В-инфекции (манифестная, реактивация) диагностируется у пациента с симптомами и/или признаками пораженного органа вместе с обнаружением нуклеиновых кислот ВГЧ 4,5,6А/В (обозначающих размножение вируса) в органах и/или тканях;
- Неактивная фаза ВГЧА/В 4,5,6-инфекции (латентная, серопозитивность) – клинические проявления отсутствуют, нет признаков поражения органов, возможно обнаружение нуклеиновых кислот ВГЧ 4,5,6А/В, в биологических жидкостях организма.

Под эффектом F подразумевается конечный результат взаимодействия элементов процесса: для макроорганизма это выздоровление или смерть, для вируса – инактивация с возможностью персистенции или гибель в результате разрушения внутренней структуры. Для клинической практики наибольший интерес представляет результат R инфекционного процесса, представленный активной и неактивной фазой инфекции, поскольку позволяет определять терапевтическую тактику.

2.2. Классификация, термины и понятия инфекционного процесса ВГЧ 4,5,6

При проведении нашего исследования, для выработки стандартизированных подходов к терапии и профилактике нами выбран триадный подход, представляющий из себя систему категорий из трех единиц: Универсум, Класс и Дополнение [50]. Универсум – это множество элементов, в пределах которого мыслится определяемое понятие (класс). Класс (объектов) – это подмножество объектов Универсума, обладающих определенными признаками. Дополнение (к классу) – это совокупность объектов Универсума, не обладающих признаками

Класса и не включенных в него. Для формулирования понятия определили условия отнесения объектов к Классу и Дополнению. Необходимое условие отнесения объектов к Классу – условие, которому должны отвечать все без исключения элементы Класса (объекты) и, возможно, некоторые из элементов Дополнения. В некоторых случаях необходимое условие может быть также и достаточным. Достаточное условие отнесения объектов к Классу – условие, которому отвечают некоторые, а возможно, и все элементы Класса (объекты), но ни один из элементов дополнения. Понятия активной и неактивной фаз ВГЧ-4,5,6-инфекционного процесса являются логически корректными. Роль Универсума играет инфекционный процесс ВГЧ 4,5,6, Класс – активная фаза инфекции, Дополнение – неактивная. Условия отнесения объекта к классу активной инфекции: обнаружение нуклеиновых кислот ВГЧ 4,5,6, в биологических субстратах. Данное условие является необходимым, но недостаточным, так как вирусная ДНК может быть обнаружена (в различных субстратах) как при активной, так и неактивной инфекции. Достаточным условием для отнесения объекта к классу активной инфекции, является наличие клинических проявлений, так как наблюдается только в активной фазе. Аналогичным образом дали определение **понятию реактивация**. В этом случае Универсум - это активный инфекционный процесс, вызванный ВГЧ-4,5,6. Классом (объектом) которому мы дали определение, является Реактивация. Дополнение – латентная инфекция, рисунок 2.

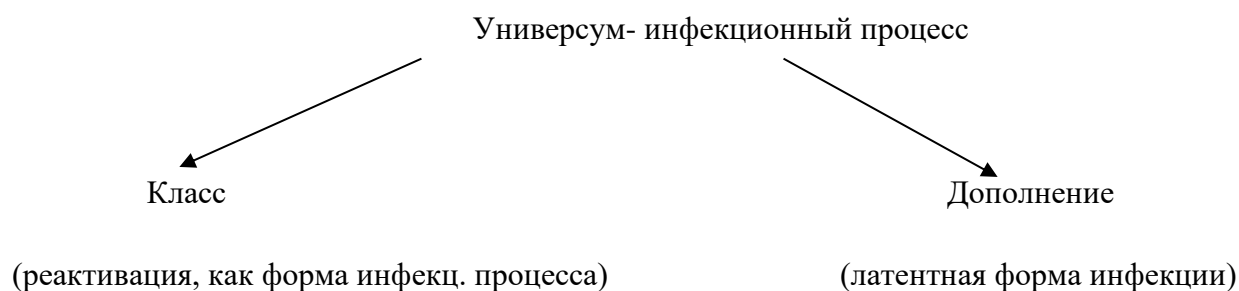


Рисунок 2. Сема формулирования понятия (определения) посредством трех категорий.

Согласно принятому нами триадному подходу, необходимым условием для отнесения объекта к классу «реактивация» является серопозитивность. Но это условие не будет достаточным, так как при латентной инфекции все объекты серопозитивны. Достаточным, и одновременно необходимым условием для реактивации будет являться репродукция вируса с генерацией вирусного потомства, и наличие клинических проявлений. При латентной форме инфекции, не происходит репродукции инфекционного вируса, и отсутствуют симптомы заболевания, чем обуславливается достаточность определения. Таким образом, сформулировали понятие:

Реактивация ВГЧ-4,5,6 типа - это инфекционный процесс в организме серопозитивного индивидуума, при котором происходит размножение вируса, с выходом его за пределы клетки, сопровождающееся развитием клинической симптоматики.

Инфекционный процесс, вызванный ВГЧ-4,5,6, классифицировали состоящим из двух фаз: активной и неактивной инфекции, каждая фаза, в свою очередь состоит из форм: активная – первичная и реактивированная формы, неактивная – латентная (серопозитивность).

Аналогично эпидемиологическим факторам риска [61], дали определение факторам реактивации: фактор реактивации ВГЧ 4,5,6 – это агент или обстоятельство, которые определяют возможность (вероятность) развития изменений в специфическом иммунном ответе, в результате которого происходит литическая репликация вируса с развертыванием клинической картины заболевания. При этом, необходимым условием в данном определении будет изменение иммунного ответа, а достаточным, отличающим фактор от не-фактора будет литическая репликация вируса. Количественно, связь между фактором и определенным исходом оценивали при помощи отношения шансов (OR). Сформулировали понятие «фактор реактивации» ВГЧ4,5,6, предполагая, что реактивация является частным прогнозируемым случаем активной фазы

инфекционного процесса. Фактор реактивации ВГЧ 4,5,6 – это фактор, степень влияния которого (OR) имеет значение больше единицы. Достаточным условием для данного определения является величина значения $OR > 1$. В качестве оценки надежности фактора реактивации мы определили значения чувствительности и специфичности для него более 70%, для отсека как ложноположительных, так и ложноотрицательных диагнозов.

Кроме того приводим определения следующих понятий, используемых в данной работе:

- ВГЧ 4,5,6А/В- инфекция - выделение вируса или обнаружение вирусных белков (антигенов) или нуклеиновой кислоты в любой жидкости организма или образце ткани;
- Репликация ВГЧ 4,5,6А/В - указывает на наличие вирусного размножения и иногда можно использовать вместо «ВГЧ 4,5,6А/В-инфекция»;
- Первичная ВГЧ 4,5,А/В6-инфекция определяется как первое обнаружение вирусных белков или нуклеиновой кислоты ВГЧ 4,5,6А/В-инфекции;
- Рецидивирующая ВГЧ 4,5,6А/В-инфекция определяется как новая ВГЧ 4,5,6А/В-инфекция у пациента через 4 недели (минимум) активного наблюдения после предшествующей ВГЧ 4,5,6А/В-инфекции. Рецидивирующая инфекция может возникнуть как в результате реактивации латентного вируса (эндогенно), так и реинфекции (экзогенно);
- Реинфекция ВГЧ 4,5,6А/В определяется в случае обнаружения штамма, отличного от того, который вызвал первичное заболевание.

2.3. Программа исследования

Исследование носило сравнительный ретроспективный одномоментный характер (для решения некоторых задач – проспективный по типу «случай-

контроль»), выполнено в Пермском государственном медицинском университете им. академика Е.А. Вагнера в период с 2015 по 2021 гг. В качестве объекта исследования выбраны дети с заболеваниями, вызванными герпесвирусами 4,5 и 6А/В типа, причем типирование ВГЧ6 на типы А/В не проводилось. Основная единица наблюдения – ребенок, больной какой-либо формой инфекции, вызванной ВГЧ 4,5,6А/В типа, источник информации - карта обследования ребенка и первичные медицинские документы. Наблюдение за госпитализированными детьми осуществлялось в детском инфекционном отделении Пермской краевой клинической инфекционной больницы (заведующий Батракова Г.В.) и педиатрическом отделении Детской Клинической больницы № 13 (заведующий Бербер И.Э), инфекционном отделении ГДКБ№3 им. Корюкиной И.П. (заведующий отделением Постановова Н.О.) амбулаторное наблюдение за детьми осуществлялось на базе кафедры детских инфекционных болезней ПГМУ (заведующий кафедрой проф. Львова И.И.). Здоровые дети осматривались на амбулаторном приеме в поликлинике № 5 ГБУЗ ПК ДКБ им. Пичугина П.И. (главный врач Бондарь Д.А.) в 2015-2018 гг, среди проходивших профилактический осмотр перед вакцинацией. Исследование одобрено Этическим комитетом ПГМУ им. ак. Е.А. Вагнера. Все дети принимали участие в исследовании после подписания информированного добровольного согласия их родителями (законными представителями). При проведении исследования, мы исходили из следующих предположений (гипотез):

- критерии, определяющие и прогнозирующие активную фазу инфекционного процесса, вызванного герпесвирусами у детей, имеют возрастные особенности;

- критерии активной фазы инфекционного процесса, вызванного герпесвирусами у детей могут быть как клиническими, так и лабораторными, отличаясь для каждого вида семейства герпесвирусов (цитомегаловирус, вирус Эпштейна-Барра, вирус герпеса 6 типа);

- современные математические методы анализа данных позволяют решать задачи классификации и прогнозирования для любого типа медицинских данных, определяя наличие закономерностей как явных, так и скрытых;

- научно обоснованные в результате исследования критерии и факторы активной фазы инфекционного процесса, вызванного герпесвирусами у детей, позволят персонализировать решение диагностических, прогностических и мониторинговых задач, путем построения практических алгоритмов. Таким образом, вышеприведенные концептуальные положения определили предметную область, объект и применяемые в данном исследовании методы.

Настоящее научное исследование включало следующие этапы:

1. Оценка частоты выявления острых инфекций, вызванных ВГЧ 4,5,6А/В в амбулаторных и стационарных лечебных учреждениях г. Перми и Пермского Края.
2. Проведение метаанализа диагностических критериев, определяющих фазу инфекционного процесса, вызванного ВГЧ 4,5,6А/В.
3. Обследование кластерной выборки пациентов в аспекте выявления клинико-лабораторных особенностей фаз инфекционного процесса, вызванного ВГЧ 4,5,6А/В.
4. Математическое моделирование фаз инфекционного процесса, вызванного ВГЧ 4,5,6А/В у детей до 7 лет, разработка диагностического алгоритма.

Схема 1

Описание дизайна исследования, групп пациентов в соответствии с поставленными задачами

Больные			Здоровые		Дизайн исследования
Этап 1. Анализ зарегистрированной заболеваемости инфекциями, вызванными ВГЧ-4,5,6 у детей 1-7 лет в Пермском Крае за 5 лет					
Данные официальной статистики амбулаторных и госпитализированных пациентов 1-7 лет с ВГЧ 4,5,6 в 2015-2020гг				ретроспективное описательное одномоментное	
N=14 892 пациентов					
Этап 2. Анализ частоты выявления различных форм инфекции, вызванной ВГЧ-4,5,6 у пациентов с острой респираторной инфекцией (n=1126) и условно здоровых (n=155)					
Данные карт наблюдения амбулаторных/госпитализированных пациентов в 2015-2020гг				ретроспективное описательное одномоментное	
амбулаторные пациенты, госпитализированные и условно здоровые с маркерами ВГЧ 4,5,6					
Этап 3а. Анализ маркеров количественной ПЦР ВГЧ 4,5,6 в различных средах больных и здоровых n=1281					
Этап 3б. Анализ информативности количественной ПЦР ВГЧ 4,5,6 N=1591					
Группа больных ВГЧ 4,5,6 n=797		Группа здоровых n=794		Метаанализ	
Этап 4. Анализ возрастных, клинико-лабораторных особенностей ВГЧ 4,5,6 инфекции у амбулаторных/госпитализированных пациентов и здоровых n=1281					
Этап 4а. Активная/неактивная ВГЧ 4,5,6, n=1281					
Активная цитомегаловирусная инфекцией n=255	Активная ЭБВ-инфекция n= 318	Активная ВГЧ6-инфекция n=207	Латентные формы ВГЧ 4,5,6 n=346	Условно здоровые n=155	ретроспективное «случай-контроль»
Этап 4б. Первичная/реактивированная ВГЧ 4,5,6 инфекция N=780					
первичная ВГЧ 4,5,6 инф-я n=302 цитомегаловирусная инфекция n=95 ЭБВ-инфекция n=160 ВГЧ6-инфекция n=47	реактивация ВГЧ 4,5,6 n=478 цитомегаловирусная инфекция n=160 ЭБВ-инфекция n=158 ВГЧ6-инфекция n=160				ретроспективное «случай-контроль»

Для обоснования размера выборки использовали данные официальной регистрации заболеваний вызванных ВГЧ 4,5,6А/В среди детей от 1 до 6 лет в г. Перми в 2014 г.: всего 1050 детей, из них амбулаторных пациентов - 805, госпитализированных в стационары города - 245 детей. С учетом численности

детского населения возраста 1-6 лет в г. Перми в 2014 году 135015 человек, распространенность заболеваний, вызванных ВГЧ 4,5,6 среди детей от 1 до 6 лет г. Перми составляет 7,7 на 1000 детей (7,7 %). Обоснование размера выборки проводили по формуле (1).

$$n = \frac{N \cdot t^2 \cdot P \cdot Q}{N \cdot \Delta^2 + t^2 \cdot P \cdot Q}$$

$$(1050 \times 3,8 \times 8 \times 92) / (1050 \times 25 + 3,8 \times 8 \times 92) = 101 \quad (1)$$

где N – объём генеральной совокупности, n – минимальный расчётный объём выборки, t – коэффициент достоверности 1,96 (при уровне достоверности исследования 95 %), P – доля в % (ВГЧ 4,5,6 инфекций), $Q = 100 - P$, Δ – предельная ошибка выборки 5,0 % (при уровне достоверности исследования 95,0%). Размер выборки, гарантирующий репрезентативные результаты, составляет 101 человек. Мощность исследования, то есть шанс обнаружения статистически значимого эффекта, выбрали равным 80,0%, при уровне значимости $\alpha = 0,5$. Для сравнительного исследования величин вирусной нагрузки (количественная переменная) были выбраны следующие условия: - мощность, выбрали равной 99%; уровень значимости $\alpha = 0,01$; стандартное отклонение для значений вирусной нагрузки в средах исследования $\sigma = 0,99$; минимальная клинически важная величина вирусной нагрузки (δ) определена в 1 lg. При этом стандартизированная разница составит $\sigma / \delta = 0,99$. Объём выборки определяли по номограмме Альтмана: шанс в 99,0% обнаружения разности в средних значениях ВН=1lg, при 0,01 уровне значимости, используя непарный t-критерий будет реализован при 30-40 больных в группе. В ходе проведённого исследования было выполнено представленное количество исследований, таблица 1.

Таблица 1

Методы и объем проведенных исследований

Метод исследования	Биологический материал	Количество пациентов	Количество исследований
Клинический анализ крови	кровь	1126	2252
Биохимический анализ крови	кровь	736	1280
Определение ДНК ВГЧ 4,5,6 типа методом ПЦР	кровь	1281	1575
	слюна	1281	1824
	моча	255	255
Определение ДНК/РНК группы респираторных вирусов	мазок из зева	1281	1281
Специфические анти-ВГЧ 4,5,6 Ig G/M Иммуноглобулины общие Ig A Ig M Ig G	кровь	1281	1281
	кровь	141	141
	кровь	141	141
	кровь	141	141
Иммунограмма	кровь	179	179
Рентгенография органов грудной клетки	-	35	35
УЗИ органов брюшной полости	-	812	812
ЭКГ	-	56	56

Прочерк (-) обозначает отсутствие данных

2.4. Общая характеристика этапов исследования и пациентов

Всего в исследовании изучены данные по 14892 пациентам с различными формами инфекции, вызванной ВГЧ 4,5,6, проживающим в г. Перми и Пермском Крае в период с 2015 г. по 2021 г. На первом этапе исследования амбулаторную заболеваемость ВГЧ 4,5,6, изучали на основе данных (отчетная форма ФГСН №12), занесенных в Единую Информационную Систему Здравоохранения Пермского Края (ЕИСЗ ПК) - всего 14892 человека. Заболеваемость госпитализированных пациентов изучали по отчетам детских инфекционных стационаров г. Перми (Форма №14, ф. № 066/у) – 1171 пациент. Критерий включения в исследование первого этапа: возраст от 1 месяца до 7 лет, основной диагноз, соответствующий одному из шифров согласно МКБ-10: В27.1 – ЦМВ-мононуклеоз, В25.8 – другие ЦМВ болезни, В25.9 – ЦМВ болезнь неуточненная, В27 мононуклеоз вызванный гамма-герпесвирусом, В27.8 - инфекционный

мононуклеоз неуточненный, K11.2 – сиалоаденит, K77.0 - ЦМВ-гепатит, B08.2 – внезапная экзантема.

На втором этапе обследовано 1426 детей, с клиническими проявлениями острого респираторного заболевания, как госпитализированных, так и амбулаторных (раздельно эти группы детей не описывались). Для сведения к минимуму вероятности ошибок смещения на этапе разработки дизайна и включения пациентов в исследование, сравниваемые выборки были статистически однородны по поло-возрастным характеристикам, первичный набор пациентов производился третьими лицами. Для исключения смещения на этапе наблюдения, регистрация и сбор данных осуществлялся по разработанной схеме (протоколу). Формирование группы исследования: младшая - дети в возрасте от 1 месяца до 3 лет 11 месяцев 30 дней, старшая – 4 лет до 6 лет 11 месяцев 30 дней. Из 1426 детей с клиническими проявлениями острого респираторного заболевания на втором этапе выбыли 300 ВГЧ 4,5,6-серопозитивных (смешанные формы ВГЧ4,5,6 инфекции).

Основную группу составили 780 детей - активная моно ВГЧ4,5,6-инфекция. Критерии включения в основную группу: возраст от 1 месяца до 7 лет, клинические проявления острого респираторного заболевания, отсутствие лабораторного подтверждения наличия других респираторных вирусов (ПЦР мазка из ротоглотки), наличие лабораторно подтвержденной (количественная ПЦР крови) моно-ЦМВ, моно-ЭБВ или моно-ВГЧ6-инфекции (IgG+/-), получение информированного согласия родителя (иного законного представителя) на участие в исследовании. Критерии невключения: возраст менее 1 месяца и более 7 лет, наличие тяжелых соматических заболеваний, смешанная ВГЧ 4,5,6 и хромосомно-интегрированная ВГЧ-6А/В инфекция, а также ВИЧ-инфекция, отсутствие информированного согласия, другие острые респираторные заболевания (коклюш и пр.).

Группу сравнения составили 346 детей – неактивная (латентная) ВГЧ 4,5,6-инфекция. Критерии включения в группу сравнения (латентная, неактивная инфекция): клинические проявления острого респираторного заболевания,

отсутствие лабораторно подтвержденной (ПЦР крови) ЦМВ, ЭБВ или ВГЧ6-инфекции, серопозитивность (IgG+) к ВГЧ 4,5,6, информированное согласие родителя (иного законного представителя) на участие в исследовании. Критерии невключения: возраст менее 1 месяца и более 7 лет, наличие тяжелых соматических заболеваний, хромосомно-интегрированная ВГЧ-6А/В инфекция, а также ВИЧ-инфекция, отсутствие информированного согласия, другие острые инфекционные заболевания. Контрольная группа условно здоровых (n=155), была сформирована согласно следующим критериям включения: наличие лабораторных маркеров неактивной ВГЧ 4,5,6 (IgG или ПЦР+ слюна/моча), отсутствие признаков острого респираторного заболевания на момент осмотра; отсутствие признаков обострения хронических соматических заболеваний на момент осмотра; наблюдение в детской поликлинике по 1-2 группе здоровья; отсутствие эпизодов ОРИ за предшествующие 3 месяца; информированное согласие родителей (законных представителей) на участие в исследовании. Критерии невключения в группу здоровых детей были: возраст младше 1 месяца и старше 7 лет; отсутствие информированного согласия родителей (законных представителей); наличие эпизодов ОРИ и герпесвирусных инфекций в течение 3 месяцев до осмотра. Дети были сопоставимы по возрасту, таблица 2.

Таблица 2.

Структура по полу и возрасту детей на втором этапе исследования (1281 человек)

Группа	Основная группа				Контрольная группа (условно здоровые дети)			Всего в группе
	число, доля	пол		Всего	пол		Всего	
		мальчики	девочки		мальчики	девочки		
Младшая: от 1 мес до 3 лет 11мес 30 дней	n	393	332	725	52	42	94	819
	%	54	46	64,5	55	45	61	64
Старшая: от 4 лет до 6 лет 11 мес 30 дней	n	205	196	401	28	33	61	462
	%	51	49	35,5	46	54	39	36
Всего в группе	n	598	528	1126	80	75	155	1281
	%	53	47	100	52	48	100	100

На третьем этапе исследования провели метаанализ собственных результатов (495 человек) и опубликованных данных других авторов (1096 человек), всего использовали данные о 1591 пациенте: больные ВГЧ 4,5,6 инфекцией – 787 детей (246 – собственные данные), здоровые – 794 ребенка (249 - собственные данные). Был проведен поиск научных работ по обозначенной выше тематике в различных электронных базах (Medline, E-library, Wiley, Elseiver), в обзорах, диссертациях, журналах, и др. Поиск производился отдельно для каждого типа ВГЧ 4,5,6, по следующим запросам:

«Virus Diseases [MeSH Terms] AND saliva AND shedding AND blood AND EBV OR Epstein-Barr virus AND viral load AND pediatric AND (Herpesvirus [MeSH Terms]) NOT transplantation NOT HIV NOT lymphoma»;

«Virus Diseases [MeSH Terms] AND saliva AND shedding AND blood AND CMV OR cytomegalovirus AND viral load AND pediatric AND (Herpesvirus [MeSH Terms]) NOT transplantation NOT HIV NOT lymphoma»;

«Virus Diseases [MeSH Terms] AND saliva AND shedding AND blood AND HHV6 OR human herpesvirus AND viral load AND pediatric AND (Herpesvirus [MeSH Terms]) NOT transplantation NOT HIV NOT lymphoma».

Для качественного отбора публикаций по данной тематике были определены критерии включения/невключения отдельных независимых оригинальных исследований в метаанализ. Протокол не составлялся и не регистрировался. Изучалась объединенная распространенность выявления ДНК ВГЧ 4,5,6А/В в крови и слюне больных острыми формами ВГЧ 4,5,6А/В заболеваний, и здоровых детей дошкольного возраста, и сравнивалась их частота. Анализировалась средняя стандартная разница между значениями вирусной нагрузки ВГЧ 4,5,6А/В в крови и слюне больных и здоровых детей. Критерии включения в метаанализ: дизайн исследования «случай-контроль» или когортное, возраст от 1 мес до 7 лет, клиническое и/или серологическое подтверждение острой ВГЧ 4,5,6, обнаружение ДНК ВГЧ 4,5,6 в слюне и/или цельной крови методом ПЦР в реальном времени с отображением результата в виде n копий ДНК/мл. Критерии включения в группу сравнения (здоровый контроль): дизайн исследования «случай-контроль» или

когортное, возраст 1-7 лет, отсутствие признаков острого заболевания на момент осмотра, детекция ДНК ВГЧ 4,5,6 в слюне и/или цельной крови методом ПЦР в реальном времени с отображением результата в виде n копий ДНК/мл. Критерии исключения для обеих групп: возраст младше 1 года и старше 7 лет, наличие подтвержденного иммунодефицитного состояния (ВИЧ-инфекция, лимфома), отсутствие контрольной группы лиц (здоровых) в проведенных исследованиях, несоответствие методики определения количества копий ДНК ВГЧ 4,5,6, несоответствие исследуемых биологических субстратов, несоответствие дизайна исследования. Первоначально было найдено 36 исследований, из которых 12 удовлетворяли критериям включения в анализ. Однако, в двух исследованиях определялась ДНК ВГЧ 4,5,6 только в одной из сред (в крови или слюне), поэтому в окончательный анализ вошли 10 исследований, которые анализировали отдельно, в зависимости от типа определяемого вируса. Таким образом, общее число участников исследования в группе больных составило 797 человек, в группе здоровых - 794. В группе больных, острая ВГЧ 4,5,6А/В инфекция была представлена в основном инфекционным мононуклеозом - 46,0% (367/797), фебрильным судорожным приступом - 21,0% (166/797), и в 33,0% (264/797) случаев - экзантемой, острым лихорадочным респираторным заболеванием. Для извлечения данных из публикаций использовалась форма, содержащая следующие сведения: авторы, дата публикации, дизайн, размер выборки, количество участников. Оценка качества исследований включенных в работу проведенная по шкале Ньюкасл-Оттава показала, что все исследования характеризовались средним риском (6-7 баллов) смещения по 8 доменам. Оценка «0» практически для всех исследований, получена в основном по двум доменам: адекватность определения «случая» и учет пропусков данных.

Четвертый этап исследования по составу групп соответствовал второму: основная группа, активная моно ВГЧ4,5,6-инфекция -780 человек, сравнения, неактивная моно ВГЧ4,5,6-инфекция – 346 человек, контрольная – условно здоровые, 155 человек, таблица 3.

Таблица 3.

Исследования включенные в метанализ для изучения частоты выявления и значений вирусной нагрузки ВГЧ 4,5,6А/В в крови и слюне детей 1-7 лет

Авторы, год	Название статьи	Дизайн исследования	Размер выборки (больные/здоровые)
1. Поспелова Н.С., 2019	Клинико-лабораторный алгоритм диагностики острой цитомегаловирусной инфекции у детей	случай-контроль	65/46
2. Пермякова А.В., 2020	Научное обоснование клинико-лабораторных предикторов герпесвирусных инфекций у детей	случай-контроль	141/140
3. Dossier C, 2014	Prevalence of herpesviruses at onset of idiopathic nephrotic syndrome	случай-контроль	124/196
4. Пермякова А.В., 2020.	Научное обоснование клинико-лабораторных предикторов герпесвирусных инфекций у детей	случай-контроль	141/140
5. Пермякова А.В., Тимченко В.Н., 2020	Инфекционный мононуклеоз, вызванный вирусом эпштейна-барр, как объект математического моделирования	случай-контроль	40/63
6. Климова Р.Р., 2013	Частота обнаружения маркеров герпесвирусных инфекций у часто болеющих детей с острой респираторной инфекцией	случай-контроль	113/70
7. Luca Bartolini, 2018	Detection of HHV-6 and EBV and Cytokine Levels in Saliva From Children With Seizures: Results of a Multi-Center Cross-Sectional Study	случай-контроль	115/46
8. Hug M., 2012	Pediatric epstein-barr virus carriers with or without tonsillar enlargement may substantially contribute to spreading of the virus	случай-контроль	9/57
9. Cao P., 2017	Fluorescence in situ hybridization is superior for monitoring Epstein Barr viral load in infectious mononucleosis patients	случай-контроль	32/20
10. Пермякова А.В., 2020	Научное обоснование клинико-лабораторных предикторов герпесвирусных инфекций у детей	случай-контроль	141/140
11. Климова Р.Р., 2013	Частота обнаружения маркеров герпесвирусных инфекций у часто болеющих детей с острой респираторной инфекцией	случай-контроль	113/70
12 Luca Bartolini, 2018	Detection of HHV-6 and EBV and Cytokine Levels in Saliva From Children With Seizures: Results of a Multi-Center Cross-Sectional Study	случай-контроль	115/46
13. Мелехина Е.В., 2019	Инфекция, вызванная human betaherpesvirus 6a/b, у детей: клинико-патогенетические аспекты, диагностика и терапия	случай-контроль	113/100

14. Музыка А.Д., 2017	Диагностика, клинико-лабораторные особенности и лечение активных форм инфекции вируса герпеса человека 6 типа у детей	случай-контроль	45/56
15. Dossier C, 2014	Prevalence of herpesviruses at onset of idiopathic nephrotic syndrome	случай-контроль	124/196

Мощность исследования, то есть шанс обнаружения статистически значимого эффекта, выбрали равным 80%, при уровне значимости $\alpha=0,5$, репрезентативный размер выборки составил 101 человек, для каждой из изучаемых инфекций.

2.5. Методы исследования

Дети в группах исследования осматривались по стандартной педиатрической методике. При первичном обследовании регистрировали паспортные данные, проводили анализ жалоб и анамнеза. Как амбулаторные, так и госпитализированные пациенты обследовались в соответствии с медико-экономическими стандартами. При постановке диагноза руководствовались нормативными документами [26]. Диагноз острой ВГЧ 4,5,6А/В инфекции определяли по комплексу клинических и лабораторных данных в соответствии с клиническими рекомендациями, принятыми в Российской Федерации.

2.5.1. Эпидемиологические методы исследования

Сведения о заболеваемости амбулаторных пациентов инфекциями, вызванными ВГЧ 4,5,6 изучались на основании записей занесенных в ЕИСЗ ПК (их систематическая регистрация началась в 2015 году). Учитывались данные приведенные в отчетной форме №2 (приказ Росстата от 20.12.2014 №52) «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» по следующим нозологиям, согласно МКБ-10: В27.1 – ЦМВ-мононуклеоз, В25.8 – другие ЦМВ болезни, В25.9

– ЦМВ болезнь неуточненная, В27 мононуклеоз вызванный гамма-герпесвирусом, В27.8 - инфекционный мононуклеоз неуточненный, К11.2 – сиалоаденит и К77.0 - ЦМВ-гепатит, В08.2 – внезапная экзантема. Сведения о больных острыми формами герпесвирусных инфекций, получали из официальных отчетов 3 профильных стационаров г. Перми: ГБУЗ Пермского края «Пермская краевая клиническая инфекционная больница», ГБУЗ Пермского края «Детская клиническая больница № 13» и ГБУЗ Пермского края «Детская клиническая больница № 3». Сведения о численности детского населения г. Перми получены из территориального органа Федеральной службы государственной статистики по Пермскому краю (Пермьстат). Сведения об амбулаторных больных были получены из амбулаторных карт пациентов, наблюдавшихся на кафедре детских инфекционных болезней ПГМУ и в клинике педиатрии и детских инфекций «Аленушка» г. Перми. Эпидемиологический метод основывался на ретроспективном и проспективном анализе медицинской документации (формы № 025/у, № 112/у).

2.5.2. Клинические методы исследования

Клиническое обследование проводилось комплексно, изучались особенности заболевания, производилась оценка состояния органов и систем, при различных вариантах ВГЧ 4,5,6-инфекции с учетом возраста ребенка. Выбор анализируемых клинических признаков был связан с известными и описанными ранее наиболее частыми проявлениями герпесвирусных инфекций у детей [8]. А именно, среди анамнестических факторов важное место уделяли анализу акушерского анамнеза матери (патология беременности, выкидыши и т.п.), установлению частоты респираторных заболеваний, а также заболеваний протекающих под маской ОРИ, волнообразно, и/или с длительным субфебрилитетом и /или с бактериальными осложнениями (ангины, отиты, гаймориты, пневмонии и т.п.). При сборе анамнеза внимание уделяли известным факторам, которые могут влиять на реактивность

детского организма, и оказать влияние на предрасположенность к нарушениям в реагировании иммунной системы, отвечающей за восприимчивость к группе герпесвирусов. Все факторы были выбраны эмпирическим путем, основываясь на данных литературы и собственном опыте, они были поделены на анте-, интра- и постнатальные (ранние и поздние). К анте- и интранатальным факторам отнесли: паритет беременности и родов, протекание беременности (с угрозой прерывания и без) и родов (физиологические или патологические). В доступной литературе нам не удалось обнаружить публикаций, посвященных связи антенатальных факторов с реактивацией ВГЧ 4,5,6А/В, что и неудивительно, поскольку реактивация сама по себе является процессом мультифакториальным, а для изучения влияния анамнестических факторов необходимы большие когортные исследования. К ранним постнатальным факторам отнесли: вид вскармливания до 6 месяцев (естественный или искусственный), наличие атопического дерматита. В качестве поздних постнатальных рассматривали наличие сопутствующей соматической патологии, рекуррентные респираторные инфекции, а также отдельно отмечали случаи заболеваний, которые могли быть результатом первичного инфицирования ВГЧ 4,5,6А/В, такие как инфекционный мононуклеоз, детская розеола, фебрильный судорожный приступ, сиалоаденит, лимфаденит, острое мононуклеозоподобное заболевание. Обращали внимание на описание симптомов воспалительных изменений со стороны носоглотки (заложенность носовых ходов, затруднение носового дыхания), слизистых ротоглотки (тонзиллиты, фарингиты), увеличение региональных лимфатических узлов, гепато- и спленомегалию.

При изучении клинических проявлений реактивированных форм ВГЧ 4,5,6А/В инфекции симптомы заболевания интерпретировали как результат взаимодействия вирусного агента и воспринимающего организма-хозяина. Степень тяжести заболевания оценивали в соответствии с «Клиническими рекомендациями оказания медицинской помощи детям больным инфекционным мононуклеозом» по совокупности субъективных и объективных симптомов: легкую степень определяли при умеренной лихорадке не более трех дней, слабовыраженной интоксикации не нарушающей общего состояния больного,

среднюю степень определяли при выраженной лихорадке четыре и более дней, умеренно выраженной интоксикации нарушающей самочувствие пациента, тяжелую – при стойкой фебрильной лихорадке, выраженной интоксикации. Учитывались типичные симптомы характерные для герпесвирусных инфекций. Так, при инфекционном мононуклеозе учитывали такие синдромы как длительное стойкое повышение температуры тела, интоксикация, шейный лимфаденит, тонзиллит с наложениями на миндалины, синдром экзантемы, синдром цитолиза, синдром нарушения носового дыхания и гепатоспленомегалия. Учитывали сопутствующие респираторные симптомы характерные для ОРВИ, такие как кашель, насморк, хрипы в легких, соответствовавшие бронхиту, пневмонии. Помимо заболеваний ИМ протекающих типично, в части случаев, клиническая картина является неполной, и трактуется лечащими врачами неоднозначно. Чаще всего, в историях болезни в таких случаях указывается диагноз «Инфекционный мононуклеоз атипичный», или «ОРВИ, мононуклеозоподобный синдром». В настоящее время считается общепризнанным, что клиника мононуклеозоподобного синдрома может встречаться при целом ряде других инфекционных заболеваний: аденовирусной инфекции, листериозе, хламидиозе, токсоплазмозе, иерсиниозе, ВИЧ-инфекции, парвовирусной инфекции и др. По данным (Боковой А.Г., 2003) [8], главным клиническим дифференциально-диагностическим критерием между ЭБВ-мононуклеозом и мононуклеозоподобным синдромом при ОРВИ является присутствие всего клинического симптомокомплекса инфекционного мононуклеоза, свидетельствующего о поражении лимфоидной ткани в целом, который включает шесть ведущих симптомов таких как лихорадка и общая интоксикация, лимфаденопатия, тонзиллит, гепато- спленомегалия, выраженная заложенность носа. К гематологическим маркерам относят лимфоцитоз, сегментоядерную нейтропению и появление атипичных мононуклеаров, причем последний компонент в современных случаях встречается не у всех больных. Клиническую картину заболевания оценивали по совокупности субъективных и объективных признаков. К значимым субъективным признакам относили жалобы на нарушение

носового дыхания, эпизоды кашля, болей в горле, болей в животе, слабость, вялость как проявление общего интоксикационного синдрома. К значимым объективным признакам относили: выраженность и длительность лихорадочного синдрома, степень гипертрофии небных миндалин, выраженность налетов на миндалинах, степень гипертрофии лимфатических лимфоузлов, степень гепато- и спленомегалии. Значимость симптомов определяли, в соответствии с количеством баллов по следующей эмпирической шкале:

0 баллов – симптом отсутствует;

1 балл – симптом имеется, но повседневной активности не нарушает;

2 балла – симптом имеется и в достаточной мере нарушает ежедневную жизнедеятельность и сон.

При ранжировании степени гипертрофии небных миндалин придерживались следующих критериев; 1-я степень гипертрофии – миндалины не выступают из-за небных дужек, 2-я степень – миндалина занимает менее 1/3 расстояния от края передней небной дужки до срединной линии зева, 3-4 степень – гипертрофированная миндалина доходит до язычка мягкого нёба, и миндалины соприкасаются между собой. Состояние лимфатических узлов оценивалось пальпаторно. Лимфатические узлы определялись нами как единичные и множественные, размер оценивался в сантиметрах. Для лимфоузлов, находящихся в смежных анатомических областях определили ранги: единичные, размером менее 2 см - 1; единичные размером более 2 см – 2; множественные размером менее 2 см – 3; множественные размером более 2 см – 4. Отдельно описывали увеличение лимфоузлов «пакетами» - увеличение в размерах и спаянность тканей нескольких лимфоузлов больших размеров (более 4 см) – ранг 5, и генерализованную лимфаденопатию – одновременное увеличение лимфоузлов более 2 см в двух и более несмежных анатомических областях – ранг 6. Гепато- и спленомегалию определяли как пальпаторно, так и инструментально, посредством ультразвукового исследования, в сравнении с возрастными нормами.

Таким образом, изучение клинических субъективных и объективных симптомов проводили с учетом степени выраженности. Очевидно, что клинические

симптомы реактивированных форм ВГЧ 4,5,6А/В имеют много общего с первичным инфицированием этими вирусами, поскольку обусловлены единством этиопатогенеза. Стоит отметить, что в настоящее время в литературе не существует единых описаний клинических форм реактивированной ВГЧ 4,5,6А/В инфекции, большинство авторов сходятся во мнении что она неспецифична и полиморфна.

2.5.3. Лабораторные и рентгенологические и методы исследования

Кровь для исследования забирали у пациентов по стандартным методикам. Клинический анализ крови проводился на гематологическом анализаторе Cell-Dyne Ruby («Abbott», США). Материалом для исследования служила венозная кровь пациентов, стабилизированной ЭДТА, интерпретация результатов проводилась в соответствии с региональными нормами [6]. По мере необходимости, забор анализа повторяли, как у госпитализированных, так и у амбулаторных пациентов. Биохимические маркеры поражения печени (АЛТ, АСТ, ГГТП) определяли при помощи биохимического анализатора Architect 8000 (Abbott, США), методом фотометрии.

2.5.4. Иммунологические исследования

Общие иммуноглобулины крови (А, М, G, Е) определяли у больных в острый период заболевания, субпопуляции лимфоцитов – только у пациентов с мононуклеозом. Концентрацию иммуноглобулинов определяли на анализаторе Architect 8000 (Abbott, США) методом иммунотурбодиметрии, используя оригинальные реагенты. Субпопуляции лимфоцитов (абсолютные значения и процентное соотношение) определяли методом проточной цитофлуориметрии (с использованием моноклональных антител), определяли кластеры клеточной дифференциации (CD) клеток человека и соотношение CD4+/CD8. Для

математической обработки данных цитометрии использовали программы EXPO-32 и CXP v. 2.2. В каждой пробе подвергали анализу не менее 10^4 клеток.

2.5.5. Серологические исследования

Гуморальный иммунитет к ВГЧ-4,5,6 оценивали при помощи иммуноферментного (ИФА) анализа в сертифицированной лаборатории ООО «МедЛабЭкспресс». Антитела к ЦМВ классов IgM и IgG, к ВЭБ - IgM(VCA) и IgG (VCA), а также антитела класса IgG к ВГЧ-6 определяли в плазме крови с использованием стандартных тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» (Россия), согласно инструкции. Использовался иммуноферментный анализатор «Freedom EVO lyzer 200» («TECAN Schweiz AG», Швейцария).

2.5.6. Молекулярно-генетические методы исследования

Метод ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией, применяли для определения ДНК ВГЧ-4,5 в образцах периферической крови, мазках из ротоглотки и моче. Экстракция ДНК из биологических материалов производилась с применением набора реагентов «Рибо-преп» (РУ №ФСР 2008/03147), амплификация проводилась с использованием набора «АмплиСенс® EBV-CMV-NNV6-скрин-FL» (РУ №ФСР 2010/09502), по инструкции производителя. В данном исследовании производили логарифмирование результатов количественной оценки ПЦР (коп/мл) и результат представляли в виде lg копий ДНК ЦМВ/мл /мл. Использовали авторское предложение по ранжированию значений вирусной нагрузки: свыше 100 000 копий ДНК/мл - высокая вирусная нагрузка (ранг 3), от 10 000 до 100 000 копий ДНК/мл - средняя вирусная нагрузка (ранг 2), до 10 000 коп ДНК/мл - низкая вирусная нагрузка (ранг 1).

Маркерами острой ВГЧ-4,5,6 инфекции считали определение ДНК вируса в крови, причем при отсутствии анти-IgG, определяли первичную инфекцию, при

наличии анти-IgG – реактивацию [21]. Активную ЦМВИ/ЭБВИ определяли с учетом как серологических маркеров по результатам (анти-ЦМВ и анти-ЭБВ IgM), так и ПЦР-тестирования (наличие ДНК ВГЧ 4,5 в крови), причем при отсутствии IgG, определяли первичную инфекцию, а при их наличии – реактивацию. Маркерами активной ВГЧ6А/В инфекции считали наличие ДНК вируса в крови, причем, при отсутствии антител IgG, состояние определяли как первичную инфекцию, а при наличии антител IgG, как реактивацию. Изолированное обнаружение ДНК ВГЧ 4,5,6 в слюне, без ДНК-емии, расценивалось как проявление латентной формы инфекции. При сомнительных результатах лабораторных исследований больные из исследования исключались. Верификацию респираторных вирусов проводили методом качественной ПЦР, определяя следующих возбудителей респираторных вирусных инфекций (Respiratory Syncytial virus, Metapneumovirus, Coronavirus, Rhinovirus, Adenovirus В, С, Е, Bocavirus, Parainfluenza virus 1, 2, 3, 4) в мазке из ротоглотки в первые 48 часов заболевания (и в группе здоровых). Использовали набор реагентов, разработанных в ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

2.5.7. Инструментальные методы исследования

По показаниям проводились дополнительные исследования – рентгенография легких, УЗИ органов брюшной полости, электрокардиография. Электрокардиографическое исследование с записью 12 отведений проводили детям, больным инфекционным мононуклеозом. Регистрацию осуществляли на аппарате с мониторным наблюдением («Волготех», г. Саратов). Анализ электрокардиограммы проводил врач-кардиолог по стандартной методике. Ультразвуковое исследование (органов брюшной полости) проводили с использованием аппарата «Sonoline G-20» по общепринятой методике. Результаты сравнивали с возрастными нормами [33].

2.5.8. Статистические методы и переменные, обоснование их применения

В данном исследовании применяли методы анализа данных, принятые в доказательной медицине. В соответствии с выдвинутой гипотезой, зависимая переменная - реактивация (следствие), независимая – изучаемый фактор (причина). Для анализа этого типа связей мы применили регрессионный анализ. В нашем исследовании процесс реактивации носит характер вероятностного, стохастического, поэтому результат влияния той или иной причины может быть прослежен лишь в самой общей форме и рассчитан в виде корреляционной связи. Реактивация инфекционного процесса – это сложный многопризнаковый комплекс, со множеством влияющих (иногда разнонаправленно) факторов риска. Поэтому для изучения причинно-следственных связей применили многофакторный статистический анализ в виде дисперсионного анализа. Однозначно невозможно подвергнуть анализу весь комплекс причин, поэтому наша задача ограничилась изучением совокупного влияния только основных факторов, на которые можно воздействовать с целью изучения изменения зависимой переменной. При выборе основных факторов опирались на то, что все они могут быть измерены, определены и изменены. Однако, в своей работе, мы придерживались мнения, что математические исследования могут только измерить размер связи и зависимости между изучаемыми переменными, учитывая что, чем сильнее степень связи, тем меньше вероятность простого случайного совпадения. Результаты, полученные в исследовании подвергли статистической обработке, использовали методы параметрического и непараметрического анализа. Накопление данных, их корректировка, обобщение и визуализация осуществлена в стандартных электронных таблицах Microsoft Office Excel 2016. Для статистического анализа использовали программное обеспечение Jamovi, SPSS 26.0. Соответствие количественных показателей условиям нормального распределения, определяли при помощи критерия Шапиро-Уилка (если число исследуемых было менее 50), и критерий Колмогорова-Смирнова.

Количественные показатели имеющие нормальное распределение, объединяли в вариационные ряды, рассчитывали среднее арифметическое (M) и стандартное отклонение (SD), определяли границы 95% доверительного интервала (95% ДИ). Те количественные показатели, распределение которых отличалось от нормального, описывали используя значения медианы (Me) с указанием квартилей (Q1-Q3), соответствовавших 25%-75% интервалу. Номинальные данные описывали, указывая абсолютное значение и процентную долю. При проведении сравнительного анализа средних величин (нормальное распределение) рассчитывали t-критерий Стьюдента, значения которого сравнивали с критическими значениями (табличные). Различия считали статистически значимыми если уровень значимости определялся $p < 0,05$. При сравнения совокупностей (независимых) с распределением данных, отличным от нормального использовали критерий Манна-Уитни (U). Значения U-критерия сравнивали с критическими, и если рассчитанное значение критерия было равно или меньше критического, то различия признавались статистически значимыми. При сравнении нескольких выборок количественных данных (распределение отличающееся от нормального) использовали критерий Краскела-Уоллиса.

Номинальные данные сравнивали используя критерий χ^2 Пирсона, в случае, если значение χ^2 превышало критическое, делали вывод о наличии статистической взаимосвязи исхода с предполагаемым фактором риска. Анализ четырехпольных таблиц (ожидаемое явление хотя бы в одной ячейке менее 10) проводили, рассчитывая критерий χ^2 с поправкой Йетса. Количественной мерой эффекта определили показатель отношения шансов (ОШ), который использовали при сравнении относительных показателей. Отношение Шансов определяли как отношение вероятности наступления события в основной группе, к вероятности такового события в группе контроля. Показатель отношения шансов рассчитывали:

$$OR = \frac{A \cdot D}{B \cdot C} \quad (2)$$

Для того чтобы иметь возможность проецировать полученные значения ОШ на генеральную совокупность, мы рассчитывали границы 95% доверительного интервала (95% ДИ) по формулам: нижняя граница 95% ДИ = $e^{\ln(OR)-1,96 \cdot \sqrt{\frac{1}{A} + \frac{1}{B} + \frac{1}{C} + \frac{1}{D}}}$, верхняя граница 95% ДИ = $e^{\ln(OR)+1,96 \cdot \sqrt{\frac{1}{A} + \frac{1}{B} + \frac{1}{C} + \frac{1}{D}}}$. Границу отсутствия эффекта, приняли за 1.

Связь между явлениями, которые были представлены количественными данными (при условии распределения отличного от нормального) определяли рассчитывая коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Значения полученного коэффициента корреляции r интерпретировали по шкале Чеддока.

Производили расчет вероятности (активной ВГЧ-4,5,6) в случае положительного результата ПЦР, определяя прогностичность положительного (+P) и отрицательного результата теста (-P). Для этого вычисляли отношение правдоподобия (LR): (LR(+)): $LR(+)=Se/(1-Sp)$ для положительного результата, и $LR(-): LR(-)=(1-Se)/Sp$, для отрицательного.

Прогностическую модель риска активной ВГЧ 4,5,6-инфекции выполняли, используя метод бинарной логистической регрессии, по следующему математическому выражению:

$$P = \frac{1}{1 + e^{-z}} \quad (3)$$

$$z = a_0 + a_1x_1 + a_2x_2 + \dots + a_nx_n \quad (4)$$

В данной формуле p – вероятность исхода, $x_1...x_n$ – значения факторов риска, $a_1...a_n$ – регрессионные коэффициенты. Статистическую значимость модели определяли при помощи критерия χ^2 . При помощи метода анализа ROC-кривых определяли оптимальное «разделяющее» значение количественного признака, по которому классифицировали пациентов. Качество модели, полученной таким методом, оценивали исходя из значений площади под ROC-кривой.

Для изучения взаимосвязи между количественными показателями (переменными), а также сокращения числа переменных, необходимых для описания данных использовали факторный анализ. Для отбора ведущих факторов использовали метод главных компонент, определяли вклад каждого фактора в суммарную дисперсию в виде %. Определяли факторную нагрузку для каждой из исследуемых переменных (учитывались величины изменений показателей), позволяющую оценить корреляцию с отобранными факторами и представляли в виде матрицы. Степень применимости факторного анализа к выборке оценивали при помощи КМО (мера выборочной адекватности Кайзера-Мейера-Олкина), где значения оценивались следующим образом: более 0,9 — безусловная адекватность; более 0,8 — отличная адекватность; более 0,7 — достаточная адекватность; более 0,6 — удовлетворительная адекватность; более 0,5 — неудовлетворительная адекватность; менее 0,5 — факторный анализ неприменим к выборке. Полученные в результате факторного анализа новые переменные использовали для дальнейшего статистического анализа с помощью регрессионного анализа.

