

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

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Москва, 2022

Работа выполнена в Федеральном бюджетном учреждении науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

**Научный консультант:**

Академик РАН,

доктор медицинских наук, профессор **Горелов Александр Васильевич**

**Официальные оппоненты:**

**Кокорева Светлана Петровна** - доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой инфекционных болезней Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Михайлова Елена Владимировна** - доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой инфекционных болезней у детей и поликлинической педиатрии имени Н. Р. Иванова Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Савенкова Марина Сергеевна** - доктор медицинских наук, профессор кафедры клинической функциональной диагностики факультета дополнительного профессионального образования Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Ведущая организация:** Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2022 года в \_\_\_\_ час. на заседании диссертационного совета 64.1.010.01 в Федеральном бюджетном учреждении науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по адресу: 111123, Москва, ул. Новогиреевская, д. 3а.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека и на сайте [www.crie.ru](http://www.crie.ru)

Автореферат разослан « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2022 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета,

доктор медицинских наук

**Николаева Светлана Викторовна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### 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 [Исаков В.А. 2013]. Вирусы семейства Herpesviridae, а именно герпесвирусы 4,5,6А/В 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 [Боковой А.Г. 2010, Савенкова М.С. 2015, Каражас Н.В. 2017]. Находясь в латентном состоянии герпесвирусы создают постоянную угрозу реактивации инфекционного процесса, чему способствует незрелость иммунной системы, характерная для детей дошкольного возраста [Хмилевская С.А. 2010]. Клиническая картина реактивированной инфекции в большинстве случаев неспецифична, заболевание протекает под маской респираторной инфекции, что затрудняет своевременную постановку диагноза и назначение лечения [Симованьян Э.Н. 2006, Мелехина Е.В. 2019]. В настоящее время не существует единого универсального маркера, способного отличить фазу инфекционного процесса, вызванного ВГЧ 4,5,6А/В. 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.

Таким образом актуальность данного исследования определяется необходимостью создания простых диагностических алгоритмов в отношении персистирующих герпесвирусных инфекций у детей, позволяющих интерпретировать множество первичных клинических данных, решить прогностические задачи, обосновать врачебную тактику. Все вышеперечисленное позволило 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. При проведении исследования, мы исходили из следующих предположений (гипотез): активную фазу инфекционного процесса, вызванного ВГЧ-4,5,6А/В маркирует количество ДНК вируса в крови и слюне; реактивированная форма 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., 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. 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/Винфекций в трансплантологии и у ВИЧ-инфицированных. Различные клинико-лабораторные аспекты герпесвирусных инфекций 4,5,6А/В типа у детей изложены в работах отечественных авторов: Кокорева С.П., Мелехина Е.В., Михайлова Е.В., Музыка А.Д. Основы математического моделирования патогенеза герпесвирусных инфекций заложены Thorley-Lawson D.A, Delgado-Eckert, Hadinoto V, Hawkins J.B., Huynh G.T, Krueger GRF F. Для решения проблемных аспектов инфекции, вызванной герпесвирусами 4,5,6А/В типа у детей необходим комплексный подход, учитывающий разнообразие клинических проявлений и результатов современных методов диагностики. 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 ВГЧ-4,5,6А/В 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-4,5,6А/В в крови и слюне больных острыми формами ВГЧ-4,5,6А/В инфекции в сравнении со здоровыми.
3. Описать первичную и реактивированную ВГЧ-4,5,6А/В инфекцию, сравнить клинико-лабораторные характеристики, установить частоту выявления и количество ДНК ВГЧ-4,5,6А/В в крови и слюне, провести корреляционный анализ.
4. Осуществить математическое моделирование клинико-лабораторных характеристик первичной и реактивированной ВГЧ-4,5,6А/В инфекции.
5. Осуществить математическое моделирование количества ДНК ВГЧ-4,5,6А/В в крови, слюне больных первичной и реактивированной формой инфекции, определить прогностические значения.
6. Разработать и обосновать классификацию фаз инфекционного процесса, вызванного ВГЧ-4,5,6А/В у детей.
7. Разработать диагностический алгоритм определения фаз инфекционного процесса, вызванного ВГЧ-4,5,6А/В у детей до 7 лет.