При проведении метаанализа в качестве инструмента оценки методологического качества нерандомизированных исследований применяли шкалу-опросник Ньюкасл-Оттава (Newcastle-Ottawa Scale; NOS) [318]. Эта шкала может быть использована для оценки методологического качества двух типов нерандомизированных исследований - «случай-контроль» и когортных. Шкала состоит из 8 пунктов, состоящих из 3 категорий: при отборе пациентов, сопоставление групп, анализирование исходов (в случае когортных исследований) или анализ экспозиции (исследования типа «случай-контроль»). Максимальное возможное количество суммы баллов измеренное по этой шкале равно 9. В своей работе мы придерживались оценки этой шкалы в модификации О.Ю. Ребровой [47], когда результаты оценки рисков систематических смещений могут быть интерпретированы как показано ниже:

- исследования с 5 и менее баллами, определяют как имеющие высокий риск

систематической ошибки;

- исследования с 6 -7 баллами определяют как средний риск систематической ошибки;

- исследования с 8- 9 баллами определяют как имеющие низкий риск систематической ошибки.

Статистическую гетерогенность исследований количественно оценивали с помощью статистики Q Кокрановского сотрудничества и статистики I^2 , при величине которой свыше 75,0% гетерогенность результатов исследований считалась высокой. Результаты исследований были представлены в виде долей для дихотомических данных и в виде средних арифметических с указанием стандартного отклонения для непрерывных данных. Однако в некоторых исследованиях результаты были представлены в виде медиан с указанием минимальных/максимальных значений и интерквартильного размаха. Для преодоления этого несоответствия использовали преобразование по методу Wan's [315]. вычисляя среднее значение и стандартное отклонение. Для обобщения результатов исследований, и для анализа эффекта в двух подгруппах использовалась модель случайных эффектов (метод Der Simonian & Laird). Выраженность эффекта оценивали с помощью отношения шансов (OR) и средней разницы (Mean Difference) с указанием 95% ДИ. Результаты отдельных исследований и суммарные данные представляли с помощью «лесовидного» графика. Использовалось программное обеспечение Review Manager 5.4.

ГЛАВА 3. ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ВЫЗВАННЫХ ВГЧ 4,5,6А/В У ДЕТЕЙ В ПЕРМСКОМ КРАЕ, СТРУКТУРА И МЕТААНАЛИЗ ЛАБОРАТОРНЫХ МАРКЕРОВ ИНФЕКЦИИ

3.1. Частота выявления заболеваний, вызванных ВГЧ 4,5,6 А/В у детей в Пермском крае

На первом этапе исследование имело характер ретроспективного, описательного. Учитывались сведения о заболеваемости ВГЧ4,5,6 инфекциями с 2015 по 2020 гг. в стационарах и поликлиниках г. Перми и Пермского Края. Частоту выявления ВГЧ 4,5,6А/В-ассоциированных заболеваний, изучали на основе данных, занесенных в Единую Информационную Систему Здравоохранения Пермского Края (ЕИСЗ ПК). Согласно статистических отчетов за 2015-20 гг, заболевания вызванные ВГЧ 4,5,6 регистрировались в стационарах г. Перми у 1171 ребенка, в амбулаторных условиях – у 14892 детей (всего 16063). Заболеваемость учитывали по двум возрастным группам: от 1 мес до 4 лет, и от 4 до 7 лет. Учитывали следующие нозологии согласно МКБ-10: В27.1 – ЦМВ-мононуклеоз, В25.9 – ЦМВ болезнь неуточненная, В27 мононуклеоз вызванный гамма-герпесвирусом, В27.8 - инфекционный мононуклеоз неуточненный, В25.8 - другие цитомегаловирусные болезни, К11.2 – сиалоаденит, К77.0 - ЦМВ-гепатит, В08.2 – внезапная экзантема. Доли учитываемых нозологий среди госпитализированных больных распределились следующим образом: инфекционный мононуклеоз неуточненный В 27.8(9) – 40,0% (476/1171), ВЭБ-мононуклеоз В 27 – 33,2% (387/1171), ЦМВ-мононуклеоз, В 27.1 – 18,2% (214/1171), на долю других ЦМВ-болезней, сиалоаденита и ЦМВ-гепатита пришлось 8,% (94/1171), $p=0,001$. По коду В08.2 – внезапная экзантема, заболевания регистрировались в 1,7% случаев, таблицы 4, 5.

Таблица 4

Сведения о регистрации герпесвирусных заболеваний, у детей от 1 мес до 7 лет г. Перми и Пермского края (2015-2020гг)

Нозологические формы	Пациенты				Значение р
	госпитализированные		амбулаторные		
	число	доля (%), 95%ДИ	число	доля (%), 95% ДИ	
ВЭБ-мононуклеоз	387	33,2 [30,0- 35,0]	2124	14,4 [13,6- 15,3]	0,01
ЦМВ-мононуклеоз	214	18,2 [16,0 – 21,0]	313	2,1 [1,8- 2,5]	0,01
мононуклеоз неуточненный	476	40,6 [38,0- 43,0]	0	0	0,50
ЦМВ болезнь неуточненная	0	0	5267	35,5 [34,3- 36,7]	
другие ЦМВБ	67	5,73 [4,5- 7,0]	6785	46,4 [45,1- 47,6]	0,01
сиалоаденит	12	1,02 [0,6- 1,7]	150	1,01 [0,8- 1,3]	0,99
ЦМВ-гепатит	15	1,28 [0,7- 2,1]	3	0,02 [0,01- 0,04]	0,99
внезапная экзантема	0	0	250	1,7 [1,01- 2,03]	-
итого	1171		14892		

р¹- критерий Хи-квадрат, при сравнении групп, амбулаторных и госпитализированных пациентов

Таблица 5.

Структура заболеваний среди госпитализированных детей дошкольного возраста в г. Перми (по результатам 2015-2020гг)

Нозологии	Возрастная группа				Значение р ¹
	1 мес -4 лет		4-7 лет		
	абс	%	абс	%	
ВЭБ-мононуклеоз В27	215	37,5	172	28,8	0,02
ЦМВ-мононуклеоз, В27.1	120	20,9	94	16,4	0,02
Инфекционный мононуклеоз неуточненный В27.8(9)	180	31,3	296	49,0	0,01
Другие цитомегаловирусные болезни В25.8	42	7,3	25	4,1	0,03
Сиалоаденит, К11.2	5	0,9	7	1,2	0,8
ЦМВ-гепатит К77.0	12	2,1	3	0,5	0,03
Всего	574	100	597	100	

р¹- уровень значимости критерия Хи-квадрат, при сравнении групп, различающихся по возрасту: 1-3г и 4-6 лет.

При сравнении данных, установлена значительная разница в регистрации нозологии В25.8 (другие цитомегаловирусные болезни) на долю которой в стационаре приходится 4-7%, а в поликлинике – 46,4% что составляет практически половину всей амбулаторной заболеваемости ВГЧ 4,5,6 А/В, рисунок 3.

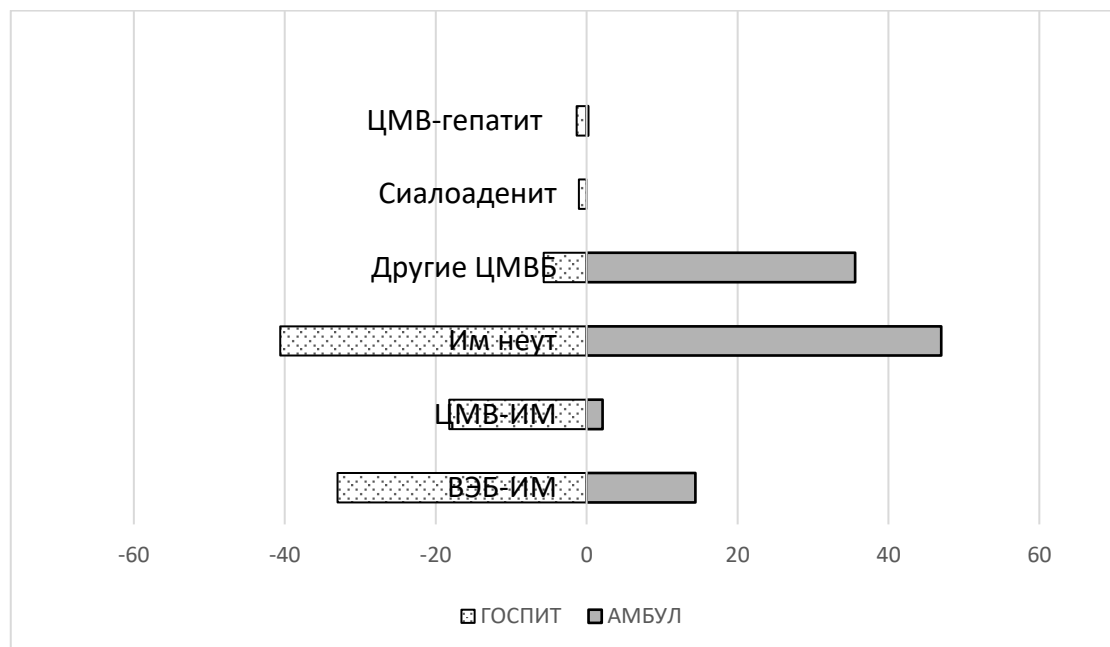


Рисунок 3. Структура заболеваемости ВГЧ 4,5,6А/В у амбулаторных и госпитализированных пациентов.

Кроме того, в нашем исследовании мы отметили, что имеется значительная разница результатов в зависимости от ЛПУ, подавшего отчет, так, доля случаев неуточненного мононуклеоза в разных стационарах варьирует от 12% до 70%, в то время как соотношение ЭБВ ИМ/ЦМВ ИМ всегда примерно одинаковое и составляет 2:1. В структуре заболеваний госпитализированных пациентов имеются статистически значимые возрастные различия (по амбулаторным таковые сведения отсутствовали): в группе детей 1-3 лет доля ЦМВ и ЭБВ-мононуклеоза составляет 58%, что достоверно выше, чем в старшей группе, а мононуклеоз неуточненной этиологии достоверно преобладает среди детей 4-6 лет составляя 49% всех заболеваний.

Известно, что в МКБ-10 для тяжелых висцеральных форм ЦМВ-инфекции имеются отдельные учетные единицы (В25.0+ цитомегаловирусный пневмонит (J17.1), В25.1+ цитомегаловирусный гепатит (K77.0), В25.2+ цитомегаловирусный панкреатит (K87.1), В25.0+ цитомегаловирусная пневмония (J17.1). По данным нозологиям в амбулаторных условиях заболевания не должны регистрироваться, так как это, в основном стационарные больные в тяжелом состоянии. Таким образом, неизвестно, какие заболевания имелись в виду при регистрации их в огромном количестве по нозологии В25.8 (другие цитомегаловирусные болезни) в амбулаторных условиях. Для уточнения этого факта, нами был проведен выборочный анализ амбулаторных карт пациентов, который показал, что код В25.8 почти всегда присваивается необоснованно, как педиатрами, так и инфекционистами детских поликлиник.

Клинический пример 1. Ребенок 1 год 1 мес, рос и развивался соответственно возрасту, на грудном вскармливании, в течение первого года жизни практически не болел, прививался, жалоб мама не предъявляла. По поводу УЗИ-признаков хориоидальных кист головного мозга проведено серологическое обследование – обнаружены антитела Ig G к ЦМВ 237 Ед/мл. Определен диагноз: ЦМВИ, висцеральная форма, с поражением ЦНС (В25.8) назначено лечение и медотвод от вакцинации в течение года. Данный пример демонстрирует самую распространенную ошибку – постановку диагноза по результатам серологического исследования. Таким образом, нозологическая единица В25.8 неверно интерпретируется, что создает ложную картину заболеваемости.

При анализе зарегистрированных заболеваний как амбулаторных, так и стационарных больных, обращает на себя внимание высокий удельный вес такой нозологии как инфекционный мононуклеоз неуточненный (другой) В27.8(9), доля которого у амбулаторных пациентов составляет 35,5%, у госпитализированных – 40,6%. Проведенный нами выборочный анализ 40 историй болезни как амбулаторных, так и госпитализированных пациентов показал, что у 6 пациентов диагноз «ИМ другой этиологии» был поставлен ошибочно, только на основании

обнаружения антител IgG к ВГЧ-6, у 18 пациентов были обнаружены только антитела IgG к ЦМВ/ВЭБ, а возбудители токсоплазмоза (другой ИМ) ни в одном случае обнаружены не были. Шестнадцать госпитализированных пациентов, провели в стационаре менее 1 койко-дня и поэтому не были обследованы, у них был зарегистрирован диагноз «неуточненный ИМ». Таким образом, статистические данные по нозологии B27.8(9) инфекционный мононуклеоз неуточненный (другой), не являются полными и достоверными.

Сравнительный анализ показал, что данные по инфекционному мононуклеозу среди госпитализированных и амбулаторных пациентов практически совпадают. А вот неуточненного мононуклеоза гораздо больше среди амбулаторных больных, а также нозология B25.8 (Другие цитомегаловирусные болезни) встречается практически только у амбулаторных пациентов, что обусловлено гипердиагностикой. Проведенный выборочный анализ критериев постановки диагноза острой формы ВГЧ-4,5 инфекции в виде инфекционного мононуклеоза показал значительные различия. Так, в стационарных условиях, в качестве критериев диагноза использовалось сочетание типичной клинической картины и результатов серодиагностики (для ЭБВ-этиологии - наличие антител к вирусному капсидному антигену (VCA) класса IgM и IgG, для ЦМВ-этиологии – наличие специфических антител класса IgM и IgG). Из данных литературы известно, что анти-ЦМВ IgM могут обнаруживаться вследствие ложноположительной перекрестной реактивности антител. В подобных случаях, необходимо провести исследование анти-ЦМВ IgG в динамике и ПЦР-исследование плазмы крови с целью обнаружения ДНК ЦМВ. Довольно часто диагноз острой ЦМВ-инфекции при наличии клинической картины мононуклеозоподобного заболевания ставился на основании обнаружения IgM и IgG к ЦМВ, что без оценки avidности IgG, не позволяет однозначно утверждать об острой стадии заболевания. В амбулаторных условиях, педиатрами, зачастую диагноз инфекционного мононуклеоза ставится только по результатам осмотра и серодиагностики, без исследования на avidность, ПЦР-исследование проводится редко. Что касается инфекции, вызванной вирусом

герпеса 6А/В типа, то известно, что максимум клинических проявлений первичного инфицирования ВГЧ6А/В в виде внезапной экзантемы, характерен для детей первого года жизни, но без лабораторного подтверждения таким больным чаще всего ставится диагноз ОРВИ, а экзантема расценивается клиницистами как проявление аллергической реакции [62]. В отчетах по госпитализированным пациентам до 7 лет в г. Перми нет ни одного упоминания об острой ВГЧ-6 инфекции, в сведениях о заболеваемости амбулаторных пациентов случаи регистрации заболевания В08.2 – внезапная экзантема отмечены 1,7% случаев.

3.2. Анализ частоты встречаемости лабораторных маркеров активной ВГЧ4,5,6-инфекции у детей до 7 лет

Анализ инфицирования, а также возрастных и клинико-лабораторных особенностей активной и неактивной ВГЧ 4,5,6 инфекции проводили в основной группе из 1126 больных детей (госпитализированные - 544 человека и амбулаторные - 582 человека) и контрольной - 155 здоровых детей, всего 1281 человек. Определяли прямые (ДНК) и косвенные маркеры (специфические антитела IgM и IgG к антигенам ЦМВ, ЭБВ, ВГЧ-6). Установлено, что маркеры (прямые/непрямые) ЦМВ были обнаружены у 31,5% (355/1126) детей, ВЭБ у 37,1% (418/1126), и ВГЧ6 – у 31,3% (353/1126). Результаты сравнивали с группой условно здоровых детей из 155 человек, среди которых маркеры (прямые/непрямые) ВГЧ 4,5,6 были определены у 62,6% (97/155), наиболее часто встречался ЦМВ -18,0% (28/155), ВГЧ6- 14,8% (23/155), ВЭБ – 9,6% (15/155). Возрастная структура инфицирования ВГЧ 4,5,6 представлена в таблица 6.

Таблица 6.

Структура ВГЧ 4,5,6-инфицирования пациентов основной группы

Фазы инфекционного процесса	Тип инфицирования	Возраст				Всего	
		от 1 мес до 3 лет 11мес 30 дней		от 4 лет до 6 лет 11 мес 30 дней			
		абс	%	абс	%	абс	%
активная инфекция ВГЧ 4,5,6	ЦМВ	201	15,8	54	4,2	255	19,9
	ЭБВ	165	12,6	153	12,0	318	24,8
	ВГЧ-6	156	12,3	51	3,9	207	16,2
	итого	522	40,7	258	20,1	780	60,8
неактивная инфекция ВГЧ 4,5,6	латентная инфекция	287	22,3	59	4,7	346	27,0
	условно здоровые	109	8,6	46	3,6	155	12,2
	итого	396	30,9	105	8,3	501	39,2
Всего		918	71,6	363	28,4	1281	100,0

В результате проведенного исследования установлено, что хотя бы один маркер (прямой/непрямой) герпесвирусных инфекций 4,5,6 типа встречался у 92% обследованных пациентов (1038/1126). Достоверно чаще маркеры ВГЧ 4,5,6 определялись в группе госпитализированных детей - 94,5% (ДИ 93;95), 536/565, по сравнению с амбулаторными пациентами 90,5% (ДИ 88;91), 362/400 и условно здоровыми 86,9%, (ДИ 85;89), 140/155, $p=0,01$. Среди всех маркеров герпесвирусных инфекций наиболее часто встречался ВГЧ-6А/В, он определялся у 77,6% - 88,6% детей во всех группах. На долю ЭБВ-инфицирования пришлось от 56,8% до 60,2%, на долю ЦМВ-инфицирования – от 46,3% до 53,7%. Анализ возрастных особенностей инфицирования ВГЧ 4,5,6А/В проводили в двух возрастных группах: в младшей возрастной группе (1 мес-4 года) маркеры ВГЧ 4,5,6А/В достоверно чаще определяли среди госпитализированных детей – 93,9% (у амбулаторных - 89,0%, условно здоровых – 79,0%, $\chi^2=13,3$), при этом у госпитализированных детей достоверно чаще отмечены маркеры ЭБВ – в 65,0% случаев, против 53,0% у амбулаторных, и 54,0% у здоровых, $\chi^2=7,3$. По частоте встречаемости маркеров ЦМВ достоверной разницы не установлено: у госпитализированных – 67,0%, амбулаторных – 76,0%, здоровых – 64,0%.

Маркеры ВГЧ 6А/В достоверно чаще определяли у амбулаторных детей младшей группы – 100,0%, у госпитализированных – 90,0%, здоровых – 79,0%, $\chi^2=22,8$.

В старшей возрастной группе (4-7 лет) маркеры ВГЧ 4,5,6А/В встречались одинаково часто: у госпитализированных – 96,0%, амбулаторных – 92,0%, здоровых – 94,0%. Маркеры ЭБВ у госпитализированных детей определялись реже, в 49,0%, против 62,0% у амбулаторных пациентов, $\chi^2=11,2$. По встречаемости маркеров ЦМВ достоверной разницы не выявлено: у госпитализированных – 27,0%, амбулаторных – 35,0%, здоровых – 31,0%. Маркеры ВГЧ 6А/В достоверно чаще встречались у госпитализированных детей старшей группы – 86,0%, у амбулаторных – 65,0%, здоровых – 70,0%, $\chi^2=34,0$. Обобщенные данные по частоте встречаемости ВГЧ 4,5,6А/В маркеров в различных возрастных группах представлены на диаграмме, рисунок 4.

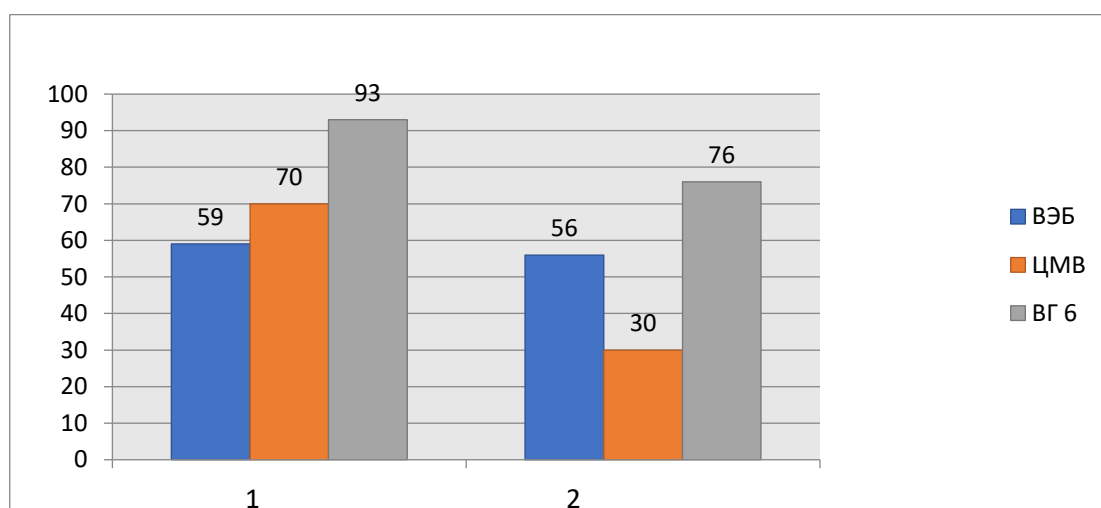


Рисунок 4. Частота встречаемости маркеров ВГЧ 4,5,6А/В в зависимости от возраста (%), 1- младшая группа, 2 – старшая.

При определении возрастных закономерностей распределения маркеров ВГЧ 4,5,6А/В, установлено, что среди детей как младшей, так и старшей групп, моно ЭБВ-инфицирование составляет 56,0%-59,0%, маркеры моно ЦМВ-инфицирования преобладают в младшей возрастной группе встречаясь в 2 раза чаще, чем в старшей (70,0% против 30,0%, $p=0,001$), маркеры моно ВГЧ6А/В также достоверно преобладают в младшей группе (93,0% против 76,0%, $p=0,002$).

Серологическое обследование изучаемой группы показало, что иммуноглобулины IgG к ВГЧ 4,5,6А/В обнаруживались в сыворотке крови у 75,0% (846/1126) всех обследованных детей: среди госпитализированных - 63,0% (355/565), среди амбулаторных - 96,0% (387/400), среди здоровых - 86,9% (140/161). При этом, анти- IgM определялись у 37,0% (416/1126) всех детей: в группе госпитализированных – 56,0% (317/565), в группе амбулаторных – 24,0% (99/400), среди здоровых - не определялись.

Прямой метод диагностики (количественная ПЦР) использовали для обнаружения ДНК ВГЧ 4,5,6А/В в различных биологических субстратах (моча, слюна, кровь). Наличие ДНК ВГЧ 4,5,6А/В в крови было условием включения в группы больных - 1126 человек. В слюне ДНК ВГЧ 4,5,6А/В была обнаружена у 88,0% (992/1126) всех обследуемых пациентов, из них при активной форме инфекции – 90,5% (706/780) и 82,6% (286/346) – при латентной форме. Выделение в слюне ДНК ВГЧ 4,5,6А/В имело следующие возрастные закономерности: при активной инфекции доля ЦМВ-положительных образцов снижалась с возрастом (от 46,7% до 20,2%), доля ЭБВ-положительных образцов с возрастом увеличивалась (с 17,2% до 53,5%), доля ВГЧ 6А/В-положительных образцов с возрастом уменьшалась (с 28,5% до 18,6%). В группе латентной инфекции закономерность была такой же, что очевидно является возрастной характеристикой, не связанной с активностью инфекционного процесса, а отражающей естественный процесс инфицирования. В моче методом ПЦР определялась только ДНК ЦМВ, причем доля положительных образцов снижалась с возрастом в 5-10 раз, как в группе активной (с 88,7% до 18,5%), так и неактивной инфекции (с 18,1% до 1,7%), что также очевидно, отображает возрастные закономерности инфицирования. В группе условно здоровых детей (n=155) ДНК ВГЧ 4,5,6А/В в крови определялась в незначительных количествах: ЦМВ - 8%, случаев ЭБВ - 3,8% случаев, ВГЧ-6АВ - 7,7% случаев. В слюне условно-здоровых детей ДНК ВГЧ 4,5,6А/В была обнаружена у 40,6% (63/155) детей, с тенденцией снижения с возрастом доли ПЦР-положительных образцов для ЦМВ и ВГЧ 6А/В, и

увеличением доли ПЦР-положительных образцов для ЭБВ. В моче здоровых детей определялась только ДНК ЦМВ в единичных случаях у детей до 4 -летнего возраста – 7,0% (11/155), что очевидно связано с особенностями персистенции вируса. Таким образом, по результатам обследования 1126 детей, установлена высокая частота встречаемости маркеров ВГЧ 4,5,6А/В, суммарная доля которых достоверно выше в группе госпитализированных детей (94,5%, ДИ (93%-95%), против 90,5% ДИ (88%-91%) в группе амбулаторных и 86,9% ДИ (85%-89%) среди условно здоровых, $p=0,006$. Среди всех маркеров герпесвирусных инфекций наиболее часто встречаемым является ВГЧ-6А/В. Возрастными особенностями можно считать преобладание ЦМВ и ВГЧ-6А/В маркеров у детей в возрасте до четырех лет, ЭБВ – в старшей возрастной группе.

3.3. Научное обоснование применения результатов ПЦР-анализа крови и слюны для диагностики активной ВГЧ 4,5,6-инфекции у детей

Для обоснования роли вирусной нагрузки при прогнозировании активной ВГЧ-4,5,6А/В инфекции в рамках данного исследования был проведен систематический обзор и метаанализ опубликованных данных и собственных результатов. Проведение метаанализа позволило объединить исследования, проведенные в схожих условиях различными учеными в разное время, в разных странах. Кроме того, метаанализ уменьшает вероятность ошибок, за счет увеличения объема выборки, что способствует повышению статистической мощности и, следовательно, достоверности полученных результатов. В доступной литературе нам не удалось обнаружить подобного метаанализа, что и определило задачу исследования. Таким образом, цель проведения метаанализа – оценить частоту выявления и значения вирусной нагрузки ДНК ВГЧ 4,5,6А/В методом ПЦР в реальном времени в различных биологических субстратах (крови и слюне), у

детей от 1 мес до 7 лет по результатам собственных исследований и данных литературы опубликованных с 2010 по 2020 гг.

3.4. Анализ в подгруппах. Диагностика цитомегаловирусной инфекции

Результаты диагностики цитомегаловирусной инфекции: обобщенная частота выявления ДНК ЦМВ в слюне больных детей составила 55,3% (95% ДИ 48,5-61,9), здоровых – 70,4% (95% ДИ 63,5-76,5), без статистически значимых различий ($p=0,75$), рисунок 5.

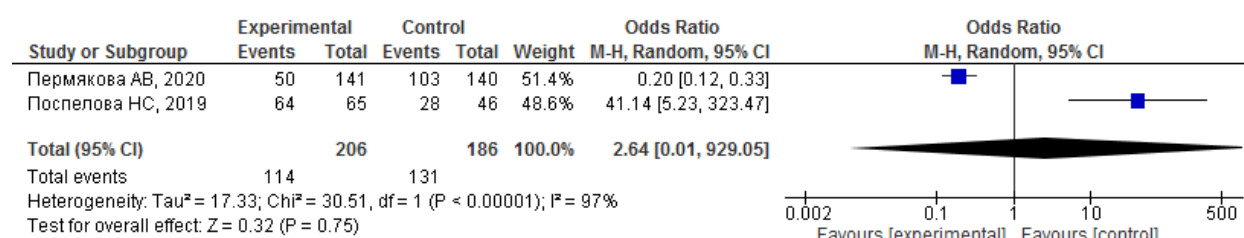


Рисунок 5. Оценка отношения шансов (OR) для частоты обнаружения ДНК ЦМВ в слюне

Обобщенная частота выявления ДНК ЦМВ в крови больных составила 42,0% (95% ДИ 37,2-47,8), и была статистически значимо больше ($p=0,006$), чем в крови здоровых пациентов - 3,1% (95% ДИ 1,8-5,4), рисунок 6.

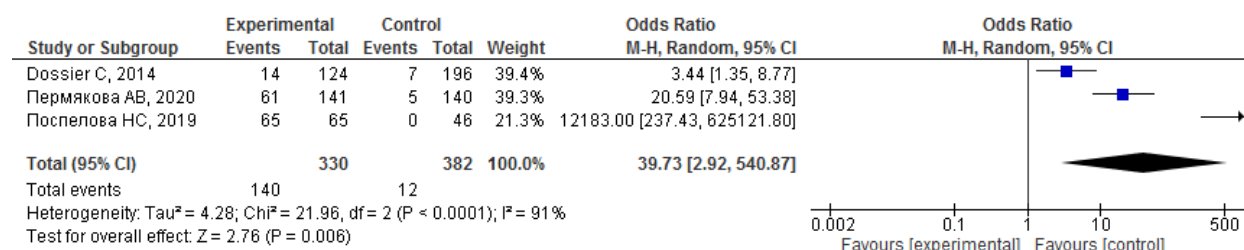


Рисунок 6. Оценка отношения шансов (OR) для частоты обнаружения ДНК ЦМВ в крови

Что касается значений вирусной нагрузки ДНК ЦМВ в слюне, в исследовании установлено, что у больных она в среднем на 2lg (95%ДИ 1,89-2,23) больше, $p=0,00001$, рисунок 7.

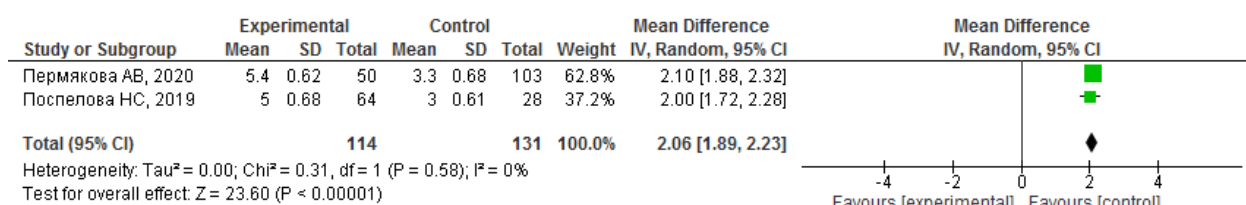


Рисунок 7. Оценка стандартизированной разницы средних (MD) для значений ВН ДНК ЦМВ в слюне

Вирусная нагрузка ДНК ЦМВ в крови у больных детей, больше в среднем на 1,4 lg (95% ДИ 1,05-1,75), $p=0,00001$, рисунок 8.

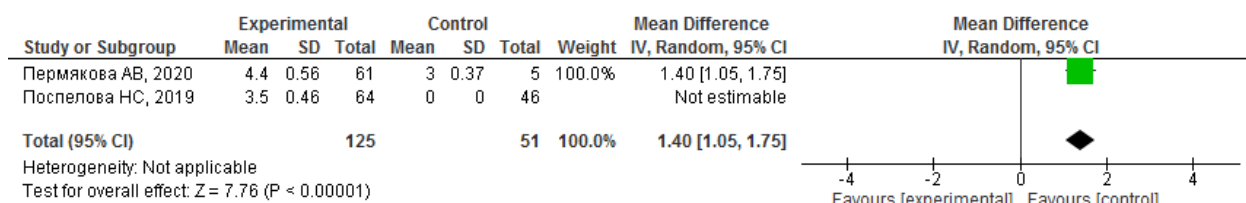


Рисунок 8. Оценка стандартизированной разницы средних (MD) для значений ВН ДНК ЦМВ в крови

3.5 Анализ в подгруппах. Диагностика ЭБВ-инфекции

Обобщенная частота выявления ДНК ЭБВ в слюне больных детей составила 30,0% (95% ДИ 25,9-34,7), в слюне здоровых – 37,0 % (95% ДИ 32,5- 42,2), без статистически значимых различий, $p=0,19$, рисунок 9.

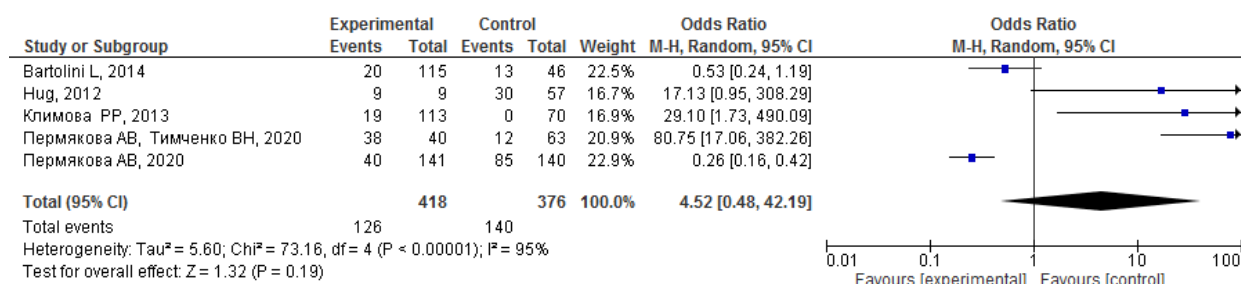


Рисунок 9. Оценка отношения шансов (OR) для частоты обнаружения ДНК ЭБВ в слюне.

Обобщенная частота выявления ДНК ЭБВ в крови больных детей составила 43,2% (95%ДИ 0,38-0,48), и была статистически достоверно больше, чем в группе здоровых – 20,5% (95% ДИ 16,6-25,1), $p=0,00001$, рисунок 10.

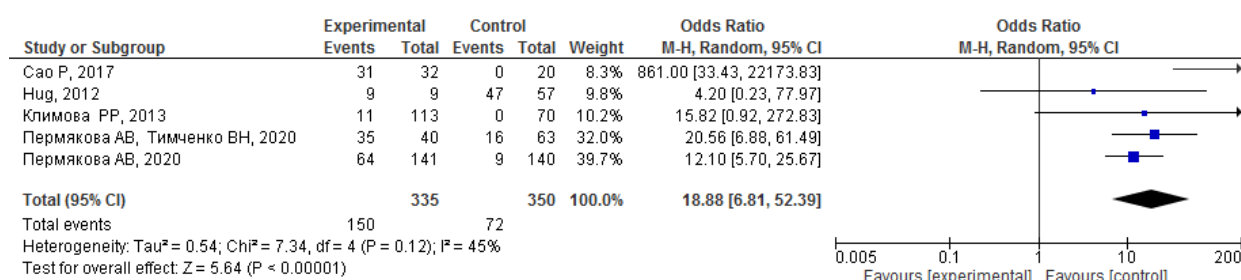


Рисунок 10. Оценка отношения шансов (OR) для частоты обнаружения ДНК ЭБВ в крови.

Вирусная нагрузка ДНК ЭБВ в слюне больных детей, в среднем на 1,12 lg (95% ДИ 0,55-1,7) больше, чем в группе здоровых, $p=0,0001$, рисунок 11.

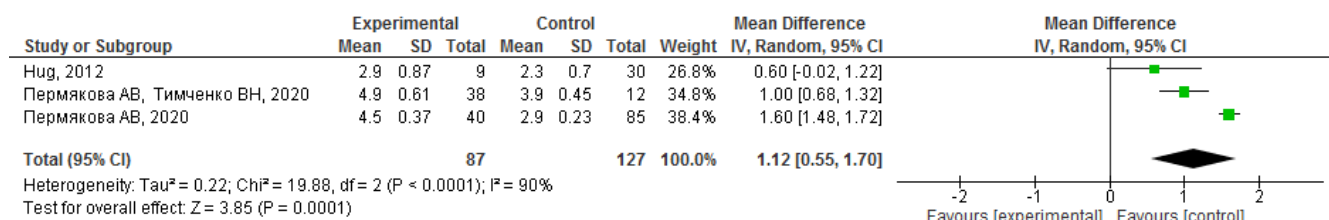


Рисунок 11. Оценка стандартизированной разницы средних (MD) для значений ВН ДНК ЦМВ в слюне.

Вирусная нагрузка ДНК ЭБВ в крови больных детей, в среднем на 1 lg (95% ДИ 0,97-1,03) больше, чем в группе здоровых, $p=0,00001$, рисунок 12.

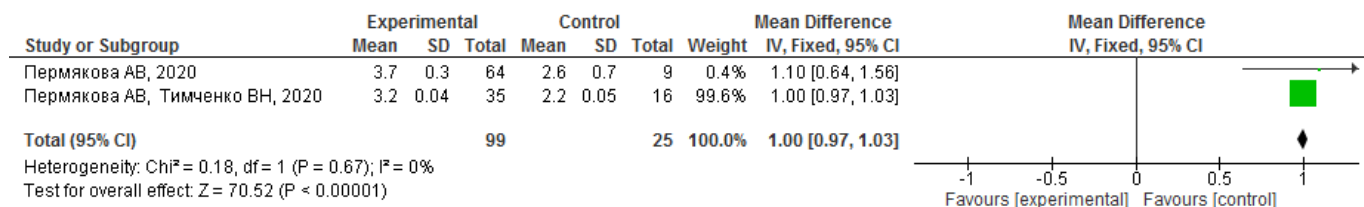


Рисунок 12. Оценка стандартизированной разницы средних (MD) для значений ВН ДНК ЦМВ в крови.

3.6. Анализ в подгруппах. ВГЧ6А/В-инфекция

Обобщенная частота выявления ДНК ВГЧ6А/В в слюне больных детей составила 20,5 % (95% ДИ 16,6-25,1), в слюне здоровых – 50,7% (95% ДИ 45,9-55,5), без статистически достоверной разницы, $p=0,72$, рисунок 13.

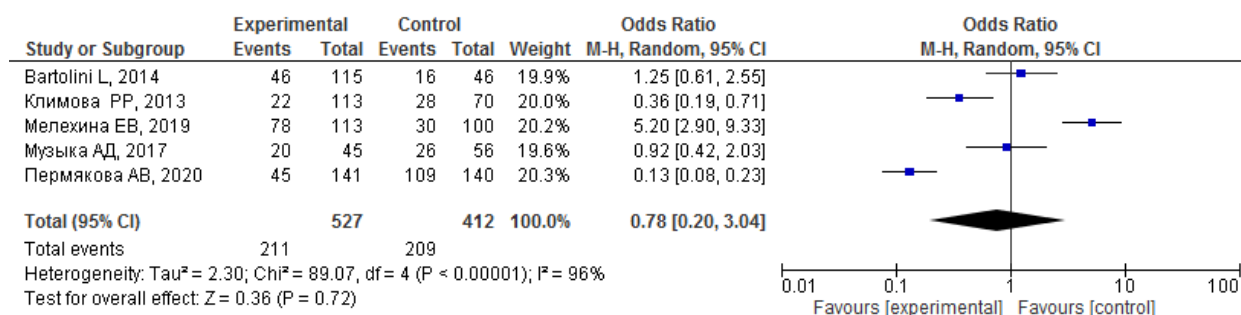


Рисунок 13. Оценка отношения шансов (OR) для частоты обнаружения ДНК ВГЧ6А/В в слюне.

Обобщенная частота выявления ДНК ВГЧ6А/В в крови больных детей составила 61,2% (95% ДИ 56,5-65,7), что достоверно больше, чем в группе здоровых – 45,3 (95% ДИ 40,9-49,7), $p=0,05$, рисунок 14.

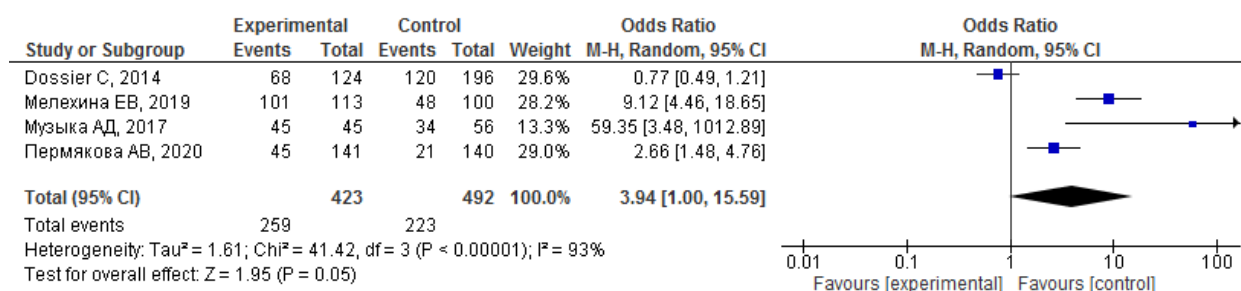


Рисунок 14. Оценка отношения шансов (OR) для частоты обнаружения ДНК ВГЧ6А/В в крови.

Вирусная нагрузка ВГЧ6А/В в слюне больных детей, была в среднем на 0,88 lg (95% ДИ 0,4-1,37) достоверно больше, чем в группе здоровых, $p=0,0004$, рисунок 15.

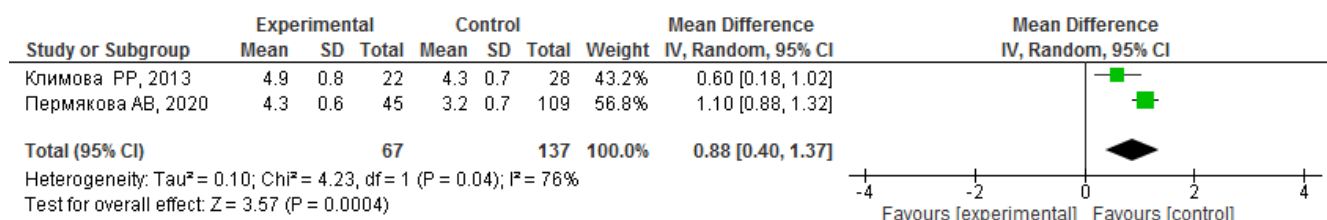


Рисунок 15. Оценка стандартизированной разницы средних (MD) для значений ВН ДНК ВГЧ6А/В в слюне.

Вирусная нагрузка ВГЧ6А/В в крови больных детей, определенная в одном исследовании была на 1,5lg (95% ДИ 1,28-1,72) достоверно больше, чем в группе здоровых, $p=0,00001$), рисунок 16.

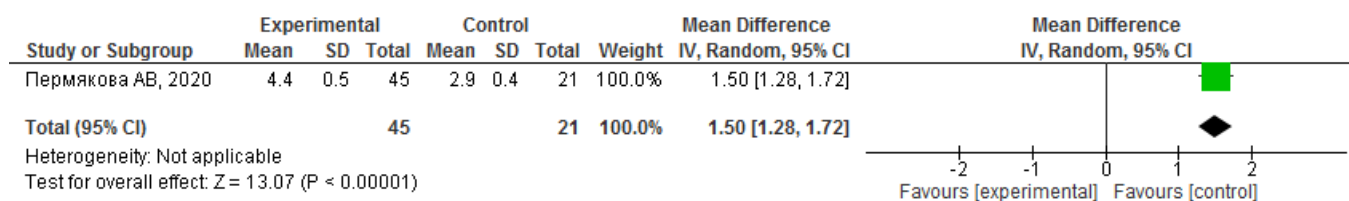


Рисунок 16. Оценка стандартизированной разницы средних (MD) для значений ВН ДНК ВГЧ6А/В в крови.

3.7. Обсуждение результатов метаанализа

Проведенный метаанализ 10 исследований показал, что частота выявления ДНК ВГЧ 4,5,6А/В в таком биологическом субстрате как слюна у больных и здоровых детей не имеет статистически достоверных различий, и, таким образом, факт обнаружения ДНК этих вирусов в слюне не может быть использован как диагностический (для ЦМВ $p=0,75$, для ЭБВ $p=0,19$, для ВГЧ6А/В $p=0,72$). Частота выявления ДНК ВГЧ 4,5,6А/В в цельной крови, согласно результатам метаанализа, всегда достоверно выше в группе больных (для ЦМВ $p=0,006$, для ЭБВ $p=0,00001$, для ВГЧ6А/В $p=0,05$). Что касается количественного измерения ДНК ВГЧ 4,5,6, то исследование показало, что во всех случаях как в слюне (для ЦМВ $p=0,00001$, для ЭБВ $p=0,0001$, для ВГЧ6А/В $p=0,0004$), так и в крови (для ЦМВ $p=0,00001$, для ЭБВ $p=0,00001$, для ВГЧ6А/В $p=0,00001$) вирусная нагрузка имеет достоверно бóльшие значения у больных детей, а следовательно может быть использована в диагностических целях.

3.8. Резюме по главе 3.

Основной формой острой инфекции, вызванной ВГЧ 4,5,6, является инфекционный мононуклеоз, выявляемый у большинства госпитализированных детей старше одного года: в группе детей от 1 мес до 3 лет доля ЦМВ и ЭБВ-мононуклеоза составляет 58%, что достоверно выше, чем в старшей группе, а мононуклеоз неуточненной этиологии достоверно преобладает среди детей 4-7 лет составляя 49% всех заболеваний. Существует значительная педиатрическая проблема, связанная с регистрацией заболеваний, вызванных ВГЧ 4,5,6А/В типа. Несомненно, что постановка диагноза должна быть комплексной, учитывающей как клинические, так и лабораторные данные, перечень и интерпретация которых должна быть четко определена. Проведенный анализ зарегистрированных заболеваний ВГЧ 4,5,6А/В у детей от 1 мес до 7 лет г. Перми, показал существующую некорректность в установлении этиологии заболевания, и как следствие – гипердиагностику цитомегаловирусной инфекции и гиподиагностику

инфекции, вызванной ВГЧ6А/В. В результате обследования 1126 детей, установлена высокая частота встречаемости маркеров ВГЧ 4,5,6А/В, суммарная доля которых достоверно выше в группе госпитализированных детей (94,5%, ДИ (93%-95%), против 90,5% ДИ (88%-91%) в группе амбулаторных и 86,9% ДИ (85%-89%) среди условно здоровых, $p=0,006$. Среди всех маркеров герпесвирусных инфекций наиболее часто встречаемым является ВГЧ-6А/В. Возрастными особенностями можно считать преобладание ЦМВ и ВГЧ-6А/В маркеров у детей в возрасте до четырех лет, ЭБВ – в старшей возрастной группе. Серопозитивны к ВГЧ 4,5,6А/В 75,0% всех обследованных детей: среди госпитализированных - 63,0%, среди амбулаторных - 96,0%, среди здоровых - 86,9%. Острофазные антитела IgM определялись у 37,0% всех детей: в группе госпитализированных – 56,0%, в группе амбулаторных – 24,0% , среди здоровых - не определялись. Частота выявления ДНК ВГЧ 4,5,6А/В в цельной крови и значения вирусной нагрузки всегда достоверно выше в группе больных. В слюне ДНК ВГЧ 4,5,6А/В обнаруживается у 88,0% всех обследуемых пациентов, без значительных различий в активной/неактивной фазе инфекционного процесса. Выделение ДНК ВГЧ4,5,6А/В в слюне имеет возрастные закономерности: при активной инфекции доля ЦМВ-положительных образцов снижается с возрастом (от 46,7% до 20,2%), доля ЭБВ-положительных образцов с возрастом увеличивается (с 17,2% до 53,5%), доля ВГЧ6А/В-положительных образцов с возрастом уменьшается (с 28,5% до 18,6%). При изучении выделения ДНК ВГЧ 4,5,6А/В в моче было установлено, что такое явление характерно только для ЦМВ, причем доля положительных образцов снижается с возрастом в 5-10 раз. В моче здоровых детей ДНК ЦМВ определяется в единичных случаях до 4 -летнего возраста – 7,0%. Среди условно-здоровых детей в слюне ДНК ВГЧ 4,5,6А/В обнаруживается у 40,6% детей, в крови – от 3,8% до 8% случаев. Метаанализ показал, что активную фазу ВГЧ 4,5,6А/В инфекции у детей, (первичную, реактивированную), с высокой специфичностью маркирует количество вирусной ДНК в крови.

ГЛАВА 4. АКТИВНАЯ ФАЗА ИНФЕКЦИОННОГО ПРОЦЕССА ВГЧ 4,5,6 А/В ИНФЕКЦИИ: ПЕРВИЧНАЯ И РЕАКТИВИРОВАННАЯ ИНФЕКЦИЯ

4.1. Сравнительный анализ активной и неактивной ВГЧ 4,5,6А/В инфекции

Для решения задач исследования проводили описательный и сравнительный анализ в двух группах: основную группу составили 780 человек с активной ВГЧ 4,5,6А/В инфекцией, (как первичная, так и реактивация) и группа сравнения – 346 человек с неактивной ВГЧ 4,5,6А/В инфекцией (латентной, серопозитивность), из которых формировались подгруппы в соответствии с решаемыми задачами. В основной группе активная ВГЧ 4,5,6А/В инфекция протекала в виде мононуклеоза 60,5% (472/780) случаев, из них типичному мононуклеозу (ИМ) с развертыванием полной классической картины заболевания соответствовало 48% (227/472) случаев, в 52% (245/472) случаев мононуклеоз не имел полной «классической» клинической картины и был расценен как атипичный. Под атипичным мононуклеозом подразумевали его стертую форму, которая протекала как острое респираторное заболевание, при отсутствии типичной клинической картины ИМ. Еще в 32,7% (255/780) случаев активная ВГЧ 4,5,6А/В инфекция протекала в виде острой лихорадки без катаральных явлений, в 5,6% (40/780) случаев - в виде фебрильного судорожного приступа, и в виде внезапной экзантемы в 1,7% (13/780) случаев. В ходе исследования были установлены возрастные особенности клинической картины активной ВГЧ 4,5,6А/В инфекции. Так, типичный инфекционный мононуклеоз преобладал в старшей возрастной группе (47,7%, против с 3,2% у детей до 1 года). В младшей возрастной группе активная ВГЧ 4,5,6А/В инфекция протекала в основном в виде лихорадочного заболевания без катаральных симптомов (49,3% против 23,6% в старшей группе), фебрильного судорожного приступа (7,8% против 2,0%) и внезапной экзантемы (2,5%). При неактивной ВГЧ 4,5,6А/В инфекции (группа сравнения), острое респираторное заболевание, сопровождалась лихорадкой во всех случаях и поражением

различных отделов дыхательных путей и ЛОР-органов: тонзиллофарингит 20,8% (72/436), риносинусит 10,4% (36/346), ларинготрахеит 19,6% (68/346), бронхит 11,8% (41/346), пневмония 13,4% (46/346), и острый отит 24,0% (83/346). При проведении сравнительного анализа частоты встречаемости других симптомов у детей с активной/неактивной ВГЧ 4,5,6А/В инфекцией были показаны следующие характерные особенности: у пациентов с активной формой инфекции чаще отмечалась лихорадка более 5 дней (OR=6,7, ДИ 5,0-8,9), лимфаденопатия (OR=7,0, ДИ 5,1-9,6), гепатомегалия (OR=4,7, ДИ 3,2-7,0), спленомегалия (OR=5,8, ДИ 3,4-9,9), налеты на миндалинах (OR=2,8, ДИ 2,1-3,7), заложенность носа (OR=1,8, ДИ 1,4-2,4). Жалобы респираторного характера такие как кашель (OR=7,2, ДИ 5,4-9,7), ринорея (OR=9,8, ДИ 7,3-13,2) преобладали при неактивной форме ВГЧ 4,5,6 инфекции. При сравнении сопутствующей патологии было установлено, что у пациентов с активной ВГЧ 4,5,6А/В инфекцией, без достоверной разницы между видом инфицирования (ЦМВ, ЭБВ или ВГЧ-6А/В), чаще отмечались следующие состояния: рецидивирующие воспалительные заболевания нижних отделов респираторного тракта, такие как ларинготрахеит и трахеобронхит (OR=1,63, ДИ 1,2-2,2), патология сердечно-сосудистой системы (OR=1,8, ДИ 1,1-2,9) и аллергические заболевания (OR=1,7, ДИ 1,3-2,3). При сравнении показателей периферической крови в зависимости от возраста было установлено, что при активной ВГЧ 4,5,6А/В инфекции у детей всех возрастных групп чаще фиксировали такие изменения как умеренный лейкоцитоз (OR=2,5, ДИ 1,9-3,3), лейкопения (OR=2,2, ДИ 1,5-3,2), лимфоцитоз (OR=1,4, ДИ 1,1-1,8), тромбоцитоз (OR=1,67, ДИ 1,0-2,7). У детей первого года жизни при активной ВГЧ 4,5,6А/В чаще фиксировали лейкоцитоз (OR=1,8, ДИ 1,1-2,9), эозинофилию (OR=2,4, ДИ 1,1-5,6), моноцитоз (OR=2,6, ДИ 1,5-4,4), ускоренное СОЭ (OR=5,1, ДИ 2,8-9,2). Как особенность, отличающую детей старшей возрастной группы от младших, следует отметить высокую встречаемость атипичных мононуклеаров (OR=2,6, OR=8,2) при активной ВГЧ 4,5,6А/В и невысокую частоту встречаемости эозинофилии (OR=0,2, OR=1,0). Особенности клеточного и гуморального иммунитета изучали анализируя субпопуляции Т-лимфоцитов и

иммуноглобулины (А, М, G, E) у 780 детей основной группы: в группе с активной ВГЧ 4,5,6А/В инфекцией – 478 человек, и в группе неактивной ВГЧ 4,5,6А/В инфекции - 302 ребенка. При активной ВГЧ 4,5,6А/В инфекции, достоверно чаще встречались повышенные значения такого маркера Th2 типа иммунного ответа как иммуноглобулин Е (OR=6,1, ДИ 3,2-11,7). При изучении клеточного иммунитета установлено, что при активной ВГЧ 4,5,6А/В инфекции умеренный лимфоцитоз как за счет CD4, и CD8 клеток определялся чаще (OR=1,4, ДИ 1,1-1,8). Таким образом, активная ВГЧ 4,5,6А/В инфекция протекает в виде лихорадочного заболевания с лимфопролиферативным синдромом в большинстве случаев, поражением органов ретикуло-эндотелиальной системы, разнонаправленными изменениями количества лейкоцитов от лейкопении до лейкоцитоза, характеризуется преобладанием иммунного ответа Th2 типа.

4.2. Характеристика корреляционных взаимосвязей вирусной нагрузки активной ВГЧ 4,5,6А/В инфекции с основными клинико-лабораторными синдромами

В своем исследовании мы предположили, что вирусная нагрузка (ВН) в биологических субстратах при заболеваниях, вызванных ВГЧ 4,5,6А/В, имеет определенное клиническое значение, для подтверждения данной гипотезы был проведен корреляционный анализ значений ВН в крови и слюне с ведущими симптомами и некоторыми лабораторными параметрами. Было обращено внимание на силу корреляционных связей, которые в большинстве своем были слабыми или умеренными, что, однако, не уменьшает их значимости, поскольку при заболевании опосредуется аддитивный эффект, и клиническая картина заболевания всегда индивидуальна. Изучение корреляционных взаимосвязей проводили в группе пациентов с активной ВГЧ 4,5,6А/В инфекцией, (как первичная, так и реактивация, 780 человек). Установлена слабая прямая коррелятивная связь степени тяжести инфекционного мононуклеоза со значением вирусной нагрузки в крови пациента ($r=0,2$ $p=0,001$). Для ЭБВ-мононуклеоза

установлено наличие прямой коррелятивной связи значений вирусной нагрузки в крови и слюне увеличением лимфоузлов «пакетами» (для крови $r=0,4$, для слюны $r=0,28$), заложенностью носа (для крови $r=0,36$, для слюны $r=0,32$), налетами на миндалинах (для крови $r=0,29$, для слюны $r=0,26$), таблица 7.

Таблица 7

Матрица корреляции клинических признаков и вирусной нагрузки ВГЧ 4,5,6А/В

Клинический признак	Коэффициент корреляции (r), достоверность (p)	Вирусная нагрузка в крови			Вирусная нагрузка в слюне		
		ЭБВ	ЦМВ	ВГЧ6А/В	ЭБВ	ЦМВ	ВГЧ6А/В
степень тяжести заболевания	r	0,20*	0,01	-0,25	0,05	-0,07	-0,27
	p	0,001	0,852	0,001	0,401	0,222	0,001
инфекционный мононуклеоз	r	0,34*	0,03	-0,28	0,34*	-0,02	-0,30
	p	0,001	0,631	0,001	0,001	0,757	0,001
лихорадка без катаральных явлений	r	-0,13	-0,05	0,14*	-0,11	-0,05	0,15*
	p	0,038	0,437	0,028	0,069	0,461	0,016
бронхит	r	-0,16	-0,01	0,29*	-0,12	0,16*	0,25
	p	0,010	0,805	0,001	0,054	0,011	0,001
налеты на миндалинах	r	0,29*	0,05	-0,18	0,26*	0,04	-0,22
	p	0,001	0,373	0,004	0,001	0,538	0,001
заложенность и отек носа	r	0,36*	-0,09	-0,26	0,32	-0,20	-0,23
	p	0,001	0,139	0,001	0,001	0,001	0,001
лимфоузлы множеств более 1 см	r	-0,29	0,24*	0,09	-0,20	0,14*	0,05
	p	0,001	0,027	0,150	0,001	0,024	0,397
лимфоузлы «пакетами»	r	0,40*	-0,03	-0,22	0,28*	-0,13	-0,20
	p	0,001	0,679	0,001	0,001	0,041	0,001
гепатомегалия	r	0,06	0,07	-0,18	0,18*	-0,08	-0,20
	p	0,292	0,272	0,003	0,003	0,165	0,001
спленомегалия	r	0,19*	-0,04	-0,15	0,11	-0,10	-0,18
	p	0,002	0,943	0,011	0,076	0,095	0,002
*прямая корреляционная связь							

При проведении корреляционного анализа значений ВН с результатами гематологических и биохимических исследований установлено, для ЭБВ-мононуклеоза прямые коррелятивные связи средней силы определены с лимфоцитозом (для крови $r=0,32$, для слюны $r=0,26$), ускоренным СОЭ (для крови $r=0,34$, для слюны $r=0,34$), повышенными АЛТ и АСТ (для крови $r=0,26$, для слюны $r=0,25$), таблица 8.

Таблица 8

Матрица корреляции лабораторных характеристик и вирусной нагрузки ВГЧ 4,5,6А/В

Лабораторная характеристика	Коэффициент корреляции (r), достоверность (p)	Вирусная нагрузка в крови			Вирусная нагрузка в слюне		
		ЭБВ	ЦМВ	ВГЧ6А/В	ЭБВ	ЦМВ	ВГЧ6А/В
лимфоцитоз	r	0,32*	0,08	-0,17	0,26*	-0,05	-0,07
	p	0,001	0,177	0,006	0,001	0,428	0,220
нейтропения	r	-0,16	0,11	0,07	-0,28	0,19*	0,02
	p	0,011	0,070	0,275	0,001	0,001	0,841
атипичные мононуклеары	r	0,25*	-0,02	-0,17	0,21*	-0,10	-0,25
	p	0,001	0,745	0,004	0,001	0,088	0,001
СОЭ	r	0,34*	-0,04	-0,11	0,34*	-0,14	-0,07
	p	0,001	0,535	0,074	0,001	0,020	0,278
повышение АЛТ	r	0,26*	0,08	-0,07	0,04	-0,14	-0,09
	p	0,001	0,226	0,256	0,541	0,032	0,158
повышение АЛТ более чем в 4 раза	r	0,18*	0,12	-0,04	-0,05	-0,11	-0,04
	p	0,006	0,058	0,573	0,427	0,092	0,575
повышение АСТ	r	0,15*	-0,03	-0,06	0,13	-0,06	-0,07
	p	0,024	0,638	0,383	0,057	0,382	0,299
повышение АСТ более чем в 4 раза	r	0,25*	-0,08	-0,12	0,14*	-0,09	-0,18
	p	0,001	0,184	0,067	0,030	0,137	0,005

*прямая корреляционная связь

Корреляционные связи, характеризующие взаимоотношения иммунологических показателей (Т- и В- лимфоцитов) со значениями ВН в крови оценивали в подгруппе из 148 человек (первичная инфекция – 65 человек, реактивированная – 83), таблица 9.

Таблица 9

Матрица корреляции иммунологических показателей и вирусной нагрузки ВГЧ 4,5,6А/В

Лабораторная характеристика	Коэффициент корреляции (r), достоверность (p)	Вирусная нагрузка в крови			Вирусная нагрузка в слюне		
		ЭБВ	ЦМВ	ВГЧ6А/В	ЭБВ	ЦМВ	ВГЧ6А/В
CD3+, %	r	0,04	0,18*	0,02	-0,04	-0,06	0,07
	p	0,592	0,027	0,817	0,628	0,485	0,389
CD3+ кл *10 ⁹	r	0,10	0,05	0,07	0,25*	-0,01	0,06
	p	0,226	0,556	0,419	0,002	0,925	0,433
CD8+ кл *10 ⁹	r	0,20*	0,001	-0,12	0,07	-0,05	-0,10
	p	0,015	0,994	0,145	0,421	0,541	0,194
Повышение IgA	r	-0,04	-0,07	0,20*	0,17*	-0,06	0,02
	p	0,664	0,404	0,012	0,041	0,428	0,820
снижение IgA	r	0,21*	-0,03	-0,07	0,15	-0,06	-0,15
	p	0,009	0,706	0,373	0,073	0,494	0,072
снижение IgM	r	0,04	-0,03	-0,01	0,17*	-0,05	0,05
	p	0,650	0,672	0,862	0,039	0,542	0,520
повышение IgG	r	0,02	0,07	-0,07	0,23*	-0,07	-0,01
	p	0,767	0,378	0,374	0,004	0,382	0,873
*прямая корреляционная связь							

Установлены слабые корреляционные связи ВН в крови для реактивированной ЦМВ-инфекции, со значениями CD3+ (%), $r=0,18$, и повышенными значениями IgA, $r=0,20$. Значения вирусной нагрузки ВГЧ6А/В в крови имеют слабую корреляционную связь с повышенными значениями IgA, $r=0,20$. Таким образом, в результате корреляционного анализа было установлено, что между вирусной нагрузкой ВГЧ 4,5,6А/В как в крови, так и в слюне,

существуют прямые корреляционные связи: лимфаденопатия «пакетами» (для крови $r=0,4$, для слюны $r=0,28$), заложенность носа (для крови $r=0,36$, для слюны $r=0,32$), ускоренное СОЭ (для крови $r=0,34$, для слюны $r=0,34$), лимфоцитоз (для крови $r=0,32$, для слюны $r=0,26$), налеты на миндалинах (для крови $r=0,29$, для слюны $r=0,26$). Выявленные корреляционные связи во многом, подтверждают уже известные положения, полученные эмпирическим путем и свидетельствуют о том, что величина вирусной нагрузки играет важную роль в выраженности клинической картины острого ВГЧ 4,5,6А/В заболевания и должна быть включена в интегративную объективную оценку.

4.3. Клинические особенности реактивированной формы ВГЧ 4,5,6А/В инфекции у детей

Изучение клинических особенностей активной фазы инфекционного процесса проводили на примере реактивированных форм ВГЧ 4,5,6А/В инфекции. Реактивированная форма может протекать без типичной клинической картины, симптоматически, поэтому вызывает определенные диагностические трудности. Тактика ведения пациента в таких случаях, во многом определяется опытом и клинической интуицией лечащего врача. Поэтому, разработка вспомогательных диагностических критериев и алгоритмов, способных верифицировать заболевание при его нетипичном течении или манифестации под маской иного диагноза, представляется необходимой для практической работы.

В основной группе исследования (780 детей) реактивированная инфекция отмечена у 478 человек, первичная инфекция - у 302 детей. Клинико-лабораторные исследования проводились на первой неделе заболевания, в среднем, на 2-7 день болезни. Распределение больных по степени тяжести заболевания было следующим: легкая степень - 29,7%, средняя степень - 62,4%, тяжелая - 7,9%. Клиническая картина заболевания была представлена типичным инфекционным мононуклеозом (60,2%), и атипичным вариантом (30,4%), в 7,8% случаев заболевание протекало по типу лихорадки без катаральных явлений.

Реактивированная моно ЭБВ-инфекция протекала только по типу инфекционного мононуклеоза. Лимфопролиферативный синдром у половины пациентов был представлен увеличением (более 1 см) подчелюстных и заднешейных лимфоузлов в 54,3% случаев, увеличением лимфоузлов «пакетами» - 28,3%, генерализованной лимфаденопатией в 13,0% случаев. Симптом заложенности носа был выражен у 78,2% пациентов, гепато – спленомегалия – у 41,3% и 34,8% соответственно. Гипертрофия небных миндалин отмечалась в 80,0% случаев, налеты на них – 93,4%. Реактивированная моно ЦМВ-инфекция характеризовалась умеренной выраженностью лимфопролиферативного синдрома - увеличением лимфоузлов более 1 см в 76,3% случаев. Увеличение миндалин до 3 степени (63,0%) сопровождалось выраженным налетом на них в 50,0% случаев. Заболевание также сопровождалось заложенностью носа – 65,0% и гепатомегалией в 13,3% случаев. Сопутствующая патология характеризовалась высокой частотой встречаемости двустороннего отита - 39,5%. Клиническая картина реактивированной моно ВГЧ6А/В инфекции была более неспецифична и протекала в виде острого респираторного заболевания с мононуклеозоподобным синдромом, а также в виде лихорадки без катаральных явлений, и характеризовалась наименьшей выраженностью лимфопролиферативного синдрома: единичные лимфоузлы небольшого размера отмечены у 38,4% больных, генерализованной лимфаденопатии и увеличения лимфоузлов «пакетами» при этой форме отмечено не было. Форма заболевания в виде типичного мононуклеоза зарегистрирована у 30,0% больных. Также достоверно реже при моно ВГЧ6А/В инфекции (19,0%) отмечались налеты на гипертрофированных миндалинах (61,0%). Гепато- и спленомегалия отмечены не были. Сопутствующая патология характеризовалась высокой частотой встречаемости пневмоний – 38,4%. Таким образом, в нашем исследовании было установлено, что реактивированная форма ВГЧ 4,5,6А/В инфекции характеризуется острым началом и среднетяжелым течением. Основной клинической формой заболевания является инфекционный мононуклеоз, с неполной клинической картиной в половине случаев.

4.4. Сравнение реактивированной и первичной формы активной ВГЧ 4,5,6 инфекции у детей

В сравнительном анализе реактивированной и первичной форм ВГЧ 4,5,6А/В инфекции участвовало 780 детей, сравнения проводили в подгруппах (моно-инфицирование). Сравнительное исследование клинических особенностей выявило некоторые отличия реактивированных и первичных форм инфекции вызванной ВГЧ 4,5,6. Инфекционный мононуклеоз, как основной синдромокомплекс заболеваний, вызванных ВГЧ 4,5,6 при реактивации встречался достоверно реже, чем при первичной инфекции, 60% против 73,5%, ($p=0,03$). Моно ЭБВ-инфекция, как реактивированная так и первичная, протекала в виде инфекционного мононуклеоза. Реактивированная моно ЦМВ-инфекция была представлена инфекционным мононуклеозом в 47% случаев, а при первичном инфицировании - в 61% случаев ($p=0,25$). ВГЧ6-инфекция была более разнообразна в клинических проявлениях: в виде инфекционного мононуклеоза она встречалась только при реактивации (30%), в виде ОРВИ с мононуклеозоподобным синдромом в 38% при реактивации и в 18% при первичном инфицировании ($p=0,124$) и, только при первичном инфицировании - в виде внезапной экзантемы (45%) и фебрильного судорожного приступа (28%).

Сравнивая степени тяжести, можно отметить, что реактивированные формы ВГЧ 4,5,6А/В инфекции протекают значительно легче: легкие формы встречаются чаще (29,8% против 14,2% $p=0,001$ при первичном инфицировании), среднетяжелые – реже (62,4% против 87,4% против $p=0,001$ при первичном инфицировании), доля тяжелых форм примерно одинакова - 7,8% в основной группе и 8,4% в группе сравнения. Наиболее значимыми субъективными симптомами реактивированной формы ВГЧ 4,5,6А/В были - слабость, вялость, головные боли и нарушение носового дыхания. При первичной форме ВГЧ 4,5,6А/В инфекции несколько более выраженным, чем при реактивации был синдром, связанный с нарушением носового дыхания и болями в горле, но различия

не были достоверными. Первичная моно ЭБВ-инфекция в 86,2% (138/160), была представлена инфекционным мононуклеозом, на долю типичного заболевания пришлось 66,8% (107/160) случаев, атипичного - 19,3% (31/160), и в 13,9% (22/160) случаев заболевание протекало в виде лихорадки без катаральных явлений, таблица 10.

Таблица 10. Клинические признаки ЭБВ-инфекции

Клинические признаки первичной и реактивированной ЭБВ-инфекции

Клинические признаки	Формы ЭБВ-инфекции		Значение критерия χ^2	Уровень значимости р
	реактивированная	первичная		
	абс, %	абс, %		
фебрильная температура	16 (34,8)	18 (46,2)	1,1	0,28
увеличение миндалин 3 степени	37 (80,0)	32 (82,0)	0,03	0,8
наличие налетов на миндалинах	43 (93,4)	38 (97,4)	0,7	0,39
выраженный отек носа	36 (78,2)*	39 (100,0)*	9,6	0,002*
экзантема	17 (36,9)	15 (38,5)	0,18	0,66
гепатомегалия	19 (41,3)	21 (53,8)	1,3	0,25
спленомегалия	16 (34,8)	16 (41,0)	0,35	0,55
лимфаденопатия:				
лимфоузлы единичные более 1 см	2 (4,3)	0	1,7	0,18
лимфоузлы множеств. более см	25 (54,3)*	3 (7,7)*	20,8	0,001*
шейные и подчел. л/у «пакетами»	13 (28,3)*	33(84,6)*	26,9	0,001*
генерализованная лимфаденопатия	6 (13,0)	3 (7,7)	0,63	0,42
итого	158	160	-	-
* достоверные различия по критерию χ^2				

При реактивированной инфекции мононуклеоз также был основной формой заболевания 86% (136/158). Отдельно оценили течение первичной и реактивированной форм инфекции у детей до 1 года: первичная ЭБВ-инфекция в 88% случаев протекала в виде лихорадки без катарального компонента, иногда с лимфаденопатией, а доля типичного мононуклеоза составила 12% случаев, реактивированная ЭБВ -инфекция у детей до 1 года имела типичную клиническую картину инфекционного мононуклеоза в 26% случаев. В возрасте от 1 до 4 лет доля первичной и реактивированной форм были примерно равными. Манифестация ВЭБИ в виде типичного инфекционного мононуклеоза отмечалась в этой

возрастной группе в 70% (80/113) случаев: 37% при первичной инфекции и 33% - при реактивированной, в остальных случаях клиническая картина была представлена лихорадочным синдромом без катаральных явлений, чаще с лимфаденопатией. В возрастной группе от 4 до 7 лет на долю первичной инфекции пришлось 43%, реактивированной – 57%. Основной клинической формой был инфекционный мононуклеоз (61,4%), встречающийся чаще при первичном инфицировании, 32% (49/153), OR=2,7, ДИ 1,3-5,4). Первичная моно-ЦМВ инфекция протекала в виде мононуклеоза в 68% случаев (23,8%- типичный ИМ, 44,7- атипичный ИМ), и в виде лихорадки без катаральных явлений в 31,5% случаев. У детей от 1 мес до 1 года как первичная, так и реактивированная ЦМВ-инфекция всегда протекала в виде лихорадки без катарального компонента, иногда с лимфаденопатией. Инфекционный мононуклеоз, как основная клиническая форма, преобладал при первичной инфекции в возрастной группе от 1 до 4 лет (OR=3,6, ДИ 1,1-13,7), а старше 4 -х лет - при реактивации. Реактивированная моно ЦМВ-инфекция, как и первичная, характеризовалась выраженной лихорадкой, лимфопролиферативным синдромом. Но отмечены и различия, так гепатомегалия ($p=0,001$) при реактивации отмечалась в 4 раза реже, а спленомегалия не встречалась вовсе, таблица 11.

Таблица 11.

Клинические признаки первичной и реактивированной ЦМВ-инфекции

Клинические признаки	Формы ЦМВ-инфекции		Значение критерия χ^2	Уровень значимости p
	реактивированная	первичная		
	абс, %	абс, %		
фебрильная температура	15 (39,5)	7 (26,9)	1,0	0,3
увеличение миндалин 3 степени	24 (63,1)	11 (42,3)	2,7	0,1
наличие налетов на миндалинах	19 (50,0)	16 (61,5)	0,8	0,36
выраженный отек носа	9 (23,7)	10 (38,4)	1,6	0,2
экзантема	12 (31,6)	3 (11,5)	3,4	0,06
гепатомегалия	5 (13,3)*	15 (57,7)*	14,2	0,001*
спленомегалия	0	3 (11,5)*	4,6	0,03*
лимфаденопатия:				
лимфоузлы единичные менее 1 см	0	2 (7,7)	3,0	0,08
лимфоузлы единичные более 1 см	3 (7,9)	2 (7,7)	0,001	0,97

лимфоузлы множ менее 1 см	2 (5,3)	1 (3,8)	0,07	0,79
лимфоузлы множ более 1 см	29 (76,3)	18 (69,2)	0,39	0,53
шейные лимфоузлы «пакетами»	4 (10,5)	3 (11,5)	0,016	0,9
генерализованная лимфаденопатия	0	0	0	0
итого	160	67	-	-
* достоверные различия по критерию χ^2				

ВГЧ-6А/В инфекция регистрировалась у 235 детей, и была более разнообразна в клинических проявлениях: в виде мононуклеозоподобной формы она встречалась в 9,3% случаев, респираторная форма - 13,3%, лихорадочная форма – 6,6%, внезапная экзантема - 4,3%, и фебрильный судорожный приступ - 53%. У детей от 1 мес до 1 года первичная инфекция отмечалась в виде внезапной экзантемы во всех случаях. В возрасте от 1 года до 4 лет первичная инфекция отмечена в виде внезапной экзантемы в 37,5% (4/13) случаев, в виде респираторной формы – в 31% (3/13) случаев, в виде лихорадочно-судорожной формы - в 31% (3/13) случаев. У детей старшей возрастной группы первичная инфекция в 52% (12/23) случаев протекала в виде респираторной формы, в 35% (8/23) случаев - мононуклеозоподобная форма, и в 13% (3/23) - лихорадочно-судорожная форма. Реактивированную форму ВГЧ-6А/В инфекции переносили 77,3% детей, в возрастной группе от 1 мес до 1 года: респираторная форма в 58% (45/78), мононуклеозоподобная форма в 22% (17/78), лихорадочно-судорожная форма в 20% (16/78), лихорадочно-экзематозная в 6,4% (5/78). У детей 1-4 лет реактивированная инфекция была представлена респираторной формой (43%, 23/54), мононуклеозоподобной формой (9%, 5/54), лихорадочно-судорожной (15%, 8/54), внезапная экзантема 5% (4/78). В группе 4-7 лет: респираторная форма – 12,8% (4/28), мононуклеозоподобная форма – 28,2% (8/28), лихорадочно-судорожная форма – 5% (2/28), внезапная экзантема – 12,8% (4/28).

В целом, реактивированная моно ВГЧ6А/В инфекция имела неспецифическую клиническую картину: достоверно реже, чем при первичной форме отмечалась экзантема ($p=0,001$), гепатомегалия ($p=0,001$) и лимфопролиферативный синдром ($p=0,001$). Среди обследуемых детей активная ВГЧ-6А/В инфекция чаще протекала

в виде респираторной формы (45,8%, 108/235), как при реактивации, так и при первичном инфицировании, в виде внезапной экзантемы – чаще при первичном инфицировании (OR=6,3, ДИ 2,6-15,5), таблица 12.

Таблица 12.

Клинические признаки первичной и реактивированной ВГЧ6А/В инфекции

Клинические признаки	Формы ВГЧ-6 А/В инфекции		Значение критерия χ^2	Уровень значимости р
	реактивированная (n=160)	первичная (n=75)		
	абс, %	абс, %		
фебрильная температура	8 (30,7)	9 (40,9)	0,53	0,46
увеличение миндалин 3 степени	16 (61,5)	11 (50,0)	0,64	0,42
наличие налетов на миндалинах	5(19,2)	6 (27,2)	0,43	0,50
выраженный отек носа	5 (19,2)	6 (27,2)	0,43	0,50
экзантема	4 (14,8)*	10 (45,4)*	18,7	0,001*
гепатомегалия	0	6 (27,2)*	8,1	0,005*
спленомегалия	0	3 (13,6)	3,7	0,05
лимфаденопатия:				
лимфоузлы единичные менее 1 см	5 (19,2)	11 (50,0)*	5,0	0,02*
лимфоузлы единичные более 1 см	5(19,2)*	0	4,7	0,03*
лимфоузлы множеств менее 1 см	6 (23,0)	0	5,8	0,017
лимфоузлы множеств более 1 см	10 (38,4)	12 (54,5)	1,2	0,26
шейные лимфоузлы «пакетами»	0	0	0	0
генерализованная лимфаденопатия	0	0	0	0

* достоверные различия по критерию χ^2

Таким образом, реактивированная ВГЧ 4,5,6А/В инфекция реже имеет типичную клиническую картину (60% (85/141) против 73,1,5%, (p=0,03), ОШ=2,9, ДИ 1,7-4,8), легкие формы встречаются чаще (29,8%, против 14,2% p=0,001, ОШ=2,6, ДИ 1,5-4,7). Наиболее значимыми субъективными симптомами являются слабость, вялость, головные боли и нарушение носового дыхания.

4.5. Сравнительный анализ лабораторных показателей реактивированной и первичной формы активной ВГЧ 4,5,6А/В инфекции

В завершение изучения особенностей реактивированной и первичной форм ВГЧ 4,5,6А/В инфекции провели сравнительный анализ результатов

гематологического, биохимического и иммунологического исследования в основной группе (780 детей): первичная инфекция 302 ребенка, реактивированная – 478 человек. Лабораторная картина ЭБВ-инфекции, как реактивированной (158 детей), так и первичной (160 детей), характеризуется лимфо-моноцитозом, в случае первичной инфекции достоверно в 2 раза чаще встречается лейкоцитоз ($p \leq 0,05$). Ферментемия (АЛТ, АСТ) в сравниваемых группах определялась с одинаковой частотой, таблица 13.

Таблица 13.

Лабораторные характеристики ЭБВ-инфекции

Лабораторная характеристика	Формы ЭБВ-инфекции		Значение критерия χ^2	Уровень значимости p
	реактивированная (n=158)	первичная (n=160)		
	абс, %	абс, %		
анемия	17 (10,9)	16 (10,2)	0,008	0,92
лейкопения	17 (10,9)*	0	67,1	0,001*
лейкоцитоз	58 (36,9)*	139 (87,2)*	22,2	0,001*
тромбоцитопения	14 (8,7)	37 (23,0)	3,37	0,06
тромбоцитоз	3 (2,2)	4 (2,6)	0,014	0,906
нейтропения	27 (17,4)	8 (5,2)	2,6	0,10
лимфоцитоз	99 (63,0*)	135 (84,6)*	4,9	0,026*
эозинофилия	3 (2,2)	16 (10,2)	2,5	0,11
моноцитоз	47 (30,4)*	82 (51,3)*	3,8	0,05*
наличие атипичных мононуклеаров	93 (58,7*)	127 (79,5)*	5,9	0,01*
наличие ускоренного СОЭ	123 (77,7)*	143 (89,7)*	4,2	0,04*

* достоверные различия по критерию χ^2

Реактивированная (160 детей) и первичная (95 детей) формы ЦМВ-инфекции, имеют сходную гематологическую картину. Различия касаются общего количества лейкоцитов и мононуклеаров периферической крови, так при реактивации, более выражена лейкопения – 36,8%, а при первичной форме ЦМВ-инфекции -

лейкоцитоз (30% случаев), при реактивации атипичные мононуклеары встречаются в 3,5 раза реже при первичном инфицировании. таблица 14.

Таблица 14

Лабораторные характеристики ЦМВ-инфекции

Лабораторная характеристика	Формы ЦМВ-инфекции		Значение критерия χ^2	Уровень значимости р
	реактивированная инфекция (n=160)	первичная инфекция (n=95)		
	абс, %	абс, %		
анемия	29 (18,4)	15 (15,4)	0,1	0,75
лейкопения	59 (36,8)*	7 (7,7)*	6,9	0,009*
лейкоцитоз	50 (31,6)	29 (30,7)	0,005	0,94
тромбоцитопения	4 (2,6)	15 (15,4)	3,4	0,06
тромбоцитоз	0	7 (7,7)	3,0	0,08
нейтропения	67 (42,1)	44 (46,2)	0,10	0,74
лимфоцитоз	84 (52,6)	69 (73,0)	2,7	0,10
эозинофилия	13 (7,9)	7 (7,7)	0,001	0,97
моноцитоз	55 (34,2)	55 (57,7)	3,4	0,064
наличие атипичных мононуклеаров	21 (13,2)*	44,(46,1)*	8,6	0,004*
наличие ускоренного СОЭ	55 (34,2)	40 (2,3)	3,3	0,068

* достоверные различия по критерию χ^2

Для реактивированной (160 детей) формы моно ВГЧ6А/В инфекции достоверные отличия немногочисленны: менее выражена нейтропения (19,2% против 54,5%, $p=0,011$), атипичные мононуклеары не отмечены вовсе (0,0%, против 36,3%, $p=0,001$), таблица 15.

Таблица 15

Лабораторные характеристики ВГЧ 6А/В инфекции

Лабораторная характеристика	Формы ВГЧ 6 А/В инфекции		Значение критерия χ^2	Уровень значимости р
	реактивированная инфекция (n=160)	первичная Инфекция (n=47)		
	абс, %	абс, %		
анемия	18 (11,5)	6 (13,6)	0,048	0,82
лейкопения	25 (15,4)	6 (13,6)	0,03	0,86
лейкоцитоз	30 (19,2)	6 (13,6)	0,26	0,60
тромбоцитопения	37 (23,0)	4 (9,1)	1,6	0,19
тромбоцитоз	6 (3,8)	0	0,86	0,35
нейтропения	31 (19,2)*	25,6 (54,5)*	6,6	0,011*
лимфоцитоз	55 (34,6)	34 (72,7)	6,9	0,009
эозинофилия	12 (7,8)	2 (4,5)	0,20	0,65
моноцитоз	74 (46,2)	19 (40,9)	0,24	0,62
наличие атипичных мононуклеаров	0	17 (36,3)*	11,3	0,001*
наличие ускоренного СОЭ	61 (38,5)	13 (27,2)	0,67	0,41
* достоверные различия по критерию χ^2				

При сравнительном анализе лабораторных характеристик реактивированной и первичной ВГЧ 4,5,6 А/В инфекции установлено, что реактивированную форму отличает синдром лейкопении (ОШ=4,0), таблица 17.

Таблица 17

Сравнительный анализ частоты встречаемости лабораторных признаков при различных формах ВГЧ 4,5,6А/В-инфекции

Лабораторная характеристика	Формы ВГЧ4,5,6 А/В инфекции		Отношение шансов	95% ДИ
	Реактивированная инфекция (n=478)	Первичная инфекция (n=302)		
	абс, %	абс, %		
анемия	65 (13,6)	38 (12,6)	1,09	0,4-2,5
лейкопения	100 (20,9)	17 (5,7)	4	1,5-11,9
лейкоцитоз	147 (30,9)	156 (51,7)	0,4	0,2-0,7
тромбоцитопения	48 (10)	52 (17,2)	0,5	0,23-1,22
тромбоцитоз	9 (2)	10 (3,4)	0,5	0,08-3,1
нейтропения	125 (26,3)	90 (29,8)	0,8	0,45-1,5
лимфоцитоз	251 (52,7)	235 (78,1)	0,3	0,16-0,58
эозинофилия	26 (5,4)	24 (8)	0,65	0,21-2,0
моноцитоз	169 (35,4)	152 (50,5)	0,50	0,3-0,95
наличие атипичных мононуклеаров	138 (29)	177 (58,6)	0,29	0,16-0,52
наличие ускоренного СОЭ	178 (37,2)	180 (59,7)	0,4	0,22-0,71

При сравнительном анализе медианных значений иммунологических показателей, реактивированная форма инфекции характеризовалась достоверно более низкими значениями иммуноглобулина А, и количества CD⁺ лимфоцитов, таблица 18.

Таблица 18

Сравнительный анализ иммунологических показателей различных форм ВГЧ 4,5,6 инфекции

Показатели имунограммы	Формы ВГЧ 4,5,6 инфекции				P*
	реактивированная инфекция, n =478		первичная инфекция n =302		
	Me	[IQR]	Me	[IQR]	
	моно ЭБВ инфекция				
иммуноглобулин А	6	[2-160]	54	[32-434]	0,001
CD8+, %	25	[22-26]	29	[28-31]	0,001
	моно ЦМВ инфекция				
CD4+ , %	41	[38-43]	34,5	[33-38]	0,001
CD8+, %	25,5	[24-26]	29,5	[28-31]	0,001
CD16+ , %	11	[10-12]	28	[24-33]	0,001
	Моно ВГЧ 6А/В инфекция				
CD8+, %	24	[22-26]	29	[28-31]	0,001

*критерий Манна-Уитни

Таким образом, реактивированная форма ВГЧ 4,5,6 инфекции отличается от первичной менее выраженными изменениями лабораторных характеристик таких как лейкоцитоз, повышенное СОЭ, наличие атипичных мононуклеаров. Отличительной чертой реактивированной формы является синдром нейтропении (ОШ=4,0).

4.6. Сравнительный анализ результатов количественного ПЦР-исследования крови и слюны

Сравнительное исследование количества ДНК ВГЧ 4,5,6А/В в крови и слюне проводили в основной группе исследования: реактивированной (478 детей) и первичной инфекции (302 ребенка). По результатам ПЦР-исследования крови, различий в величине вирусной нагрузки между реактивированной и первичной инфекцией не было обнаружено, таблица 19.

Таблица 19

Сравнительный анализ вирусной нагрузки ДНК ВГЧ 4,5,6 в крови в зависимости от возраста

Возрастные группы	Тип инфекции	Медиана вирусной нагрузки при различных формах ВГЧ 4,5,6 инфекции, (lg), [IQR]		P*
		реактивированная инфекция n =478	первичная инфекция n =302	
от 1 мес до 3 лет 11 мес 30 дней n =422	ЭБВ	3,79 [3,4;3,9]	3,8 [3,79;4,07]	0,10
	ЦМВ	4,72 [4,0;4,8]	4,75 [3,96;4,8]	0,90
	ВГЧ 6	3,89 [3,7;4,2]	3,83 [3,7;3,96]	0,20
от 4 лет до 6 лет 11 мес 30 дней n =358	ЭБВ	3,79 [3,7;3,8]	3,83 [3,74;4,0]	0,19
	ЦМВ	4,8 [4,5;4,85]	4,7 [4,39;4,85]	0,74
	ВГЧ 6	3,8 [3,8;4,6]	3,96 [3,79;4,2]	0,66
*Критерий Манна -Уитни				

Сравнительный анализ количественных значений вирусной нагрузки в слюне показал существование достоверных отличий для ЭБВ-инфекции - более высокие значения ВН определялись при первичной форме инфекции не зависимо от возраста (5,0 lg коп ДНК/мл против 4,8 lg коп ДНК/мл, p=0,04 и 4,8 lg ДНК/мл против 4,5 lg коп ДНК/мл, p=0,008, таблица 20.

Таблица 20.

Сравнительный анализ вирусной нагрузки ДНК ВГЧ 4,5,6 в слюне в зависимости от возраста

Возрастные группы	Тип инфекции	Медиана вирусной нагрузки ДНК ВГЧ 4,5,6 (lg), [IQR]		P*
		реактивированная инфекция n =478	первичная инфекция n =302	
от 1 мес до 3 лет 11 мес 30 дней n =422	ЭБВ	4,8* [4,4;4,87]	5,0* [4,7;5,2]	0,046*
	ЦМВ	5,5 [4,9;5,84]	5,8 [5,1;6,6]	0,21
	ВГЧ 6	4,8 [4,3;4,9]	4,7 [4,2;4,8]	0,18
от 4 лет до 6 лет 11 мес 30 дней n =358	ЭБВ	4,5* [4,2; 4,8]	4,8* [4,6;5,02]	0,008*
	ЦМВ	4,93* [4,87;5,8]	5,8* [4,9;5,9]	0,019*
	ВГЧ 6	4,2 [4,1;4,3]	4,6 [4,1;4,9]	0,75
* Критерий Манна -Уитни				

Для цитомегаловирусной инфекции в младшей возрастной группе различия недостоверны ($p=0,21$), в старшей отмечаются значительно более высокие значения ВН при первичной форме инфекции: 5,8 lg коп ДНК/мл против 4,93 lg коп ДНК/мл, $p=0,019$. Для ВГЧ6-инфекции тенденция аналогична, в младшей группе различий нет ($p=0,18$), а в старшей более высокие значения соответствуют первичной инфекции, но различия недостоверны из-за небольшого числа (2) пациентов в старшей группе : 4,2 lg коп ДНК/мл и 4,6 lg коп ДНК/мл, $p=0,75$. Таким образом, можно сделать вывод о том, что количество ДНК ВГЧ 4,5,6А/В в крови при реактивированной и первичной инфекции не имеет различий и не зависит от возраста. В слюне при реактивированной форме инфекции значения вирусной нагрузки ДНК ВГЧ 4,5,6 достоверно ниже, чем при первичной инфекции.

4.7. Изучение влияния анамнестических факторов на вероятность реактивации ВГЧ 4,5,6А/В инфекции

Выявление анамнестических факторов, способствующих реактивации ВГЧ 4,5,6А/В инфекции, проводили в сравнении контрольной подгруппой здоровых серопозитивных ВГЧ 4,5,6 пациентов (155 человек). Эти дети были осмотрены врачом-педиатром, перед проведением плановой вакцинации, не имели жалоб и соответствовали критериям включения и исключения (глава 2). Сила влияния каждого фактора и ее статистическая значимость оценивались нами с использованием показателя отношение шансов (ОШ). В результате статистического анализа было установлено отсутствие различий в сравниваемых группах, таблица 21.

Таблица 21

Особенности анамнеза детей с реактивированной ВГЧ 4,5,6-инфекцией

Изучаемый фактор	Реактивированная инфекция N=478	Условно здоровые дети N=155	p	ОШ (95% ДИ)
	доля, %	доля, %		
Аntenатальный период				
первая беременность	48,9	51,3	0,73	0,9 (0,5-1,6)
первые роды	65,2	66,6	0,8	0,9 (0,5-1,7)
беременность с угрозой прерывания	17,7	16,6	0,8	1,0 (0,5-2,3)
Интранатальный период				
неосложненные роды	74,4	77,7	0,59	0,8 (0,4-1,6)
преждевременные роды	11,3	16,6	0,27	0,6 (0,3-1,4)
Неонатальный и ранний постнатальный период				
госпитализация в первые 3 мес жизни по поводу заболеваний	19,8	22,2	0,68	0,9 (0,4-1,7)
естественное вскармливание до 6 мес	68,0	72,2	0,53	0,8 (0,4-1,5)
естественное вскармливание более 6 мес	55,3	56,9	0,82	0,9 (0,5-1,6)

В позднем постнатальном периоде при изучении частоты заболеваний, вызываемых ВГЧ 4,5,6А/В, были получены статистически значимые различия только для инфекционного мононуклеоза ($p=0,008$), ОШ=3,4 (95% ДИ 1,3-8,4).

Между сопоставляемыми признаками отмечалась связь слабой силы ($V=0,18$). По частоте и структуре сопутствующей соматической патологии в сравниваемых группах не было различий: 68,0% (96/141) в основной группе и 66,6% (48/72) в группе сравнения, $p=0,8$, (ОШ=1,0; 95% ДИ 0,5-1,9), таблица 22 .

Таблица 22

Анамнез ВГЧ 4,5,6- заболеваемости

Указание в анамнезе на перенесенную ВГЧ 4,5,6 инфекцию	Реактивированная инфекция N=478	Условно здоровые дети N=155	p	ОШ (95% ДИ)
	доля, %	доля, %		
инфекционный мононуклеоз	23,4	8,3	0,008*	3,4 (1,3-8,4)
регионарный лимфаденит	2,8	1,4	0,5	2,0 (0,2-18,0)
острое респираторное заболевание с мононуклеозоподобным синдромом	20,5	32,0	0,07	0,5 (0,3-1,0)
фебрильный судорожный приступ	7,8	2,7	0,14	2,9 (0,6-13,7)
внезапная экзантема	9,2	20,8	0,02	0,4 (0,2-0,8)
нейроинфекция (менингит)	0,8	0	-	-
гепатит	0,8	0	-	-
сиалоаденит	2,8	0	-	-
итого	68,0	65,2	0,7	1,1 (0,6-2,0)
сопутствующая соматическая патология	68,0	66,6	0,80	1,0 (0,5-1,9)
нет указания на перенесенную острую первичную инфекцию ВГЧ 4,5,6	31,9	43,0	0,10	0,6 (0,3-1,1)
* различия статистически значимы, $p \leq 0,05$				

При изучении возрастных особенностей анамнеза первичного инфицирования ВГЧ 4,5,6А/В было установлено следующее: в младшей группе достоверно чаще имелись указания на перенесенную внезапную экзантему ($p=0,01$), и фебрильный судорожный приступ ($p=0,01$), у старших детей достоверно чаще встречалось упоминание о перенесенном мононуклеозе ($p=0,007$), таблица 23.

Таблица 23.

Анамнез ВГЧ 4,5,6- заболеваемости в зависимости от возраста

Указание в анамнезе на перенесенную ВГЧ 4,5,6 инфекцию	Возрастные группы		р	ОШ (95% ДИ)
	от 1 мес до 3 лет 11 мес	от 4 лет до 6 лет 11мес		
	доля, %	доля, %		
инфекционный мононуклеоз	16,3	36,7	0,007*	3,4 (1,3-8,4)
регионарный лимфаденит	3,3	2,0	0,67	1,6 (0,16-15,9)
острое респираторное заболевание с мононуклеозоподобным синдромом	19,5	22,5	0,68	0,8 (0,4-1,9)
фебрильный судорожный приступ	11,9	0	0,01*	-
внезапная экзантема	14,0	0	0,01*	-
нейроинфекция (менингит)	0	2,0	0,17	-
гепатит	0	2,0	0,17	-
сиалоаденит	1,4	6,2	0,08	0,16 (0,01-1,6)
* различия статистически значимы, $p \leq 0,05$				

Учитывая, что инфекционный мононуклеоз является наиболее часто встречаемой клинической формой активной ВГЧ 4,5,6А/В инфекции был проведен подробный анализ его характеристик, упоминаемых в анамнезе. Так, в 39,7% случаев всех больных реактивированной формой мононуклеоза имелись анамнестические указания на перенесенный первичный мононуклеоз: у 32,6% - до 4 летнего возраста и у 48,6% больных – старше 4-х лет. При реактивированном мононуклеозе смешанной этиологии случаи первичного заболевания упоминалась в 46% случаев, при моно ЭБВ- мононуклеозе – в 56,5% случаев, ЦМВ-мононуклеоз не имел в анамнезе упоминаний о первичном заболевании. В остальных случаях при инфекционном мононуклеозе, первичное инфицирование отмечено в виде ОРИ с мононуклеозоподобным синдромом (27,7%) и в 32,5% случаев клиническая форма первичного инфицирования не была установлена. У детей с другими клиническими формами реактивированной ВГЧ 4,5,6А/В инфекции в анамнезе упоминаний о мононуклеозе не было. Так, в анамнезе больных с реактивированной формой моно ЦМВ-инфекции в 31,4 % случаев имелись указания на перенесенное ОРИ с мононуклеозоподобным синдромом, что можно рассматривать как возможное первичное инфицирование, а также

упоминался один случай сиалоаденита, других упоминаний о первичном инфицировании обнаружить не удалось, возможно, оно прошло бессимптомно. У больных моноформами ВГЧ6А/В в анамнезе у 27% имелись указания на перенесенную внезапную экзантему, и в 19,2% случаев – фебрильные судороги, в остальных случаях (53,8%) упоминаний о первичном инфицировании обнаружить не удалось. Таким образом, можно предположить, что у 40-50% больных мононуклеозом, имевших упоминание в анамнезе о перенесенном ЭБВ/ЦМВ-мононуклеозе, произошла реактивация инфекционного процесса. При изучении анамнеза обращали внимание на частоту респираторных заболеваний, выделяя группу с рекуррентными респираторными инфекциями (РРИ). Подверженность респираторным заболеваниям оценивали с помощью индекса резистентности (ИР), который определяли как отношение числа заболеваний (N) к числу месяцев наблюдения (m): $ИР = N/m \times 100\%$. Маркером рекуррентной респираторной заболеваемости считали значения $ИР \geq 50\%$. Частоту рекуррентных респираторных инфекций детей основной группы сравнивали со здоровыми: 49,6% в основной группе и 34,7% среди здоровых, ОШ 1,85, 95%, ДИ 1,0-3,3.