## **Научная новизна**

Впервые установлены возрастные особенности определения ДНК ВГЧ-4,5,6А/В в крови и слюне детей до 7 лет в Пермском Крае. С помощью метаанализа впервые определена частота встречаемости и количество ДНК ВГЧ-4,5,6А/В определяемое в крови и слюне как больных острыми формами ВГЧ-4,5,6А/В инфекции, так и здоровых детей. Впервые предложена диагностическая градация степени вирусной нагрузки ДНК ВГЧ 4,5,6А/В. Впервые установлены диагностические интервалы количества ДНК ВГЧ-4,5,6А/В в крови и слюне детей с различными формами инфекции, в возрастные периоды. Впервые установлены прогностические значения вирусной нагрузки ДНК ВГЧ-4,5,6А/В 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-4,5,6А/В. Впервые проведенное математическое моделирование инфекционного процесса, вызванного ВГЧ 4,5,6А/В, позволило сформулировать персонифицированный алгоритм диагностики активной фазы инфекционного процесса, вызванного ВГЧ-4,5,6А/В инфекции у детей. Впервые, разработан программный продукт, основанный на

предложенном алгоритме, позволяющий определить вероятность активной инфекции, вызванной ВГЧ-4,5,6А/В и представляющий собой, систему поддержки принятия врачебного решения.

### **Практическая значимость исследования**

На основании данных, полученных в исследовании разработан новый алгоритм диагностики активной инфекции, вызванной ВГЧ-4,5,6А/В, способствующий своевременному распознаванию неспецифических проявлений заболевания у детей, а следовательно оптимизации терапевтической тактики и профилактики, позволяющий повысить качество оказываемой медицинской помощи. Данные, полученные в ходе математического моделирования клинических и лабораторных особенностей активной ВГЧ-4,5,6А/В инфекции позволяют осуществить персонализированный подход к каждому ребенку, посредством использования IT-системы поддержки принятия врачебных решений, в рамках концепции цифровой медицины. Достоверная положительная корреляция уровня ДНК ВГЧ-4,5,6А/В 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 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, инфекции, вызванной ВГЧ-4,5,6 у детей.

### **Методология и методы исследования**

Методологической основой диссертационного исследования является системный подход, учитывающий организацию объекта на структурном и

функциональном уровне [Разумов В.И. 2007]. Согласно данному подходу инфекционный процесс представлен в виде универсальной схемы взаимодействия, позволяющей оценить влияние элементов объекта друг на друга и на результат взаимодействия. Теоретической основой исследования послужили труды отечественных и зарубежных исследователей в области клинической медицины, инфекционных болезней, и биомедицинской статистики. Исследование клинико-лабораторных особенностей реактивированной ВГЧ-4,5,6А/В 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 ВГЧ-4,5,6А/В в двух биологических субстратах - крови и слюне.
2. Основной формой острой инфекции, вызванной ВГЧ 4,5,6А/В, 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-4,5,6А/В в крови и слюне, коррелирующие между собой.
3. Активная фаза ВГЧ-4,5,6А/В 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-4,5,6А/В определяют прогностические значения вирусной нагрузки в крови и слюне.
4. Клиническая картина реактивированной ВГЧ-4,5,6А/В инфекции имеет неполную симптоматику, более легкое течение заболевания. Медианы вирусной нагрузки в крови при реактивированной и первичной ВГЧ-4,5,6А/В 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 и осуществлено математическое моделирование, послужившее основой для разработки прикладного IT-решения. На основании полученных результатов автором разработан диагностический алгоритм, сформулированы термины, понятия, 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 И.П.), инфекционного отделения ГKB № 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. 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 апробации 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, глав собственных исследований, заключения, выводов и практических рекомендаций. Список литературы содержит 329 источников, в том числе 264 иностранных. В работе представлены 49 таблиц, 30 рисунков, 7 клинических примеров.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материалы и методы исследования**

Исследование выполнено в Пермском государственном медицинском университете имени академика Е.А. Вагнера в период с 2015 по 2021 гг. 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), 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.), при проведении профилактического осмотра перед вакцинацией. Все дети принимали участие в исследовании после подписания информированного добровольного согласия их родителями (законными представителями).

На первом этапе исследования амбулаторную заболеваемость ВГЧ 4,5,6А/В, изучали на основе данных (отчетная форма ФГСН № 12), занесенных в Единую Информационную Систему Здравоохранения Пермского Края (ЕИСЗ ПК) - 14892 случаев, заболеваемость госпитализированных пациентов изучали по отчетам детских инфекционных стационаров г. Перми (Форма №14, ф. № 066/у) – 1171 пациент, итого всего в исследовании участвовало 16063 пациента. 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, К11.2 – сиалоаденит, К77.0 - ЦМВ-гепатит, В08.2 – внезапная экзантема.