Таким образом, установлено, что факторами возможно влияющими на реактивацию ВГЧ 4,5,6А/В инфекции являются: инфекционный мононуклеоз в анамнезе, ОШ=3,4, (ДИ:1,3-8,4); частые респираторные инфекции ($ИР \geq 50\%$), ОШ=1,85, (ДИ:1,0-3,3). С целью количественной оценки влияния комплекса факторов на риск реактивации применили метод логистической регрессии и получили следующую модель :

$$y = 0,123 + 0,75 * X_{ИМ\ в\ ан} - 3,09 * X_{РРИ} \quad (5)$$

где $X_{ИМ\ в\ ан}$ – указание на перенесенный инфекционный мононуклеоз в анамнезе, $X_{РРИ}$ – рекуррентная респираторная заболеваемость, при $ИР \geq 50\%$, таблица 24.

Таблица 24

Сводные данные по регрессионной модели факторов риска реактивации ВГЧ 4,5,6

Атрибуты математической модели	(OR= e^b) Отношение шансов	95% ДИ OR	Значимость	Коэффициент логистической регрессии (b)
инфекционный мононуклеоз в анамнезе	2,1	0,7-6,3	0,17	0,75
рекуррентные респираторные инфекции	0,04	0,004-0,4	0,008	-3,09
константа				0,123

Полученная регрессионная модель является статистически значимой ($p=0,001$), однако, исходя из значения коэффициента Найджелкерка, модель учитывает всего лишь 9% факторов, определяющих вероятность реактивации, рисунок 17.

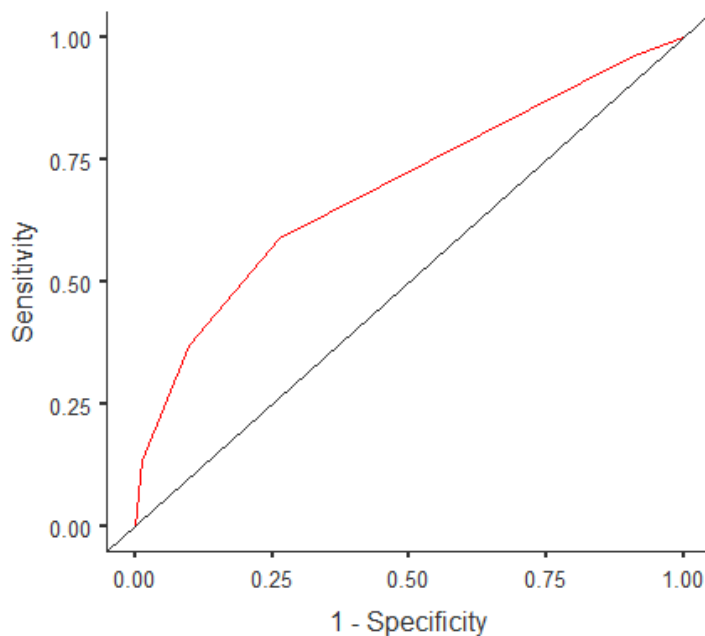


Рисунок 17. Рок-кривая для регрессионной модели.

Построенная при помощи полученной формулы модель имеет высокую чувствительность (95,7%), но крайне низкую специфичность (9,7%), с большой долей ложноположительных результатов, что может иметь применение только в качестве скрининга. Таким образом, скрининговыми анамнестическими факторами

реактивации ВГЧ 4,5,6А/В инфекции является инфекционный мононуклеоз и частые респираторные инфекции.

4.8. Клинические примеры реактивированных форм ВГЧ 4,5,6А/В инфекции.

ПРИМЕР 2. Мальчик М., 4 лет, наблюдался в детском инфекционном отделении по поводу повышенной температуры тела, увеличения лимфатических узлов, и боли в горле. Из анамнеза – болен в течение 6 дней, заболевание началось остро, с появления припухлости в области шеи, отека лица, заложенности носа и повышения температуры до 39°C, которая держалась в течение 5 дней. Эпиданамнез – контакт с инфекционным больным неизвестен. Аллергоанамнез – без особенностей. Анамнез жизни - ребенок от 2 беременности, 2 родов в 38 недель. Масса при рождении 3650 гр., рост-52 см. Выписан на 5 сутки. Простудными заболеваниями болеет не часто, на диспансерном учете не состоит. При первичном осмотре в стационаре – состояние средней степени тяжести, температура субфебрильная. Зев умеренно гиперемирован, беловатые налеты на миндалинах. Гипертрофия миндалин 2-3 ст. Кожа бледноватая, чистая. Лимфоузлы: значительно увеличены все группы шейных, в виде «пакетов», плотные, мало болезненные, подвижные. Гиперемии над л/у нет. Умеренно увеличены подмышечные и паховые лимфоузлы. Дыхание через нос затруднено, отделяемого из носовых ходов нет. При аускультации лёгких - дыхание жесткое, проводится во все отделы легких. Живот не вздут, мягкий, доступен глубокой пальпации. Печень + 3 см. Селезёнка + 2 см. Стула при поступлении не было. Клинический анализ крови: гемоглобин – 118 г/л, эритроциты – $4,68 \times 10^{12}/л$, лейкоциты – $24,2 \times 10^9/л$, палочкоядерные нейтрофилы - 0%, сегм нейтрофилы – 27,0%, моноциты – 5,0%, лимфоциты – 43,0%, атип мононуклеары - 25%, СОЭ – 32 мм/час. АЛТ – 21, АСТ – 40. Методом ИФА в крови: ИФА ВПГ Ig M – отр. Ig G - отр., ЦМВ Ig M – 1: 400, КП 2,4, Ig G >1:400, КП 18,2 (ИА 97,0%), ЭБВ Ig M – пол. Ig G - отр. Методом ПЦР в крови

обнаружена ДНК ЭБВ - 3,6 Ig коп/мл, ДНК ЦМВ – 4,12 Ig коп/мл, в слюне – ДНК ЭБВ не обнаружена, ДНК ЦМВ – 3,9 Ig коп/мл, ДНК ВГЧ 4,5,6А/В – не обн.

Данный клинический случай демонстрирует пример реактивированной смешанной ЦМВ-ЭБВ инфекции. На основании типичной клинической картины (острого начала заболевания, поражения небных миндалин, выраженного лимфопролиферативного синдрома), результатов лабораторных исследований (лейкоцитоза лимфоцитарного характера, ускоренного СОЭ, обнаружения атипичных мононуклеаров, выявления маркеров ВГЧ-4,5 инфекции с помощью прямых и косвенных методов диагностики) установлен диагноз: Инфекционный мононуклеоз (реактивация инфекции ВГЧ-4,5), среднетяжелое течение.

ПРИМЕР 3. Больная А., 6 лет. Заболевание началось остро, во время отдыха на море, появилась отечность лица, температура до 39°C, боли в горле, слабость. Обратились к педиатру, установлен диагноз – лакунарная ангина и назначено лечение – Сумамед, Супрастин, Биопарокс. После окончания курса лечения температура нормализовалась, боли в горле уменьшились, однако прогрессировал астенический синдром – слабость, вялость, плохой аппетит, тошнота. Через 3 недели от начала заболевания в связи с нарастающей слабостью и тошнотой обследована, в биохимическом анализе крови – гиперферментемия: АЛТ=1238, АСТ=164, ГГТ=70, ЩФ=43. По данным УЗИ органов брюшной полости: гепатоспленомегалия, реактивные изменения в печени. Госпитализирована в инфекционное отделение детской больницы. При поступлении состояние по заболеванию средней тяжести. При осмотре: кожные покровы бледные, под глазами «тени». Подчелюстные лимфоузлы и передне-шейные безболезненные до 2 см. ГНМ II степени, чистые. Дыхание везикулярное. Живот при пальпации болезненный в эпигастральной области, печень увеличена на 5 см. Клинический анализ крови: гемоглобин – 105 г/л, эритроциты – $3,6 \times 10^{12}$ /л, лейкоциты – $16,7 \times 10^9$ /л, тромбоциты – 425×10^9 /л, палочкоядерные нейтрофилы - 0%, сегментоядерные нейтрофилы – 44,0%, моноциты – 16,0%, эозинофилы – 5,0%, лимфоциты – 32,0%, СОЭ – 12 мм/час. Обследована на антитела к гепатитам и ВИЧ

– не обнаружены. Серологически: анти-ЭБВ IgM - положительно, анти-ЭБВ IgG - 166 ОЕд/мл, ИА – 28%. Методом ПЦР – обнаружена только ДНК ЭБВ в соскобе из ротоглотки (4,9 Ig копий/мл) и в крови – 4,1 Ig копий/мл.

Данный клинический случай демонстрирует реактивированную ЭБВ-инфекцию. На основании клинических и лабораторных данных установлен диагноз: Острый гепатит (реактивация ЭБВ-инфекции), среднетяжелое течение.

ПРИМЕР 4. Мальчик С., 1 год 6 мес, от третьей беременности, вторых родов в срок 36 недель, у 36-летней матери с отягощенным акушерско-гинекологическим анамнезом. Вес при рождении 2235г, рост 45 см, незрелый. На второй день жизни день госпитализирован в отделение патологии новорожденных по поводу синдрома двигательных дисфункций и церебральной ишемии. С стационаре находился в течение 3-х недель. В возрасте 2,5 мес при профилактическом обследовании на серологические маркеры ВУИ обнаружены антитела класса М к цитомегаловирусу, без интерпретации. В 3 месяца амбулаторно определена анемия (гемоглобин не более 95 г/л), и абсолютная нейтропения (960 клеток в мкл). Вакцинирован БЦЖ в возрасте 6 мес, с развитием осложнения в виде БЦЖ-ита, наблюдался фтизиатром, получал местное лечение (Димексид). В возрасте 1 год – затяжная ОРВИ, двусторонний экссудативный отит.

В возрасте 1 года 3 месяцев - течение ОРИ с затяжной лихорадкой до 38-39°C, в течение двух недель, одновременно - двустороннее увеличение подчелюстных лимфоузлов до 2-2,5 см. Амбулаторно получала антибиотикотерапию - без эффекта. Госпитализирована в педиатрическое отделение на второй неделе заболевания, и затем переведен в специализированное ЛОР-отделение из-за развития острого гнойного отита. Осмотрен при поступлении: лихорадка до 38,2, жалобы на затруднение носового дыхания, умеренный кашель, беспокойство. В общем анализе крови – эритроциты $4,1 \times 10^{12}$ г/л, гемоглобин- 87 г/л, лейкоциты- $14,0 \times 10^9$ г/л, сегментоядерные -28% (3640), лимфоциты-67%, моноциты -6%, СОЭ-4 мм/час. К вирусам простого герпеса, Эпштейна-Барр, токсоплазме, хламидия пневмония, и ВИЧ серонегативен. Серологически - анти-

ЦМВ IgG 171 АЕ/мл, анти-ЦМВ IgM- 4,7 КП. При посеве крови на стерильность – роста нет. По результатам КТ – признаки двустороннего мастоидита. Произведено заменное переливание эритроцитарной массы и операция мастоидэктомии с двух сторон, парацентез. На третий день после выписки из стационара развивается стойкая ремиттирующая лихорадка, ребенок повторно осмотрен отоларингологом, проведено шунтирование барабанных полостей. Однако, лихорадка не купировалась на повторном курсе антибиотикотерапии. При обследовании методом ПЦР в клетках крови обнаружена ДНК цитомегаловируса в количестве 3,0 lg коп ДНК/мл, в соскобе со слизистой щеки – 6,1 lg коп ДНК/мл, при повторном обследовании через неделю количество ДНК цитомегаловируса в клетках крови увеличивается до 4,8 lg коп ДНК/мл. Учитывая нарастающее количество ДНК ЦМВ в клетках крови и сохраняющуюся ремиттирующую лихорадку, ребенок был госпитализирован в инфекционное отделение, для проведения курса антицитомегаловирусного иммуноглобулина (Нео Цитотект). Через 24 часа после введения препарата состояние ребенка заметно улучшилось, температура нормализовалась. Через месяц после заболевания при контрольном обследовании методом ПЦР в крови ДНК цитомегаловируса не обнаружена, в слюне - 5,4 lg коп ДНК/мл, анти-ЦМВ IgM не обнаружены, IgG-антител-100%.

Данный клинический пример демонстрирует случай реактивированной ЦМВ-инфекции, которая сопутствовала острому двустороннему гнойному отиту (мастоидиту), однозначно утяжеляя его течение. Наличие стойкой лихорадки после санации локального очага воспаления и ее купирование на фоне применения антицитомегаловирусного препарата подтверждают этиопатогенетическую роль цитомегаловируса в течении заболевания.

ПРИМЕР 5. Пациент К., 3 лет 5 мес, госпитализирован в инфекционный стационар в связи с лихорадкой 38,С в течение 6 дней. Жалобы при поступлении – высокая температура, боли в горле, увеличение подчелюстных лимфатических узлов. Из анамнеза - ребенок от 1 родов в срок, вес при рождении 3750г. На грудном вскармливании. На первом году жизни: в возрасте 3 месяцев- атопический

дерматит, в 8 месяцев – эпизод фебрильных судорог. На третьем году жизни начал посещать детский сад, болеет практически ежемесячно, за последние 6 месяцев - 4 эпизода ОРВИ, дважды с антибиотикотерапией по поводу бактериальных осложнений (острый средний отит). Осмотрен при поступлении в стационар: лимфоузлы подчелюстные до 2 см, задне-шейные до 1 см, при осмотре зева - гипертрофия небных миндалин III, гранулезный фарингит. Носовое дыхание затруднено, при риноскопии - слизистое отделяемое. При аускультации дыхание везикулярное. Печень +2см, селезенка не увеличена. Клинический анализ крови: гемоглобин – 122 г/л, эритроциты – $4,5 \times 10^{12}/л$, лейкоциты – $25 \times 10^9/л$, тромбоциты – $354 \times 10^9/л$, палочкоядерные нейтрофилы 6,0%, юные -3%, миелоциты – 1,0%, сегм нейтрофилы – 78%, моноц – 4%, лимфоц – 8% (из них атип мононуклеары 5%), СОЭ – 33 мм/час. Серологическое исследование крови методом ИФА: анти-ВГ6 Ig G в титре $\geq 1:600$ МЕ. В соскобе со слизистой ротоглотки методом ПЦР определена ДНК ВГЧ6А/В -3,9 Ig коп/мл, в крови – 3,2 Ig коп ДНК/мл.

Данный клинический пример демонстрирует случай реактивированной ВГЧ6 инфекции. На основании имеющихся клинических данных (острое начало заболевания, поражение небных миндалин, выраженная лимфаденопатия), результатов лабораторного исследования установлен диагноз: инфекционный мононуклеоз, реактивация инфекции ВГЧ-6, среднетяжелое течение.

4.9. Резюме по главе 4

Активная фаза ВГЧ 4,5,6А/В инфекции протекает в виде лихорадочного заболевания с лимфопролиферативным синдромом в большинстве случаев, с поражением органов ретикуло-эндотелиальной системы, разнонаправленными изменениями количества лейкоцитов от лейкопении до лейкоцитоза, характеризуется преобладанием иммунного ответа Th-2 типа. Между клинико-лабораторными проявлениями и величиной вирусной нагрузки ДНК ВГЧ 4,5,6А/В

имеется коррелятивная связь, выраженная в основном, при ЭБВ-мононуклеозе: налеты на миндалинах (для крови $r=0,29$, для слюны $r=0,26$), заложенность носа (для крови $r=0,36$, для слюны $r=0,32$), увеличение лимфоузлов «пакетами» (для крови $r=0,4$, для слюны $r=0,28$), лимфоцитоз (для крови $r=0,32$, для слюны $r=0,26$), повышенное СОЭ (для крови $r=0,34$, для слюны $r=0,34$), повышенные АЛТ и АСТ (для крови $r=0,26$, для слюны $r=0,25$). Выявленные корреляционные связи во многом, подтверждают уже известные положения, полученные эмпирическим путем и свидетельствуют о том, что величина вирусной нагрузки играет важную роль в выраженности клинической картины активной ВГЧ 4,5,6А/В инфекции.

Реактивированная ВГЧ 4,5,6А/В инфекция в 60% случаев соответствует типичному мононуклеозу. Возрастными особенностями клинической картины реактивированной ВГЧ 4,5,6А/В-инфекции является преобладание (в 1,5 раза чаще) типичного мононуклеоза у детей старше четырех лет. Реактивированные формы ВГЧ 4,5,6А/В инфекции имеют более легкое течение (ОШ=2,6). Реактивированная ЭБВ-инфекция протекает в виде инфекционного мононуклеоза в 86% случаев у детей старше 1 года, на первом году жизни - в 88% случаев в виде лихорадки с лимфаденопатией. Реактивированная моно ЦМВ-инфекция, характеризовалась выраженной лихорадкой, лимфопролиферативным синдромом. Реактивированная ВГЧ6 инфекция была разнообразна в своих клинических проявлениях - преобладала респираторная форма - до 58%, мононуклеозоподобная форма - до 28%, а также - лихорадочно-судорожная и лихорадочно-экзематозная. При реактивированной ВГЧ 4,5,6А/В инфекции в отличие от первичной инфекции, чаще встречается синдром нейтропении (ОШ=4), такие характеристики как лейкоцитоз, ускоренное СОЭ, атипичные мононуклеары, встречаются значительно реже (ОШ=0,5). Медианы значений вирусной нагрузки в крови при первичной и реактивированной форме ВГЧ 4,5,6 инфекции не имеют значимых различий. В слюне при реактивированной форме инфекции значения вирусной нагрузки ДНК ВГЧ 4,5,6 достоверно ниже, чем при первичной инфекции. Изучение анамнеза больных с реактивированной ВГЧ 4,5,6

инфекцией позволило предположить, что скрининговыми анамнестическими факторами реактивации ВГЧ 4,5,6А/В инфекции являются инфекционный мононуклеоз и частые респираторные инфекции.

ГЛАВА 5. КЛИНИЧЕСКИЕ И ЛАБОРАТОРНЫЕ КРИТЕРИИ АКТИВНОЙ ФАЗЫ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

5.1. Клинико-лабораторные критерии активной цитомегаловирусной инфекции

Среди всех детей с активной ВГЧ 4,5,6А/В инфекцией цитомегаловирусная инфекция была определена у 255/780 (32,7%) человек. При серологическом обследовании этих детей анти-ЦМВ IgG-антитела определялись в 62,7% (160/255) случаев: в 52,8% (75/142) в младшей возрастной группе, и в 88,8% (48/54) случаев - в старшей. Антитела IgM определялись у 50% (127/255) детей, без возрастных различий. Лабораторно, первичную ЦМВИ (ПЦР+ кровь, IgM±, IgG-) переносили 37% (95/225) детей, в остальных случаях (62,8%, 160/255) была диагностирована реактивация. С целью установления маркеров активной ЦМВИ проводили клинические сравнения с группой неактивной (латентной) ЦМВИ которую составили 100 серопозитивных детей с острым респираторным заболеванием в виде ларинготрахеита (24%), острого отита (19%), бронхита (17%), тонзиллита (17%), риносинусита (15%), и пневмонии (9%). Сравнительный анализ показал, что активную ЦМВИ достоверно чаще в сравнении с неактивной, маркируют такие симптомы как лимфаденопатия регионарная «пакетами» (OR=5,8, ДИ 3,4-10,0), лихорадка длительностью более 5 дней (OR=12,3, ДИ 5,9-25,5), гепато- (OR=4,7, ДИ 1,9-11,3) и спленомегалия (OR=5,2, ДИ 1,5-17,1) у детей от 1 до 7 лет. При анализе показателей гемограммы установлены следующие статистически значимые различия: в группе активной ЦМВИ, как первичной, так и реактивированной, достоверно чаще встречалась нейтропения (OR =1,3, ДИ 1,00-1,8), лейкоцитоз (OR =2,0, ДИ 1,3-2,3), и лимфоцитоз (OR=1,6, ДИ 1,2-1,8). Повышение АЛТ отмечалось только при первичной ЦМВИ, протекавшей в виде инфекционного мононуклеоза в 25% (24/95) случаев (OR=2,3, ДИ 1,9-2,4) причем всегда в сочетании с АСТ, в группе латентного течения инфекции отмечались единичные случаи повышения АСТ.

При анализе вариантов иммунного ответа, было установлено, что при активной ЦМВИ, чаще отмечалось снижение CD4+, CD16 (OR=3,9, ДИ 1,3-11,8), изолированное снижение IgA (OR =1,5). При анализе сопутствующей патологии было установлено, что в группе пациентов с активной ЦМВИ, в отличие от группы латентной инфекции, чаще был отмечен субфебрилитет в анамнезе (OR=2,35, ДИ 1,2-4,6) во всех возрастных группах. А также, при активной ЦМВИ у детей от 1 до 4 чаще встречались хронические заболевания ЛОР-органов (OR = 1,45, ДИ 1 – 2,4) и аллергические заболевания (OR= 1,23, ДИ 1,0-2,0). Клинико-лабораторные критерии активной ЦМВИ были отобраны по условию $OR > 1$, однако их чувствительность была низкой, таблица 25.

Таблица 25

Оценка клинико-лабораторных характеристик активной ЦМВИ

Характеристики активной ЦМВИ	Чувствительность, (Se, %)	Специфичность (Sp, %)	ОШ (OR)
лихорадка длительностью более 5 дней	54	91	12,3
лимфаденопатия регионарная «пакетами»	60,0	79	5,8
спленомегалия	14	97	5,2
гепатомегалия	23	94	4,7
снижение CD4+, CD16	61	70	3,9
субфебрилитет в анамнезе	24	88	2,3
лейкоцитоз	52	73	2,0
нейтропения	22	78	1,3
лимфоцитоз	54	72	1,6
хронические заболевания ЛОР-органов	40	65	1,45

Изучение взаимосвязей полученных критериев проводили при помощи корреляционного анализа. В возрастной группе от 1 месяца до 1 года из всех вышеприведенных клинико-лабораторных критериев корреляционные взаимосвязи установлены только для частоты встречаемости лихорадки более 5 дней ($r=0,46$, $p=0,002$) и лимфоцитоза ($r=0,36$, $p=0,001$), данные критерии вошли в математическую модель вероятности активной ЦМВИ которую описали уравнением: $p = 1/(1 + e^{-z}) \times 100\%$, $z=0,29-16X_{\text{лихор}}+18X_{\text{лимф-з}}$ где p - вероятность активной ЦМВИ, $X_{\text{лихор}}$ – наличие лихорадки более 5 дней, $X_{\text{лимф-з}}$ – наличие

лимфоцитоза. Таким образом, получили прогнозирующую модель с двумя критериями - лихорадка более 5 дней и лимфоцитоз. Данная модель в определении вероятности активной ЦМВИ имеет 94% чувствительность и 25% специфичность. В возрастной группе от 1 до 4 лет и от 4 до 7 лет наблюдались однотипные корреляционные зависимости, что позволило объединить результаты: установлена корреляционная связь активной ЦМВИ с частотой встречаемости лихорадки более 5 дней ($r=0,46$, $p=0,001$), лимфоцитозом ($r=0,5$, $p=0,001$), лимфаденопатией в виде «пакетов» ($r=0,38$, $p=0,001$), гепатомегалии ($r=0,34$, $p=0,002$), спленомегалией ($r=0,27$, $p=0,001$), лейкоцитозом ($r=0,26$, $p=0,001$), и нейтропенией ($r=0,18$, $p=0,001$). В математическую модель вошли два критерия - лихорадка более 5 дней и лимфоцитоз: $z=-0,38+0,98X_{\text{лихор}}+1,48X_{\text{лимф-з}}$. Чувствительность 79% и специфичность 42%. Таким образом, критериями активной ЦМВИ у детей от 1 месяца до 7 лет можно считать лихорадку длительностью более 5 дней, протекающую на фоне лимфоцитоза, однако низкие значения специфичности, не исключают возможности ложноположительных результатов, что является обоснованием дальнейшего поиска дополнительных критериев, обладающих высокой специфичностью.

5.2. Вирусная нагрузка ДНК ЦМВ в крови, моче и слюне, как критерий активной цитомегаловирусной инфекции

Значения вирусной нагрузки в различных биологических субстратах сравнивали в группе активной и неактивной цитомегаловирусной инфекции, а также у здоровых пациентов. Согласно критериям включения в исследование в крови всех пациентов с активной ЦМВИ определялась ДНК ЦМВ, а в группе неактивной инфекции – не определялась. Различий величины вирусной нагрузки ДНК ЦМВ между формами активной инфекции (первичной и реактивированной) не было установлено: медиана ВН в обеих группах составила 4,5 lg копий ДНК/мл (IQR 4,0-4,7), без возрастных различий. В крови здоровых детей ДНК

ЦМВ определялась в 7,8% случаев, медианное значение составило 3 lg копий ДНК/мл (IQR 2,6-3,3), таблица 26.

Таблица 26

Вирусная нагрузка ДНК ЦМВ в крови

Статистические характеристики	Моно-ЦМВ-инфекция n =255		Условно здоровые n =155		p
	коп/мл	Ig копий ДНК/мл	коп/мл	Ig копий ДНК/мл	
среднее арифм. значение	73 260	4,86	1426	3,1	0,001*
медиана	56 212	4,5	1132	3,05	0,001*
межквартильный размах [IQR]	[33082-73342]	[4,0-4,7]	[645-2134]	[2,6-3,3]	-
минимальное значение	1200	3,08	344	2,5	0,001*
максимальное значение	725 677	5,8	2876	3,45	0,001*

* достоверные различия между группами по критерию Пирсона

Факт обнаружения ДНК ЦМВ в крови здоровых детей трактовался как неактивная (латентная) форма инфекции, так как отсутствовали клинические проявления заболевания. Таким образом, чувствительность, выражающая долю пациентов с активной ЦМВ, точно идентифицированных методом ПЦР по крови: $Se=255/255=1,0$ (100%), специфичность $Sp=143/155=0,92$ (92%), ДИ (0,91;0,99), прогностичность положительного результата $PPV=255/267=0,95=95\%$, ДИ (0,93;0,99) и прогностичность отрицательного результата $PNV=143/143=1,0=100\%$, рисунок 18.

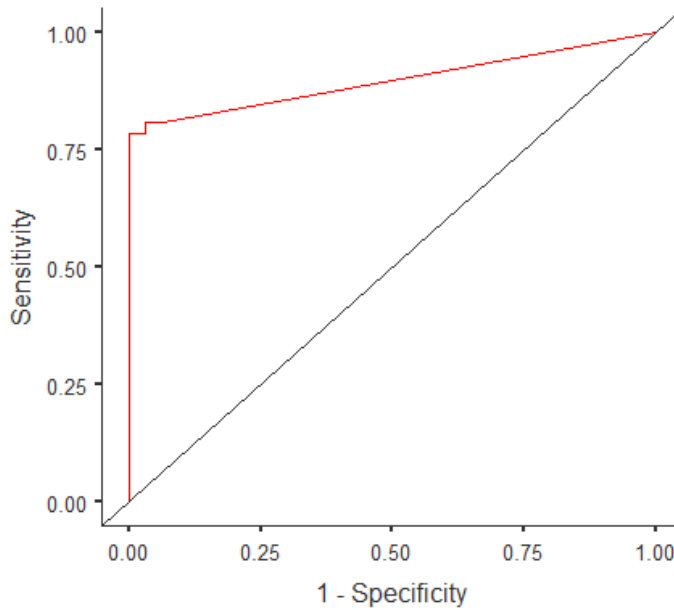


Рисунок. 18. ROC-кривая диагностической способности логистической регрессионной модели прогноза острой ЦМВ-инфекции.

Применив метод логистической регрессии вычислили «пороговое», разделяющее значение ВН ДНК ЦМВ в крови по уравнению $y = 1,03 - 2,06x$, которое составило 3,6lg (4700 коп ДНК/мл) ($Se=0,78$, $Sp=1,00$). Качество построенной регрессионной модели оценено при помощи $AUC=0,89$ и индекса Юдена= $0,78$, как высокое, таблица 27.

Таблица 27

Сводные данные по регрессионной модели острой ЦМВ-инфекции для крови

Атрибуты математической модели	($OR=e^b$) Отношение шансов	95% ДИ OR	Значимость	Коэффициент Вальда	Коэффициент логистической регрессии (b)
вирусная нагрузка, x константа	2,8	1,9-4,01	0,001	33,6	-2,06 1,03

Для значений ВН ДНК ЦМВ в крови также установлено существование слабой корреляционной связи с абсолютным количеством лимфоцитов ($r=0,34$, $p=0,02$) и выраженностью синдрома лимфаденопатии ($r=0,24$, $p=0,01$). В слюне ДНК ЦМВ определялась у 91,7% (234/255) детей с активной формой инфекции, с

разницей в значениях медиан: 5,9 lg копий ДНК/мл (IQR 4,9-6,3) при первичной форме против 5,0 lg копий ДНК/мл (IQR 4,1-5,2) в группе реактивированной инфекции, с преобладанием максимальных значений в младшем возрасте при первичном инфицировании. Отмечена выраженная тенденция к последовательному снижению величин ВН в слюне с возрастом, как в случае первичной, так и в случае реактивированной ЦМВИ до уровня 4,5-4,7 lg копий ДНК/мл (IQR 4,0-5,1). При неактивной ЦМВИ ПЦР-положительные образцы слюны встречались в 74% случаев, с возрастом их доля уменьшалась от 100% до 52%, медиана ВН ДНК ЦМВ составила 3,7 lg копий ДНК/мл (IQR 2,9-4,5) без возрастных различий. В группе здоровых детей ДНК ЦМВ в слюне определялась в 17,4% случаев (27/155), медианное значение составило 3,0 lg копий ДНК/мл (IQR 2,0-3,8), таблица 28.

Таблица 28

Вирусная нагрузка ДНК ЦМВ в слюне

Статистические характеристики вирусной нагрузки	моно-ЦМВ-инфекция n =255		условно здоровые n =155		p
	коп/мл	lg копий ДНК/мл	коп/мл	lg копий ДНК/мл	
среднее арифм. значение	1 044 532	6,0	4092	3,6	0,001*
медиана	498 837	5,7	2654	3,0	0,001*
межквартильный размах [IQR]	[84886- 784 900]	[4,9-5,9]	[1654 - 5234]	[2,0- 3,8]	
минимальное значение	54376	4,7	123	2,08	0,001*
максимальное значение	7543 332	6,8	27543	4,4	0,001*

* достоверные различия между группами по критерию Пирсона

Несмотря на высокую чувствительность метода ПЦР для определения активной формы ЦМВИ по анализу слюны (91%), специфичность оказалась низкой (26%), и таким образом, прогностичность положительного результата теста составила PPV=76,0%, отрицательного NPV=55,5%. Полученные диагностические характеристики качественной ПЦР слюны свидетельствуют о том, что данный метод обладает неплохой чувствительностью, но низкой

специфичностью с большой долей ложноположительных результатов, что обуславливает необходимость применения количественного ПЦР-анализа с определением «порогового» значения вирусной нагрузки, для чего использовали регрессионный анализ. В результате получили линейное уравнение регрессии: $y = -6,4 + 1,29x$, где x – значение десятичного логарифма вирусной нагрузки, таблица 29.

Таблица 29

Сводные данные по регрессионной модели острой ЦМВИ для слюны

Атрибуты математической модели	(OR= e^b) Отношение шансов	95% ДИ OR	Значимость	Коэффициент Вальда	Коэффициент логистической регрессии (b)
вирусная нагрузка, x константа	3,65	2,2-6,2	0,00	23,4	1,29-6,4

Для минимизирования ложноположительных результатов критерием выбора порогового значения определили максимальную специфичность, и получили «пороговое» значение ВН ДНК ЦМВ в слюне 4,7lg (50 000 коп ДНК/мл) ($Se=0,87$, $Sp=1,00$). Таким образом, согласно построенной регрессионной модели, активной ЦМВИ соответствуют значения $VN \geq 4,7lg$ коп ДНК/мл ЦМВ в слюне, положительная прогностическая ценность (точность) (PPV), в данной точке составляет 100% (при построении рок-кривой, $AUC=0,87$), индекс Юдена=0,87 подтверждает значимость модели. В слюне условно здоровых детей ДНК ЦМВ была обнаружена в 17,4% (27/155) случаев, с тенденцией к снижению с возрастом доли ПЦР-положительных образцов и количества определяемого в них вируса. Медиана значений вирусной нагрузки составила для слюны 2,9 lg копий ДНК/мл (IQR 2,6-3,1). Специфичность, то есть возможность теста определять пациентов, не инфицированных ЦМВ для слюны составила $Sp=128/155=0,82$ (82,0%), ДИ (0,72;0,85), рисунок 19.

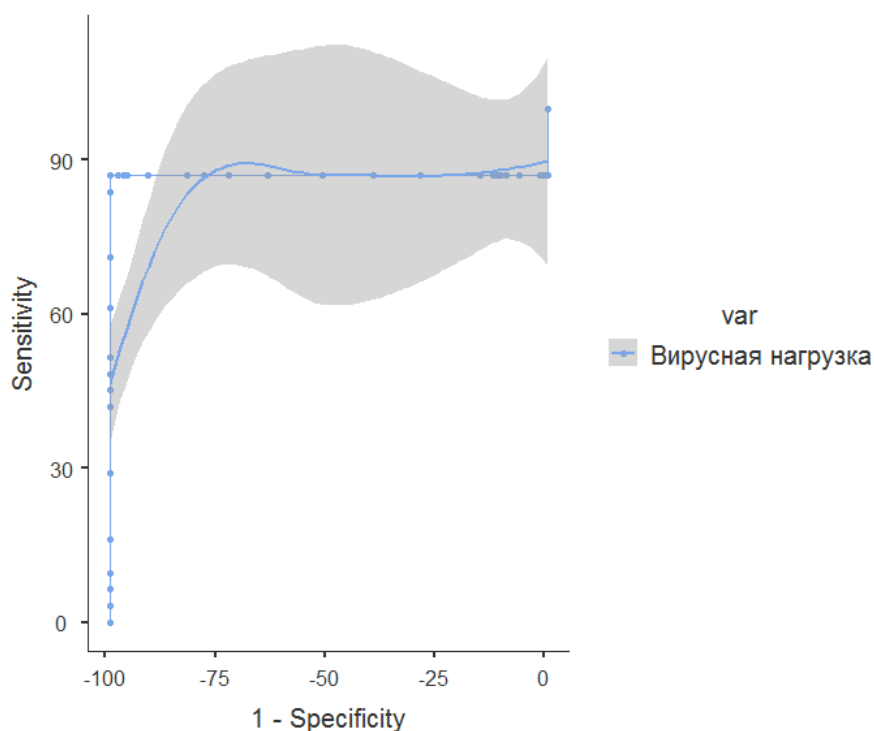


Рисунок 19. ROC-кривая диагностической способности логистической регрессионной модели прогноза острой ЦМВ-инфекции.

В моче ДНК ЦМВ обнаруживалась у 61% (157/255) детей с активной инфекцией, отмечена тенденция к значительному снижению доли ПЦР-положительных образцов с 88,7% (126/142) в возрасте до 1 года, до 35,4% (21/59) у детей от 1 до 4 лет, и 18,5% (10/54) у детей старше 4-летнего возраста. Значения медианы ВН ДНК ЦМВ в моче различались: у детей до 1 года - 5 lg копий ДНК/мл (IQR 4,1-5,4), от 1 года до 4 лет - 4 lg копий ДНК/мл (IQR 3,9-4,4), у детей старше 7 лет - 3,5 lg копий ДНК/мл (IQR 3,0-3,8). При неактивной инфекции в моче ДНК ЦМВ определялась только у детей до 4 летнего возраста - 33,0% случаев, медиана ДНК ЦМВ составила 2,8 lg копий ДНК/мл (IQR 2,6-3,2) также без возрастных различий. В моче здоровых детей ДНК ЦМВ определялась в 7% случаев, медиана составила 2,9 lg копий ДНК/мл (IQR 2,3-3,0). Чувствительность метода ПЦР для определения активной ЦМВИ по анализу мочи составила 61,0%, специфичность – 77,0%, PPV=82,0%, NPV=40%. Для вычисления «порогового» значения использовали регрессионный анализ, получив уравнение: $y = -0,65 + 0,45x$ (чувствительность 69,0%, специфичность – 60,0%). Пороговое значение ДНК ЦМВ

для мочи составило $VH=3,0$ lg коп ДНК/мл ($Se=0,65$, $Sp=0,9$), $AUC=0,72$. В моче условно здоровых детей ДНК ЦМВ была обнаружена в 7% (11/155) случаев с тенденцией к снижению с возрастом доли ПЦР-положительных образцов и количества определяемого в них вируса. Медиана значений вирусной нагрузки составила для мочи - 2,6 (IQR 2,6-3,0) lg копий ДНК/мл. Специфичность - $Sp=144/155=0,92$ (92%), ДИ (0,91;0,93).

Решение задачи классификации фаз инфекции (активная/неактивная) завершили применив метод деревьев решений (Classification Tree), когда изучаются взаимосвязи одной зависимой переменной с несколькими независимыми переменными. При этом взаимосвязь представлена не в виде прогнозного уравнения (как в методе регрессии), а в виде древовидной структуры, рисунок 20.

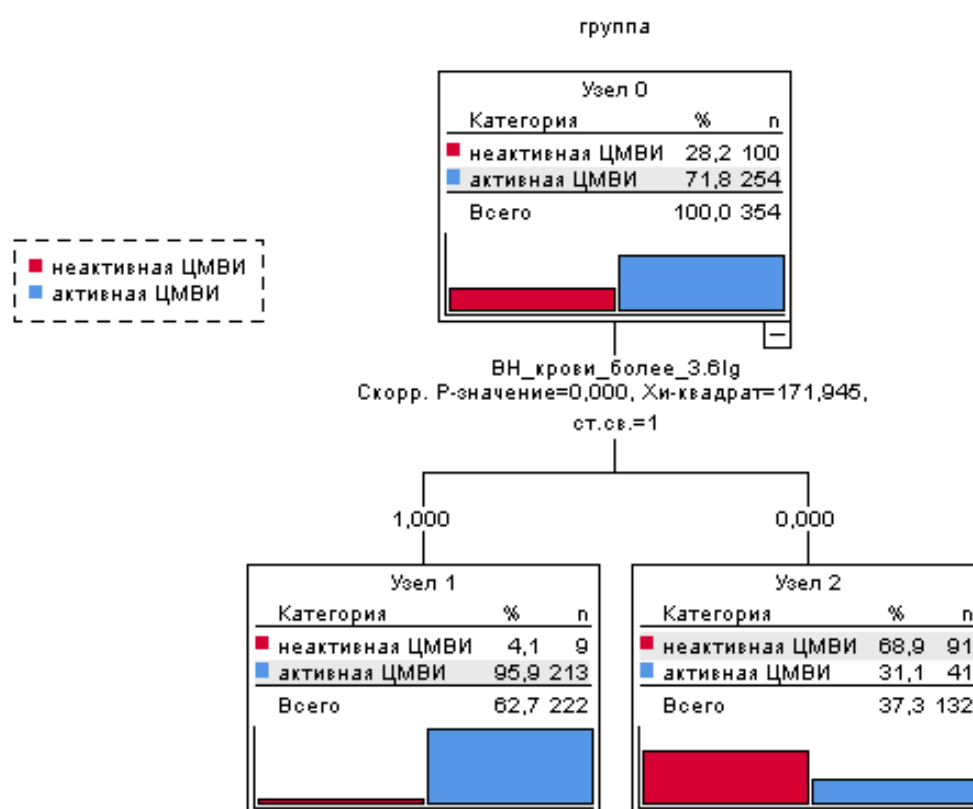


Рисунок 20. Дерево решений для задачи классификации активной ЦМВИ.

В соответствии с представленными данными, наличие у пациента такого

фактора как ВН крови более 3,6lg (узел №1) сопровождалось увеличением вероятности активной ЦМВИ по сравнению со средней по исследуемой выборке в 1,3 раза. Нахождение в терминальном узле №2 (отсутствие ВН более 3,6lg) сопровождалось снижением такой вероятности по сравнению со средневыборочной в 2,3 раза. Чувствительность полученной модели составила 83,9% (213 верных прогнозов из 254), специфичность – 91% (91 верных прогнозов из 100). Общая диагностическая эффективность составила 85,9±2% (304 из 354), таблица 30.

Таблица 30

Классификационная модель активной ЦМВИ

Наблюдённые	Предсказанные		Доля правильных, %
	неактивная ЦМВИ, %	активная ЦМВИ, %	
неактивная ЦМВИ	91	9	91,0
активная ЦМВИ	42	213	83,9
общая доля	37,3	62,7	85,9
Метод построения: CHAID			

В результате кросс-проверки общая диагностическая эффективность не изменилась, что свидетельствует об устойчивости полученной прогностической модели. Полученные в результате вычислений уравнения использовали для написания машинного кода в программном продукте (диагностическое ИТ-решение).

5.3. Информативность качественного определения ДНК ЦМВ в слюне

Для определения вероятности болезни у лиц с положительным результатом ПЦР-тестирования рассчитали отношение правдоподобия (LR, like lihood ratio) для положительного результата (LR(+)): $LR(+) = Se / (1 - Sp)$, для отрицательного результата LR(-): $LR(-) = (1 - Se) / Sp$. В таблице представлены результаты расчета отношения правдоподобия для положительного и отрицательного результатов качественной ПЦР слюны, таблица 31.

Таблица 31

Информативность диагностики ЦМВ-инфекции методом качественной ПЦР слюны

Характеристики информативности	Абс.	ДИ
чувствительность, Se	0,74	0,58-0,85
специфичность, Sp	0,27	0,19-0,34
положительный прогностический результат, PPV	0,21	0,15-0,29
отрицательный прогностический результат, NPV	0,78	0,65-0,88
отношение правдоподобия для положительного результата, LR(+)	1,0	-
отношение правдоподобия для отрицательного результата, LR(-)	1,3	-

Чем выше отношение правдоподобия для положительного результата, тем более можно быть уверенным, что тест дает полезную информацию. Отношение правдоподобия отрицательного результата, близкое к нулю, также будет свидетельствовать о полезности диагностического теста. Проанализировав, вышеприведенную таблицу, можно предположить низкую диагностическую ценность качественной ПЦР слюны для диагностики активной ЦМВ-инфекции. Но, поскольку данные получены на небольших по количеству группах детей, то и интерпретировать их на всю популяцию нужно очень осторожно, помня о том, что в случае использования тест-системы другого производителя данные не могут быть сопоставлены. В нашем исследовании мы выдвинули рабочую гипотезу о том, что количественный метод ПЦР позволяет с одинаковой долей уверенности диагностировать активную ВГЧ 4,5,6А/В инфекцию как в крови, так и в слюне. Проверая эту гипотезу, мы основывались на частотном подходе к вероятности, который имеет и некоторые недостатки, а именно, в работе используется только информация, полученная от настоящего исследования, и этот подход имеет тенденцию переоценивать роль критерия проверки гипотез и то, значим ли результат, а не смысл результатов. Применив байесовский подход определили априорную, или дотестовую вероятность активной ВГЧ 4,5,6А/В инфекции: априорные шансы - 0,63; отношение правдоподобия для положительного результата теста - 1,0; апостериорные шансы - 0,63; апостериорная вероятность -

0,38. Таким образом, вероятность того, что пациент имеет активную ЦМВИ при положительной качественной ПЦР слюны (по методу Байеса) составляет 38%.

5.4. Многофакторный анализ критериев активной ЦМВИ

у детей от 1 мес до 7 лет

Нашим исследованием установлено, что критериями активной ЦМВИ с высокой чувствительностью и специфичностью являются ВН ДНК ЦМВ в крови более 3,6lg коп ДНК, лихорадка длительностью более 5 дней (OR=12,3) и лимфоцитоз (OR=1,6). Однако в исследовании установлены еще 9 критериев, с невысокими значениями специфичности и чувствительности: лимфаденопатия регионарная «пакетами» (OR=5,8), гепато- (OR=4,7) и спленомегалия (OR=5,2), нейтропения (OR =1,3), лейкоцитоз (OR =2,0), снижение CD4+, CD16 (OR=3,9), субфебрилитет в анамнезе (OR=2,35), хронические заболевания ЛОР-органов (OR = 1,45). Для того чтобы отбросить несущественные из них, сгруппировать наиболее значимые, уменьшив тем самым количество изучаемых переменных, провели многофакторный анализ, в результате которого имеющиеся признаки объединили по узкому набору «свойств», характеризующих связь между ними в так называемые «факторы», обозначенные нами как основной (R1) и дополнительный (R2) общий вклад которых в суммарную дисперсию составил 80,4%, мера адекватности оценена как высокая (КМО=0,76) таблица 32.

Таблица 32

Матрица факторных нагрузок активной ЦМВИ

Клинические и лабораторные маркеры сопутствующие активной ЦМВИ	Фактор	
	дополнительный (R2)	основной (R1)
снижение CD4+, CD16	0,863	0,188
хроническая ЛОР-патология в анамнезе	0,806	0,063
лимфаденопатия регионарная «пакетами»	-0,092	0,869
лихорадка длительностью более 5 дней	0,352	0,833
ВН ДНК ЦМВ в крови более 3,6lg	0,305	0,696

Проведенный анализ позволил сократить число изучаемых переменных,

получить новые переменные (факторы), и оценить корреляционные зависимости между ними (факторами). Установлено, что отобранные факторы позволяют описать 80% всех критериев активной цитомегаловирусной инфекции, а именно:

- анамнестический фактор составили такие критерии, как хроническая ЛОР-патология, снижение CD4+, CD16 ;
- воспалительному фактору в острый период заболевания соответствуют такие критерии, как лихорадка длительностью более 5 дней, лимфаденопатия «пакетами» и значения ВН ДНК ЦМВ в крови более 3,6lg.

Полученные факторы, преобразованные в численное значение были использованы для дальнейшего статистического анализа с помощью логистической регрессии. Получили следующее уравнение:

$$z = 1,3 + 0,43R_1 + 1,24R_2.$$

Исходя из значений регрессионных коэффициентов, факторы R1 и R2 имеют прямую связь с вероятностью развития активной ЦМВИ. Дополнительный фактор увеличивает шансы активной ЦМВИ в 1,5 раза (OR=1,54, ДИ1,09-2,2), а основной фактор - в 3,4 раза (OR=3,37, ДИ2,4-4,9). Полученная регрессионная модель является статистически значимой (p=0,001), критерий R²Нейджелкерка=0,3. Высокие значения чувствительности (84%) и специфичности (75%) позволяют применять данную модель на практике.

5.5. Резюме по главе 5

Клинико-лабораторными критериями активной ЦМВИ являются: лимфаденопатия регионарная «пакетами» (Se=60%, Sp=79%), лихорадка длительностью более 5 дней (Se=54%, Sp=91%), гепатомегалия (Se=23%, Sp=94%), спленомегалия (Se=14%, Sp=97%), нейтропения (Se=22%, Sp=78%), лейкоцитоз (Se=52%, Sp=73%), лимфоцитоз (Se=54%, Sp=72%), снижение CD4+, CD16 (Se=61%, Sp=70%), хронические заболевания ЛОР-органов (Se=40%,

Sp=65%). Прогнозирующая модель активной ЦМВИ содержит два фактора - лихорадка более 5 дней и лимфоцитоз. Данная модель в определении вероятности активной ЦМВИ имеет 94% чувствительность и 25% специфичность, что не исключают возможности ложноположительных результатов. Не установлены различия значений вирусной нагрузки ДНК ЦМВ в крови между активной и реактивированной инфекцией: медианы ВН в обеих группах равны и составляют 4,5 lg копий ДНК/мл. В группе здоровых детей ДНК ЦМВ в крови определяется в 7,7% случаев, медианное значение - 3,0 lg копий ДНК/мл. «Пороговое» значение ВН ДНК ЦМВ в крови равно 3,6lg коп ДНК/мл, и является количественным критерием активной формы инфекции (Se=78%, Sp=100%). В слюне ДНК ЦМВ определяется у 91,7% детей с активной формой инфекции, с разницей в значениях медиан: 5,9 lg копий ДНК/мл при первичной форме против 5,0 lg копий ДНК/мл в группе реактивированной инфекции, с преобладанием максимальных значений в младшем возрасте при первичном инфицировании. При неактивной ЦМВИ ПЦР-положительные образцы слюны встречаются в 74,0% случаев, с возрастом их доля уменьшается от 100% до 52%, медиана ВН ДНК ЦМВ составляет 3,7 lg копий ДНК/мл без возрастных различий. В слюне здоровых детей ДНК ЦМВ определяется в 17% случаев, медианное значение составляет 3 lg копий ДНК/мл. «Пороговое» значение ВН ДНК ЦМВ в слюне cut off=4,7lg коп ДНК/мл, Se=0,87, Sp=1,00. В моче ДНК ЦМВ обнаруживается у 61% детей с активной инфекцией: медиана ВН ДНК ЦМВ в моче у детей до 1 года - 5,0 lg копий ДНК/мл, от 1 года до 4 лет - 4,1 lg копий ДНК/мл, у детей старше 7 лет - 3,5 lg копий ДНК/мл. При неактивной инфекции в моче ДНК ЦМВ определяется только у детей до 4 летнего возраста - 33,0% случаев, медиана ДНК ЦМВ составляет 2,8 lg копий ДНК/мл. В моче здоровых детей ДНК ЦМВ определяется в 7% случаев, медиана составляет 2,9 lg копий ДНК/мл. Пороговое значение ДНК ЦМВ для мочи составляет ВН=3,0 lg коп ДНК/мл, Se=0,65, Sp=0,91. Диагностическая возможность качественной ПЦР слюны не высока, вероятность того, что пациент имеет активную ЦМВИ при положительной качественной ПЦР слюны составляет 38%.