На втором этапе исследования провели метаанализ, использовали собственные результаты (495 человек) и данные литературы (1096 человек), всего 1591 пациент: больные ВГЧ-4,5,6А/В инфекцией – 787 детей (246 – собственные данные), здоровые – 794 ребенка (249 - собственные данные), схема 1.

Схема 1. Описание дизайна исследования, групп пациентов в соответствии с поставленными задачами

Больные		Здоровые	Дизайн исследования		
Этап 1. Анализ частоты выявления заболеваний, вызванных ВГЧ-4,5,6А/В у детей 1-7 лет в Пермском Крае за 5 лет					
Данные официальной статистики амбулаторных и госпитализированных пациентов 1-7 лет с ВГЧ-4,5,6А/В в 2015-2020гг (14 892 амбулаторных пациентов и 1171 госпитализированных)					ретроспективное описательное одномоментное
Этап 2. Анализ частоты выявления различных форм инфекции, вызванной ВГЧ-4,5,6А/В 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-4,5,6А/В					
Этап 3а. Анализ маркеров количественной ПЦР ВГЧ-4,5,6А/В в различных средах больных и здоровых n=1281					ретроспективное описательное одномоментное
Этап 3б. Анализ информативности количественной ПЦР ВГЧ 4,5,6А/В N=1591					
Группа больных ВГЧ 4,5,6А/В n=797		Группа здоровых n=794		Метаанализ	
Этап 4. Анализ возрастных, клинико-лабораторных особенностей ВГЧ-4,5,6А/В инфекции у амбулаторных/госпитализированных пациентов и здоровых n=1281					
Этап 4а. Активная/неактивная ВГЧ-4,5,6А/В инфекция n=1281					
Активная цитомегаловирусная инфекцией n=255	Активная ЭБВ-инфекция n= 318	Активная ВГЧ6А/В-инфекция n=207	Латентные формы ВГЧ-4,5,6А/В n=346	Условно здоровые n=155	ретроспективное «случай-контроль»
Этап 4б. Первичная/реактивированная ВГЧ-4,5,6А/В инфекция N=780					
первичная ВГЧ-4,5,6А/В инф-я n=302 цитомегаловирусная инфекция n=95 ЭБВ-инфекция n=160 ВГЧ6-инфекция n=47	реактивация ВГЧ 4,5,6А/В n=478 цитомегаловирусная инфекция n=160 ЭБВ-инфекция n=158 ВГЧ6-инфекция n=160				ретроспективное «случай-контроль»

Критерии включения в метаанализ: дизайн исследования «случай-контроль» или когортное, возраст 1-7 лет, серологическое подтверждение острой ВГЧ 4,5,6А/В, обнаружение ДНК ВГЧ-4,5,6А/В 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 мес -7 лет, отсутствие признаков острого заболевания на момент осмотра, обнаружение ДНК ВГЧ-4,5,6А/В 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 4,5,6А/В, несоответствие исследуемых биологических субстратов, несоответствие дизайна исследования.

На третьем и четвертом этапах исследования сформировали основные группы по возрасту: младшая - дети в возрасте от 1 месяца до 3 лет 11 месяцев 30 дней, старшая – с 4 до 6 лет 11 месяцев 30 дней, всего 1126 детей с клиническими проявлениями острого респираторного заболевания, как госпитализированных, так и амбулаторных. Основную группу составили 780 детей с активной ВГЧ-4,5,6А/В инфекцией, группу сравнения - 346 детей с неактивной (латентной) ВГЧ-4,5,6А/В инфекцией. 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-ВГЧ6А/В 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-4,5,6А/В и хромосомно-интегрированная ВГЧ-6А/В инфекция, а также ВИЧ-инфекция, отсутствие информированного согласия, другие острые инфекционные заболевания (коклюш и пр.).