Критерии прогнозирующие активную ЦМВИ могут быть объединены в два прогностических фактора: основной, состоящий из лихорадки длительностью более 5 дней, лимфаденопатии «пакетами» и значений ВН ДНК ЦМВ в крови более 3,6lg и дополнительный, учитывающий наличие хронических заболеваний ЛОР-органов, и снижение CD4+, CD16. Основной фактор увеличивает шансы активной ЦМВИ в 3,5 раза, а дополнительный - в 1,5 раза. Полученная регрессионная модель является статистически значимой, что позволяет применять ее на практике.

ГЛАВА 6. КЛИНИЧЕСКИЕ И ЛАБОРАТОРНЫЕ КРИТЕРИИ АКТИВНОЙ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ ЭПШТЕЙНА-БАРР

6.1. Клинико-лабораторные критерии активной фазы ЭБВ-инфекции

Активная инфекция, вызванная вирусом Эпштейна-Барр была определена у 318/780 детей (40,3%), составивших изучаемую группу. При серологическом исследовании анти-ВЭБ антитела IgG определялись в 49,6% (158/318) случаев: 36,5% (19/52) - в младшей группе, и 56,8% - в старшей. Антитела к капсидному антигену ВЭБ IgM определялись у 57% (182/318) детей, без возрастных различий. Лабораторно, первичную ВЭБ-инфекцию (ПЦР+ кровь, IgM±, IgG-) переносили 50% (160/318) больных, у 50% (158) была диагностирована реактивация. С целью установления критериев активной ВЭБИ проводили клинические сравнения с группой неактивной (латентной) ВЭБИ которую составили 100 серопозитивных детей, наблюдавшихся по поводу острого респираторного заболевания сопровождавшегося отитом (29%), тонзиллитом (21%), ларинготрахеитом (16%), пневмонией (15), риносинуситом (10%), бронхитом (9%). Сравнительный анализ показал, что при активной ВЭБИ, достоверно чаще в сравнении с неактивной, отмечались такие критерии как лимфаденопатия «пакетами» (OR=11,1, ДИ 6,5-18,7, Se=79%, Sp=74%), лихорадка длительностью более 5 дней (OR=59,0, ДИ 25-142, Se=79%, Sp=94%), гепатоспленомегалия (OR=16,6, ДИ 5,0-53,0, Se=34%, Sp=97%), тонзиллит с налетами на миндалинах (OR=4,5, ДИ 2,7-7,5, Se=60%, Sp=75%), то есть «классический» синдромокомплекс инфекционного мононуклеоза. При анализе возрастных особенностей можно отметить, что для детей до 1 года нехарактерен тонзиллит (OR=0,7, ДИ 0,2-1,9).

При анализе показателей гемограммы установлены следующие статистически значимые различия: в группе активной ВЭБИ, как первичной, так и реактивированной, достоверно чаще встречался лейкоцитоз (OR =2,1 ДИ 1,3-2,4, Se=63%, Sp=43%), лимфоцитоз (OR =1,7, ДИ 1,2-1,9, Se=75%, Sp=34%), атипичные мононуклеары (OR =2,5, ДИ 1,6-3,1, Se=69%, Sp=84%), повышение

АЛТ в 32,5% (103/318) случаев (OR 1,5, ДИ 1,2 – 2,1, Se=39%, Sp=54%) всегда в сочетании с АСТ. При анализе вариантов иммунного ответа, было установлено, что при активной ВЭБИ, в 74% случаев отмечалось снижение CD4+, CD16 (OR=5,7, ДИ 1,8-17,0, Se=74%, Sp=66%), в 45,0% - повышение Ig E (OR =5,1, ДИ 2,9-6,2, Se=59%, Sp=43%) в 33% - снижение IgA (OR =1,4, ДИ 1,0-2,1, Se=69%, Sp=54%). При анализе сопутствующей патологии было установлено, что в группе пациентов с активной ВЭБИ (первичной/реактивированной) в отличие от группы латентной инфекции, чаще отмечались аллергические состояния (OR= 2,7, ДИ 1,7-4,3, Se=67%, Sp=58%) и рецидивирующие заболевания нижних отделов респираторного тракта, такие как трахеобронхит и бронхит (OR=1,8, ДИ 1,0-3,0, Se=32%, Sp=79%). Полученные клиничко-лабораторные критерии имели различные значения чувствительности и специфичности и были отобраны по условию OR >1, таблица 33.

Таблица 33.

Клиничко-лабораторные характеристики активной ВЭБИ

Характеристики	Чувствительность, Se (%)	Специфичность Sp (%)	OR
лихорадка длительностью более 5 дней	79	94	59
гепатомегалия	34	97	16,6
лимфаденопатия регионарная «пакетами»	79	74	11,1
снижение CD4+, CD16	74	66	5,7,
спленомегалия	74	97	4,9
тонзиллит с налетами на миндалинах	60	75	4,5
атипичные мононуклеары	69	84	2,5
лейкоцитоз	63	43	2,1
рецидивирующие заболевания нижних дыхательных путей	32	79	1,8
лимфоцитоз	75	34	1,7,
снижение IgA	69	54	1,4
повышение АЛТ	39	54	1,2

Взаимосвязи характеристик активной ВЭБИ в различных возрастных группах изучали при помощи корреляционного анализа. В возрастной группе от 1 месяца до 1 года корреляционные взаимосвязи установлены для: частоты

встречаемости лихорадки более 5 дней ($r=0,48$, $p=0,001$), гепатомегалии ($r=0,41$, $p=0,001$), лимфаденопатии «пакетами» ($r=0,35$, $p=0,002$), поэтому данные критерии были использованы для построения математической модели вероятности активной ВЭБИ которую описали уравнением: $p = 1/(1 + e^{-z}) \times 100\%$, $z=0,21-2,5X_{\text{лихор}}+0,18X_{\text{ЛАП}}$, где p - вероятность активной ВЭБИ, $X_{\text{лихор}}$ – наличие лихорадки более 5 дней, $X_{\text{ЛАП}}$ – лимфаденопатия «пакетами», такая характеристика как гепатомегалия не вошла в окончательный вариант модели. Таким образом, получили прогнозирующую модель с двумя характеристиками - лимфаденопатия «пакетами» и лихорадка более 5 дней. Данная модель в определении вероятности активной ВЭБИ имеет 84% чувствительность и 67% специфичность. В возрастной группе от 1 мес до 4 лет корреляционная связь установлена для частоты встречаемости лихорадки более 5 дней ($r=0,6$, $p=0,001$), лимфаденопатии «пакетами» ($r=0,6$, $p=0,001$), гепатомегалии ($r=0,58$, $p=0,001$), лимфоцитоза ($r=0,44$, $p=0,001$), лейкоцитоза ($r=0,35$, $p=0,001$). Получили математическую модель: $z=0,25-38X_{\text{лихор}}+1,8X_{\text{лимф-з}} +17,8 X_{\text{ЛАП}}$. Чувствительность модели 91% и специфичность 72%. В возрастной группе от 4 до 7 лет корреляционная связь установлена для частоты встречаемости лихорадки более 5 дней ($r=0,5$, $p=0,001$), лимфаденопатии «пакетами» ($r=0,46$, $p=0,001$), гепатомегалии ($r=0,25$, $p=0,001$), лимфоцитоза ($r=0,24$, $p=0,001$). Получили математическую модель с двумя характеристиками - лимфаденопатия «пакетами» и лихорадка более 5 дней: $z=-0,08 +2,3X_{\text{лихор}}+1,6X_{\text{ЛАП}}$. Чувствительность модели 90% и специфичность 58%.

6.2. Вирусная нагрузка ДНК ВЭБ в крови и слюне как критерий активной инфекции, вызванной вирусом Эпштейна-Барр

Провели сравнительный анализ вирусной нагрузки в группах с активной и неактивной инфекцией, вызванной вирусом Эпштейна-Барр. В крови всех пациентов с активной ВЭБИ определялась ДНК ЭБВ (условия включения в

исследование). Различий величины вирусной нагрузки ДНК ЭБВ между первичной и реактивированной формой не было установлено: медиана ВН в обеих группах составила 3,2 lg копий ДНК/мл (IQR 3,1-3,3), без возрастных различий. У пациентов с неактивной ВЭБИ в крови ДНК ЭБВ не была обнаружена. В группе здоровых детей ДНК ЭБВ в крови определялась в 4% случаев, медианное значение составило 2,7 lg копий ДНК/мл (IQR 2,6-3,0). Факт обнаружения ДНК ЭБВ в крови трактовался как неактивная (латентная) инфекция, так как отсутствовали клинические проявления заболевания, таблица 34.

Таблица 34

Вирусная нагрузка ДНК ЭБВ в крови

Статистические характеристики вирусной нагрузки	Моно ЭБВ-инфекция n = 318		Условно здоровые n =155		P
	коп/мл	Ig копий ДНК/мл	коп/мл	Ig копий ДНК/мл	
среднее арифм. значение	7805	3,4	512	2,4	0,002*
медиана	6300	3,2	254	2,7	0,001*
межквартильный размах [IQR]	[5200-7525]	[3,1-3,3]	[114-904]	[2,6-3,0]	-
минимальное значение	2500	3,4	86	1,9	0,001*
максимальное значение	25000	4,4	1231	3,09	0,001*

* достоверные различия между группами по критерию Пирсона

Таким образом, чувствительность, выражающая долю пациентов с активной ВЭБИ, точно определенных методом ПЦР по крови равна: $Se=318/318=1,0$ (100%), специфичность $Sp=143/155=0,96$ (96%), ДИ (0,91;0,98), прогностичность положительного результата $PPV=318/324=0,98=98\%$, ДИ (0,96;0,99) и прогностичность отрицательного результата $PNV =149/149=1,0=100\%$. Далее, использовали методику регрессионного анализа для построения математической модели, получили линейное уравнение регрессии: $y = -2,5 + 0,002x$, где x – значение вирусной нагрузки, таблица 35.

Таблица 35

Сводные данные по регрессионной модели острой ЭБВ-инфекции (кровь)

Атрибуты математической модели	(OR= e^b) Отношение шансов	95% ДИ OR	Значимость	Коэффициент Вальда	Коэффициент логистической регрессии (b)
вирусная нагрузка, x константа	1,002	1,0008- 1,003	0,0021	9,45	0,002 -2,5

Путем подставления значений вирусной нагрузки, в уравнение регрессии $p=1/1+e^{-(2,5+0,002x)}$, определили вероятность наличия острой ЭБВ-инфекции. Для минимизирования ложноположительных результатов критерием выбора порогового значения определили максимальную специфичность, то есть максимальную долю пациентов без заболевания. Оптимальный порог значений вирусной нагрузки ДНК ЭБВ в крови в этом случае составил 3,1lg (1200 коп ДНК/мл) (Se=0,97, Sp=1,00), рисунок 21.

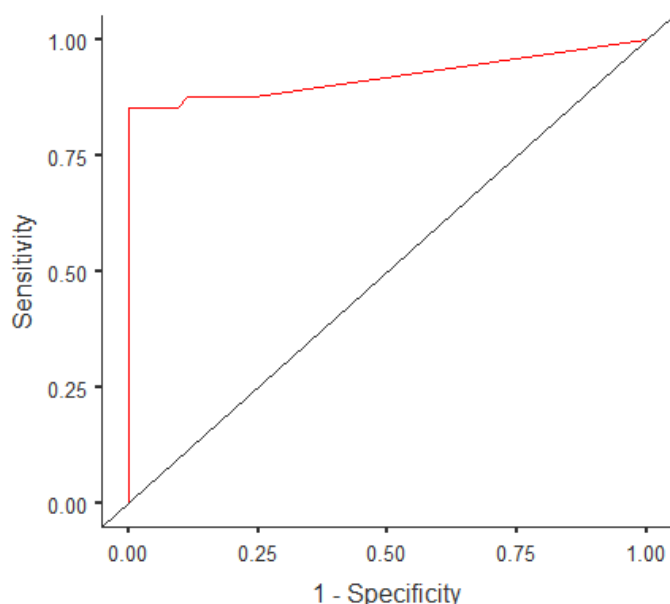


Рисунок 21. ROC-кривая диагностической способности логистической регрессионной модели прогноза острой ЭБВ-инфекции.

Таким образом, согласно построенной модели, активной ЭБВ-инфекции будут соответствовать значения $VH \geq 3,1lg$ (1200) коп ДНК/мл ЭБВ в крови, положительная прогностическая ценность (точность) PPV, в данной точке

составляет 100% (при построении рок-кривой, AUC=0,98), индекс Юдена=0,97, что характеризует высокое качество данной модели. В слюне ДНК ЭБВ определялась у 88,6% (282/318) детей с активной формой инфекции, с преобладанием максимальных значений в младшем возрасте при первичном инфицировании: 5,1 lg копий ДНК/мл (IQR 5,0-5,3) и 4,9 lg копий ДНК/мл (IQR 4,2-5,3) в группе реактивированной инфекции. С увеличением возраста детей происходило последовательное снижение величин ВН в слюне, как в случае первичной, так и в случае реактивированной ЭБВ-инфекции до уровня 4,6-4,8 lg копий ДНК/мл (IQR 3,8-5,1). При неактивной (латентной) ЭБВ-инфекции ПЦР-положительные образцы слюны встречались в 56% (56/100) случаев: в возрасте от 1 мес до 1 года – 85%, от 1 года до 4 лет – 39%, и от 4 до 7 лет – 77%. Медиана ВН ДНК ЭБВ в возрасте до 1 года составила 3,6 lg копий ДНК/мл (IQR 3,2-4,1), старше года - 3,8 lg копий ДНК/мл (IQR 3,4-4,1). В слюне условно здоровых детей ДНК ЭБВ была обнаружена в 8% (13/155) случаев. Медиана значений вирусной нагрузки составила 2,9 (IQR 2,6-3,1) копий ДНК/мл. Специфичность, тестирования для слюны составила $Sp=142/155=0,91$ (91%), ДИ (0,86;0,95). В моче ДНК ЭБВ не обнаруживалась ни в одной группе, таблице 36.

Таблица 36

Значения вирусной нагрузки ДНК ЭБВ в слюне

Статистические характеристики вирусной нагрузки	Моно ЭБВ-инфекция n =318		Условно здоровые n =155		p
	коп/мл	lg копий ДНК/мл	коп/мл	lg копий ДНК/мл	
среднее арифм. значение	62817	4,8	1193	3,07	0,002*
медиана	65000	4,8	934	2,9	0,001*
межквартильный размах [IQR]	[58000 - 5000]	[4,7-4,8]	[687 -362]	[2,6-3,1]	
мин значение	5436	3,7	123	2,08	0,001*
макс значение	110000	5,04	3923	3,6	0,001*

* достоверные различия между группами

Для расчета «порогового» разделяющего значения вирусной нагрузки использовали регрессионный анализ, сводные результаты которого, представлены в таблице 37.

Таблица 37

Сводные данные по регрессионной модели активной ЭБВ-инфекции (слюна)

Атрибуты математической модели	(OR= e^b) Отношение шансов	95% ДИ OR	Значимость	Коэффициент Вальда	Коэффициент логистической регрессии (b)
вирусная нагрузка, x константа	1,28	1,04- 1,58	0,01	5,6	0,25 -1,7

В полученном линейном уравнении регрессии: $y = -1,7 + 1,25x$, где x – значение десятичного логарифма вирусной нагрузки. Затем, рассчитали значения вероятности наличия острой ЭБВ-инфекции. Для минимизирования ложноположительных результатов критерием выбора порогового значения определили максимальную специфичность, то есть максимальную долю пациентов без заболевания. Оптимальное значение (порог) вирусной нагрузки ДНК ЭБВ в слюне в этом случае составил составил $3,71g$ (5500 коп ДНК/мл) ($Se=0,54$, $Sp=1,00$). Таким образом, согласно построенной модели, активной реактивированной/первичной ЭБВ-инфекции будут соответствовать значения $VH \geq 5500$ коп/ДНК ЭБВ в слюне, положительная прогностическая ценность (точность) (PPV), в данной точке составляет 100% (при построении рок-кривой, $AUC=0,63$), индекс Юдена=0,54, рисунок 22.

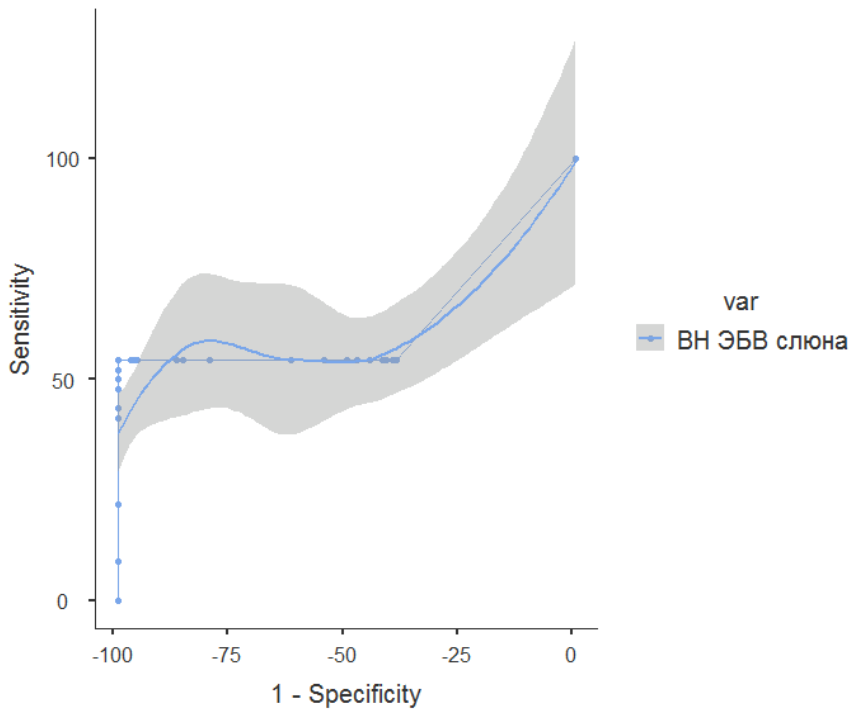


Рисунок 22. ROC-кривая диагностической способности логистической регрессионной модели прогноза острой ЭБВ-инфекции.

Решение задачи классификации форм инфекции (активная/неактивная) завершили применив метод деревьев решений, представив ее в виде древовидной структуры (рис. 24). В соответствии с представленными данными, нахождение в узле №3 (ВН крови более 3,1lg) сопровождалось увеличением риска вероятности активной ЭБВ-инфекции по сравнению со средней по исследуемой выборке в 1,3 раза, в узле №4 (ВН крови менее 3,1lg) – увеличение вероятности в 1,15 раза, ОШ=22. Отсутствие у пациента лихорадки более 5 дней (узел №2) сопровождалось снижением риска вероятности активной ЭБВ-инфекции по сравнению со средней по исследуемой выборке в 2,3 раза, рисунок 23.

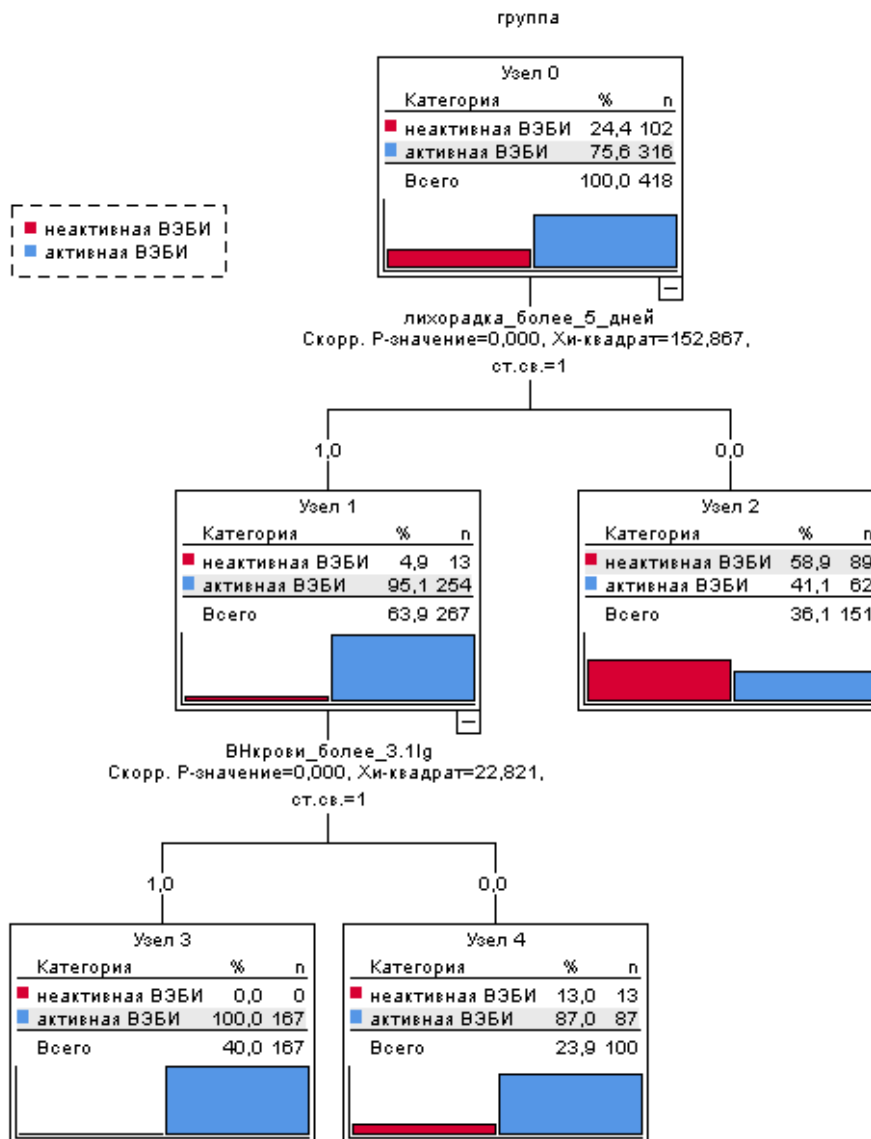


Рисунок 23. Дерево решений для задачи классификации активной ЭБВ-инфекции

Чувствительность полученной модели составила 80,4% , специфичность – 87%. Общая диагностическая эффективность составила $82,1 \pm 2\%$ (304 из 354), таблица 38.

Таблица 38

Классификационная модель активной ЭБВИ

Наблюдаемые	Предсказанные значения		Доля правильных значений, %
	неактивная ЭБВИ, %	активная ЭБВИ, %	
неактивная ЭБВИ	89	11	87,3
активная ЭБВИ	62	256	80,4
общая доля	36,1	63,9	82,1

В результате кросс-проверки общая диагностическая эффективность не изменилась, что свидетельствует об устойчивости полученной прогностической модели (таб. 46). Полученные в результате вычислений уравнения использовали для написания машинного кода в программном продукте (диагностическое IT-решение).

6.3. Оценка информативности качественного анализа слюны для определения активной фазы ЭБВ-инфекции

Для положительного и отрицательного результатов определения ДНК ВГЧ ЭБВ вычислили отношение правдоподобия LR слюны, таблица 39.

Таблица 39

Информативность качественной ПЦР слюны при ЭБВ-инфекции

Характеристики информативности	Абс.	ДИ
чувствительность, Se	0,54	0,40-0,67
специфичность, Sp	0,39	0,31-0,47
положительный прогностический результат, PPV	0,22	0,15-0,31
отрицательный прогностический результат, NPV	0,83	0,72-0,90
отношение правдоподобия для положительного результата, LR(+)	0,8	-
отношение правдоподобия для отрицательного результата, LR(-)	1,17	-

Проанализировав, вышеприведенную таблицу, можно предположить низкую диагностическую ценность качественной ПЦР слюны для диагностики активной ЭБВ-инфекции. Но, поскольку данные получены на небольших по количеству группах детей, то и интерпретировать их на всю популяцию нужно очень осторожно, помня о том, что в случае использования тест-системы другого производителя данные не могут быть сопоставлены. Далее в исследовании мы рассчитали апостериорную (послетестовую) вероятность того, что пациент имеет заболевание, при условии положительного результата теста. Для активной ЭБВ-инфекции получили: априорные шансы - 1,7; отношение правдоподобия для положительного результата теста - 0,8; апостериорные шансы - 1,4; апостериорная

вероятность - 0,58. Таким образом, вероятность того, что пациент имеет активную ЭБВ-инфекцию при положительной качественной ПЦР слюны составляет 58%.

6.4. Многофакторный анализ критериев активной ЭБВ-инфекции у детей до 7 лет

Нашим исследованием установлено, что возможными критериями активной ЭБВ-инфекции являются: ВН ДНК ЭБВ в крови более 3,1lg ДНК/10*5кл, лимфаденопатия «пакетами» (OR=11,1), лихорадка длительностью более 5 дней (OR=59,0), гепатоспленомегалия (OR=16,6), тонзиллит с налетами на миндалинах (OR=4,5), лейкоцитоз (OR =2,1), лимфоцитоз (OR =1,7), атипичные мононуклеары (OR =2,5), повышение АЛТ (OR= 1,5), снижение CD4+, CD16 (OR=5,7), повышение Ig E (OR =5,1), снижение IgA (OR =1,4) и рецидивирующие заболевания нижних дыхательных путей (OR=1,8) в анамнезе. С целью изучения взаимосвязи всех установленных критериев активной ЭБВ-инфекции между собой, а также для понижения размерности провели многофакторный анализ, который позволил отбросить несущественные и сгруппировать наиболее значимые их них в два фактора, обозначенных нами как основной и дополнительный, общий вклад которых в суммарную дисперсию составил 77,4%, мера адекватности оценена как высокая (КМО=0,8), таблица 40.

Таблица 40.

Матрица факторных нагрузок активной ЭБВ-инфекции

Клинические и лабораторные маркеры	Основной R1	Дополнительный R2
лимфаденопатия регионарная «пакетами»	0,889	0,062
лихорадка длительностью более 5 дней	0,847	0,068
гепатомегалия	0,799	0,353
ВН ДНК ЦМВ в крови более 3,1lg	0,785	0,369
атипичные мононуклеары	0,747	
лейкоцитоз	0,653	0,296
рецидивирующие заболевания нижних дыхательных путей в анамнезе	0,331	0,867

Таким образом, в результате многофакторного анализа, исходные признаки были объединены по некоторому набору «свойств», характеризующих связь между ними, в так называемые «факторы». Проведенный анализ позволил сократить число изучаемых переменных, получить новые переменные (факторы), и оценить корреляционные зависимости между ними. Установлено, что отобранные факторы позволяют описать 77,4% всех критериев активной ЭБВ-инфекции, а именно:

- основному фактору в острый период заболевания соответствуют такие критерии, как лихорадка длительностью более 5 дней, лейкоцитоз, атипичные мононуклеары, гепатомегалия, выраженная регионарная лимфаденопатия «пакетами», и значения ВН ДНК ЭБВ в крови более 3,1lg;
- дополнительный фактор составили такие критерии, как рецидивирующие заболевания нижних дыхательных путей в анамнезе.

Полученные факторы, преобразованные в численное значение были использованы для дальнейшего статистического анализа с помощью логистической регрессии. Наблюдаемую зависимость описывали уравнением, в которое вошли два полученных фактора основной (R1) и дополнительный (R2): $z = 1,9 + 1,8R_1 - 0,69R_2$. Исходя из значений регрессионных коэффициентов, фактор R1 имеет прямую связь с вероятностью развития активной ЭБВ-инфекции, увеличивая шансы в 5,5 раз (OR=5,5, ДИ3,8-8,0), дополнительный фактор – увеличивает в 1,8 раз (OR=1,8, ДИ1,1-2,5). Таким образом, получили прогнозирующую модель с двумя прогнозирующими факторами определяющим вероятность активной ЭБВ-инфекции. Чувствительность модели 81% и специфичность 71%. Полученная регрессионная модель является статистически значимой ($p=0,001$), критерий R^2 Нейджелкерка=0,47.

6.5. Резюме по главе 6

Установлены клинико-лабораторные критерии активной ЭБВИ: лимфаденопатия «пакетами» (Se=79%, Sp=74%), лихорадка длительностью

более 5 дней (Se=79%, Sp=94%), гепатоспленомегалия (Se=34%, Sp=97%), тонзиллит с налетами на миндалинах (Se=60%, Sp=75%), лейкоцитоз (Se=63%, Sp=43%), лимфоцитоз (Se=75%, Sp=34%), атипичные мононуклеары (Se=69%, Sp=84%), повышение АЛТ (Se=39%, Sp=54%) всегда в сочетании с АСТ, снижение CD4+, CD16 (Se=74%, Sp=66%), повышение Ig E (Se=59%, Sp=43%), снижение IgA (Se=69%, Sp=54%), рецидивирующие заболевания нижних отделов респираторного тракта, такие как трахеобронхит и бронхит (Se=32%, Sp=79%). Прогнозирующие модели различались в возрастных группах:

- от 1 мес до 1 года: два критерия - лимфаденопатия «пакетами» и лихорадка более 5 дней (Se=84%, Sp=67%);
- от 1 до 4 лет: три критерия - лимфаденопатия «пакетами», лихорадка более 5 дней и лимфоцитоз (Se=91%, Sp=72%);
- от 4 до 7 лет: два критерия - лимфаденопатия «пакетами» и лихорадка, (Se=90%, Sp=58%).

При изучении значений вирусной нагрузки ДНК ЭБВ в крови между формами активной инфекции (первичной и реактивированной) различия не были установлены: медиана ВН в обеих группах составила 3,2 lg копий ДНК/мл (IQR 3,1-3,4), без возрастных различий. В группе здоровых детей ДНК ЭБВ в крови определялась в 4% случаев, медианное значение составило 2,7 lg копий ДНК/мл. «Пороговое» значение ВН ДНК ЭБВ в крови составляет 3,1lg коп ДНК/мл, и является количественным критерием активной формы инфекции (Se=97%, Sp=100%). В слюне ДНК ЭБВ определяется у 88,6% детей с активной формой инфекции, с разницей в значениях медиан: 5,1 lg копий ДНК/мл при первичной форме против 4,9 lg копий ДНК/мл в группе реактивированной инфекции, с преобладанием максимальных значений в младшем возрасте при первичном инфицировании. При неактивной ЭБВ-инфекции ПЦР-положительные образцы слюны определены в 56% случаев, причем с возрастом их доля уменьшается от 85% до 76%, медиана ВН ДНК ЭБВ в возрасте до 1 года составила составила 3,6 lg копий ДНК/мл, старше года - 3,8 lg копий ДНК/мл. В слюне здоровых детей ДНК ЭБВ определяется в 8% случаев, медианное значение составляет 2,9 lg

копий ДНК/мл. «Пороговое» значение ВН ДНК ЭБВ в слюне cut off =3,7lg коп ДНК/мл, Se=0,54, Sp=1,00. Диагностическая способность качественной ПЦР слюны не высока, вероятность того, что пациент имеет активную ЭБВ-инфекцию при положительной качественной ПЦР слюны составляет 58%.

Критерии, прогнозирующие активную ЭБВ-инфекции могут быть объединены в два фактора, основной, состоящий из лихорадки длительностью более 5 дней, лейкоцитоза с наличием атипичных мононукларов, гепатомегалии, выраженной регионарной лимфаденопатии «пакетами», и значений ВН ДНК ЭБВ в крови более 3,1lg, и дополнительный - рецидивирующие заболевания нижних дыхательных путей. Чувствительность полученной модели- 81% и специфичность -71%. Полученная регрессионная модель является статистически значимой, что позволяет применять ее на практике.

ГЛАВА 7. КЛИНИЧЕСКИЕ И ЛАБОРАТОРНЫЕ КРИТЕРИИ АКТИВНОЙ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ВГЧ-6 А/В

7.1. Клинико-лабораторные критерии активной инфекции, вызванной ВГЧ-6А/В

Активная инфекция, вызванная ВГЧ 6А/В типа была определена у 207/780 детей (26,6%) – обнаружение ДНК в крови. При серологическом исследовании анти-ВГЧ6А/В антитела IgG, маркирующие реактивированную форму инфекции определялись в 77,3% (160/207) случаев, имея выраженные возрастные отличия: 90,7% (78/86) в младшей группе, 77% (54/70) в средней группе и 55% (28/51) - в старшей. Первичную форму ВГЧ6А/В-инфекции (ПЦР+ кровь, IgG-) переносили 22,7% (47/207) детей: 3,8% (8/207) в возрасте до 1 года, и 8% (16/207) от 1 года до 4 лет и 11% (23/207) от 4 до 7 лет. С целью установления критериев активной ВГЧ-6А/В инфекции проводили клинические сравнения с группой неактивной (латентной) ВГЧ-6А/В инфекции, которую составили 146 серопозитивных детей, наблюдавшихся по поводу острого респираторного заболевания сопровождавшегося тонзиллофарингитом (30%), ларинготрахеитом (19%), отитом (18,5%), бронхитом (11%), пневмонией (14%), риносинуситом (7,5%). Анализ клинических симптомов острой ВГЧ6-А/В инфекции, установил, что для нее характерен лимфонулярный синдром (увеличение регионарных лимфоузлов поднижнечелюстных и заднешейных, не спаянных в «пакеты», OR=8,6, ДИ 3,8-19,6, Se=30%, Sp=55%), лихорадка длительностью более 5 дней (OR=5,0, ДИ 2,9-8,6, Se=67%, Sp=95) и эпизод фебрильных судорог в анамнезе (OR=2,6, ДИ1,1-6,2, Se=12%, Sp=95), таблица 41.

Таблица 41

Оценка клинико-лабораторных характеристик активной ВГЧ 6А/В инфекции

Клинико-лабораторные характеристики	Чувствительность (Se, %)	Специфичность (Sp, %)	OR
лихорадка длительностью более 5 дней	67	95	5,0
лимфаденопатия регионарная не спаянная в «пакеты»	30	55	4,6
фебрильный судорожный приступ в анамнезе	12	95	2,6
лейкопения	34	66	4,4
снижение IgA	50	87	3,8

При анализе возрастных особенностей можно отметить, что судорожные эпизоды отмечались только у детей до 4 лет, а лихорадка более 5 дней характерна для детей старшего возраста ($\chi^2=12,5$, $p=0,002$). При анализе показателей гемограммы в группе активной ВГЧ-6А/В инфекции, достоверно чаще встречалась лейкопения у детей старше 1 года (OR =4,4, ДИ 2,4-8,2, Se=34%, Sp=66%). При анализе вариантов иммунного ответа, было установлено, что при активной ВГЧ-6А/В инфекции чаще отмечалось снижение IgA (OR=3,8, ДИ 1,1-12,7, Se=50%, Sp=87%). Активная инфекция ВГЧ-6А/В не сопровождалась более частой сопутствующей патологией, а при латентной инфекции чаще встречалась хроническая ЛОР-патология (OR=2,8, ДИ 1,8-4,3). Взаимосвязи критериев активной ВГЧ6А/В инфекции, изучали при помощи корреляционного анализа. У детей от 1 месяца до 1 года корреляционная связь средней силы установлена для частоты встречаемости лихорадки более 5 дней ($r=0,36$, $p=0,001$), лимфаденопатии ($r=0,27$, $p=0,002$) и фебрильного судорожного приступа ($r=0,22$, $p=0,002$). Построили математическую модель, в которую вошли два критерия - фебрильный судорожный приступ и лихорадка более 5 дней: $p = 1/(1 + e^{-z}) \times 100\%$, $z = -0,36 - 0,43 X_{\text{лихор}} + 2,14 X_{\text{ФСП}}$, где p - вероятность активной ВГЧ6, $X_{\text{лихор}}$ – наличие лихорадки более 5 дней, $X_{\text{ФСП}}$ – фебрильный судорожный приступ. Чувствительность 83% и специфичность 26%. В возрастной группе от 1 до 4 лет корреляционная связь установлена для частоты встречаемости лихорадки более 5 дней ($r=0,32$, $p=0,001$), лимфаденопатии не

спаянная в «пакеты» ($r=0,38$, $p=0,001$), лейкопении ($r=0,41$, $p=0,001$).

Наблюдаемую зависимость описывали уравнением: $z=0,45+0,39X_{\text{лихор}} - 1,9X_{\text{лпения}} - 0,7 X_{\text{ЛАП}}$. Таким образом, прогнозирующая модель с тремя вышеперечисленными критериями, в определении вероятности активной ВГЧ6А/В имеет 91% чувствительность и специфичность 45%. В возрастной группе от 4 до 7 лет прямая корреляционная связь активной ВГЧ6А/В установлена для частоты встречаемости нейтропении ($r=0,41$, $p=0,001$), лимфаденопатии не «пакеты» ($r=0,38$, $p=0,001$), лихорадки более 5 дней ($r=0,32$, $p=0,001$). Наблюдаемую зависимость описывали уравнением: $z=0,19 - 0,37X_{\text{лихор}}+0,8X_{\text{ЛАП}} + 1,8X_{\text{лпения}}$. Таким образом, прогнозирующая модель с тремя критериями, в определении вероятности активной ВГЧ-6А/В имеет 90% чувствительность и специфичность 26%.

Таким образом, общим критерием активной ВГЧ-6А/В инфекции для всех возрастных групп можно считать лихорадку длительностью более 5 дней. В возрастной группе до 1 года критерием активной ВГЧ-6А/В является судорожный приступ, а у детей старше года – регионарная лимфаденопатия (не «пакеты») и лейкопения. Данные критерии имеют невысокие значения чувствительности и специфичности, что не исключает возможности как ложноположительного, так и ложноотрицательного диагноза.

7.2. Вирусная нагрузка ДНК ВГЧ-6А/В в крови и слюне в активную фазу инфекции

Проводили анализ вирусной нагрузки в группах с активной и неактивной формой инфекции. В крови всех пациентов с активной ВГЧ-6А/В инфекцией определялась ДНК ВГЧ-6А/В (условия включения в исследование). Различий величины вирусной нагрузки ДНК ВГЧ-6А/В между первичной и реактивированной формой не было установлено: медиана ВН при первичной ВГЧ-6А/В инфекции составила $3,8 \lg$ коп ДНК/мл (IQR 3,7-4,2), при реактивированной

ВГЧ-6А/В инфекции – 3,9 коп ДНК/мл (IQR 3,7- 4,2). У пациентов с неактивной ВГЧ-6А/В инфекцией в крови ДНК ВГЧ-6А/В не была обнаружена (условие включения). В группе здоровых детей ДНК ВГЧ-6А/В в крови определялась в 7,7% случаев (12/155), медианное значение составило 3,0 lg коп ДНК/мл (IQR 2,8-3,2). Факт обнаружения ДНК ВГЧ-6А/В в крови трактовался как неактивная (латентная) форма инфекции, так как отсутствовали клинические проявления заболевания, таблица 42.

Таблица 42

Вирусная нагрузка ДНК ВГЧ-6 А/В (кровь)

Статистические характеристики вирусной нагрузки	Моно ВГЧ-6А/В-инфекция n = 207		Условно здоровые n =155		P
	коп/мл	Ig копий ДНК/мл	коп/мл	Ig копий ДНК/мл	
среднее арифм. значение	2505	3,4	280	2,4	0,002*
медиана	6890	3,8	1100	3,0	0,001*
межквартильный размах [IQR]	[4700-14700]	[3,7-4,2]	[630-1600]	[2,8-3,2]	-
минимальное значение	2500	3,4	86	1,9	0,001*
максимальное значение	25000	4,4	2400	3,3	0,001*
* достоверные различия между группами					

Таким образом, чувствительность, выражающая долю пациентов с активной ВГЧ-6А/В инфекцией, точно идентифицированных тестом по крови равна: $Se=207/207=1,0$ (100%), специфичность $Sp=143/155=0,92$ (92%), ДИ (0,86;0,95), прогностичность положительного результата $PPV=207/219=0,94=94\%$, ДИ (0,90;0,96) и прогностичность отрицательного результата $PNV=143/143=1,0=100,0\%$. «Пороговое» значение ВН ДНК ВГЧ6-А/В в крови 3,2lg (1564 коп ДНК/мл) ($Se=1,00$, $Sp=0,98$), вычисляли по уравнению $y = -7,3 + 3,1x$, таблица 43.

Таблица 43

Сводные данные по регрессионной модели острой ВГЧ6-инфекции (кровь)

Атрибуты математической модели	(OR= e^b) Отношение шансов	95% ДИ OR	Значимость	Коэффициент Вальда	Коэффициент логистической регрессии (b)
вирусная нагрузка, x константа	23,0	8,5-293	0,00	21,2	3,1 -7,3

Качество моделирование оценено при помощи ROC-кривых, AUC=0,98 и индекса Юдена=0,97, как высокое, рисунок 24.

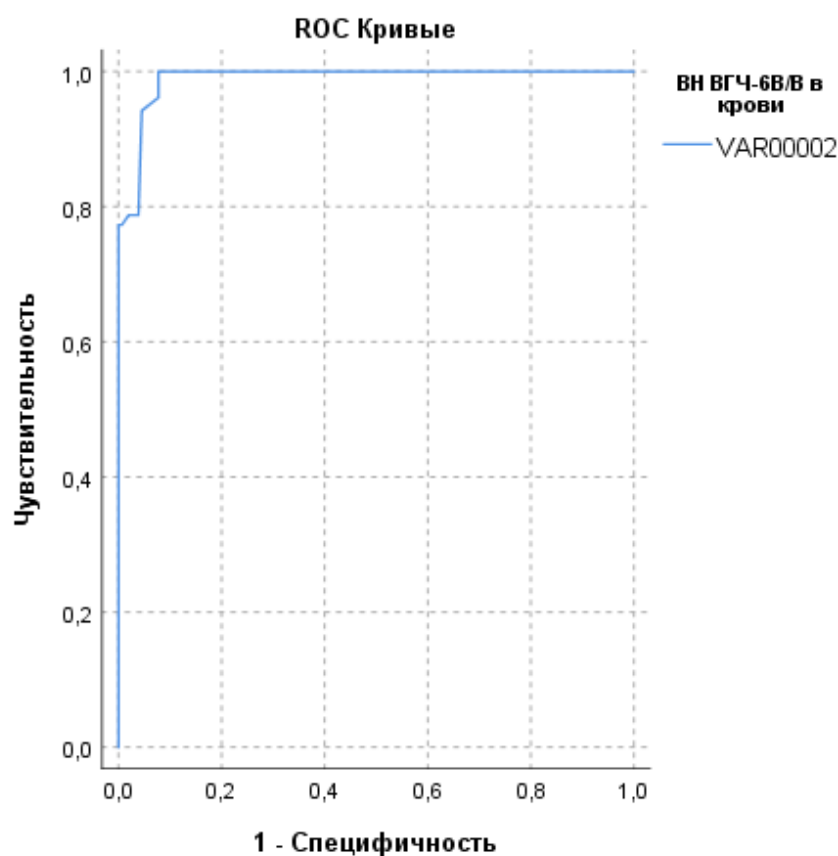


Рисунок 24. ROC-кривая диагностической способности логистической регрессионной модели прогноза острой ВГЧ6-инфекции (ВН крови)

В слюне ДНК ВГЧ-6А/В определялась у 91,8% (190/207) детей с активной формой инфекции, с преобладанием максимальных значений в младшем возрасте при первичном инфицировании: 3,9 lg копий ДНК/мл (IQR 3,7-4,1) против 3,5 lg копий ДНК/мл (IQR 3,2-3,9) в группе реактивированной инфекции, таблица 44.

Таблица 44

Вирусная нагрузка ДНК ВГЧ6А/В (слюна)

Статистические характеристики вирусной нагрузки	Моно-ВГЧ-6 А/В-инфекция n =207		Условно здоровые n =155		p
	коп/мл	lg копий ДНК/мл	коп/мл	lg копий ДНК/мл	
среднее арифм. значение	47369	4,6	6100	3,8	0,001*
медиана	59934	3,7	1123	3,1	-
межквартильный размах [IQR]	[19644- 65471]	[3,3-4,7]	[623 - 6345]	[2,9-3,5]	-
минимальное значение	4325	3,6	112	2,0	0,001*
максимальное значение	87222	4,9	32654	4,5	0,001*
* достоверные различия между группами					

С увеличением возраста детей происходило последовательное снижение величин ВН в слюне, как в случае первичной, так и в случае реактивированной ВГЧ-6А/В инфекции до уровня 3,2-3,1 lg копий ДНК/мл (IQR 2,8-3,3). При неактивной (латентной) ВГЧ-6А/В инфекции ПЦР-положительные образцы слюны встречались в 86,3% (126/146) случаев: в возрасте от 1 мес до 1 года – 100%, от 1 года до 4 лет – 76%, и от 4 до 7 лет – 82,6%. Медиана ВН ДНК ВГЧ-6А/В в слюне среди детей с неактивной формой инфекции в возрасте до 1 года составила 3,9 lg копий ДНК/мл (IQR 3,7-4,1), старше года - 3,1 lg копий ДНК/мл (IQR 3,2-4,1). В слюне условно здоровых детей ДНК ВГЧ-6А/В была обнаружена в 14,8% (23/155) случаев. Медиана значений вирусной нагрузки составила 3,1 (IQR 2,9-3,5) копий ДНК/мл. Несмотря на высокую чувствительность метода ПЦР для определения активной формы ВГЧ-6А/В по анализу слюны (91%), специфичность оказалась низкой (13,7%), прогностичность положительного результата теста составила PPV=86,0%, отрицательного NPV=1,5%.

Полученные диагностические характеристики качественной ПЦР слюны позволяют утверждать, что данный метод обладает неплохой чувствительностью, но низкой специфичностью с большой долей ложноположительных результатов, что обуславливает необходимость применения количественного ПЦР-анализа с

определением «порогового» значения вирусной нагрузки. Получили линейное уравнение регрессии: $y = -17,5 + 3,9x$, где x – значение вирусной нагрузки, таблица 45.

Таблица 45

Сводные данные по регрессионной модели активной ВГЧ6-инфекции (кровь)

Атрибуты математической модели	($OR=e^b$) Отношение шансов	95% ДИ OR	Значимость	Коэффициент Вальда	Коэффициент логистической регрессии (b)
вирусная нагрузка, x константа	50,0	8,5-293	0,00	19,0	3,9 -17,5

Для минимизирования ложноположительных результатов критерием выбора порогового значения определили максимальную специфичность, «пороговое» значение ВН ДНК ВГЧ-6А/В в слюне $3,71g$ (5700 коп ДНК/мл) ($Se=1,0$, $Sp=1,00$). Таким образом, согласно построенной модели, активной ВГЧ-6А/В будут соответствовать $VH \geq 5700$ коп/ДНК ВГЧ-6А/В в слюне, положительная прогностическая ценность (точность) PPV, в данной точке составляет 100% (при построении рок-кривой, $AUC=0,89$), индекс Юдена= $0,35$ подтверждает значимость модели (рис. № 26), $ОШ=239$, рисунок 25.