Критерии включения в группу сравнения: клинические проявления острого респираторного заболевания, отсутствие лабораторно подтвержденной (ПЦР крови) ЦМВ, ЭБВ или ВГЧ6А/В инфекции, серопозитивность (IgG+) к ВГЧ 4,5,6А/В, информированное согласие родителя (иного законного представителя) на участие в исследовании. Критерии невключения: возраст менее 1 месяца и более 7 лет, наличие тяжелых соматических заболеваний, 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-4,5,6А/В(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 острых респираторных инфекций 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 ОРВИ и герпесвирусных инфекций в течение 3 месяцев до осмотра. Мощность исследования выбрали равной 80%, при уровне значимости  $\alpha=0,5$ .

Ретроспективное описательное исследование первого этапа заключалось в оценке данных анамнеза, клинического и лабораторного обследования. Диагноз острого респираторного заболевания устанавливали в соответствии с клиническими рекомендациями, принятыми в Российской Федерации (Клинические рекомендации Союза педиатров России, 2018). Диагноз острой ВГЧ-4,5,6А/В инфекции (инфекционного мононуклеоза) определяли в соответствии с Клиническими рекомендациями (ФГБУ НИИДИ ФМБА России, 2013).

Дети в группах исследования осматривались по стандартной педиатрической методике. Первичное обследование включало регистрацию паспортных данных, анализ жалоб, сбор анамнеза. Больные осматривались на 2-7 день заболевания. Клиническую картину заболевания оценивали по совокупности субъективных и объективных признаков. При осмотре уделяли особое внимание выраженности лимфаденопатии. Гепато- и спленомегалию определяли как пальпаторно, так и инструментально, посредством ультразвукового исследования, в сравнении с возрастными нормами. Степень тяжести заболевания оценивали 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 в течение четыре и более дней, умеренно выраженной интоксикации нарушающей самочувствие пациента, тяжелую – при стойкой фебрильной лихорадке, выраженной интоксикации. Лабораторные исследования были направлены на клиническую и этиологическую диагностику. Всем больным проводили клинический анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови. 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. Иммунологическое исследование состояло из оценки концентрации иммуноглобулинов крови (А, М, G, E), их 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 посредством метода 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 СХР v. 2.2. В каждой пробе подвергали анализу не менее 10<sup>4</sup> клеток, таблица 1.

Таблица 1. Методы и объем проведенных исследований

Вид исследования	Биологический материал	Количество пациентов	Количество исследований
Клинический анализ крови	кровь	1126	2252
Биохимический анализ крови	кровь	736	1280
ПЦР - определение ДНК ВГЧ-4,5,6А/В	кровь	1281	1575
	слюна	1281	1824
	моча	255	255
ПЦР- определение ДНК/РНК группы респираторных вирусов	мазок из зева	1281	1281
Специфические анти-ВГЧ-4,5,6А/В IgG/М	Кровь	1281	1281
Иммуноглобулины общие Ig А Ig М Ig G	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

Гуморальный иммунитет к ВГЧ-4,5,6А/В оценивали при помощи иммуноферментного (ИФА) анализа в сертифицированной лаборатории ООО «МедЛабЭкспресс». Антитела к ЦМВ классов IgM и IgG, к ЭБВ - IgM(VCA) и IgG (VCA), а также антитела класса IgG к ВГЧ6 А/В определяли в плазме крови с использованием стандартных тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» (Россия), согласно инструкции. Использовался иммуноферментный анализатор «FreedomEVOlyzer 200» («ТЕСАН Schweiz AG», Швейцария). Маркерами активной ВГЧ-4,5,6А/В инфекции являлось определение ДНК вируса в крови, причем при отсутствии анти-IgG, определяли первичную инфекцию, при наличии высокоavidных анти-IgG – реактивацию [Каражас, 2017]. 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 факт наличия ДНК вируса в крови, причем, при отсутствии

антител IgG, состояние определяли как первичную инфекцию, а при наличии высокоавидных антител IgG, как реактивацию. Изолированное обнаружение ДНК ВГЧ-4,5,6А/В в слюне, без ДНК-емии, расценивалось как проявление латентной формы инфекции. При сомнительных результатах лабораторных исследований больные из исследования исключались. 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-HHV6-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 ДНК/коп/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). Для выявления и определения типа респираторных вирусов в мазках из носоглотки применяли метод мультиплексной ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации с набором реагентов «АмплиСенс® ОРВИ-скрин-FL» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, России).