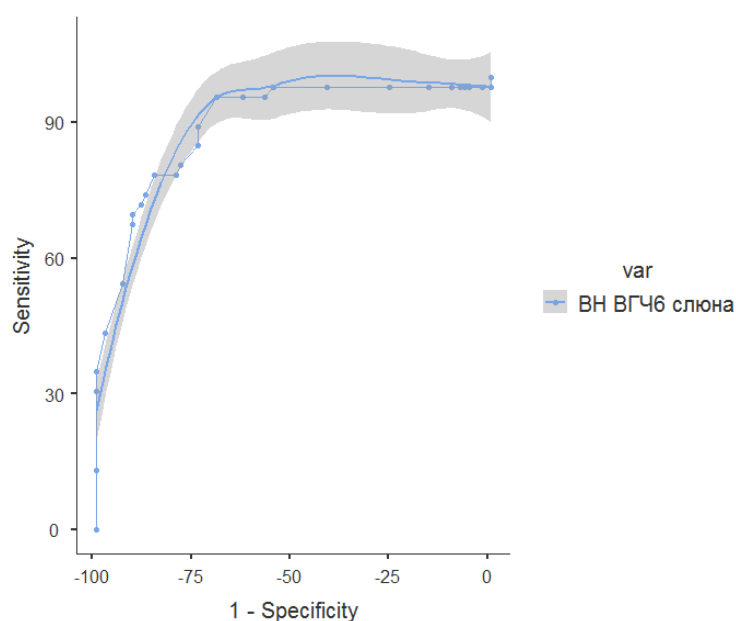


Рисунок 25. ROC-кривая диагностической способности логистической регрессионной модели прогноза активной ВГЧ-6А/В-инфекции.

Решение задачи классификации форм инфекции (активная/неактивная) завершили применив метод деревьев решений. В соответствии с представленными данными, наличие у пациента ВН ДНК ВГЧ-6А/В крови более 3,7lg (узел №1) сопровождалось увеличением риска вероятности активной ВГЧ-6А/В по сравнению со средней по исследуемой выборке в 1,6 раза. Нахождение в терминальном узле №2 сопровождалось снижением такой вероятности по сравнению со средневыборочной в 2,09 раза, рисунок 27.

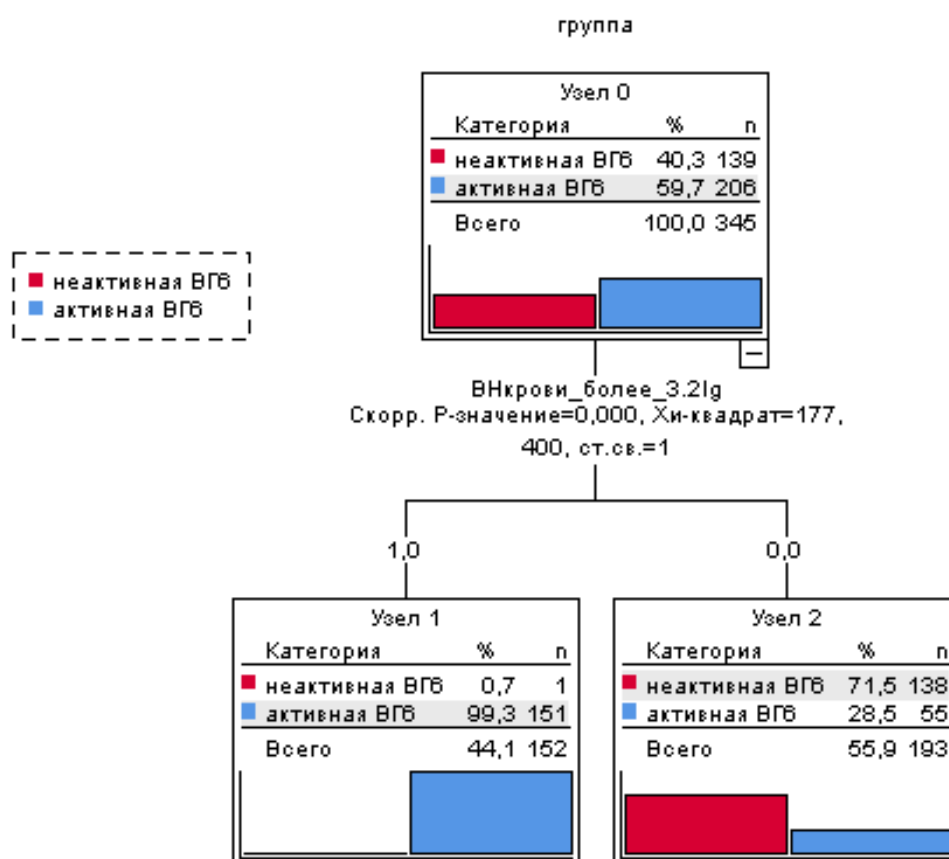


Рисунок 27. Дерево решений для задачи классификации активной ВГЧ-6А/В-инфекции

Чувствительность полученной модели составила 73,3%, специфичность – 99,3%. Общая диагностическая эффективность составила $83,8,6 \pm 2,3\%$. таблица 46.

Таблица 46

Классификационная модель активной ВГЧ-6А/В

Наблюдаемые	Предсказанные значения		Доля правильных значений
	неактивная ВГЧ-6А/В	активная ВГЧ-6А/В	
Неактивная ВГЧ-6А/В	138	10	99,3%
Активная ВГЧ-6А/В	55	151	73,3%
Общая доля	55,9%	44,1%	83,8%

В результате кросс-проверки общая диагностическая эффективность не изменилась, что свидетельствует об устойчивости полученной прогностической модели. Полученные в результате вычислений уравнения использовали для написания машинного кода в программном продукте (диагностическое ИТ-решение).

7.3. Оценка информативности качественной ПЦР в определении активной ВГЧ-6А/В инфекции

Для положительного и отрицательного результатов определения ДНК ВГЧ - 6А/В качественной ПЦР слюны рассчитали отношение правдоподобия LR, таблица 47.

Таблица 47

Информативность качественной ПЦР слюны (ВГЧ-6А/В-инфекция)

Статистические характеристики	Абс.	ДИ
чувствительность, Se	0,96	0,88-0,99
специфичность, Sp	0,22	0,16-0,29
положительный прогностический результат, PPV	0,44	0,32-0,57
отрицательный прогностический результат, NPV	0,96	0,84-0,99
отношение правдоподобия для положительного результата, LR(+)	1,23	-
отношение правдоподобия для отрицательного результата, LR(-)	0,18	-

Проанализировав, вышеприведенную таблицу, можно предположить низкую диагностическую ценность качественной ПЦР слюны для диагностики активной ВГЧ6 инфекции. Но, поскольку данные получены на небольших по количеству группах детей, то и интерпретировать их на всю популяцию нужно очень

осторожно, помня о том, что в случае использования тест-системы другого производителя данные не могут быть сопоставлены. В своем исследовании мы рассчитали апостериорную (послетестовую) вероятность того, что пациент имеет заболевание, при условии положительного результата теста. Для активной ВГЧ6-инфекции, вероятность того, что пациент имеет активную ВГЧ6-инфекцию при положительной качественной ПЦР слюны составляет 53%.

7.4. Многофакторный анализ критериев активной ВГЧ-6А/В у детей до 7 лет

Нашим исследованием установлено, что критериями активной ВГЧ-6А/В инфекции являются: регионарная лимфаденопатия (OR=8,6), лихорадка длительностью более 5 дней (OR=5,0), фебрильный судорожный эпизод в анамнезе (OR=2,6), лейкопения у детей старше 1 года (OR =4,4), снижение IgA (OR =3,8), хроническая ЛОР-патология (OR=2,8), ВН ДНК ВГЧ-6А/В в крови более 3,2lg ДНК/мл. С целью изучения взаимосвязи всех установленных критериев активной ВГЧ-6А/В между собой, провели многофакторный анализ, который позволил отбросить несущественные и сгруппировать наиболее значимые их них в два фактора, обозначенных нами как основной (R1) и дополнительный (R2), общий вклад которых в суммарную дисперсию составил 90,0%, мера адекватности оценена как высокая (КМО=0,46) таблица 48.

Таблица 48

Матрица факторных нагрузок активной ВГЧ-6А/В инфекции

Клинические и лабораторные критерии сопутствующие активной ВГЧ6	Основной R1	Дополнительный R2
фебрильный судорожный приступ		0,92
регионарная лимфаденопатия		0,91
ВН ДНК ВГЧ6 в крови более 3,2lg	0,99	
лихорадка более 5 дней	0,81	

Проведенный анализ позволил сократить число изучаемых переменных, получить новые переменные (факторы), и оценить корреляционные зависимости

между ними. Установлено, что отобранные факторы позволяют описать 90% всех критериев активной ВГЧ-6А/В инфекции, а именно:

- основной фактор - ВН ДНК ВГЧ-6А/В в крови более 3,2lg в острый период заболевания;
- дополнительный фактор - регионарная лимфаденопатия и фебрильный судорожный приступ в анамнезе.

Полученные факторы, преобразованные в численное значение были использованы для дальнейшего статистического анализа с помощью логистической регрессии. Наблюдаемую зависимость описывали уравнением, в которое вошли два полученных фактора основной (R1) и дополнительный (R2): $z = 1,3 + 8,8R_1 - 4,9R_2$. Исходя из значений регрессионных коэффициентов, фактор R1 имеет прямую связь с вероятностью развития активной ВГЧ-6А/В, увеличивая шансы в 65,5 раз (OR=65,5, ДИ 55-583,0), дополнительный - в 1,5 раза (OR=1,5, ДИ 1,3-1,7). Таким образом, получили прогнозирующую модель с двумя прогнозирующими факторами определяющими вероятность активной ВГЧ-6А/В. Чувствительность модели 91% и специфичность 88%. Полученная регрессионная модель является статистически значимой ($p=0,001$), критерий R^2 Нейджелкерка=0,85.

7.5. Резюме по главе 7

Установлены клинико-лабораторные критерии активной фазы ВГЧ-6А/В инфекции: увеличение регионарных лимфоузлов, не спаянных в «пакеты» (Se=30%, Sp=55%), лихорадка длительностью более 5 дней (Se=67%, Sp=95) и эпизод фебрильных судорог в анамнезе (Se=12%, Sp=95), лейкопения у детей старше 1 года (Se=34%, Sp=66%), снижение IgA (Se=50%, Sp=87%). Прогнозирующие модели различались в возрастных группах:

- от 1 мес до 1 года: два критерия - фебрильный судорожный приступ и лихорадка более 5 дней (Se=83%, Sp=26%);

- от 1 до 4 лет: три критерия - лихорадка более 5 дней, лимфаденопатия более 1 см, лейкопения ($Se=91\%$, $Sp=45\%$);

- от 4 до 7 лет: три критерия - нейтропения, лимфаденопатия, лихорадка более 5 дней ($Se=90\%$, $Sp=26\%$). Между значениями вирусной нагрузки ДНК ВГЧ-6А/В в крови между первичной и реактивированной инфекцией различия не были установлены: медиана ВН при первичной ВГЧ-6А/В инфекции составила 3,8 lg коп ДНК/мл (IQR 3,7-4,2), при реактивированной ВГЧ-6А/В инфекции – 3,9 коп ДНК/мл. У пациентов с неактивной ВГЧ-6А/В инфекцией в крови ДНК ВГЧ-6А/В не была обнаружена. В группе здоровых детей ДНК ВГЧ-6А/В в крови определялась в 8% случаев, медианное значение составило 3,0 lg копий ДНК/мл. «Пороговое» значение ВН ДНК ВГЧ-6А/В в крови составляет 3,2lg коп ДНК/мл, и является количественным критерием активной формы инфекции ($Se=100\%$, $Sp=98\%$). В слюне ДНК ВГЧ-6А/В определяется у 91,8% детей с активной формой инфекции, с разницей в значениях медиан: 3,9 lg копий ДНК/мл при первичной форме против 3,5 lg копий ДНК/мл в группе реактивированной инфекции, с преобладанием максимальных значений в младшем возрасте при первичном инфицировании. При неактивной ВГЧ-6А/В ПЦР-положительные образцы слюны встречаются в 86,3% случаев, с возрастом их доля уменьшается от 100% до 82,0%. Медиана ВН ДНК ВГЧ-6А/В в возрасте до 1 года составила 3,9 lg копий ДНК/мл, старше года - 3,1 lg копий ДНК/мл. В слюне здоровых детей ДНК ВГЧ-6А/В определяется в 15% случаев, медианное значение составляет 3,1 lg копий ДНК/мл. «Пороговое» значение ВН ДНК ВГЧ -6А/В в слюне cut off =3,7lg коп ДНК/мл, $Se=1,0$, $Sp=1,00$. В результате исследования установлено, что критерии, прогнозирующие активную ЭБВ-инфекцию могут быть объединены в два фактора, основной - ВН ДНК ВГЧ-6А/В в крови более 3,2lg и лихорадка более 5 дней и дополнительный - состоящий из таких критериев, как регионарная лимфаденопатия и фебрильный судорожный приступ в анамнезе. Диагностическая ценность качественной ПЦР слюны для диагностики активной ВГЧ6 инфекции является невысокой, вероятность того, что пациент имеет

активную ВГЧ6-инфекцию при положительной качественной ПЦР слюны составляет 53%.

ГЛАВА 8. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФАЗЫ ИНФЕКЦИОННОГО ПРОЦЕССА ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ВГЧ 4,5,6А/В У ДЕТЕЙ

Полученные в нашем исследовании критерии активной ВГЧ 4,5,6А/В инфекции, были разделены на две группы, в соответствии со значениями чувствительности и OR: общие, с высокими значениями чувствительности и OR, и - частные. Таким образом, мы предлагаем для диагностики активной ВГЧ 4,5,6А/В-инфекции использовать алгоритм включающий все обязательные общие критерии и часть частных. Посредством корреляционного анализа в нашем исследовании был установлен общий критерий активных форм ВГЧ4,5,6 А/В инфекции, со значениями специфичности более 90% и $OR > 5$ - лихорадка длительностью более 5 дней. В качестве второго общего критерия, мы предлагаем использовать пороговые значения вирусной нагрузки ДНК ВГЧ 4,5,6А/В в крови (специфичность 87-99%, $OR > 22$), установленные при помощи логистической регрессии.

Дополнительные частные критерии, которым соответствовали более низкие значения OR, были установлены посредством регрессионного и факторного анализа (см. рисунок ниже), для ЦМВИ – лимфаденопатия «пакетами» ($Sp=79\%$, $OR=5,8$), гепатоспленомегалия ($Sp=94\%$, $OR=4,7$), снижение CD4+, CD16 в остром периоде заболевания ($Sp=70\%$, $OR > 3,9$), хронические заболевания ЛОР-органов в анамнезе ($Sp=65\%$, $OR > 1,45$), для ВЭБИ – лимфаденопатия «пакетами» ($Sp=74\%$, $OR=11,1$), гепатоспленомегалия ($Sp=97\%$, $OR=16,6$) в остром периоде заболевания, атипичные мононуклеары ($Sp=84\%$, $OR > 2,5$), лейкоцитоз ($Sp=43\%$, $OR > 2,1$) и рецидивирующие воспалительные заболевания нижних дыхательных путей в анамнезе ($Sp=79\%$, $OR > 1,8$), для ВГЧ6А/В-инфекции – лимфаденопатия регионарная ($Sp=55\%$, $OR > 4,6$) в остром периоде заболевания и фебрильный судорожный приступ в анамнезе ($Sp=95\%$, $OR > 2,6$), таблица 49 .

Таблица 49

Оценка критериев активной фазы ВГЧ4,5,6 инфекции

Градация критериев по частоте и периоду регистрации			Оценка предиктивности критериев для различных типов инфекции Se%, OR		
			ЦМВИ	ВЭБИ	ВГЧ-6A/B
общие	острый период	ВН ДНК в крови cut off	100% OR=26	100% OR=22	98% OR=22
		лихорадка более 5 дней	91% (OR=12)	94% (OR=59)	95% (OR=5)
частные	острый период	лимфаденопатия	«пакетами» 79% (5,8)	«пакетами» 74% (11,1)	регионарная 55% (4,6)
		гепато (сплено)мегалия	94% (4,7)	97% (16,6)	
		атипичные мононуклеары		84% (2,5)	
		↓CD4, CD16	70% (3,9)		
		лейкопения			
		лейкоцитоз		43% (2,1)	
		в анамнезе	ФСП		
	рецидивирующие заболевания нижних дыхательных путей			79% (1,8)	
	хронические заболевания ЛОР-органов		65% (1,45)		

Таким образом, с учетом специфичности и чувствительности критериев был составлен алгоритм прогнозирования вероятности активной ВГЧ 4,5,6A/B инфекции и дополнено определение бинарной классификации, рисунок 28.

Алгоритм принятия врачебного решения об активной ВГЧ 4,5,6 у детей

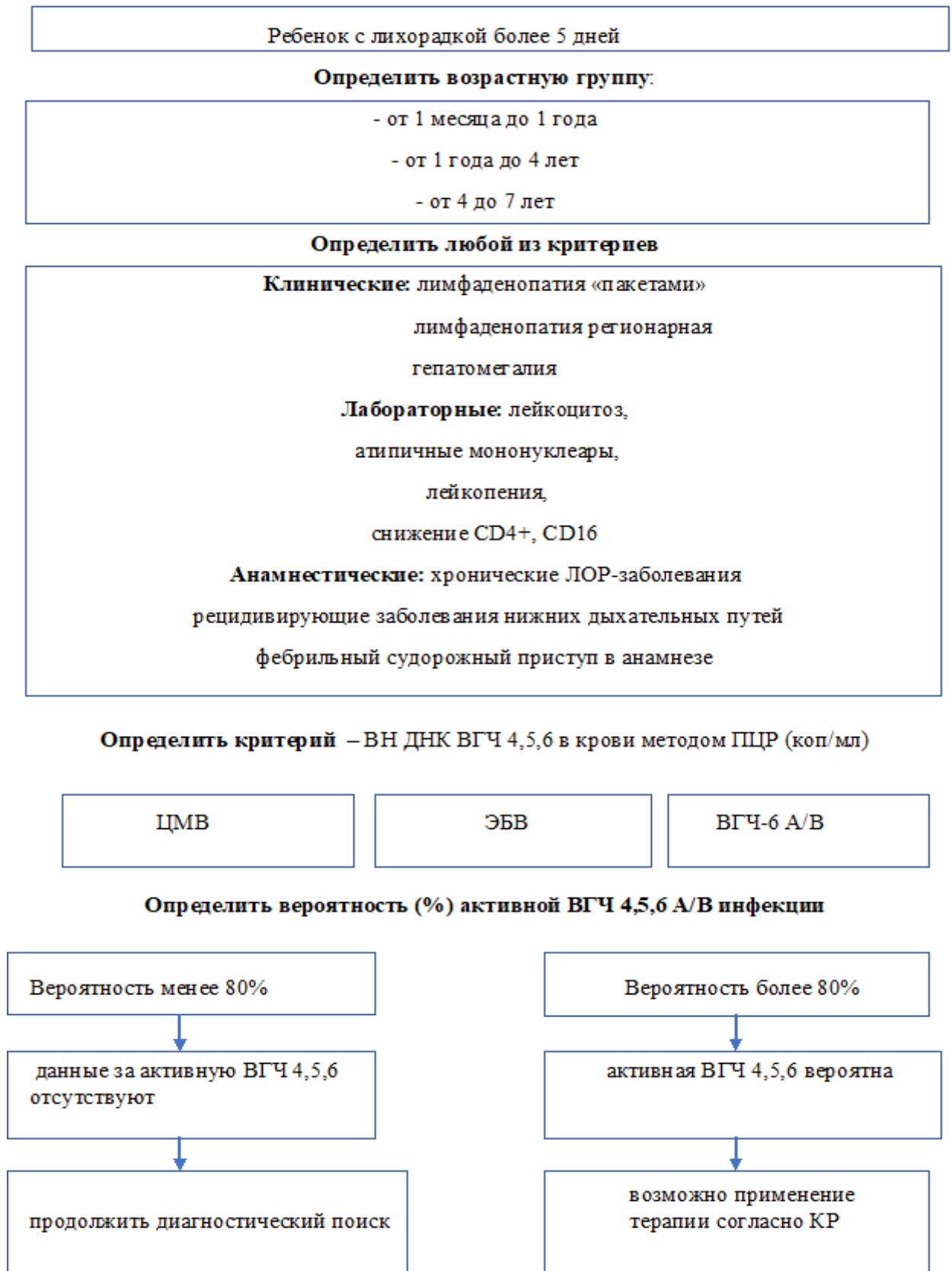


Рисунок 28. Алгоритм определения вероятности активной ВГЧ 4,5,6.

8.1. Примеры применения диагностического алгоритма

По нашему предположению клинико-лабораторный алгоритм найдет применение в диагностически неясных случаях при атипичном течении первичной инфекции, и, скорее всего чаще – при реактивированной инфекции. Именно такие клинические ситуации и были выбраны в качестве иллюстрирующих примеров. В главе 5 данного исследования описаны случаи реактивированной ВГЧ 4,5,6А/В инфекции, к которым мы применили полученный диагностический алгоритм, реализованный в IT-решении Project1, рисунок 29.

The screenshot shows a software window titled "Form1" with the following elements:

- Input fields: "Возраст в годах" (Age in years) with value "4" and "До года →" (Up to year) with an empty field; "Укажите вирусную нагрузку в крови коп/мл" (Specify viral load in blood copies/ml) with value "4299".
- Three calculation buttons: "Расчет ЦМВ" (CMV calculation), "Расчет ЭБВ" (EBV calculation), and "Расчет ВГЧ-6" (HHV-6 calculation). The "Расчет ЭБВ" button is highlighted with a blue border.
- Checkboxes for clinical signs:
 - Under "Расчет ЦМВ": "Лихорадка более 5 дней" (Fever for more than 5 days) , "Лимфоцитоз" (Lymphocytosis) .
 - Under "Расчет ЭБВ": "Лихорадка более 5 дней" (Fever for more than 5 days) , "Лимфаденопатия «пакетами»" (Lymphadenopathy «packet») .
 - Under "Расчет ВГЧ-6": "Лихорадка более 5 дней" (Fever for more than 5 days) , "Лейкопения" (Leukopenia) , "Лимфаденопатия «пакетами»" (Lymphadenopathy «packet») .
- Results section:
 - % Вероятности ЦМВИ (CMV probability) - empty.
 - % Вероятности ЭБВ (EBV probability) - 27,1. Text: "Вероятность активной ЭБВ инфекции отсутствует" (Probability of active EBV infection is absent).
 - % Вероятности ВГЧ-6 (HHV-6 probability) - empty.
- A "Расчитать все" (Calculate all) button at the bottom right.

Рисунок 29. Результат работы диагностического алгоритма.

В примере 2 описан пациент 4 лет с реактивированной смешанной ЦМВ-ЭБВ инфекцией. В соответствии с алгоритмом, определяем наличие у пациента двух «больших» признаков – лихорадка более 5 дней (имеется) и значения вирусной нагрузки в крови: ДНК ЭБВ - 4560 коп/мл, ДНК ЦМВ – 13420 коп/мл, которые превышают «пороговые» значения. Кроме того, имеются и «малые» признаки – лимфаденопатия «пакетами» и лейкоцитоз ($24,2 \times 10^9/\text{л}$). Отметив эти признаки в

программном продукте Project1, получаем результат работы алгоритма в виде значения вероятности активной ВГЧ 4,5,6 А/В инфекции, составляющий 67%. Данный клинический случай демонстрирует пример реактивированной смешанной ЦМВ-ЭБВ инфекции. Значение вероятности практический врач интерпретирует соответственно клинической ситуации, полученный результат вполне может быть использован при постановке клинического диагноза: инфекционный мононуклеоз (реактивация инфекции ВГЧ-4,5), среднетяжелое течение.

В примере 3, разбирается случай реактивированной ЭБВ-инфекции, которая протекала по типу острого гепатита у четырехлетнего ребенка. Данный случай представляет собой значительную диагностическую трудность, так как гиперферментемия, гепатоспленомегалия и отсутствие серологических маркеров гепатитов А,В,С предполагает поиск этиологического маркера, которым в данном случае оказалось значение ВН ДНК ЭБВ в крови 12389 копий/мл. В данном случае имеется один большой критерий (значения ВН в крови) и все три малых – лейкоцитоз, лимфаденопатия и гепатоспленомегалия. Применяв диагностический алгоритм, получаем вероятность активной ЭБВ-инфекции 69%, что вполне приемлемо для принятия обоснованного решения при постановке диагноза.

В примере 4 у ребенка 1 года 6 мес рецидивирует гнойный отит с развитием мастоидита на фоне лимфаденопатии и длительной лихорадки, необъяснимой с точки зрения отоларингологической картины (купирование воспаления после курса антибиотикотерапии). Проведенное уточняющее исследование методом ПЦР крови определило 70000 коп ДНК/мл. В данном случае имеются как два «больших» диагностических признака (лихорадка более 5 дней, и ВН крови более 4700 коп ДНК ЦМВ/мл), так и малые – лимфаденопатия «пакетами» и анамнез хронического ЛОР-заболевания. Данный клинический пример демонстрирует случай реактивированной ЦМВ-инфекции, которая сопутствовала острому двустороннему гнойному отиту (мастоидиту), однозначно утяжеляя его течение. Наличие стойкой лихорадки после санации локального очага воспаления и ее купирование на фоне применения антицитомегаловирусного препарата

подтверждают этиопатогенетическую роль цитомегаловируса в течении заболевания. Применяв диагностический алгоритм, получаем достаточную вероятность для подтверждения активной ЦМВ-инфекции - 89%.

В примере 5 у ребенка 3 лет 5 мес на фоне лихорадки более 5 дней развивается увеличение лимфоузлов, при проведении ПЦР крови - 24000 коп ДНК ВГЧ-6/мл. В данном случае имеются все диагностические критерии: «большие» - лимфаденопатия и ВН крови более 1564, и «малые» - фебрильный судорожный приступ в анамнезе, применяв алгоритм, получаем вероятность активной ВГЧ-6 равную 87%. Данный клинический пример демонстрирует случай реактивированной ВГЧ6 инфекции, диагноз: инфекционный мононуклеоз, реактивация инфекции ВГЧ-6, среднетяжелое течение.

Для проверки гипотезы о том, что реактивации ВГЧ 4,5,6 может способствовать общее тяжелое состояние пациента, мы применили полученный нами диагностический алгоритм к пациентам ОРИТ, у которых имелись лабораторные маркеры активной инфекции (детекция ДНК ВГЧ 4,5,6 в крови). Был проведен анализ амбулаторных карт и выписок пациентов ОРИТ МУЗ ГДКБ № 13 в период с 2012г. по 2018 г. Всего просмотрено 1416 эпикризных заключений, и только в 3,9% (56/1416) из них, проводилось необходимое обследование на маркеры ВГЧ 4,5,6. В группу исследования вошли 15 пациентов в возрасте от 1 до 14 лет (медиана возраста составила 3 года [IQR 2,5;6], соответствовавших критериям включения. Следует отметить, что 40% (6/15) детей этой группы ранее не имели серьезных проблем со здоровьем, еще 40% (6/15) являлись инвалидами детства, оставшиеся 3 человека - это дети с декомпенсацией основного заболевания, послужившей причиной госпитализации (ВИЧ, первичный иммунодефицит, цирроз) и смерти (13,3%, 2/15). Причиной госпитализации всех детей в ОРИТ была тяжелая вирусная или вирусно-бактериальная инфекция, сопровождающаяся развитием пневмонии (33,3%, 5/15), гемофагоцитарного синдрома (6,6%, 1/15), гнойного трахеобронхита с обструкцией (20,0%, 3/15), токсикоза с эксикозом (26,6%, 4/15), полиорганной недостаточности (13,3%, 2/15).

Реактивация моно ЦМВ-инфекции отмечалась у 66,6% (10/15) детей группы, реактивация моно ЭБВ-инфекции - у 33,4% (5/15). Имелись достоверные различия возраста детей, с различными видами инфицирования, так, медиана возраста пациентов с реактивированной ЦМВ инфекцией составила 2 года [IQR 1,25;2], с реактивированной ЭБВ-инфекцией - 5 лет [IQR 4;9], $p=0,034$.

Среди детей с реактивированной моно ЦМВ-инфекцией 40% (4/10) не являлись инвалидами детства и ранее не имели значительных проблем со здоровьем, причиной госпитализации в ОРИТ у них были: токсикоз с эксикозом при кишечной инфекции, токсический эпидермальный некролиз, развившийся после приема в пищу перепелиных яиц, токсико-аллергическая реакция и гемофагоцитарный синдром на фоне ОРВИ. У 4 инвалидов детства (40%) реактивация ЦМВ зарегистрирована после проведения плановых оперативных вмешательств связанных с пороками развития ЦНС и сердца. Оставшиеся 2 пациента развили реактивацию ЦМВ-инфекции при двусторонней пневмонии протекавшей на фоне иммунодефицитного состояния (болезнь Брутона, ВИЧ). У всех пациентов с реактивированной ЦМВ инфекцией серологически определялись антитела класса М и высокоавидные антитела класса G. Медиана вирусной нагрузки ДНК ЦМВ в крови пациентов составила 5100 коп ДНК/мл [IQR 1 200; 13 125], в слюне – 73 382 копий ДНК/мл [IQR 65688; 82975]. Клиническая картина заболевания у детей с реактивацией ЦМВИ соответствовала основному патологическому состоянию, ни в одном случае не было отмечено таких ведущих клинических характеристик ВГЧ 4,5,6 как выраженный лимфопролиферативный синдром, тонзиллит с наложениями на миндалинах, затрудненное носовое дыхание, спленомегалия. У всех детей определялось увеличение печени до 1,5-3,0 см, что, очевидно, было связано с развитием основного заболевания. Изменения в периферической крови (на день поступления в ОРИТ) были следующими: анемия -30%, лейкопения – 20%, лейкоцитоз – 70%, тромбоцитопения - 50%, нейтропения -10%, лимфоцитоз – 20%, моноцитоз – 10%, атипичные мононуклеары не определены ни в одном случае, повышение СОЭ- 50%.

Реактивация моно ЭБВ-инфекции произошла у 5 пациентов в наблюдаемой

группе. Все они имели хронические соматические заболевания (5 группа здоровья), либо были инвалидами. Поводом для госпитализации в ОРИТ были: острая кишечная инфекция с синдромом токсикоза и эксикоза, гнойный обструктивный бронхит и декомпенсация основного заболевания. У всех больных реактивация ЭБВ-инфекции была установлена серологически: определялись антитела класса М и высокоавидные антитела класса G. Медиана вирусной нагрузки ДНК ЭБВ в крови пациентов составила 12000 коп ДНК/мл [IQR 8000; 17100], в слюне – 12 162 копий ДНК/мл [IQR 9120; 23005]. По значениям вирусной нагрузки ДНК ЭБВ в крови не установлено достоверных различий между больными инфекционным мононуклеозом (как реактивированным, так и первичным) и больными в ОРИТ, $p=0,23$. В клинической картине заболевания отсутствовали все патогномичные симптомы мононуклеоза, кроме гепатомегалии. Все пациенты, находившиеся в ОРИТ получали посиндромную терапию направленную на стабилизацию состояния, а в 10 случаях из 15 назначалась этиотропная противовирусная терапия – Ацикловир и Неоцитотект (в одном случае).

Не подлежит сомнению тот факт, что пациенты отделения интенсивной терапии при тяжелом течении основного заболевания, параллельно могут развивать реактивацию латентной ВГЧ 4,5,6. Реактивация в этом случае является процессом мультифакториальным и индивидуальным в каждом случае, и, по-видимому не имеющим специфической клинической картины.

ПРИМЕР 6. Мальчик Т., 5 мес, от 5 беременности, протекавшей на фоне отягощенного гинекологического анамнеза. Ребенок родился в срок, однако имел признаки незрелости – низкую массу (2940 г) и рост (49 см). С рождения находился на грудном вскармливании, наблюдался неврологом по поводу гипоксически-ишемического поражения ЦНС, мышечной дистонии. При проведении УЗИ скрининга в 3 месяца определено умеренное скопление жидкости в межполушарной щели. В 4 месяца перенес ОРВИ в легкой форме, лечился амбулаторно. Через 2 недели после перенесенного заболевания усилился кашель и появилась одышка, в связи с чем ребенок был госпитализирован. Состояние при

поступлении оценивалось как стабильно тяжелое за счет дыхательной недостаточности (ЧД-65, ЧСС-150, Sp O₂ 80%). По результатам рентгенографии определена полисегментарная двусторонняя пневмония. В клиническом анализе крови при поступлении: лейкоциты $6,6 \times 10^9/\text{л}$, лимфоциты - $42 \times 10^9/\text{л}$, сегментоядерные нейтрофилы $-57 \times 10^9/\text{л}$, моноциты - $3 \times 10^9/\text{л}$, тромбоциты $372 \times 10^9/\text{л}$, СОЭ – 59 мм/час, СРП- норма. Получал лечение - инфузионная и эмпирическая антибактериальная терапия (цефиксим, амикацин), без положительной динамики, сохранялись явления полисегментарной пневмонии, ателектаз справа. Проведен комплекс терапии - цефипим, ровамицин, меронем, зивокс, ванкомицин, бисептол, флуконазол, беродуал и будесонид, дексазон. Результаты серологического исследования - анти-ЦМВ Ig M (1:200) трехкратно в динамике, индекс avidности анти-ЦМВ Ig G нарастает от 18% до 75% в течение месяца, в соскобе ДНК ЦМВ не обнаружена, в крови – 74000 коп/мл, что было расценено как реактивация ЦМВИ. Другие герпесвирусные инфекции (ВПГ-1, 2, ЭБВ, ВГЧ-6), а также адено-, рео- и вирусы гриппа не подтверждены. Состояние ребенка продолжало прогрессивно ухудшаться, и на четвертой неделе госпитализации переведен на ИВЛ.

В данном случае ранний возраст ребенка, тяжелое течение двусторонней пневмонии, отсутствие эффекта антибактериальной терапии, позволило предположить диагноз реактивации цитомегаловирусной инфекции с поражением легких, что послужило поводом для назначения Неоцитотекта и Вальцита, однако состояние продолжало оставаться крайне тяжелым, положительная динамика отсутствовала. Все вышеописанное в совокупности позволило предположить наличие иммунодефицитного состояния: в иммунограмме определено снижение CD4 лимфоцитов до 34% (норма 35-57%), CD8-21%, CD4/CD8=1,6, Т-лимф- 55% ($1,7 \times 10^9/\text{л}$). На 29 день госпитализации проведен анализ на ВИЧ и получен положительный результат - обнаружена ДНК ВИЧ в количестве более 10 млн копий/мл. Проведенное эпидемиологическое исследование установило, что отец и мать ребенка инфицированы ВИЧ (серонегативное окно во время беременности

матери). На 30-й день госпитализации ребенку назначена антиретровирусная терапия – Калетра, Зидовудин, Эпивир, несмотря на которую состояние продолжало резко ухудшаться с развитием панцитопенического синдрома, на 4-й день АРВТ: эритроциты- $3,8 \times 10^9/\text{л}$, лейкоциты – $1,29 \times 10^9/\text{л}$, юные $-2 \times 10^9/\text{л}$, палочкоядерные – $49 \times 10^9/\text{л}$, сегментоядерные – $17 \times 10^9/\text{л}$, лимфоциты- $24 \times 10^9/\text{л}$, моноциты- $7 \times 10^9/\text{л}$, тромбоциты – $107 \times 10^9/\text{л}$, СОЭ- 43. Через две недели АРВТ-терапии: эритроциты- $2,3 \times 10^9/\text{л}$, гемоглобин -66г/л, лейкоциты – $0,6 \times 10^9/\text{л}$, палочкоядерные – 0, сегментоядерные – 0, лимфоциты- 0, моноциты-0, тромбоциты – $25 \times 10^9/\text{л}$, СОЭ- 15. СРП=978, прокальцитонин – 12,8 нг/мл, АСТ –1410. Данные лабораторные изменения свидетельствуют о генерализации инфекционного процесса с формированием полиорганной недостаточности. Через 7 недель от поступления в стационар, несмотря на проводимую терапию, ребенок погиб. Заключительный клинический диагноз: Острая ВИЧ-инфекция, стадия 2В, фаза вторичных заболеваний (пневмония, кандидоз, реактивация ЦМВ-инфекции); осложнения основного диагноза: синдром полиорганной недостаточности, острая почечная недостаточность, инфекционно-токсический шок 3 степени, кома 3 степени, панцитопения, энтероколит.

Данный клинический случай демонстрирует классическую лабораторную реактивацию цитомегаловирусной инфекции, в качестве оппортунистической, развившейся при иммунодефицитном состоянии. Применив диагностический алгоритм, получаем заключение «низкая вероятность активной ЦМВИ», потому что имеется только один диагностический маркер – величина вирусной нагрузки ДНК ЦМВ, которая превышает пороговое значение, но остальные критерии в данном случае отсутствуют. Результат алгоритма в данном случае следует интерпретировать как отрицательный в отношении ЦМВ-ассоциированного заболевания, что важно при принятии решения об этиотропной терапии, рисунок 30.

Рисунок 30. Пример алгоритма.

ПРИМЕР 7. Мальчик И., 2 года 2 месяцев поступил в отделение интенсивной терапии на 2-е сутки заболевания. Из анамнеза: заболел после употребления в пищу перепелиных яиц, когда появились пятна на коже лице. На следующий день пятна нарастали, беспокоил кожный зуд, на месте пятен стали появляться пузыри и эрозии. Состояние ребёнка на момент поступления тяжёлое стабильное. Кожные покровы физиологической окраски с элементами эритематозно-папулезных высыпаний (преимущественно на лице и туловище). Сыпь достаточно обильная. На фоне высыпаний видны эрозии на месте вскрывшихся пузырей (преимущественно на лице, туловище и меньше элементов на руках и ногах). Положительный симптом Никольского. В зеве легкая гиперемия дужек и миндалин; налётов, высыпаний не обнаружено. Дыхание через нос не затруднено. Живот правильной формы, мягкий, безболезненный. Печень +2 см. Селезёнка не увеличена. В клиническом анализе крови при поступлении: лейкоциты $13 \times 10^9/\text{л}$, лимфоциты - $20 \times 10^9/\text{л}$, сегментоядерные нейтрофилы - $74 \times 10^9/\text{л}$, моноциты - $1 \times 10^9/\text{л}$, тромбоциты $232 \times 10^9/\text{л}$, СОЭ – 3 мм/час, СРП = 6. Серологический анализ анти-ЦМВ IgM – 1:200, анти-ЦМВ IgG – 7,6 КП, ИА - 78%. Методом ПЦР – обнаружена ДНК ЦМВ

количественно в соскобе из ротоглотки: 5670 копий/мл, в крови – 7045 копий/мл.

Данный клинический случай демонстрирует лабораторную реактивацию цитомегаловирусной инфекции, развившуюся на фоне токсико-аллергической реакции, однако клиническая картина ЦМВ-ассоциированного заболевания отсутствует, следовательно нет данных за активную ЦМВИ, лечение противовирусными препаратами ребенку не показано. Диагностический алгоритм выдает «низкую вероятность активной ЦМВИ», поскольку имеется только один критерий – повышенная вирусная нагрузка в крови, но отсутствуют другие критерии - лихорадка более 5 дней, лимфаденопатия «пакетами», лимфоцитоз.

Полученный диагностический алгоритм применим в любой клинической ситуации, позволяя как подтвердить, так и опровергнуть диагноз активной ВГЧ 4,5,6 инфекции. Высокая вероятность активной формы ВГЧ 4,5,6 инфекции у детей до 7 летнего возраста определяется только при наличии комплекса установленных критериев.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Общая концепция настоящего исследования состояла в утверждении об универсальном свойстве герпесвирусов, в виде пожизненного существования в клетках организма-хозяина, обуславливающим наличие инфекционного процесса в двух фазах - активной и неактивной. Были выдвинуты гипотезы, о том, что существуют критерии, маркирующие активную фазу инфекционного процесса, вызванного герпесвирусами, и факторы (сочетание критериев с высокой степенью прогностичности) активной фазы. Критерии и факторы могут быть как клиническими, так и лабораторными, а современные математические методы анализа данных позволяют создать на их основе единый диагностический алгоритм. Это, в свою очередь, позволит улучшить качество диагностики, профилактики, лечения и реабилитации, обуславливая персонализированный подход к каждому пациенту.

Наше исследование было основано на системном подходе к изучаемому явлению – инфекционному процессу, вызванному ВГЧ 4,5,6А/В, при котором каждый объект, рассматривается как большая сложная система и, одновременно, как элемент более общей системы, что позволило нам сформулировать основные термины и понятия принятые в данной работе. Инфекционный процесс, вызванный ВГЧ 4,5,6 являющийся объектом исследования, мы рассматривали как целенаправленное взаимодействие микро- и макроорганизма, в ходе которого происходит преобразование его (процесса) в новое качество. Исходя из имеющихся в нашем распоряжении клинико-лабораторных данных, в своем исследовании мы представили инфекционный процесс, как результат взаимодействия вируса и организма, представив его в доступных описанию категориях. Для описания инфекционного процесса, вызванного ВГЧ 4,5,6 нами было предложено выделение двух фаз, различающихся наличием/отсутствием клинических проявлений:

- Активная фаза ВГЧ 4,5,6-инфекции (манифестная, реактивация) диагностируется у пациента с симптомами и/или признаками пораженного органа вместе с обнаружением нуклеиновых кислот ВГЧ 4,5,6 (обозначающих размножение вируса) в органах и/или тканях;
- Неактивная фаза ВГЧ 4,5,6-инфекции (латентная, серопозитивность) – клинические проявления отсутствуют, нет признаков поражения органов, возможно обнаружение нуклеиновых кислот ВГЧ 4,5,6, в биологических субстратах.

Таким образом, основной предмет нашего исследования составила активная ВГЧ 4,5,6 инфекция у детей дошкольного возраста. Активная инфекция сопровождающая первичное инфицирование, имеет яркую клиническую картину, не вызывает затруднений в диагностике, в отличие от реактивированных форм, которые характеризуются широким полиморфизмом симптомов и вариабельностью лабораторных показателей, зачастую неоднозначно интерпретируемых, и представляют определенную клиническую проблему. В современной литературе не существует полной эпидемиологической картины первичных/реактивированных форм ВГЧ 4,5,6 в общей структуре заболеваний, вызываемых этими вирусами, отсутствует систематизация описания клинических проявлений активных первичных/реактивированных форм, а значит, отсутствуют ясные алгоритмы их диагностики и профилактики. В ходе научного осмысления проблемы нами было дано определение для реактивированной формы инфекции, сформулированное с применением категорий традиционной логики:

реактивация ВГЧ-4,5,6 типа - это инфекционный процесс в организме серопозитивного индивидуума, при котором происходит размножение вируса, с выходом его за пределы клетки, сопровождающееся развитием клинической симптоматики. В соответствии с данным определением, нами предложена классификация, изложенная в главе 2 (п.2.2), согласно которой, к активной инфекции относили первичную и реактивированную формы, а к неактивным – латентную (серопозитивность).

Проведенный нами анализ литературы показал, что процесс реактивации является многофакторным, однако формулировки понятия фактора реактивации нам обнаружить не удалось, в связи с чем, аналогично формулировке эпидемиологических факторов риска [61], мы сформулировали следующее определение: фактор реактивации ВГЧ 4,5,6 – это агент или обстоятельство, которые определяют возможность (вероятность) развития изменений в специфическом иммунном ответе, в результате которого происходит литическая репликация вируса с развертыванием клинической картины заболевания (условие отличающее фактор от не-фактора). В своем исследовании связь между фактором и реактивацией мы оценивали при помощи показателя отношения шансов (ОШ), означавшего увеличенные шансы развития реактивации при значении больше единицы, что позволило нам сформулировать понятие фактора реактивации ВГЧ 4,5,6 степень влияния которого (ОШ) имеет значение больше единицы.

Отталкиваясь от поставленных задач была смоделирована программа настоящего исследования направленная на изучение клинико-лабораторных особенностей реактивированной ВГЧ 4,5,6-инфекции, определения значимости диагностических и прогностических критериев, для возможного их использования при принятии клинического решения. Учитывая, что в настоящее время не существует индивидуальных специфических и чувствительных диагностических методик определения вероятности реактивации ВГЧ 4,5,6 инфекции, целью настоящего исследования явилось определение научно обоснованного комплекса персонализированных медико-профилактических мероприятий, направленных на снижение риска реактивации инфекций, вызванных ВГЧ 4,5,6. Исходя из основной гипотезы нашего исследования, для решения поставленных задач, были определены соответствующие им статистические методы, а именно – регрессионный, корреляционный и многофакторный статистический анализ.

Основной формой острой инфекции, вызванной ВГЧ 4,5,6, является инфекционный мононуклеоз, выявляемый у 90% госпитализированных и 16 % амбулаторных детей старше одного года. Как для амбулаторных, так и для

госпитализированных пациентов характерно преобладание ЭБВ-мононуклеоза, примерно в два раза. Имеются возрастные различия: в группе детей 1-3 лет доля ЦМВ и ЭБВ-мононуклеоза достоверно выше (58%), чем у старших, а мононуклеоза неуточненной этиологии больше среди амбулаторных пациентов 4-6 лет. В результате проведенного анализа частоты выявления ВГЧ 4,5,6-заболеваний у детей 1-7 лет г. Перми, установлены значительные погрешности, обуславливающие гипердиагностику заболеваний этой группы.

Частота встречаемости маркеров ВГЧ-4,5,6 у 1126 детей с острыми респираторными заболеваниями составила 92%, с достоверным преобладанием в группе госпитализированных детей (94,5%, ДИ (93%-95%)), против 90,5% ДИ (88%-90%) в группе амбулаторных и 86,9% ДИ (85%-89%) $p=0,006$. Среди всех маркеров герпесвирусных инфекций наиболее часто встречаемым оказался ВГЧ 6. Активную ВГЧ-4,5,6 инфекцию у детей, как первичную, так и реактивированную, с высокой специфичностью маркирует количество вирусной ДНК в крови и слюне, обнаруживаемой методом ПЦР. Проведенный метаанализ показал, что частота выявления ДНК ВГЧ-4,5,6А/В в слюне у больных и здоровых детей не имеет статистически достоверных различий, а частота выявления ДНК ВГЧ-4,5,6А/В в цельной крови, всегда достоверно выше в группе больных. Вирусная нагрузка имеет достоверно бóльшие значения в группе больных детей. По результатам нашего исследования в слюне ДНК ВГЧ4,5,6А/В обнаруживается у 88% всех обследуемых пациентов, из них при активной инфекции – 90,5% и 82,6% – при латентной форме. Среди условно-здоровых детей в слюне ДНК ВГЧ-4,5,6А/В обнаруживается у 40,6% детей. Выделение ДНК ВГЧ4,5,6А/В в слюне имеет следующие возрастные закономерности: при активной инфекции доля ЦМВ-положительных образцов снижается с возрастом (от 46,7% до 20,2%), доля ЭБВ-положительных образцов с возрастом увеличивается (с 17,2% до 53,5%), доля ВГЧ6А/В-положительных образцов с возрастом уменьшается (с 28,5% до 18,6%). В группе латентной инфекции закономерность была такой же, что очевидно является возрастной характеристикой, не связанной с активностью инфекционного

процесса, а отражающей естественный процесс инфицирования. При изучении выделения ДНК ВГЧ 4,5,6 в мочу было установлено, что такое явление характерно только для ЦМВ, причем доля положительных образцов снижается с возрастом в 5-10 раз, как в группе активной (с 88,7% до 18,5%), так и неактивной инфекции (с 18,1% до 1,7%). В моче здоровых детей ДНК ЦМВ определяется в единичных случаях до 4 -летнего возраста – 7% .

Клинически, активная фаза ВГЧ 4,5,6А/В инфекции протекает в виде лихорадочного заболевания с лимфопролиферативным синдромом в большинстве случаев, с поражением органов ретикуло-эндотелиальной системы, разнонаправленными изменениями количества лейкоцитов от лейкопении до лейкоцитоза, характеризуется преобладанием иммунного ответа Th-2 типа. Между клинико-лабораторными проявлениями и величиной вирусной нагрузки ДНК ВГЧ 4,5,6А/В имеется коррелятивная связь, выраженная в основном, при ЭБВ-мононуклеозе: налеты на миндалинах (для крови $r=0,29$, для слюны $r=0,26$), заложенность носа (для крови $r=0,36$, для слюны $r=0,32$), увеличение лимфоузлов «пакетами» (для крови $r=0,4$, для слюны $r=0,28$), лимфоцитоз (для крови $r=0,32$, для слюны $r=0,26$), повышенное СОЭ (для крови $r=0,34$, для слюны $r=0,34$), повышенные АЛТ и АСТ(для крови $r=0,26$, для слюны $r=0,25$). Выявленные корреляционные связи во многом, подтверждают уже известные положения, полученные эмпирическим путем и свидетельствуют о том, что величина вирусной нагрузки играет важную роль в выраженности клинической картины активной ВГЧ 4,5,6А/В инфекции.