Статистическую обработку данных проводили используя 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. Количественные показатели имеющие нормальное распределение, объединяли в вариационные ряды, рассчитывали среднее арифметическое и стандартное отклонение, 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). Номинальные данные сравнивали используя критерий  $\chi^2$  Пирсона, в случае, если значение  $\chi^2$  превышало критическое, делали вывод о наличии статистической взаимосвязи исхода с предполагаемым фактором риска. Связь между явлениями, которые были представлены количественными данными (при условии распределения отличного от нормального) определяли рассчитывая коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Для изучения взаимосвязи между количественными

показателями, 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, позволяющую оценить корреляцию с отобранными факторами и представляли в виде матрицы. Полученные в результате факторного анализа новые переменные использовали для дальнейшего статистического анализа с помощью регрессионного анализа. Прогностические модели риска выполняли с помощью регрессионного анализа, используя бинарную логистическую регрессию. Статистическую значимость модели определяли при помощи критерия  $\chi^2$ . Оценку диагностической значимости количественных признаков для прогнозирования определенного исхода, проводили используя метод анализа ROC-кривых. Качество полученной прогностической модели, оценивали исходя из определения площади под ROC-кривой. Результаты систематического обзора исследований для *метаанализа* были представлены в виде долей для дихотомических данных и в виде средних арифметических с указанием стандартного отклонения для непрерывных данных. 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.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

### Анализ частоты заболеваний, вызванных ВГЧ-4,5,6А/В у детей в Пермском крае

Для решения задач исследования на первом этапе проведен анализ частоты заболеваний, вызванных ВГЧ-4,5,6А/В у детей г. Перми и Пермского края в период с 2015 по 2020 гг: амбулаторных больных - 14892, госпитализированных - 1171. Основной нозологической формой (92%) среди госпитализированных пациентов был мононуклеоз (ЭБВ, ЦМВ), острые формы ВГЧ6А/В-инфекции (В08.2 – внезапная экзантема) регистрировались в 1,7% случаев. Установлены следующие возрастные отличия: среди детей 1-3 лет доля ЦМВ и ВЭБ-мононуклеоза составляет 58%, что выше, чем в старшей группе, а мононуклеоз неуточненной этиологии чаще отмечен среди детей 4-7 лет составляя 49% всех заболеваний. При анализе частоты заболеваний острыми ВГЧ4,5,6А/В-инфекциями, установлена значительная разница между госпитализированными и амбулаторными пациентами в части учета нозологии В25.8 (другие цитомегаловирусные болезни) на долю которой в стационаре приходится 5,7%, а в поликлинике – 46,4%. Кроме того, такая нозология как В25.9 ЦМВ болезнь неуточненная, регистрируется только амбулаторно. Таким образом, на долю цитомегаловирусной болезни (неуточненной/другой) приходится 80% всех



зарегистрированных амбулаторных инфекций, вызванных ВГЧ4,5,6А/В, что было расценено нами как дефект регистрации ЦМВ-ассоциированных заболеваний, таблица 2.

Таблица 2. Частота заболеваний, вызванных ВГЧ-4,5,6А/Ву детей от 1 мес до 7 лет г. Перми и Пермского края (2015-2020гг)

Нозологические формы	Пациенты				p
	госпитализированные		амбулаторные		
	число	доля (%), 95%ДИ	число	доля(%), 95% ДИ	
ВЭБ-моноклеоз	387	33,2 [30,0- 35,0]	2124	14,4 [13,6- 15,3]	0,01
ЦМВ-моноклеоз	214	18,2 [16,0 – 21,0]	313	2,1 [1,8- 2,5]	0,01
моноклеоз неуточн	476	40,6 [38,0- 43,0]	0	0	0,50
ЦМВ болезнь неуточн	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		

К дефектам регистрации мы отнесли также тот факт, что в отчетах по госпитализированным пациентам до 7 лет нет ни одного упоминания об острой ВГЧ 6А/В инфекции (В08.2 – внезапная экзантема), а в сведениях о заболеваемости амбулаторных пациентов такие случаи отмечены всего в 1,7% случаев.

### Результаты метаанализа

С целью уменьшения вероятности ошибки, увеличения объема выборки и для подтверждения концепции исследования был проведен метаанализ. Цель метаанализа - оценить частоту выявления и величину вирусной нагрузки (ВН) ДНК ВГЧ-4,5,6А/В в крови и слюне детей от 1 мес до 7 лет как больных острыми формами ВГЧ 4,5,6А/В-инфекции, так и здоровых. Использовали результаты собственных исследований и данные литературы опубликованные с 2010 по 2020 гг. Был проведен поиск научных работ по обозначенной выше тематике в различных электронных базах (Medline, E-library, Wiley, Elseiver), в обзорах, диссертациях, журналах, и др. В окончательный анализ вошли 10 исследований, общее число участников в группе больных составило 797 человек, в группе здоровых 794, в том числе 384 человека - собственные данные и 1207 – опубликованные другими исследователями. В группе больных, острая ВГЧ-4,5,6А/В инфекция была представлена в основном инфекционным моноклеозом - 46%, фебрильным

судорожным приступом -21%, и в 33% - экзантемой, острым респираторным заболеванием и др. Проведенный метаанализ показал наличие следующих важных тенденций:

- частота выявления ДНК ВГЧ-4,5,6А/В в крови, достоверно выше у больных детей (ЦМВ  $p=0,006$ , ЭБВ  $p=0,00001$ , ВГЧ6А/В  $p=0,05$ ), рисунок 1;

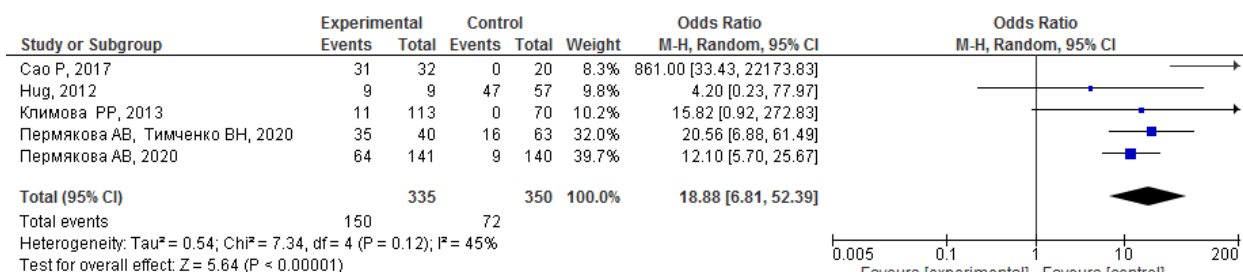


Рисунок 1. Оценка отношения шансов (OR) для частоты обнаружения ДНК ЭБВ в крови.

- частота выявления ДНК ВГЧ-4,5,6А/В в слюне больных и здоровых детей не имеет статистически значимых различий (ЦМВ  $p=0,75$ , ЭБВ  $p=0,19$ , ВГЧ6А/В  $p=0,72$ ), рисунок 2;

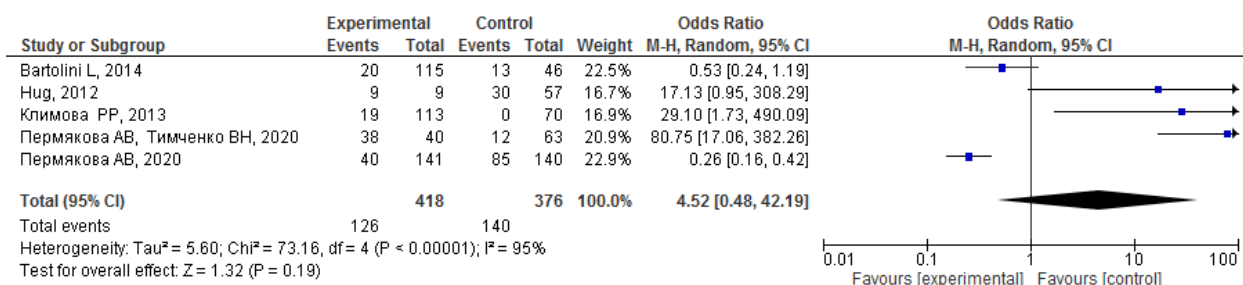


Рисунок 2. Оценка отношения шансов (OR) для частоты обнаружения ДНК ЭБВ в слюне.