Клиническая картина реактивированной ВГЧ 4,5,6 инфекции в 60% случаев соответствует типичному мононуклеозу, а в 30% случаев имеет неполную симптоматику. Возрастными особенностями клинической картины реактивированной ВГЧ 4,5,6-инфекции является преобладание (в 1,5 раза чаще) типичного мононуклеоза у детей старше четырех лет. Наиболее значимыми общими субъективными симптомами заболевания являются повышенная температура тела, слабость, вялость, головные боли, нарушение носового дыхания.

Объективные симптомы имеют различия в зависимости от типа инфицирования: реактивированная инфекция ВГЧ 4,5,6 в смешанном варианте представлена мононуклеозом и мононуклеозоподобным синдромом, характеризуется увеличением лимфоузлов в размерах более 1 см, налетами на миндалинах и развитием поражения верхних дыхательных путей в виде бронхита в 30% случаев; реактивированная моно ЭБВ-инфекция соответствует клинической картине инфекционного мононуклеоза, характеризуясь выраженным лимфопролиферативным синдромом у половины пациентов, увеличением лимфоузлов «пакетами» (28,3%), генерализованной лимфаденопатией (13%), гипертрофией небных миндалин (80%), налетами на них (93,4%), нарушением носового дыхания (78,2%) и гепато - спленомегалией (41,3%, 34,8% соответственно); реактивированная моно ЦМВ-инфекция характеризуется выраженным лимфопролиферативным синдромом, налетами на миндалинах и высокой частотой развития осложнений в виде отита; реактивированная моно ВГЧ6-инфекция протекает под маской острого респираторного заболевания, в виде бронхита, пневмонии, а также, в виде лихорадки без очага инфекции и характеризуется наименьшей выраженностью лимфопролиферативного синдрома. В результате проведенного сравнительного анализа установлено, что между реактивированной и первичной формами ВГЧ 4,5,6 инфекции существуют достоверные различия клинико-лабораторных характеристик.

Реактивированная форма инфекции отличается преобладанием маркеров моно ЦМВ-инфекции в младшей возрастной группе, маркеров ЭБВ_инфекции – в старшей группе. В слюне при реактивированной форме инфекции значения вирусной нагрузки ДНК ВГЧ 4,5,6 достоверно ниже, чем при первичной инфекции. Реактивированные формы ВГЧ 4,5,6 инфекции имеют более легкое течение: 60% среднетяжелых форм против 80-90% при первичной инфекции. Клиническая картина реактивированной ВГЧ 4,5,6-инфекции в большинстве случаев соответствует синдромокомплексу инфекционного мононуклеоза: при моно ЭБВ-инфицировании до 85%, моно ЦМВ-инфицировании до 61%, моно ВГЧ 6-

инфекции до в 60-70% причем, при реактивации доля типичных форм всегда несколько меньше, а для первичной моно ВГЧ6-инфекции мононуклеоз вообще не характерен. Реактивированная форма ВГЧ 4,5,6 инфекции отличается от первичной инфекции менее выраженными изменениями лабораторных характеристик таких как лейкоцитоз, повышенное СОЭ, наличие атипичных мононуклеаров, повышенные показатели субпопуляций лимфоцитов. Отличительной чертой реактивированной формы является синдром нейтропении, отмечаемый в 20-42% случаев в зависимости от варианта инфицирования.

В проведенном исследовании установлены клинические критерии активной ЦМВИ: лимфаденопатия регионарная «пакетами» (Se=60%, Sp=79%), лихорадка длительностью более 5 дней (Se=54%, Sp=91%), гепатомегалия (Se=23%, Sp=94%), спленомегалия (Se=14%, Sp=97%), нейтропения (Se=22%, Sp=78%), лейкоцитоз (Se=52%, Sp=73%), лимфоцитоз (Se=54%, Sp=72%), снижение CD4+, CD16 (Se=61%, Sp=70%), субфебрилитет в анамнезе (Se=24%, Sp=88%), хронические заболевания ЛОР-органов (Se=40%, Sp=65). Полученные клинико-лабораторные критерии активной ЦМВИ имели в основном, низкую чувствительность. Прогнозирующая модель активной ЦМВИ содержит два критерия - лихорадка более 5 дней и лимфоцитоз. Данная модель в определении вероятности активной ЦМВИ имеет 94% чувствительность и 25% специфичность, что не исключают возможности ложноположительных результатов.

При изучении значений вирусной нагрузки (ВН) ДНК ЦМВ в крови между формами активной инфекции (первичной и реактивированной) различия не были установлены: медиана ВН в обеих группах составила 4,5 lg копий ДНК/мл. В группе здоровых детей ДНК ЦМВ в крови определялась в 7,7% случаев, медианное значение составило 3,0 lg копий ДНК/мл. «Пороговое» значение ВН ДНК ЦМВ в крови составляет 3,6lg коп ДНК/мл (Se=78%, Sp=100%). В слюне ДНК ЦМВ определяется у 91,7% детей с активной формой инфекции, с разницей в значениях медиан: 5,9 lg копий ДНК/мл при первичной форме против 5,0 lg копий ДНК/мл в группе реактивированной инфекции, с преобладанием максимальных значений в

младшем возрасте при первичном инфицировании. При неактивной ЦМВИ ПЦР-положительные образцы слюны встречаются в 74% случаев, с возрастом их доля уменьшается от 100% до 52%, медиана ВН ДНК ЦМВ составляет 3,7 lg копий ДНК/мл без возрастных различий. В слюне здоровых детей ДНК ЦМВ определяется в 17,4% случаев, медианное значение составляет 3,0 lg копий ДНК/мл. «Пороговое» значение ВН ДНК ЦМВ в слюне cut off=4,7lg коп ДНК/мл, Se=0,87, Sp=1,00. В моче ДНК ЦМВ обнаруживается у 61% детей с активной формой инфекции: медиана ВН ДНК ЦМВ в моче у детей до 1 года - 5,0 lg копий ДНК/мл, от 1 года до 4 лет - 4,1 lg копий ДНК/мл, у детей старше 7 лет - 3,5 lg копий ДНК/мл. При неактивной форме инфекции в моче ДНК ЦМВ определяется только у детей до 4 летнего возраста - 33% случаев, медиана ДНК ЦМВ составляет 2,8 lg копий ДНК/мл. В моче здоровых детей ДНК ЦМВ определяется в 7% случаев, медиана составляет 2,9 lg копий ДНК/мл. Пороговое значение ДНК ЦМВ для мочи составляет ВН=3,0 lg коп ДНК/мл, Se=0,65, Sp=0,91. Диагностическая возможность качественной ПЦР слюны не высока, вероятность того, что пациент имеет активную ЦМВИ при положительной качественной ПЦР слюны составляет 38%.

В результате исследования установлено, что критерии, прогнозирующие активную ЦМВИ могут быть объединены в два фактора: основной, состоящий из лихорадки длительностью более 5 дней, лимфаденопатии «пакетами» и значений ВН ДНК ЦМВ в крови более 3,6lg, и дополнительный, учитывающий наличие хронических заболеваний ЛОР-органов и снижение CD4+, CD16. Основной фактор увеличивает шансы активной ЦМВИ в 3,5 раза, дополнительный - в 1,5 раза. Полученная регрессионная модель является статистически значимой, что позволяет применять ее на практике.

Для инфекции, вызванной ЭБВ в проведенном исследовании установлены клинические критерии активной фазы инфекционного процесса: лимфаденопатия «пакетами» (Se=79%, Sp=74%), лихорадка длительностью более 5 дней (Se=79%, Sp=94%), гепатоспленомегалия (Se=34%, Sp=97%), тонзиллит с налетами на миндалинах (Se=60%, Sp=75%), лейкоцитоз (Se=63%, Sp=43%),

лимфоцитоз (Se=75%, Sp=34%), атипичные мононуклеары (Se=69%, Sp=84%), повышение АЛТ (Se=39%, Sp=54%) всегда в сочетании с АСТ, снижение CD4+, CD16 (Se=74%, Sp=66%), повышение Ig E (Se=59%, Sp=43%), снижение IgA (Se=69%, Sp=54%) рецидивирующие заболевания нижних отделов респираторного тракта, такие как трахеобронхит и бронхит (Se=32%, Sp=79%).

Прогнозирующие модели различались в возрастных группах:

- от 1 мес до 1 года: два критерия - лимфаденопатия «пакетами» и лихорадка более 5 дней (Se=84%, Sp=67%);

- от 1 до 4 лет: три критерия - лимфаденопатия «пакетами», лихорадка более 5 дней и лимфоцитоз (Se=91%, Sp=72%);

- от 4 до 7 лет: два критерия - лимфаденопатия «пакетами» и лихорадка, (Se=90%, Sp=58%).

При изучении значений вирусной нагрузки (ВН) ДНК ЭБВ в крови между формами активной инфекции (первичной и реактивированной) различия не были установлены: медиана ВН в обеих группах составила 3,2 lg копий ДНК/мл (IQR 3,2-3,3), без возрастных различий. В группе здоровых детей ДНК ЭБВ в крови определялась в 4% случаев, медианное значение составило 2,7 lg копий ДНК/мл. «Пороговое» значение ВН ДНК ЭБВ в крови составляет 3,1lg коп ДНК/мл (Se=97%, Sp=100%). В слюне ДНК ЭБВ определяется у 89% детей с активной формой инфекции, с разницей в значениях медиан: 5,1 lg копий ДНК/мл при первичной инфекции против 4,9 lg копий ДНК/мл в группе реактивированной инфекции, с преобладанием максимальных значений в младшем возрасте при первичном инфицировании. При неактивной ВЭБИ ПЦР-положительные образцы слюны встречаются в 56% случаев, с возрастом их доля уменьшается от 85% до 77%, медиана ВН ДНК ВЭБ в возрасте до 1 года составила составила 3,6 lg копий ДНК/мл, старше года - 3,8 lg копий ДНК/мл. В слюне здоровых детей ДНК ЭБВ определяется в 8% случаев, медианное значение составляет 2,9 lg копий ДНК/мл. «Пороговое» значение ВН ДНК ЭБВ в слюне cut off =3,7lg коп ДНК/мл, Se=0,54, Sp=1,00. Диагностическая способность качественной ПЦР слюны не высока, вероятность того, что пациент имеет активную ЭБВ-инфекцию при

положительной качественной ПЦР слюны составляет 58%.

В результате исследования установлено, что критерии, прогнозирующие активную ВЭБИ могут быть объединены в один фактор, основной, состоящий из лихорадки длительностью более 5 дней, лейкоцитоза, гепатомегалии, выраженной регионарной лимфаденопатии «пакетами», и значений ВН ДНК ЦМВ в крови более 3,1lg, и дополнительный – рецидивирующие респираторные заболевания в анамнезе. Чувствительность полученной модели- 81% и специфичность -71%. Полученная регрессионная модель является статистически значимой, что позволяет применять ее на практике.

Для инфекции, вызванной ВГЧ-6А/В в проведенном исследовании установлены клинические критерии активной фазы инфекции: увеличение регионарных лимфоузлов, не спаянных в «пакеты» (Se=30%, Sp=55%), лихорадка длительностью более 5 дней (Se=67%, Sp=95) и эпизод фебрильных судорог в анамнезе (Se=12%, Sp=95), лейкопения у детей старше 1 года (Se=34%, Sp=66%), снижение IgA (Se=50%, Sp=87%). Прогнозирующие модели различались в возрастных группах:

- от 1 мес до 1 года: два критерия - фебрильный судорожный приступ и лихорадка более 5 дней (Se=83%, Sp=26%);
- от 1 до 4 лет: три критерия - лихорадка более 5 дней, лимфаденопатия более 1 см, лейкопения (Se=91%, Sp=45%);
- от 4 до 7 лет: три критерия - нейтропения, лимфаденопатия, лихорадка более дней (Se=90%, Sp=26%).

При изучении значений вирусной нагрузки ДНК ВГЧ-6А/В в крови между формами активной инфекции (первичной и реактивированной) различия не были установлены: медиана ВН при первичной ВГЧ-6А/В инфекции составила 3,8 lg коп ДНК/мл(IQR 3,7-4,2), при реактивированной ВГЧ-6А/В инфекции – 3,9 коп ДНК/мл. У пациентов с неактивной ВГЧ-6А/В инфекцией в крови ДНК ВГЧ-6А/В не была обнаружена. В группе здоровых детей ДНК ВГЧ-6А/В в крови

определялась в 8% случаев, медианное значение составило 3,0 lg копий ДНК/мл. «Пороговое» значение ВН ДНК ВГЧ-6А/В в крови составляет 3,2lg коп ДНК/мл (Se=100%, Sp=98%). В слюне ДНК ВГЧ-6А/В определяется у 92% детей с активной формой инфекции, с разницей в значениях медиан: 3,9 lg копий ДНК/мл при первичной форме против 3,5 lg копий ДНК/мл в группе реактивированной инфекции, с преобладанием максимальных значений в младшем возрасте при первичном инфицировании. При неактивной ВГЧ-6А/В ПЦР-положительные образцы слюны встречаются в 86% случаев, с возрастом их доля уменьшается от 100% до 82%. Медиана ВН ДНК ВГЧ-6А/В в возрасте до 1 года составила 3,9 lg копий ДНК/мл, старше года - 3,1 lg копий ДНК/мл. В слюне здоровых детей ДНК ВГЧ-6А/В определяется в 14,8% случаев, медианное значение составляет 3,1 lg копий ДНК/мл. «Пороговое» значение ВН ДНК ВГЧ-6А/В в слюне cut off =3,7lg коп ДНК/мл, Se=1,0, Sp=1,00. В результате исследования установлено, что критерии прогнозирующие активную ВГЧ6А/В могут быть объединены в два фактора, основной - критерий ВН ДНК ВГЧ-6А/В в крови более 3,2lg, и дополнительный состоящий из таких критериев как регионарная лимфаденопатия в остром периоде заболевания и фебрильный судорожный приступ в анамнезе. Диагностическая ценность качественной ПЦР слюны для диагностики активной ВГЧ6А/В инфекции является невысокой, вероятность того, что пациент имеет активную ВГЧ6А/В-инфекцию при положительной качественной ПЦР слюны составляет 53%.

В нашем исследовании установлено, что общими критериями активных форм ВГЧ4,5,6 А/В инфекции, со значениями специфичности более 90% является лихорадка длительностью более 5 дней, и пороговые значения вирусной нагрузки ДНК ВГЧ 4,5,6А/В в крови (специфичность 87-99%). Частные критерии установлены посредством регрессионного и факторного анализа, для ЦМВИ – лимфаденопатия пакетами (Se=60%, Sp=79%) и снижение CD4+, CD16 в остром периоде заболевания (Se=61%, Sp=70%), и хроническая ЛОР-патология (Se=40%, Sp=66%) в анамнезе, для ВЭБИ – лимфаденопатия «пакетами» (Se=79%, Sp=74%),

гепатомегалия (Se=34%, Sp=97%), лейкоцитоз (Se=63%, Sp=43%) в остром периоде заболевания и рецидивирующие воспалительные заболевания нижних дыхательных путей в анамнезе (Se=32%, Sp=79%), для ВГЧ6А/В-инфекции – лимфаденопатия регионарная (Se=30%, Sp=55%) в остром периоде заболевания и фебрильный судорожный приступ в анамнезе (Se=12%, Sp=95%). Критерии каждого типа ВГЧ4,5,6 инфекции, путем факторного анализа объединены в два фактора: основной и дополнительный. Посредством математического моделирования для факторов вычислены значения ОШ, позволившие определить их предиктивность в отношении реактивации ВГЧ4,5,6 инфекции.

Таким образом, в нашем исследовании определены факторы реактивации ВГЧ 4,5,6 инфекции, как частной формы активной фазы инфекционного процесса, степень влияния которых (ОШ) имеет значение больше единицы. Анамнестическими, общими факторами, влияющими на реактивацию ВГЧ 4,5,6 инфекции являются: перенесенный ранее мононуклеоз (ОШ=3,4, ДИ:1,3-8,4) и частые респираторные заболевания (ИР \geq 50%), ОШ=1,7, (ДИ:1,0-3,0). Для цитомегаловирусной инфекции основной фактор реактивации (OR=3,4, ДИ2,4-4,9) состоит из совокупности критериев: лихорадки длительностью более 5 дней, лимфаденопатии «пакетами» и значений ВН ДНК ЦМВ в крови более 3,1, дополнительный (OR=1,54, ДИ1,09-2,2) - наличие хронических заболеваний ЛОР-органов и снижение CD4+, CD16. Для ЭБВ-инфекции, основной фактор реактивации (OR=5,5, ДИ3,8-8,0) состоит из совокупности критериев: лихорадки длительностью более 5 дней, лейкоцитоза, гепатомегалии, выраженной регионарной лимфаденопатии «пакетами», и значений ВН ДНК ЦМВ в крови более 3,1lg, дополнительный (OR=1,8, ДИ1,1-2,5) – рецидивирующие респираторные заболевания в анамнезе. Для ВГЧ6А/В инфекции основной фактор реактивации (OR=65,5, ДИ 55-583,0) - ВН ДНК ВГЧ-6А/В в крови более 3,2lg, и дополнительный (OR=1,5, ДИ0,3-0,7), состоит из таких критериев как регионарная лимфаденопатия в остром периоде заболевания и фебрильный судорожный приступ в анамнезе.

Таким образом, с учетом специфичности и чувствительности полученных критериев и факторов, был составлен алгоритм прогнозирования вероятности активной ВГЧ 4,5,6А/В инфекции и дополнено определение бинарной классификации. Полученный в исследовании диагностический алгоритм применим в любой клинической ситуации, позволяя как подтвердить, так и опровергнуть диагноз активной ВГЧ 4,5,6 инфекции. Высокая вероятность активной формы ВГЧ 4,5,6 инфекции у детей до 7 летнего возраста определяется только при наличии комплекса установленных критериев.

ВЫВОДЫ

1. Основной формой острой инфекции, вызванной ВГЧ 4,5,6, является инфекционный мононуклеоз, выявляемый у 90% госпитализированных и 16 % амбулаторных детей старше одного года. Специфические антитела к ДНК ВГЧ 4,5,6 определяются у 73% детей до 7-летнего возраста. Имеются возрастные различия присутствия ДНК ВГЧ 4,5,6 в крови и слюне, коррелирующие между собой: для ВГЧ-6А/В и ЦМВ-инфекции характерно снижение инфицирования с возрастом в 1,7 -2,6 раза, для ЭБВ-инфекции - увеличение в 3 раза.
2. В результате проведенного метаанализа установлено, что имеются различия в частоте определения ДНК ВГЧ 4,5,6 в крови больных острыми формами инфекции по сравнению со здоровыми: для ЦМВ - 42% против 3,1%, для ЭБВ – 43,2% против 20%, для ВГЧ4,5,6А/В – 61% против 45%, в превосходящих количествах: для ЦМВ на 1,4lg, для ЭБВ – на 1 lg для ВГЧ4,5,6А/В – на 1,5lg. В слюне частота выявления ДНК ВГЧ 4,5,6 А/В среди больных и здоровых не имеет достоверных различий, но количество ДНК ВГЧ4,5,6 всегда больше при активной форме инфекции: для ЦМВ на 2lg, для ЭБВ – на 1,1 lg для ВГЧ4,5,6А/В – на 0,9lg.
3. Первичная и реактивированная ВГЧ 4,5,6-инфекция протекает в виде лихорадочного заболевания (OR=6,7) с лимфопролиферативным синдромом (OR=7), поражением органов ретикуло-эндотелиальной системы (OR=4,7-5,8), разнонаправленными изменениями количества лейкоцитов (лейкоцитоз OR=2,5, лейкопения OR=2,2), характеризуется преобладанием иммунного ответа Th2 типа (OR=4,1-6,1). Реактивированная ВГЧ 4,5,6-инфекция в каждом втором случае протекает легче, чем первичная инфекция (OR=2,6), у детей до одного года имеет «маску» острой респираторной инфекции с лимфаденопатией - ЭБВ- 88%, ЦМВ- 95%, ВГЧ4,5,6 – 46% случаев.

4. При первичной и реактивированной форме ВГЧ 4,5,6 инфекции медианы вирусной нагрузки в крови не имеют значимых различий: (ЦМВ=4,5lg, ЭБВ=3,2lg, ВГЧ6А/В=3,9lg), в слюне – достоверно выше при первичной инфекции (ЦМВ на 0,9lg, ЭБВ на 0,2lg, ВГЧ6А/В на 0,4lg). Установлена положительная достоверная корреляция вирусной нагрузки в крови и слюне с выраженностью клинических симптомов при ЭБВ-инфекции: тонзиллит ($r=0,29$), заложенность носа ($r=0,36$), лимфаденопатия «пакетами» ($r=0,4$), лимфоцитоз ($r=0,32$).

5. Высокоспецифичными критериями активной фазы инфекционного процесса, вызванного ВГЧ 4,5,6, являются: для ЦМВ - лихорадка более 5 дней ($Sp=91\%$), лимфаденопатия «пакетами» ($Sp=79\%$) и снижение CD4+, CD16 ($Sp=70\%$) в острый период заболевания, субфебрилитет ($Sp=88\%$) и хронические ЛОР-заболевания ($Sp=65\%$) в анамнезе; для ЭБВ - лихорадка более 5 дней ($Sp=94\%$), лимфаденопатия «пакетами» ($Sp=74\%$), лейкоцитоз ($Sp=43\%$), атипичные мононуклеары, гепатомегалия ($Sp=97\%$) в остром периоде заболевания, рецидивирующие заболевания нижних дыхательных путей ($Sp=79\%$) в анамнезе; для ВГЧ6А/В - лихорадка более 5 дней ($Sp=95\%$), регионарная лимфаденопатия ($Sp=55\%$) и фебрильный судорожный приступ в анамнезе ($Sp=79\%$).

6. При помощи математического моделирования установлены прогностические значения количества ДНК ВГЧ 4,5,6А/В соответствующие активной фазе инфекционного процесса: для крови - 3,6lg коп ДНК ЦМВ/мл, 3,1lg коп ДНК ЭБВ/мл, 3,2lg коп ДНК ВГЧ6А/В/мл, для слюны - 4,7lg коп ДНК ЦМВ/мл, 3,7lg коп ДНК ЭБВ/мл, 4,5lg коп ДНК ВГЧ6А/В/мл

7. Бинарная классификация определяет фазы инфекционного процесса, вызванного ВГЧ 4,5,6 у детей: активную - наличие у пациента клинических симптомов вместе с обнаружением ДНК ВГЧ 4,5,6 (обозначающих размножение вируса) в крови выше порогового уровня, неактивную (латентная, серопозитивность) – клинические проявления отсутствуют, нет признаков поражения органов, возможно

обнаружение ДНК ВГЧ 4,5,6, в слюне и моче в количествах менее порогового значения.

8. При помощи многофакторного анализа установлена совокупность высокочувствительных общих и частных критериев определяющих вероятность активной фазы инфекционного процесса, вызванного ВГЧ 4,5,6А/В, составивших диагностический алгоритм.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

1. Изучение корреляции вирусной нагрузки ВГЧ 4,5,6 с генетическими полиморфизмами в больших когортных исследованиях у детей.
2. Изучение роли вирусной нагрузки в патогенезе реактивированных форм ВГЧ 4,5,6, при коморбидных состояниях у детей.
3. Изучение влияния различных терапевтических схем лечения острой ВГЧ 4,5,6 на величину вирусной нагрузки в крови, определение возможностей мониторинга эффективности терапии.
4. Изучение динамики вирусовыделения ВГЧ 4,5,6 в слюне и крови у детей различного возраста при ОРВИ и в катамнезе.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Для установления фазы инфекционного процесса, вызванного ВГЧ 4,5,6А/В в амбулаторных и стационарных условиях рекомендуется использовать предложенный клинико-лабораторный алгоритм, реализованный в программном продукте (IT-решение) .

Выявление в крови ДНК ЦМВ в количестве более 4700 коп/мл, при наличии клинических проявлений заболевания, свидетельствует о течении активной фазы цитомегаловирусной инфекции.

Выявление в крови ДНК ЭБВ в количестве более 1200 коп/мл, а в слюне более 5500 коп/мл, при наличии клинических проявлений заболевания, свидетельствует о течении активной фазы инфекции, вызванной вирусом Эпштейна-Барр.

Выявление в крови ДНК ВГЧ 6А/В в количестве более 1564 коп/мл, при наличии клинических проявлений заболевания, свидетельствует о течении активной фазы инфекции, вызванной вирусом герпеса 6 типа.

Применение клинической классификации учитывающей активность инфекционного процесса, вызванного ВГЧ 4,5,6А/В, определение понятий реактивация, фактор реактивации ВГЧ 4,5,6А/В позволяют повысить качество оказываемой медицинской помощи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексеева, М. Л. Подходы к диагностике цитомегаловирусной инфекции в акушерстве и неонатологии /М.Л. Алексеева // Проблемы репродукции. – 2010. - № 5. - С. 52-56.
2. Алимбарова, Л.М. Спектр маркеров герпесвирусных инфекций и алгоритм их лабораторной диагностики у детей с воспалительными процессами верхних дыхательных путей /Л.М. Алимбарова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2017. - № 62(3). – С. 182-188.
3. Бабаченко, И.В. Патогенез формирования частых респираторных заболеваний у детей с Эпштейна-Барр-вирусной и цитомегаловирусной инфекциями / И.В. Бабаченко // Журнал инфектологии – 2011. - № 3(4). – С. 67-72.
4. Баранова, И.П. Клинические особенности инфекционного мононуклеоза в зависимости от возраста и этиологии заболевания / И.П. Баранова // Детские инфекции – 2010. - № 9(4). - С.25-28.
5. Барычева, Л.Ю. Факторы и механизмы иммуносупрессии при Эпштейн-Барр вирусной инфекции / Л.Ю. Барычева, М.В. Голубева // Детские инфекции – 2014. - № 2. – С. 28-33.
6. Бахметьев, Б.А. Основные показатели иммунограммы детей и взрослых Пермской области: справочно-методические материалы для врачей / С.В. Ширшев, Н.Н. Кеворков. - Пермь: 2002. - С. 43.
7. Боковой, А.Г. Герпесвирусные инфекции у детей и родителей: учебное пособие для врачей педиатров, инфекционистов, иммунологов / А.Г. Боковой // Хабаровск: Полиграф. Партнер .- 2016.

8. Боковой, А.Г. Герпесвирусные инфекции у детей - актуальная проблема современной клинической практики /А.Г. Боковой // Детские инфекции - 2010 г. - С. 3-7.
9. Бочанцев, С. В. Диагностика вирусной инфекции Эпштейна-Барр при системной красной волчанке и ревматоидном артрите /С.В. Бочанцев // Российский педиатрический журнал. – 2014. - № 17(5). – С. 42-48.
10. Ванькова, О. Е. К вопросу генотипирования цитомегаловирусов / О.Е. Ванькова, Н.Ф. Бруснигина, Г. И. Григорьева // Журнал МедиАль. - 2017 г. - Т. 2. - С. 65-72.
11. Ватазин, А.В. Клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике инфекционных осложнений у пациентов с трансплантированной почкой / А.В. Ватазин // 2014. - Москва.
12. Гончарова, Е.В. Вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ) в России: инфицированность населения и анализ вариантов гена LMP1 у больных ВЭБ-ассоциированными патологиями и здоровых лиц / Е.В Гончарова // Вопросы вирусологии. – 2015. - № 60(2). – С. 11-17.
13. Горейко, Т.В. Современные представления об иммунопатогенезе инфекции, вызванной вирусом Эпштейна–Барр / Т.В. Горейко // Инфекция и иммунитет. – 2011. - № 1(2). - С. 121–130.
14. Гурцевич, В. Э. Вирус Эпштейна—Барр и классическая лимфома Ходжкина / В. Э. Гурцевич // Клиническая онкогематология. – 2016. - № 9 (2). - С. 101-114.
15. Дмитраченко, Т.И. Реактивация цитомегаловирусной инфекции у пациентов в критическом состоянии /Т.И. Дмитраченко//Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2018. - № 17(3). – С. 25-37.
16. Егорова, Н.Ю. Цитомегаловирусный мононуклеоз /Н.Ю. Егорова // Детские инфекции – 2013. - № 4. - С. 24-26.

17. Жебрун, А.Б. Распространенность герпесвирусных инфекций у детей и взрослых в С-Петербурге по данным сероэпидемиологического исследования / А.Б. Жебрун // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии – 2013. - № 6. – С. 30-36.
18. Здоровоохранение в России. (2015). Москва: Росстат.
19. Исаков, В.А. Герпесвирусные инфекции человека: руководство для врачей / В.А. Исаков // СПб: СпецЛит. – 2013.
20. Калинина, Н.М. Роль иммуноотропной терапии в повышении эффективности лечения герпес-вирусных инфекций / Н.М. Калинина // Terra Medica – 2009. - № 1(56). – С. 17-22.
21. Каражас Н.В. Герпесвирусные инфекции у детей (эпидемиология. Клиника, диагностика, лечение и профилактика) / Н.В. Каражас // Москва. - 2017.
22. Каражас, Н.В. Современные аспекты герпесвирусной инфекции. Эпидемиология, клиника, диагностика, лечение и профилактика: методические рекомендации. - 2012. - Москва: Спецкнига.
23. Касымова, Е.Б. Клинико-эпидемиологические аспекты Эпштейн-Барр вирусной инфекции. Астраханский медицинский журнал / Е.Б Касымова // 2017. - № 12(3). – С. 6-12.
24. Кирьянов, Б.Ф. Математические модели в здравоохранении: учеб. пособие / Б.Ф. Кирьянов // Великий Новгород: НовГУ им. Ярослава Мудрого. - 2009.
25. Климова Р.Р. Частота обнаружения герпесвирусных инфекций у часто болеющих детей с острой респираторной инфекцией и их влияние на тяжесть заболевания / Р.Р. Климова, Н.В. Околышева, Е.В. Чичев и др. // Педиатрия. - 2014 г. - 1: Т. 93. - С. 44-49.
26. Клинические рекомендации (протокол лечения) // (протокол лечения) оказания медицинской помощи детям больным инфекционным мононуклеозом,

заседание профильной комиссии 09.11.2013 г., код протокола 91500.11. В 27.0 01-2013. - 2015 г.

27. Клинические рекомендации (протокол лечения) оказания медицинской помощи детям больным цитомегаловирусной инфекцией. ФГБУ НИИДИ ФМБА России, 2015.

28. Кочкина, С.С. Цитомегаловирусная инфекция у детей / С.С. Кочкина // Детские инфекции – 2016. - № 15(1). - С. 39-44.

29. Львов, Д.К. Актуальные проблемы герпесвирусных инфекций. / Д.К. Львов // – Москва – 2004. - С. 121.

30. Львов, Н.Д. Ключевые вопросы диагностики Эпштейна – Барр-вирусной инфекции / Н.Д. Львов // Инфекционные болезни – 2013. - № 3. - С. 24-32.

31. Львов, Н. Д. Герпесвирусы человека — системная, интегративная, лимфопролиферативная иммуноонкопатология /Н. Д. Львов//Русский медицинский журнал. – 2012. - № 22. - С. 1133-1138.

32. Майлян, Э. А. Частота регистрации маркеров цитомегаловирусной инфекции по данным иммуноферментного анализа у жителей Донецкого региона / Э. А. Майлян // Медико-социальные проблемы семьи – 2013. - С. 123-127.

33. Макаров, Л. М. ЭКГ в педиатрии /Л.М. Макаров. - Москва: Медпрактика, 2002. - С. 276.

34. Мангушева, Я.Р. Цитомегаловирусная инфекция у детей /Я.Р. Мангушева, И.М. Хаертынова, Л.И. Мальцева // Практическая медицина - 2014 г. - Т. 7(83). - С. 11-16.

35. Марданлы, С. Цитомегаловирусная инфекция. Этиология, эпидемиология, патогенез, клиника, лабораторная диагностика, лечение, профилактика/С. Марданлы // Электрогорск: ЭКО-лаб.- 2011.

36. Меджидова, А.Ж. Сравнение эффективности лабораторных методов выявления цитомегаловируса в аутопсийном материале /А.Ж. Меджидова// Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии – 2002. - № 2. - С. 63-68.
37. Мелёхина, Е.В. Течение инфекции, обусловленной вирусом герпеса человека 6-го типа, у детей с острыми респираторными заболеваниями /Е.В. Мелёхина //Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского – 2016. - № 95(2). - С. 30-37.
38. Мелехина, Е.В. Инфекция, вызванная human betaherpesvirus 6a/b// Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук - Москва : [б.н.], 2019 г.
39. Михнева, С.А. Инфекционный мононуклеоз: характеристика проявлений эпидемического процесса /С.А. Михнева// Инфекционные болезни: Новости. Мнения. Обучение. – 2017. - №5(22). – С. 61-64.
40. Музыка А.Д. Диагностика, клинико-лабораторные особенности и лечение активных форм инфекции вируса герпеса человека 6 типа у детей //Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук - Москва : 2017 г.
41. Мюкке, Н.А. Герпетическая инфекция 6-го типа у детей / Н.А Мюкке // Научный центр здоровья детей НИИ Педиатрии.- 2006.
42. Никольский М.А. Ошибки диагностики инфекционного мононуклеоза у детей / М.А. Никольский, Е.Д. Соколова, Д.А. Лиознов// Педиатрия. Приложение к журналу Consilium Medicum - 2016 г. – С.3.
43. Никольский, М.А. Клинические варианты первичной инфекции, вызванной вирусами герпеса человека 6-го и 7-го типов, у детей раннего возраста / М.А. Никольский // Педиатрия - 2008 г. - Т. 87(4). - С. 52-55.
44. Околышева, Н.А. Особенности течения инфекции, вызванной вирусом герпеса человека 6 типа, у детей раннего возраста на фоне острой респираторной вирусной инфекции / Н.А. Околышева // Детские инфекции – 2014. - № 13(13). - С.19-23.

45. Петровский, Б. В. Энциклопедический словарь медицинских терминов/ Б.В.Петровский - Москва : Сов. энциклопедия, 1982.
46. Пospelова, Н.С. Клинико-лабораторный алгоритм диагностики острой цитомегаловирусной инфекции у детей/ Н.С. Пospelова, Е.В. Мелехина, А.В. Пермякова // Журнал инфектологии - 2019 г. -№ 4 - Т. 11. - С. 92-97.
47. Разумов, В.И. Информационные основы синтеза систем: в 3 ч./В.И. Разумов, В.П.Сизиков. – Омск: Изд-во ОмГУ, 2007. – 266 с.
47. Реброва, О. Ю. Вопросник для оценки риска систематических ошибок в нерандомизированных сравнительных исследованиях: русскоязычная версия шкалы Ньюкасл-Оттава /О.Ю. Реброва, В. К. Федяева // Медицинские технологии. - 2016 г. - 25 : Т. 3. - С. 14-18.
48. Рыбалкина Т.Н. Значение герпесвирусов в этиологии ряда инфекционных и соматических заболеваний у детей/ Т.Н. Рыбалкина// Детские инфекции – 2017. - № 16 - С. 10-19.
49. Рыбалкина, Т.Н. Роль оппортунистических инфекций в возникновении осложнений у детей / Т.Н Рыбалкина // Детские инфекции – 2013. - №12(2). – С. 43-46.
50. Светлов В. А. Современная логика: учебное пособие / В.А. Светлов. - Спб. : Питер, 2006. - С. 400.
51. Симованьян, Э. Н. Эпштейна-Барр вирусная инфекция у детей: совершенствование программы диагностики и лечения/ Э. Н. Симованьян // Детские инфекции - 2015. – № 15(1). – С. 15-23.
52. Симованьян, Э.Н. Инфекционные болезни у детей: учебное пособие (изд. Изд. 2-ое, доп. и перераб.) / Э.Н. Симованьян // Ростов н/Дону: Феникс.- 2011.
53. Симованьян, Э.Н. Эпштейна-Барр вирусная инфекция у детей: совершенствование программы диагностики и лечения /Э.Н. Симованьян // Детские инфекции – 2016. - № 1. - С.15-24.

54. Солдатова, Е.Ю. Особенности течения ювенильных артритов у детей с герпес-вирусной инфекцией / Е. Ю. Солдатова // Инфекционные болезни – 2017. - № 15(1). – С. 16–22.
55. Стандарт специализированной медицинской помощи //Стандарт специализированной медицинской помощи детям при инфекционном мононуклеозе тяжелой степени тяжести, 2012, приказ № 802н, Собрание законодательства РФ, 2011, № 48, ст. 6724; 2012, № 26, ст. 3442, 3446. - 2012 г.
56. Фирсов, Н. Микробиология: словарь терминов / Н. Фирсов - Москва : Дрофа, 2006.
57. Харламова, Ф.С. Клинико-патогенетическое обоснование иммуннокорректирующей и противовирусной терапии при персистирующей герпетической инфекции у детей с рецидивирующим крупом и обструктивным бронхитом / Ф.С. Харламова // Детские инфекции – 2005. - № 4. – С. 10-14.
58. Хмилевская, С.А. Эпштейна–Барр вирусный мононуклеоз: клинико-динамические особенности различных вариантов инфекции /С.А. Хмилевская // Саратовский научно-медицинский журнал – 2010. - № 6(3). - С. 570–574.
59. Царегородцев, А.Д. Персистирующие инфекции в педиатрии: современный взгляд на проблему. Российский вестник перинатологии и педиатрии / А.Д. Царегородцев, Е.А. Ружицкая, Л.Б. Кистенева// Российский вестник перинатологии и педиатрии - 2017 г. - Т. 62(1). - С. 5-9.
60. Чаплин, А. В. Микробиом человека / А. В. Чаплин, К.Н. Ребриков, М.Н. Болдырева //Вестник Российского государственного медицинского университета - 2017 г. - стр. С. 5-13.
61. Черкасский Б.Л. Риск в эпидемиологии / Б.Л. Черкасский - Москва : Практическая медицина, 2007. - С. 476.

62. Шарипова, Е.В. Клинико-лабораторные и эпидемиологические особенности внезапной экзантемы у детей Санкт-Петербурга / Е.В. Шарипова, И.В. Бабаченко, Ю.И. Сичковская, Ю.Ю. Чернышова // *Детские инфекции* - 2016 г. - С. 2.
63. Шахгильдян, В.И. Клиническое значение, подходы к диагностике и лечению активной цитомегаловирусной инфекции у беременных / В.И. Шахгильдян // *Медицинский совет* – 2016. - № 12 – С. 68-78.
64. Щербак, В.А. Цитомегаловирусная инфекция у новорожденных: необходимость смены устоявшихся представлений / В.А. Щербак // *Вопросы практической педиатрии* – 2015. - № 10. – С. 46-53.
65. Щубелко, Р.В. Герпесвирусные инфекции человека: клинические особенности и возможности терапии / Р.В. Щубелко // *РМЖ*. – 2018. - Т. 26 (№ 8-1.) - С. 39-45.
66. Abate, D. A. Major human cytomegalovirus structural protein pp65 (ppUL83) prevents interferon response factor 3 activation in the interferon response / D. A. Abate// *J. Virol.* – 2004. - Vol.78. - P. 10995-11006.
67. Agut H. Bonnafous P., Gautheret-Dejean A. - 2015 г.
68. Agut, H. In vitro sensitivity of human herpesvirus-6 to antiviral drugs / H. Agut // *Res Virol.* –1989. - N140. - P. 219–228.
69. Agut, H. The discovery of three novel human viruses, human herpesviruses 6, 7, and 8 / H. Agut // *Bull. Acad. Natl. Med.* - 1997. - Vol. 181(№ 6). - P. 1009-1012.
70. Agut, H. Update on infections with human herpesviruses 6A, 6B, and 7 / H. Agut // *Med Mal Infect.* 2016. - P. 2-9.
71. Agut, H. Deciphering the clinical impact of acute human herpesvirus 6 (HHV-6) infections / H. Agut // *J Clin Virol.* – 2011.- N52. – P. 164–171.
72. Agut, H. Laboratory and clinical aspects of human herpesvirus 6 infections / Agut, H. // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2015. - 28(2) – P. 313-335.

73. Andrew J. Davison, Herpesvirus systematics / A.J., Davison // *Vet Microbiol.* – 2010. - 143. -P. 52–69.
74. Almanan, M, R. J. Tissue-specific control of latent CMV reactivation by regulatory T cells /M. Almanan // *PLoS Pathog.* – 2017. - 13(8). P.e1006507.
75. Antoine, P. O. V. Functional exhaustion of CD4+ T lymphocytes during primary cytomegalovirus infection / P. Antoine // *J Immunol.* – 2012. - 189(5). – P. 2665–72.
76. Arbuckle, J.H. The molecular biology of human herpesvirus-6 latency and telomere integration / J.H. Arbuckle, P.G. Medveczky // *Microbes. Infect.* - 2011 г. - Т. 13 (8-9). - P. 731-34.
77. Arena, A. Altered cytokine production after human herpes virus type 6 infection / A. Arena // *New Microbiol.* – 1999. - 22. – P. 293-300.
78. Arvin, A. Human Herpesviruses: Biology, Therapy, and Immunoprophylaxis / Arvin A. // 2007. - Cambridge University Press.
79. Asano, Y. Severity of human herpesvirus-6 viremia and clinical findings in infants with exanthem subitum / Y. Asano // *J Pediatr.* – 1991. - 118. - P. 891–895.
80. Babcock, G.J. EBV persistence in memory B cells in vivo / G.J. Babcock // *Immunity.* – 1998. - 9(3). – P. 395–404.
81. Bale, J. F. Jr. Cytomegalovirus infections / J.F. Bale // *Semin Pediatr Neurol.* – 2012. - 19(3). – P. 101-106.
82. Balfour, H. A prospective clinical study of Epstein-Barr virus and host interactions during acute infectious mononucleosis / H. Balfour // *The Journal of infectious diseases.* - 2005. - 192. – P. 1505–1512.
83. Balfour, H. Age- specific prevalence of Epstein-Barr virus infection among individuals aged 6–19 years in the United States and factors affecting its acquisition / H. Balfour // *J Infect Dis.* – 2013. - 208. P. 1286–93.

84. Barozzi, P. B cells and herpesviruses: a model of lymphoproliferation / P. P. Barozzi // *Autoimmun Rev.* 2007. - 7(2). – P. 132-136.
85. Barry, S. M. Cytopathology or immunopathology? The puzzle of cytomegalovirus pneumonitis revisited /S. M. Barry//*Bone Marrow Transplant.* – 2000. - 26. – P. 591–597.
86. Bartolini, L. Detection of HHV-6 and EBV and Cytokine Levels in Saliva From Children With Seizures: Results of Multi-Center Cross-Sectional Study /L. Bartolini, E. Piras, K. Sullivan, S. Gillen, A. Bumbut // *Front. Neurol.* - 2018 г. - T. 9. - P. 834.
87. Behzad-Behbahani A. Human herpesvirus-6 viral load and antibody titer in serum samples of patients with multiple sclerosis /A. Behzad-Behbahani // *J. Microbiol. Immunol. Infect.* – 2011. - 44. – P. 247–251.
88. Bogunia-Kubik, K. The presence of IFNG 3/3 genotype in the recipient associates with increased risk for Epstein-Barr virus reactivation after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation /K. Bogunia-Kubik, A. Mlynarczewska, E. Jaskula , A. Lange // *Br J Haematol.* - 2006 г. - T. 132. - P. 326–332.
89. Bolle L. De. Update on human herpesvirus 6 biology, clinical features, and therapy/ L. De Bolle // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2005. - 18. - P. 217–245.
90. Bolle, De L. Quantitative analysis of human herpesvirus 6 cell tropism / De L. Bolle // *J Med Virol.* – 2005. - 75 . – P. 76–85.
91. Boppana, S.B. Congenital Cytomegalovirus Infection: Clinical Outcome / S. Boppana // *Clin Infect Dis.* - 2013. - 57. - P. 178-181.
92. Boppana, S.B. Persistence in the population: epidemiology/S. Boppana// *Human Herpesviruses: Biology, Therapy, and Immunoprophylaxis.* - 2011. - Cambridge: Cambridge University Press.
93. Boutolleau, D. Human herpesvirus (HHV)-6 and HHV-7: two closely related viruses with different infection profiles in stem cell transplantation recipients / D. Boutolleau // *J Infect Dis.* – 2003. - 187. - P. 179–186.

94. Boven van M. Infectious reactivation of cytomegalovirus explaining age- and sex-specific patterns of seroprevalence Boven van M. // PLoS Comput Biol – 2017. - 13(9). – P. E 1005719.
95. Bowman, L.J. Letemovir for the management of cytomegalovirus infection / L.J. Bowman // Expert Opin. Investig. Drugs. 2017. - 26. - P. 235-241.
96. Bravender, T. Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, and infectious mononucleosis /T. Bravender // Adolesc. Med. State Art Rev. – 2010. - V. 21(№ 2) - P. 251–264.
97. Brissot, E. How to manage EBV reactivation and EBV-PTLD, CMV and human herpesvirus 6 reactivation and infection after allogeneic stem cell transplantation: A report of the SFGM-TC (update) /E. Brissot // Bulletin du Cancer, 104 (12). - 2017 г. - 12 : T. 104 . - P. S181-S187.
98. Britt, W.J. Use of HCMV-recombinant vaccinia virus-infected cells in analysis of the human neutralizing antibody response / W.J. Britt // J. Virol. – 1990. - Vol. 64. - P. 1079–1085.
99. Britt, W. Manifestations of human cytomegalovirus infection: proposed mechanisms of acute and chronic disease / W. Britt // Curr Top Microbiol Immunol. – 2008. - 325. – P. 417–470.
100. Burgner, D. Genetic susceptibility to infectious diseases: Big is beautiful, but will bigger be even better? / D. Burgner, S.E. Jamieson, J.M. Blackwell // Lancet Infect. Dis. - 2006 г. - T. 6. - P. 653–663.
101. Buxmann, H. H. Primary human cytomegalovirus (HCMV) infection in pregnancy / H. H. Buxmann // Dtsch Arztebl Int. – 2017. – 114. – P. 45–52.
102. Callan, M. F. The immune response to Epstein-Barr virus / M.F. Callan // Microbes Infect. – 2004 - 6. – P. 937–945.
103. Campadelli-Fiume, G. M. P. Human Herpesvirus 6: An emerging pathogen /G. M. P. Campadelli-Fiume // Emerg. Infect. Dis. – 1999. - Vol. 5. - № 3. – P. 353-366.

104. Campbel, I A. E. The salivary glands as a privileged site of cytomegalovirus immune evasion and persistence / A.E. Campbell // *Med Microbiol Immunol.* – 2008. – 197. – P. 205–213.
105. Cannon M.J. Review of cytomegalovirus seroprevalence and demographic characteristics associated with infection / M.J. Cannon // *Rev. Med. Virol.* – 2010. - 20. – p. 202–213.
106. Cannon, M. J. Review of cytomegalovirus shedding in bodily fluids and relevance to congenital cytomegalovirus infection /M. J. Cannon // *Review sin Medical Virology.* – 2011. - 21(4). - P. 240–255.
107. Cao, P. Fluorescence in situ hybridization is superior for monitoring Epstein Barr viral load in infectious mononucleosis patients /P. Cao, M. Zhang, W. Wang//*BMC Infect Dis.* - 2017 г. - 323 : T. 17.
108. Carrigan, D.R. Human herpesvirus-6 and bone marrow transtransplantation Human herpesvirus-6/D.R. Carrigan // *Epidemiology, molecular biology and clinical pathology.* – 1992. - Amsterdam: Elsevier Science., P281-301.
109. Casell, E. et al. Acute human herpesvirus-6A infection of human mesothelial cells modulates HLA molecules /E. Casell // *Arch. Virol.* – 2015. - № 160. – P. 2141–2149.
110. Chavali, A. G. Characterizing emergent properties of immunological systems with multicellula rule-based computational modeling/A. G. Chavali // *Trends Immunol.* – 2008. - 29. – P. 589-599.
111. Chemaly, R.F. In vitro comparison of currently available and investigational antiviral agents against pathogenic human double-stranded DNA viruses: a systematic literature review / R.F. Chemaly // *Antiviral Res.* – 2019. - 163 . – P. 50–58.
112. Chida Y, M. X. Does psychosocial stress predict symptomatic herpes simplex virus recurrence? A meta-analytic investigation on prospective studies/ Y. M. Chida // *Brain Behav Immun.* 2009. - 23. – P. 91725.