- значения вирусной нагрузки ДНК ВГЧ-4,5,6А/В в крови и слюне достоверно выше у больных детей (ЦМВ  $p=0,00001$ , ЭБВ  $p=0,00001$ , ВГЧ6А/В  $p=0,00001$ ), рисунок 3;

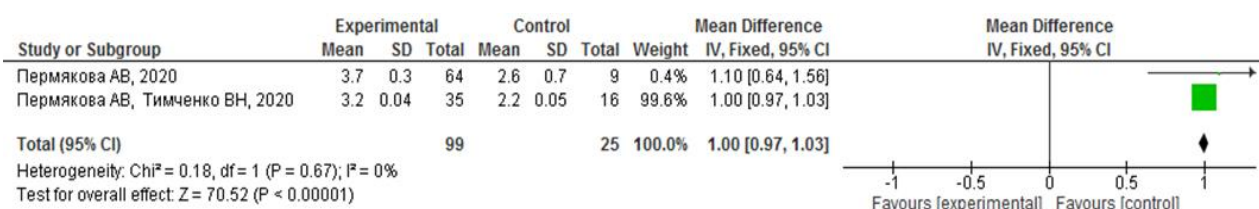


Рисунок 3. Оценка стандартизированной разницы средних (MD) для значений ВН ДНК ЭБВ в крови.

Таким образом, полученные в результате метаанализа данные подтвердили гипотезу данного исследования и позволили сформулировать *бинарную классификацию* инфекционного процесса. В отличие от классификации инфекционного процесса по Покровскому В.И (1989), описывающей три формы: манифестную, инаппарантную (латентную) и носительство, мы предлагаем рассматривать инфекционный процесс состоящим из 2 фаз: активной и неактивной. *Активная* фаза ВГЧ 4,5,6А/В-инфекции (форма–первичная и реактивация) определяется у пациента с симптомами и/или признаками пораженного органа вместе с обнаружением нуклеиновых кислот ВГЧ-4,5,6А/В(обозначающих размножение вируса) в биологических жидкостях (кровь/слюна), *неактивная* фаза ВГЧ 4,5,6А/В-инфекции (форма – латентная, серопозитивность) – клинические проявления отсутствуют, нет признаков поражения органов, возможно обнаружение нуклеиновых кислот ВГЧ 4,5,6А/В, в крови и слюне. Термин «манифестная» предложено рассматривать в качестве синонима «активная фаза инфекции».

В результате метаанализа установлено, что частота выявления ДНК ВГЧ-4,5,6А/В в слюне не имеет статистически достоверных различий между больными и здоровыми, таким образом, факт обнаружения ДНК этих вирусов в слюне не может быть использован в качестве диагностического (для ЦМВ  $p=0,75$ , для ЭБВ  $p=0,19$ , для ВГЧ6А/В  $p=0,72$ ).

### **Структура лабораторных маркеров ВГЧ-4,5,6А/В в возрастных группах**

Маркеры инфекции, вызванной ВГЧ-4,5,6А/В, определенные прямым (выделение ДНК методом ПЦР в реальном времени) и косвенным методами (специфические антитела IgM и IgG к антигенам ЦМВ, ЭБВ, ВГЧ-6А/В) изучали у 1126 детей с клиническими проявлениями острого респираторного заболевания, из которых 544 человек были госпитализированы, а 582 человек обследовались амбулаторно. Все дети были поделены на две возрастные группы.

Специфические иммуноглобулины класса IgG к антигенам белков ВГЧ-4,5,6А/В были обнаружены в сыворотке крови 75% (846/1126) детей, на долю ЦМВ-инфицирования пришлось 31,5% (355/1126), ЭБВ - 37,1% (418/1126), и ВГЧ6А/В – 31,3% (353/1126). Антитела IgM к ЦМВ обнаружены в 11,2% (127/1126) к ЭБВ в 22% (248/1126). В группе здоровых 62,6% (97/155) детей были серопозитивны к ВГЧ 4,5,6А/В: моно-ЦМВ 28% (28/155), моно-ВГЧ6А/В-14,8% (23/155), моно-ЭБВ – 9,6% (15/155), сочетанное инфицирование – 20% (31/155), что расценивалось как неактивная (латентная) форма инфекции. Количественную ПЦР использовали для обнаружения ДНК ВГЧ-4,5,6А/В в различных субстратах (кровь, слюна, моча). В крови ДНК ВГЧ-4,5,6А/В была определена у 780/1126 (69%) человек. Первичную инфекцию (при отсутствии IgG) определили у 39% (302/780) детей, реактивированную - у 61% (478/780) детей. Изолированное обнаружение ДНК ВГЧ-4,5,6А/В в слюне или моче, без ДНК-емии, расценивалось как проявление неактивной (латентной) формы

инфекции – 346/1126 (31%) человек в группе больных и 155 – группа здоровых, таблица 3.