113. Chou, S. C. S. Antagonizes the Antiviral Action of Ganciclovir on Human Cytomegalovirus / S. C. S. Chou // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2006. - Vol. 50(10). - P. 3470–3472.
114. Clark, D. A Clinical and laboratory features of human herpesvirus 6 chromosomal integration / D. A. Clark // *Clin Microbiol Infect.* - 2016 г. - Т. 22. - P. 333–33.
115. Clark, D.A. et al. Quantification of human herpesvirus 6 in immunocompetent persons and post-mortem tissues from AIDS patients by PCR / D.A. Clark // *J Gen Virol.* – 1996 . - №77. – P. 2271–5.
116. Coisel, Y. Cytomegalovirus and herpes simplex virus effect on the prognosis of mechanically ventilated patients suspected to have ventilator-associated pneumonia / Y. Coisel// *PLoS One.* - 2012 г. - Т. 7. - P. e51340.
117. Colombini, E. G. Erratum to: Viral load of EBV DNA-emia is a predictor of EBV-related post-transplant lymphoproliferative disorders in pediatric renal transplant recipients / Colombini E. G. // *Pediatr Nephrol.* – 2017. - 32. - P. 2001.
118. Couchoud, C. Cytomegalovirus prophylaxis with antiviral agents in solid organ transplantation:a meta-analysis / C. Couchoud // *Transplantation.* – 1998. - 65. – P. 641–7.
119. Crocchiolo, R.G.L. Human Herpesvirus 6 replication predicts Cytomegalovirus reactivation after allogeneic stem cell transplantation from haploidentical donor / R. G. L. Crocchiolo // *J Clin Virol.* – 2016. - 84. – P. 24–26.
120. Davies, H.D. Infectious complications with the use of biologic response modifiers in infants and children /H.D. Davies//*Pediatrics.* – 2016. - 138(2). – P. e20161209.
121. Delgado-Eckert, S. M. A model of host response to a multi-stage pathogen / S. M. Delgado-Eckert // *J Math Biol.* – 2011. - 63(2). – P. 201–227.
122. Dieamant, D.C. Cytomegalovirus (CMV) genotype in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation / D.C. Dieamant, S.H. Bonon, R.M. Peres // *BMC Infect. Dis.* - 2013 г. - 13 : Т. Vol. 10. – P. 310 .

123. Dolcetti, R. B lymphocytes and Epstein-Barr virus: the lesson of post-transplant lymphoproliferative disorders/ R. Dolcetti // *Autoimmun Rev.* – 2007 - 7. - P.96-101.
124. Dossier, C. Prevalence of her-pesviruses at onset of idiopathic nephritic syndrome. / C. Dossier, A.L. Sellier-Leclerc, A. Rousseau, Y. Michel // *Pediatr Nephrol.* - 2014 г. - 12 : T. 29. - P. 2325-2331.
125. Draborg, A. H. Epstein–Barr Virus in Systemic Autoimmune Diseases/ A. H. Draborg // *Clin Dev Immunol.* – 2013. – P. 535738.
126. Dreyfus, D.H. Herpesvirus and the microbiome / D.H. Dreyfus // *J Allergy Clin Immunol.* - 2013 г. - 6 : T. 132. – P. 1278-1286.
127. Drobyski WR. Brief report: fatal encephalitis due to variant B human herpesvirus-6 infection in a bone marrow-transplant recipient / W.R. Drobyski // *N Engl J Med.* – 1994. - 330. – P. 1356–1360.
128. Dulery R, S. J. Early human herpesvirus type 6 reactivation after allogeneic stem cell transplantation: a large-scale clinical study / R. S. J. Dulery // *Biol Blood Marrow Transplant.* - 2012. - 18. – P. 1080–1089.
129. Duppach, J.F. S. Expanded regulatory T cells in chronically friend retrovirus-infected mice suppress immunity to a murine cytomegalovirus superinfection / J. F. S. Duppach // *J. Virol.* – 2014. - 88(23). – P. 13892–13896 .
130. Dworsky, M. Y. Cytomegalovirus infection of breast milk and transmission in infancy / M. Y. M. Dworsky // *Pediatrics.* – 1983. - 72. – P. 295–299.
131. Dziedzic, M. Risk factors for cytomegalovirus infection after allogeneic hematopoietic cell transplantation in malignancies: proposal for classification / M. Dziedzic // *Anticancer Res.* – 2017. - 37. – P. 12.
132. El-Ela, M.A. et al. Higher Expression of Toll-like Receptors 3, 7, 8, and 9 in Pityriasis Rosea / M.A. El-Ela // *J Pathol Transl Med.* - 2017 г. - 2 : T. 51. - стр. P. 148-151.

133. El-Matary, W. Detection of Cytomegalovirus in Colonic Mucosa of Children With Inflammatory Bowel Disease: Inflammatory Bowel Disease /W. El-Matary // *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* – 2018. - 67. – P. 221-4.
134. Emery V. C. Application of viral-load kinetics to identify patients who develop cytomegalovirus disease after transplantation /V. C. Emery // *Lancet.* – 2000. – 355. – P. 2032–2036.
135. Enright, A.M. Neonatal herpes infection: diagnosis, treatment and prevention / A.M. Enright, C.G. Prober // *Semin Neonatol.* - 2002 г. - T. 7. - P. 283–291.
136. Fafi-Kremer S. Long-Term Shedding of Infectious Epstein-Barr Virus after Infectious Mononucleosis /S. Fafi-Kremer // *The Journal of Infectious Diseases.* – 2005. - 191(6). - P. 985–989.
137. Farrel, P.J. Epstein-Barr virus strain variation /P.J. Farrell // *Curr Top Microbiol Immunol.* - 2015 г. - (Pt 1) : T. 390. - P. 45–69.
138. Fellner M.D. Epstein-Barr virus loading in transplant patients: early detection of post-transplant lymphoproliferative // *Rev Argent Microbiol.* - 2016 г. - 2 : T. 48. - P. 110-8.
139. Fishman, J.A. Overview: cytomegalovirus and the herpesviruses in transplantation / J.A. Fishman // *Am J Transplan.* - 2013. – 13 (Suppl 3). – P. 18.
140. Fortunato E. A. Regulation of human cytomegalovirus gene expression / E. A. Fortunato // *Adv. Virus Res.* – 1999. - Vol. 54. - P.61 – 128.
141. Friedrichs, I. Detection of herpesvirus EBV DNA in the lower respiratory tract of ICU patients: a marker of infection of the lower respiratory tract? / I. Friedrichs, T. Bingold, O.T. Keppler et al. // *Med Microbiol Immunol.* - 2013 г. - T. 202. - P. 431–436.
142. Fryer J.F. Collaborative study to evaluate the proposed 1st WHO International Standard for human cytomegalovirus (HCMV) for nucleic acid amplification (NAT)-based assays Collaborative Study Group /J.F. Fryer // *WHO ECBS Report 2010.*

143. Gallois-Montbrun, S. Improving nucleoside diphosphate kinase for antiviral nucleotide analogs activation / S. Gallois-Montbrun // *J. Biol. Chem.* – 2002 - 277. - P.39953–39959.
144. Gantt, S. C. J. Cytomegalovirus and Epstein-Barr virus in breast milk are associated with HIV-1 shedding but not with mastitis / S. C. J. Gantt // *AIDS.* – 2008. - 22. – P. 1453–1460.
145. Gantt, S. O. J. Prospective characterization of the risk factors for transmission and symptoms of primary human herpesvirus infections among Ugandan infants / S. O. J. Gantt // *J Infect Dis.* – 2016. - 214. – P. 36–44.
146. Gartzonika, C. Utility of Real-Time PCR in the Diagnosis of Primary Epstein-Barr Virus Infection / C. Gartzonika, G. Vrioni, E. Priavali, G. Pappas, S. Levidiotou // *J Med Microb Diagn.* - 2012 г. - Т. 2. - P. 118.
147. Gautheret-Dejean, A. Different expression of human herpesvirus-6 (HHV-6) load in whole blood may have a significant impact on the diagnosis of active infection / A. Gautheret-Dejean // *J Clin Virol.* – 2009. - 46. - P. 33–6.
148. Gerna, G. L. Rising antigenemia levels may be misleading in pre-emptive therapy of human cytomegalovirus infection in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients / G. L. Gerna // *Haematologica.* – 2005. - 90(4). – P. 526-533.
149. Gibson, W. Molecular aspects of human cytomegalovirus diseases / W. Gibson // *Molecular biology of human cytomegalovirus.* – 1993. - Berlin: Springer. - P. 303-329
150. Goldberger, T.M. The use of microRNA by human viruses: lessons from NK cells and HCMV infection / T. M. Goldberger // *Semin. Immunopathol.* – 2014. - 36(6). – P. 659–674.
151. Gonczol, E. C. High expression of human cytomegalovirus (HCMV)-gB protein in cells infected with a vaccinia-gB recombinant: The importance of the gB protein in HCMV immunity / E. C. Gonczol // *Vaccine.* – 1991. - № 9. - P. 631–637.

152. Gratama, J. W. Molecular epidemiology of Epstein-Barr virus infection. / J. W. Gratama // *Adv Cancer Res.* – 1995. - 67. – P. 197–255.
153. Gravel, A. H. Sequence analysis of transplacentally acquired human herpesvirus 6 DNA is consistent with transmission of a chromosomally integrated reactivated virus / A. H. C. Gravel // *J Infect Dis.* – 2013. - 207. – P. 1585-1589.
154. Griffiths, P. D. Cytomegalovirus glycoprotein-B vaccine with MF59 adjuvant in transplant recipients: a phase 2 randomised placebo-controlled trial / P. D. Griffiths // *Lancet.* - 2011. - 377(9773). – P. 1256–1263.
155. Griffiths, P. P. Desirability and feasibility of a vaccine against cytomegalovirus / P. P. Griffiths // *Vaccine.* – 2013. - 31(Suppl 2). - B197–B203.
156. Grinde, B. Herpesviruses: latency and reactivation - viral strategies and host response / Grinde B. // *J. Oral Microbiol.* – 2013. – 5. – P. 22766.
157. Grose, C. D. Transmission of Cytomegalovirus, Epstein–Barr Virus, and Herpes Simplex Virus Infections: From the Lucy Australopithecus Epoch to Modern-Day Netherlands / C. D. Grose // *The Journal of Pediatrics.* -2016. - Volume 170. – P. 9 - 10.
158. Grundy, J. E. Is cytomegalovirus interstitial pneumonitis in transplant recipients an immunopathological condition? / Grundy J. E. // *Lancet.* – 1987. - 2. P. 996–999.
159. Gryns, T.E. Precision across the Analytical Measuring Range of a Quantitative Real-Time PCR Assay for Cytomegalovirus Detection among Three Clinical Laboratories / T.E. Gryns // *J of Clin Microbiol.* – 2011. – P.12.
160. Gulley, M.L. Laboratory assays for Epstein–Barr virus-related disease / M.L. Gulley // *J. Mol. Diagn.* – 2008. - Vol. 10. - N 4. – P. 279–292.
161. Hadinoto, V. S. The dynamics of EBV shedding implicate a central role for epithelial cells in amplifying viral output / V. S. Hadinoto// *PLoS Pathog.* 2009. - 5. – P. e1000496.

162. Hall, C.B. Transplacental congenital human herpesvirus 6 infection caused by maternal chromosomally integrated virus / C.B Hall // *J. Infect. Dis.* – 2010. - vol. 15. – 4. - P. 505–507.
163. Hall, C. Human herpesvirus-6 infection in children. A prospective study of complications and reactivation / C. Hall // *N. Engl. J. Med.* – 1994. - 331. - P. 432-438.
164. Haller, O. Pathogenic viruses: smart manipulators of the interferon system / O. Haller, F. Weber. // *Curr Top Microbiol Immunol.* - 2007 г. - T. 316. - P. 315—341.
165. Halwachs-Baumann G. G. Human cytomegalovirus load in various body fluids of congenitally infected Newborns / Department of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, University Hospital Graz, Austria /G. G. Halwachs-Baumann // *J. Clin. Virol.* – 2002. - № 25. - Suppl. 3. - P. 81-7.
166. Halwachs-Baumann, G. G. Die konnatale zytomegalievirus Infektion/ G. G. Halwachs-Baumann // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2002. - 10. - P. 680-715 .
167. Han Xiang, Y. Postsplenectomy Cytomegaloviral Mononucleosis. Am./ Y. Han Xiang // *J. Clin. Pathol.* – 2005. - 123. - P. 612–617.
168. Handel, A.E. An Updated Meta-Analysis of Risk of Multiple Sclerosis following Infectious Mononucleos /A.E. Handel // *PLoS One* 2010. - 5(9). – P. e12496.
169. Hanley, P.J. Expansion of T cells targeting multiple antigens of cytomegalovirus, Epstein-Barr virus and adenovirus to provide broad antiviral specificity after stem cell transplantation / P.J. Hanley // *Cytotherapy.* – 2011. - Vol. 13. - P. 976–986.
170. Heieren M.H. Human cytomegalovirus infection of kidney glomerular visceral epithelial and tubular epithelial cells in culture /M.H. Heieren // *Transplantation.* – 1988. - Vol. 46. - № 3. - P. 426–432.
171. Heininger, A. 15(2): R77. doi:10.1186/cc10069 Cytomegalovirus reactivation and associated outcome of critically ill patients with severe sepsis / A. Heininger, H. Haeberle, I. Fischer, et al. // *Crit Care.* - 2011.

172. Hislop, A. D. Tonsillar homing of Epstein-Barr virus-specific CD8+ T cells and the virus-host balance /A. D. Hislop // J Clin Invest . – 2005. - 11. - P. 2546–2555.
173. Ho, D.D. Replication of human cytomegalovirus in endothelial cells / Ho D.D. // J. Infect. Dis. – 1984. - Vol. 150. - № 6. – P. 956-957.
174. Hochberg, D. S. Acute infection with Epstein-Bar virus targets and overwhelms the peripheral memory B cell compartment with resting, latently infected cells /D. S. Hochberg / J Virol. – 2004. - 78(10). – P. 5194–5204.
175. Hochberg, D. S. Acute infection with Epstein-Bar virus targets and overwhelms the peripheral memory B cell compartment with resting, latently infected cell / D. S. Hochberg // J Virol. - 2004. - 78(10). – P. 194–5204.
176. Honess, R. Regulation of herpesvirus macromolecular synthesis. I. Cascade regulation of the synthesis of three groups of virus proteins / R.W. Honess, B. Roizman // J. Virol. – 1974. - Vol. 14. - P. 8-19.
177. Hug, M . Pediatric Epstein-Barr Virus Carriers With or Without Tonsillar Enlargement May Substantially Contribute to Spreading of the Virus / M. Hug, M. Dorner, F. Zucol Fröhlich, C. Gysin, D. Neuhaus // The Journal of Infectious Diseases. - 2010 г. - 8 : T. 202. – P. 1192–1199.
178. Hug, M. Pediatric Epstein-Barr Virus Carriers With or Without Tonsillar Enlargement May Substantially Contribute to Spreading of the Virus / M. Hug, M. Dorner, Fröhlich F. Zucol, C. Gysin, D. Neuhaus // The Journal of Infectious Diseases. - 2010 г. - 8 : T. 202. - P. 1192–1199.
179. Humar, A. L. The efficacy and safety of 200 days of valganciclovir cytomegalovirus prophylaxis in high-risk kidney transplant recipients / A. L. Humar // Am J Transplant – 2006. - 10. – P. 1228-1237.
180. Hurme, M. IL-10 gene polymorphism and herpesvirus infections. / M. Hurme, M. Haanpaa, T. Nurmikko // J Med Virol. - 2003 г. - suppl 1 : T. 70. - P. S48–S50.

181. Huynh, G. T. Modeling the dynamics of virus shedding into the saliva of Epstein-Barr virus positive individuals / G. T. Huynh // *J Theor Biol* – 2012. - 310. - P. 105–114.
182. Ibanez, C.E. Human cytomegalovirus productively infects primary differentiated macrophages / C. E. Ibanez // *J. Virol.* – 1991. - Vol. 65. - № 12. - P. 6581–6588.
183. Ihira, M. Development of quantitative RT-PCR assays for detection of three classes of HHV-6B gene transcripts / M. Ihira // *J Med Virol.* – 2012. - 84 . - P. 1388–95.
184. Ikuta, K. Detection of Epstein-Barr virus in salivas and throat washings in healthy adults and children/ K. Ikuta, Y. Satoh, Y. Hoshikawa, T. Sairenji // *Microbes Infect.* - 2000 г. - T. 2. - P. 115–120.
185. James, N., Fleming D. J. Valganciclovir (VGCV) followed by cytomegalovirus (CMV) hyperimmune globulin compared to VGCV for 200 days in abdominal organ transplant recipients at high risk for CMV infection: A prospective, randomized pilot study /N. James // *Transpl Infect Dis.* – 2017. - 19(6). – P. e12779.
186. Jeulin, H. S. Contribution of human herpesvirus 6 (HHV-6) viral load in whole blood and serum to investigate integrated HHV-6 transmission after haematopoietic stem cell transplantation / H. S. Jeulin // *J. Clin. Virol.* – 2009. - 45(1). P. 43-46.
187. Josephine, M. B. Animal models for human herpesvirus 6 infection / M. B. Josephine // *Front Microbio.* – 2013. - 4. - P. 174.
188. Kalil A. C. Prevalence and mortality associated with cytomegalovirus infection in nonimmunosuppressed patients in the intensive care unit / A. C Kali // *Crit Care Med.* 2009. – 37. P. 2350–2358.
189. Kalil, A.C. Is cytomegalovirus reactivation increasing the mortality of patients with severe sepsis / A.C. Kalil, D.F. Florescu // *Crit Care.* - 2011 г. - 2 : T. 15. - P. 138.

190. Kalil, A.C. Prevalence and mortality associated with cytomegalovirus infection in non immunosuppressed patients in the intensive care unit / A.C. Kalil, D.F. Florescu // *Crit Care Med.* - 2009 г. - Т. 37. - P. 2350–2358.
191. Kalla, M. AP-1 homolog BZLF1 of Epstein–Barr virus has two essential functions dependent on the epigenetic state of the viral genome / M. Kalla // *PNAS.* – 2010. - Vol. 107. - P. 850–855.
192. Kenney, S.C. Reactivation and lytic replication of EBV / Kenney S.C. // *Herpesviruses: Biology, Therapy, and Immunoprophylaxis.* Cambridge: Cambridge University Press. – 2007.
193. Kieff, E. Epstein-Barr virus and its replication, *Fields virology* / E. Kieff // Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. – 2007. - Т. 2.
194. Kikuta, H. Epstein–Barr virus genome-positive T lymphocytes in a boy with chronic active EBV infection associated with Kawasaki-like disease / H. Kikuta // *Nature.* – 1988. - 333(6172) – P. 455-457.
195. Kim, P.S. Features of responding T cells in cancer and chronic infection / P.S. Kim// *Curr Opin Immunol.* – 2010. - 22. – P. 223–230.
196. Klein, E. Epstein-Barr virus infection in humans: from harmless to life endangering virus lymphocyte interactions / E. Klein // *Oncogene.* – 2007. - 26. – P. 1297305.
197. Klysik, K. P. Acyclovir in the treatment of herpes viruses - a review / K. P. Klysik // *Curr. Med. Chem.* – 2018. – P. 25.
198. Kobayashi, M. Control of viral latency in neurons by axonal mTOR signaling and the 4E-BP translation repressor / M. Kobayashi // *Genes Dev.* – 2012. - 26. P. 152732.
199. Kondo, K. Latent human herpesvirus 6 infection of human monocyte/smooth muscle cells / K. Kondo // *J Gen Virol.* – 1991. - 72. – P.1401–1408.

200. Krmpotic A. Pathogenesis of murine cytomegalovirus infection /A. Krmpotic // *Microbes Infect.* – 2003. - Vol. 5. - № 13. - P. 1263–1277.
201. Krueger, G. R. Dynamics of infection with human Herpesvirus-6 in EBV-negative infectious mononucleosis: data acquisition for computer modeling /G. R. Krueger // *In Vivo.* 2001. – 15. - P. 373–380.
202. Krueger, G.R. A unifying concept of viral immunopathogenesis of proliferative and aroliferative diseases (working hypothesis) / G . R. Krueger // *In Vivo.* – 1994. - 8. P. 493–500.
203. Kumagai, T. Time course characteristics of human herpesvirus 6 specific cellular immune response and natural killer cell activity in patients with exanthema subitum / T. Kumagai // *J Med Virol.* - 2006 г. - 6 : T. 78. - P.792–900.
204. L’vov, N.D. Human herpes viruses are systemic, integrative and lymphoproliferative immuno-oncopathology / N.D. L’vov// *Russkiy meditsinskiy zhurnal.* – 2012. - 20(22). P. 1133-8.
205. Lagadinou E. D. Human herpesvirus 6-related pure red cell aplasia, secondary graft failure, and clinical severe immune suppression after allogeneic hematopoietic cell transplantation successfully treated with foscarnet / E. D. Lagadinou // *Transpl Infect Dis.* – 2010. - 1. – P. 437–440.
206. Lanzieri T.M. Seroprevalence of cytomegalovirus among children 1 to 5 years of age in the United States from the National Health and Nutrition Examination Survey of 2011 to 2012/ T.M. Lanzieri // *Clin Vaccine Immunol.* – 2015.- P. 222-45.
207. Le J. Practice. Human herpesvirus 6, 7 and 8 in solid organ transplantation / J. Le // *Am J Transplant.* – 2013. - 13(Suppl 4). – P. 128–137.
208. Lederberg, J.J. On infectious disease and evolution / J.J. Lederberg, B.S. Haldane // *Genetics.* - 1999 г. - T. 153. - P. 1–3.
209. Li, H.P. Epstein-Barr virus latent membrane protein 1: struc-ture and functions /H.P. Li, Y.S. Chang // *J Biomed Sci.* - 2003 г. - 5 : T. 10. - P. 490–504.

210. Libert, N. Epstein-Barr virus reactivation in critically ill immunocompetent patients / N. Libert, C. Bigaillon, C. Chargari et al. // *BiomedJ.* - 2015 г. - Т. 38. - P. 70–76.
211. Lieberman, P.M. Epigenetics and Genetics of Viral Latency/ P.M. Lieberman // *Cell Host Microbe.* – 2016. - 19(5). – P. 619–628.
212. Limaye, A.P. Cytomegalovirus reactivation in critically ill immunocompetent patients / A.P. Limaye, K.A. Kirby, G.D. Rubenfeld // *JAMA.* - 2008 г. - Т. 300. - P. 413–422.
213. Limaye, A. P. Effect of Ganciclovir on IL-6 Levels Among Cytomegalovirus-Seropositive Adults With Critical Illness: A Randomized Clinical Trial / A. P Limaye // *JAMA.* 2017. - 318(8). – P. 731–740.
214. Limaye, A.P. Cytomegalovirus reactivation in critically ill immunocompetent patients / A.P Limaye // *JAMA.* – 2008. - 300. – P. 413–422.
215. Lindemann, D. R. Foamy virus biology and its application for vector development / D. R Lindemann // *Viruses.* – 2011. - 3. – P. 56185.
216. Ljungman, P. B. Disease Definitions Working Group of the Cytomegalovirus Drug Development Forum. Definitions of cytomegalovirus infection and disease in transplant patients for use in clinical trials / P. B Ljungman // *Clin Infect Dis.* – 2017. - 64(1). – P. 87-91.
217. Lopez Roa P. Coreactivation of human herpesvirus 6 and cytomegalovirus is associated with worse clinical outcome in critically ill adults / P. Lopez Roa // *Crit Care Med.* 2015. - 43. – P. 1415–1422.
218. Lu, X. P. Murine cytomegalovirus interference with antigen presentation contributes to the inability of CD8 T cells to control virus in the salivary gland / X. P. Lu // *J Virol.* 2006. - 80. – P. 4200–4202.

219. Luppi, M. B. Integration of human herpesvirus-6 (HHV-6) genome in chromosome 17 in two lymphoma patients / M. B Luppi // *Leukemia*. – 1994. - 8(Suppl 1). – P. 41–45.
220. Maeda Takekoshi, S. T. Expression of the immediate early antigens of human cytomegalovirus is responsible for virus proliferation, an intracellular immunization approach. Tokai. / S. T. Maeda Takekoshi // *J. Exp. Clin. Med.* – 1992. - Vol. 17. - P. 75-83.
221. Malhotra, S. J. NLRP3 inflammasome is associated with the response to IFN- β in patients with multiple sclerosis /S. J. Malhotra, E. Río, Urcelay et al. // *Brain*. - 2015 г. - 3 : T. 138. - P. 644-652.
222. Mareri, A. S. Herpesvirus-associated acute urticaria: An age matched casecontrol study / A. S. Mareri // *PLoS ONE*. – 2013. - 8(12).
223. Marshall, B.C. The frequency of pregnancy and exposure to cytomegalovirus infections among women with a young child in day care / B.C. Marshall // *Am J Obstet Gynecol* . – 2009. - 200. - 163. – P. e1–5e.
224. Marty, F.M. CMX001 to prevent cytomegalovirus disease in hematopoietic-cell transplantation / F.M Marty // *J Med*. – 2013. - 369(13) - P. 1227–36.
225. Matrajt , L. Virus and host-specific differences in oral human herpesvirus shedding kinetics among Ugandan women and children / L. Matrajt, S. Gantt, B. Mayer, T., E. M. Krantz // *Scientific reports*. - 2017 г. - T. 7(1). - P. 13105.
226. Mayer B. T. Dynamics of persistent oral cytomegalovirus shedding during primary infection in Ugandan infants / B. T. Mayer // *J. Infect Dis*.- 2016 г.
227. Mbulaiteye, S. M. High levels of Epstein-Barr virus DNA in saliva and peripheral blood from Ugandan mother-child pairs / S. M Mbulaiteye // *J Infect Dis*. – 2006. – 193. P. 422–426.

228. Mc Whorter, A.R. Natural killer cell dependent within-host competition arises during multiple MCMV infection: consequences / A.R. McWhorter // *PLoS Pathog.* – 2013. - 9(1). – P. e1003111.
229. Meesing, A. R. New developments in the management of cytomegalovirus infection after transplantation / A. R. Meesing // *Drugs.* – 2018. - 78. – P. 1085–1103.
230. Mehr, R. C. Asynchronous differentiation models explain bone marrow label in kinetics and predict reflux between the pre-and immature B cell pools/ R. C. Mehr // *Int. Immunol.* – 2003. - 15. – P. 301–312.
231. Mendelson, M. Detection of endogenous human cytomegalovirus in CD341 bone marrow progenitors / M. Mendelson // *J Gen Virol.* – 1996. - 77. – P. 3099–3102.
232. Merck. PREVYMIS™ (Letermovir). – 2017. - US Prescribing Information.
233. Mocarski, E.S. Cytomegalovirus and their replication / E.S. Mocarski, C.T. Courcelle / E.S. Mocarski // *USA: Fields Virolog.* – 2001. – P. 2629– 2673 .
234. Moghaddam, A. R. An Animal Model for Acute and Persistent Epstein-Barr Virus Infection / A. R. Moghaddam // *Science.* – 1997. - Vol. 276. - № 5321. - P. 2030-2033.
235. Moghaddam, A. K. Infection of human B lymphocytes with lymphocryptoviruses related to Epstein-Barr virus / Moghaddam // *J. Virol.* – 1998. - Vol. 72. (№ 4) - P. 3205-3212.
236. Mori, T. Transmission of chromosomally integrated human herpesvirus 6 (HHV6) variant A from a parent to children leading to misdiagnosis of active HHV-6 infection / T. Mori // *Transpl. Infect.* – 2009. - 11. – P. 503-506.
237. Murata, H. N. Quantitative detection of HCMV-DNA in saliva from infants and breast milk on real-time polymerase chain reaction / H. N Murata // *Pediatr Int.* – 2009. - 51. – P. 530 –534.
238. Nathan, B., Mark N. Progress in the development of new therapies for herpesvirus infections / B. Nathan, N. Mark // *Curr Opin Virol.* – 2011. - 1(6). - P. 548-554.

239. Nikolskiy, M.A. Chromosomally integrated Human herpesvirus 6 /M.A. Nikolskiy // Russian Journal of Infection and Immunity. – 2015. - 5(1). - P. 7–14.
240. Odumade, O. A. Progress and problems in understanding and managing primary Epstein-Barr virus infections / O. A Odumade // Clin Microbiol Rev. – 2011. - 24(1). – P. 193–209.
241. Ogata, M. et al. Human herpesvirus 6 (HHV-6) reactivation and HHV-6 encephalitis after allogeneic hematopoietic cell transplantation: a multicenter, ZERTive study / M. Ogata // Clin. Infect Dis. – 2013. - №57(5). - P. 671–81.
242. Ogata, M., Phan T.L., Fukuda T. Antiviral therapy for the treatment of HHV-6-associated syndromes after transplant / M. Ogata, T.L. Phan, T Fukuda. // Am J Transplant – 2019. - 19(1). - P. 306-307.
243. Ogata, M. Human herpesvirus 6 in hematological malignancies / M. Ogata // J Clin Exp Hematop. – 2009. - 49. - P.57–67.
244. Oka, S. N. M. EB virus reactivation triggers thrombotic thrombocytopenic purpura in a healthy adult. / S. N. M Oka // Leuk Res Rep. – 2017. - 8. – P. 1-3.
245. Okuno, T. Seroepidemiology of human herpesvirus 6 infection in normal children and adults / T. Okuno // J Clin Microbiol. – 1989. - 27. – P. 651–653.
246. Olson, D. H. M. Co-infection with cytomegalovirus and Epstein-Barr virus in immunonucleosis: case report and review of literature / D. H. M Olson // S D Med. – 2009. - V. 62. - № 9. - P. 351–353.
247. Papazian, L et al. Cytomegalovirus reactivation in ICU patients / L. Papazian et al. // Intensive Care Med. - 2016 г. - T. 42. - P. 28–37.
248. Park, J.M.. False positive immunoglobulin M antibody to cytomegalovirus in child with infectious mononucleosis caused by Epstein-barr virus infection / J. M. Park, J.I. Shin, J.S. Lee et al // Yonsei Med J. - 2009 г. - 5 : T. 50. - P. 713-6.

249. Pawelec, G. A. Is immunosenescence infectious ? / G. A. Pawelec // Trends Immunol. – 2004. - 25. – P. 40610.
250. Pawelec, G. L. A. Derhovanessian E. Senescence of the human immune system / G. L. A. Pawelec // J Comp Pathol. – 2010. – 142. - Suppl 1. – P. 39-44.
251. Pegtel, D. M. Epstein-Barr virus infection in ex vivo tonsil epithelial cell cultures of asymptomatic carriers / D. M. Pegtel // Virol. – 2004. - 78. - P. 12613–12624.
252. Pellett, P.E. Chromosomally integrated human herpesvirus 6: questions and answers / P.E. Pellett // Rev Med Virol. – 2012. - 22. - P. 144– 155.
253. Pembrey, L. Cytomegalovirus, Epstein-Barr virus and varicella zoster virus infection in the first two years of life: a cohort study in bradford, uk. / L. Pembrey // BMC infectious diseases. – 2017. - 17. – P. 220.
254. Pender, M.P. Defective T-cell control of Epstein–Barr virus infection in multiple sclerosis / M.P. Pender // Clin Transl Immunology. 2017. 6(1).
255. Perruccio, K. High Incidence of Early Human Herpesvirus-6 Infection in Children Undergoing Haploidentical Manipulated Stem Cell Transplantation for Hematologic Malignancies /K. Perruccio // Biol Blood Marrow Transplant – 2018. - №24(12). - P. 2549-2557.
256. Phan, T.L. Human Herpesvirus-6B Reactivation Is a Risk Factor for Grades II to IV Acute Graft versus-Host Disease after Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A Systematic Review and Meta-Analysis / T. L. Phan // Biol Blood Marrow Transplant. – 2018. – P. 2324-2336.
257. Pignatelli, S. Genetic polymorphisms among human cytomegalovirus (HCMV) wild-type strains / S. Pignatelli , P. Dal Monte, G. Rossin, M.P. Landini // Rev. Med. Virol. - 2004 г. - 6 : T. 14. - P. 383-410.
258. Poole, E. W. Human cytomegalovirus latency: targeting differences in the latently infected cell with a view to clearing latent infection / E. W. Poole // New J Sci. 2014. - 10.

259. Prichard, M.N. The development of new therapies for human herpesvirus 6 / M.N. Prichard, R.J. Whitley // *Curr. Opin. Virol.* – 2014. - 9. - P. 148-153.
260. Razonable, R.R. Human herpesvirus 6, 7 and 8 in solid organ transplant recipients /R.R. Razonable // *Am. J. Transplant.* – 2013. - 13 (Suppl. 3). - 13 (Suppl. 3). – P. 67-78.
261. Revilleza, M.J. How the virus outsmarts the host: function and structure / M.J Revilleza // *J. Biomed.* – 2011. - *Biotechnol.* - P. 724607.
262. Rickinson, A. B. Epstein-Barr virus /A. B Rickinson // *Virology Philadelphia: Williams & Wilkins.* - 2007 - P. 2655–2700.
263. Rickinson, A. Epstein-Barr virus / A. Rickinson // *Virus Res.* – 1994. - 82(1–2). – P. 109–13.
264. Riddell, S.R. Therapeutic reconstitution of human viral immunity by adoptive transfer of cytotoxic T lymphocyte clones / S.R. Riddell // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* – 1994. - 189. - P. 9-34.
265. Roizman, B. K. Herpes simplex viruses / B. K. Roizman // *Fields virologi . Philadelphia.* - Lippincott-Williams &Wilkins. – 2013. - 6th ed. – P. 1823–1897
266. Rölle, A. P. IL-12-producing monocytes and HLA-E control HCMV-driven NKG2C+ NK cell expansion / A. Rölle // *J. Clin. Invest.* – 2014. - 124(12). - P. 5305–5316.
267. Ross, S. A. Overview of the diagnosis of cytomegalovirus infection / S. A. Ross // *Infect Disord Drug Targets* – 2011. - 11(5). – P. 466–74.
268. Rotola, A. R. T. U94 of human herpesvirus 6 is expressed in latently infected peripheral blood mononuclear cells and blocks viral gene expression in transformed lymphocytes in culture / A. R. T. Rotola // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 1998. - 95. – P. 13911–13916.

269. Rouka, E. Molecular epidemiology of human Herpesviruses types 1-6 and 8 among Greek blood donors / E. Rouka // *Transfus Med.* – 2015. - 25(4). - P. 276-279.
270. Saechan, V.. Analysis of LMP1 variants of EBV in Southern Thailand: evidence for strain-associated T-cell tropism and pathogenicity / V. Saechan, A. Mori, W. Mitarnun, W. Settheetham-Ishida, T. Ishida // *J Clin Virol.* - 2006 г. - 2 : T. 36. - P. 119–25.
271. Sagedal, S. R. H. Cytomegalovirus infection in renal transplant recipients is associated with impaired survival irrespective of expected mortality risk / S. R. H Sagedal // *Clin Transplant.* – 2007. – 21. – P. 309-313.
272. Salahuddin, S.Z. Isolation of a new virus, HBLV, in patients with lymphoproliferative disorders / S.Z. Salahuddin // *Science.* - 234. – P. 596-601.
273. Sample, J. Y. L. Epstein-Barr virus types 1 and 2 differ in their EBNA-3A, EBNA-3B, and EBNA-3C genes / J. Y. L Sample // *J Virol.* – 1990. - 64(9). – P. 4084-92/.
274. Santoro, F. CD46 is a cellular receptor for human herpesvirus 6/ F. Santoro // *Cell.* – 1999. - 99. – P. 817–827.
275. Santpere, G. Genome-wide analysis of wild-type Epstein-Barr virus genomes derived from healthy individuals of the 1000 genomes project / G. Santpere, F. Darre, S. Blanco, A. Alcami, P. Villoslada, M. Mar Albà // *Genome Biol Evol.* - 2014 г. - 4 : T. 6. - P. 846–60.
276. Schirmer, E. Differentiation between two distinct classes of viruses now classified as human herpesvirus 6 / E. Schirmer // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1991. - 88. - P. 5922-5926.
277. Schnee, M. R. Common and specific properties of herpesvirus UL34/UL31 protein family members revealed by protein complementation assay / M. R. Schnee // *J. Virol*, Vol. – 2006. - 80. - № 23. - P. 11658–11666.

278. Seo, S. R. Idiopathic pneumonia syndrome after hematopoietic cell transplantation: evidence of occult infectious etiologies / S. R Seo // *Blood*. – 2015. - 125. – P. 3789–3797.
279. Sinclair, J. H. Human cytomegalovirus manipulation flatently infected cells / J. H. Sinclair // *Viruses* – 2013. - 5. – P. 2803–2824.
280. Sokal, E. M. Recombinant gp350 vaccine for infectious mononucleosis: a phase 2, randomized, double-blind, placebo-controlled trial to evaluate the safety, immunogenicity, and efficacy of an Epstein-Barr virus vaccine in healthy young adults / E. M. Sokal // *Journal of Infectious Diseases*. – 2007. – 196. – 12. – P. 1749-1753.
281. Spenser, J.V. Potent immunosuppressive activities of cytomegalovirus encoded interleukin-10 / J.V. Spenser // *J. Virol*. – 2002. - Vol. 76. - P. 1285-1292.
282. Stagno, S. Comparative serial virologic and serologic studies of symptomatic and subclinical congenitally and natally acquired cytomegalovirus infections / S. Stagno, D.W. Reynolds, A. Tsiantos, D.A. Fuccillo, W. Long, C.A. Alford // *J Infect Dis*. - 1975.- T. 132. - P. 568–577.
283. Steininger, C. S. Clinical relevance of cytomegalovirus infection in patients with disorders of the immune system / C. S. Steininger // *Clin Microbiol Infect*. – 2007. - 13. – P. 953-963.
284. Stowe, R. P. Chronic herpesvirus reactivation occurs in aging / R. P Stowe // *Exp. Exp Gerontol*. – 2007. - 42. – P. 56370.
285. Studzińska, M. A. Association of TLR3 L412F Polymorphism with Cytomegalovirus Infection in Children // M. A . Studzińska, M. Jabłońska, Wiśniewska-Ligier // *PLoS One*. - 2017 г. - 12 (1) : T. 3. - P. 0169420.
286. Styczyński , J. G. Strategy of management in Epstein-Barr virus infections in hematology, oncology and transplantology Guidelines of Polish Federation of Bone Marrow Transplant Centers/ J. G Styczyński // *Acta Haematologica Pol*. – 2012. - 43. – P. 48–53.

287. Styczynski, J. Who Is the Patient at Risk of CMV Recurrence: A Review of the Current Scientific Evidence with a Focus on Hematopoietic Cell Transplantation / J. Styczynski // *Infect Dis Ther.* - 2018 г. - 1 : Т. 7. - P. 1–16.
288. Styczynski, J. Who Is the Patient at Risk of CMV Recurrence: A Review of the Current Scientific Evidence with a Focus on Hematopoietic Cell Transplantation / J. Styczynski // *J. Infect Dis Ther.* – 2018. - 7(1). - P. 1–19.
289. Sung, N.S. Epstein-Barr virus: Encyclopedia of life sciences / N.S. Sung // Nature Publ. Group. – 2001.
290. Sylwester, A. W. Broadly targeted human cytomegalovirus-specific CD4+ and CD8+ T cells dominate the memory compartments of exposed subjects / A. W. Sylwester // *J Exp Med.* – 2005. - 202. – P. 673–685.
291. Takeda, T. M. Lytic Epstein–Barr virus infection in the synovial tissue of patients with rheumatoid arthritis / T. M. Takeda // *Arthritis & Rheum.* - 43. – P. 1218–25.
292. Tan, L. C. A re-evaluation of the frequency of CD8+ T cells specific for EBV in healthy virus carrier / L. C Tan // *J Immunol.* – 1999. – 162. – P. 1827–1835.
293. Tang, H. CD134 is a cellular receptor specific for human herpesvirus-6B entry / H. Tang // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* – 2013. - 110. – P. 9096–9099.
294. Taylor-Wiedeman, J. S. Monocytes are a major site of persistence of human cytomegalovirus in peripheral blood mononuclear cells / J. S Taylor-Wiedeman // *J Gen Virol.* – 1991. - 72. – P. 2059–2064.
296. Thom, J. T. The Salivary Gland Acts as a Sink for Tissue-Resident Memory CD8(+) T Cells, Facilitating Protection from Local Cytomegalovirus Infection / J. T. Thom // *Cell Rep.* – 2015. – 13. – P. 1125-36.
297. Thorley-Lawson, D. A. Persistence of the Epstein-Barr virus and the origins of associated lymphomas / D.A. Thorley-Lawson, A Gross // *N Eng J Med.* - 2004 г. - Т. 350 (13) – P. 1328–133 .

298. Thorley-Lawson, D.A. The Pathogenesis of Epstein-Barr Virus Persistent Infection / D.A. Thorley-Lawson // *Curr Opin Virol* – 2013. - 3 (3). – P. 227–232.
299. Thorley-Lawson, D.A. EBV Persistence--Introducing the Virus/D.A Thorley-Lawson // *Current topics in microbiology and immunology*. – 2015. - 390 (1). - P. 151–209.
300. Thorley-Lawson, D.A. Persistence of the Epstein-Barr virus and the origins of associated lymphomas / D.A. Thorley-Lawson // *N Eng J Med*. – 2004. - 350(13). - P. 1328–1337.
301. Tohyama, M. H. Association of human herpesvirus 6 reactivation with the flaring and severity of druginduced hypersensitivity syndrome / M. H Tohyama // *Br. J. Dermatol*. – 2007. - vol. 157. - no. 5. - P. 934–94.
302. Traylen, C.M. Virus reactivation: a panoramic view in human infections / C.M. Traylen , H.R. Patel, W. Fondaw // *Future Virol*. - 2011 г. - 4 : T. 6. - P. 451–463.
303. Tsao, E. H. Microarray-based determination of the lytic cascade of human herpesvirus 6B / E. H . Tsao // *J Gen Virol* . – 2009. - 90. – P. 2581–2591.
304. Tugizov, S.M. Epstein-Barr virus transcytosis through polarized oral epithelial cells / S.M. Tugizov // *J Virol*. – 2013. - 87(14). - P. 8179–8194.
305. Tumilowicz, J. J. Replication of cytomegalovirus in human arterial smooth muscle cells / J. J. Tumilowicz // *J. Virol*. – 1985. - 56(3). - P. 839–845.
306. Vincent, E. Detection of Cytomegalovirus in Whole Blood Using Three Different Real-Time PCR Chemistries / E. Vincent , G. Zhengming, M. Morgenstern, C. Gibson, et al. // *Journal of Molecular Diagnostics*. - 2009 г. - 1: T. 11. - P. 54-59.
307. *Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Elsevier Science. – 2012.

308. Waldman, W.J. Enhanced endothelial cytopathogenicity induced by a cytomegalovirus strain propagated in endothelial cells / W. J. Waldman // *J. Med. Virol.* – 1989. - 28(4). - P.223–230.
309. Walling, D.M. Multiple Epstein-Barr virus infections in healthy individuals / D.M. Walling, A.L. Brown, W. Etienne, W.A. Keitel, P.D. Ling // *J Virol.* - 2003 г. - 11 : T. 77. - P. 6546–50.
310. Walton S. M. The dynamics of mouse cytomegalovirus-specific CD4 T cell responses during acute and latent infection / S. M. Walton // *J Immunol.* – 2008. - 181. – P. 1128–1134.
311. Walton, A. H. Reactivation of multiple viruses in patients with sepsis / A. H. Walton // *PLoS One.* – 2014. - 9. – P. e98819.
312. Walton, A.H. Reactivation of multiple viruses in patients with sepsis. / A.H. Walton, J.T., Muenzer, D. Rasche et al. // *PLoS ONE.* - 2014 г. - T. 9. - P. e98819.
313. Walton, S.M. Absence of cross-presenting cells in the salivary gland and viral immune evasion confine cytomegalovirus immune control to effector CD4 T cells / S.M. Walton // *PLoS Pathog.* – 2011. - 7(8). – P. e1002214.
314. Wan, X. Estimating the sample mean and standard deviation from the sample size, median, range and/or interquartile range / X. Wan, W. Wang, J. Liu, T. Tong. // *BMC Med Res Methodol.* - 2014 г. - 35 : T. 14. P.35.
315. Wan, X. Estimating the sample mean and standard deviation from the sample size, median, range and/or interquartile range / X. Wan, W. Wang, J. Liu, T. Tong // *BMC Med Res Methodol.* - 2014 г. - 35 : T. 14. – P.135.
316. Wang, X. Coinfection with EBV/CMV and other respiratory agents in children with suspected infectious mononucleosis / X. Wang // *Virol. J.* – 2010. - 7. - P. 247.
317. Wang, G. K. Mathematical model to simulate the cellular dynamics of infection with human herpesvirus-6 in EBV-negative infectious mononucleosis / G. K. Wang // *J. Med. Virol.* – 2003. - 71(4). – P. 569–577.

318. Wells, G. A. The Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for assessing the quality of nonrandomised studies in meta-analyse / G. A. Wells, B. Shea, D. O'Connell, J. Peterson, V. Welch, M. Losos, P. Tugwell. http://www.ohri.ca/programs/clinical_epidemiology/oxford.asp.
319. White, D.W. Immunol Rev Immune modulation during latent herpesvirus infection / D.W. White // Immunol Rev. – 2012. - 245(1). – P. 189–208.
320. Wilson, A. C. A cultured affair: HSV latency and reactivation in neurons / A. C. Wilson // Trends Microbiol. – 2012. - 20. – P. 60411.
321. Wim van der Bij, S. Management of Cytomegalovirus Infection and Disease after Solid-Organ Transplantation / S. Wim van der Bij // Clinical Infectious Diseases. – 2001. - 33. - Suppl 1. – P. S33–7.
322. Winestone, L. E. High human herpesvirus 6 viral load in pediatric allogeneic hematopoietic stem cell transplant patients is associated with detection in end organs and high mortality /L. E. Winestone // Pediatr Transplant. – 2018. - 22. -P. 13084.
323. WJ., B. Congenital Human Cytomegalovirus Infection and the Enigma of Maternal Immunity / WJ., B. // J Virol. – 2017. - 91(15). – P.e02392-16.
324. Wu, C.A. Chronic infection of human umbilical vein endothelial cells by human herpesvirus-6 / Wu C.A // J. Gen. Virol. – 1998. - Vol. 79. - Pt. 5.
325. Xiong, G. Epstein-Barr Virus (EBV) Infection in Chinese Children: A Retrospective Study of Age-Specific Prevalence / G Xiong// PLoS One – 2014. - 9(6). – P. e99857.
326. Yamanishi, K. Human Herpesviruses 6 and 7. Fields Virology / K. Yamanishi // Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. - 2013.
327. Yoshiyama, H. I. Epstein-Barr virus infection of human gastric carcinoma cells: implication of the existence of a new virus receptor different from CD21 / H. I. Yoshiyama // J. Virol. – 1997. - Vol. 71. - № 7. - P. 5688–5691.

328. Zerr, D.M. HHV6 reactivation and its effect on delirium and cognitive functioning in hematopoietic cell transplantation recipients / D.M. Zerr // *Blood*. – 2011. - 117. - P. 5243–5249.
329. Zerr, D.M. A population-based study of primary human herpesvirus 6 infection / D.M. Zerr // *N. Engl. J. Med.* – 2005. - 352(8). – P. 768-76.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АЛТ - Аланинаминотрансфераза
 АСТ - Аспарататаминотрансфераза
 ВГЧ-6 – вирус герпеса человека 6
 ВГЧ 4,5,6 – вирусы герпеса человека 4,5,6 типа
 ВИЧ- вирус иммунодефицита человека
 ВПС – врожденный порок сердца
 ВН- вирусная нагрузка
 ВЭБ – вирус Эпштейна-Барр
 ГВИ - герпесвирусные инфекции
 ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
 ДИ – доверительный интервал
 ЖКТ – желудочно – кишечный тракт
 ИР – индекс резистентности
 ИФА – иммуноферментный анализ
 ИФН - интерферон
 ИФН- γ – интерферон гамма
 М/Д (М/Ж) – распределение пациентов по полу
 МЕ – международные единицы
 ОРИ – острая респираторная инфекция
 ОРИТ – отделение реанимации и интенсивной терапии
 ОШ – отношение шансов
 ПЦР – полимеразная цепная реакция
 СОЭ – скорость оседания эритроцитов
 УЗИ - ультразвуковое исследование
 ЦМВ – цитомегаловирус
 ЦНС – центральная нервная система
 ЭКГ – электрокардиография
 ЭБВИ – инфекция, вызванная вирусом Эпштейна-Барр
 ЭВМ- электронная вычислительная машина
 IgG - иммуноглобулин G
 IgA - иммуноглобулин A
 IgE - иммуноглобулин E
 IgM - иммуноглобулин M