Таблица 3. Структура лабораторных маркеров ВГЧ-4,5,6А/В в возрастных группах

Фазы инфекционного процесса	Тип инфекции	От 1 мес до 3 лет 11мес 30 дней		От 4 лет до 6 лет 11мес 30 дней		Всего	
		n	%	n	%	n	%
активная инфекция	ЦМВ	201	15,8	54	4,2	255	19,9
	ЭБВ	165	12,6	153	12,0	318	24,8
	ВГЧ-6А/В	156	12,3	51	3,9	207	16,2
	итого	522	40,7	258	20,1	780	60,8
неактивная инфекция ВГЧ 4,5,6А/В	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

Среди детей с активными формами ВГЧ-4,5,6А/В инфекции (n=780), доля цитомегаловирусной инфекции составила 32,7% (255/1126) и была максимальной в группе детей до 1 года – 11%, с уменьшением в 2,6 раза к семилетнему возрасту (4,2%). Доля детей с ЭБВ-инфекцией составила 40,3% (318/780), причем с возрастом отмечено увеличение инфицирования в 3 раза, что согласуется с известными литературными данными. Доля активной ВГЧ-6А/В инфекции составила 26,6% (207/780), и с возрастом уменьшалась. В слюне ДНК ВГЧ-4,5,6А/В была обнаружена у 88% (992/1126) всех обследуемых пациентов, из них при активной форме инфекции – 90,5% (706/780) и 82,6% (286/346) – при неактивной форме.

Выделение в слюне ДНК ВГЧ-4,5,6А/В имело следующие возрастные закономерности: при активной форме 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 ВГЧ6А/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, рисунок 4.

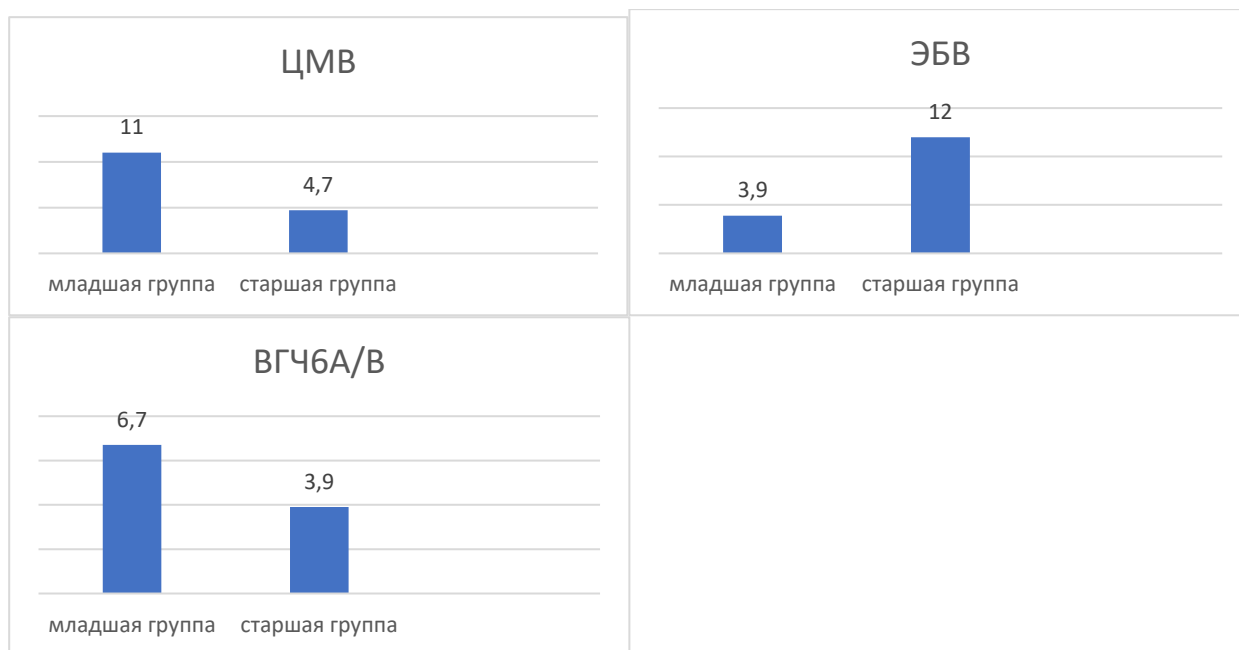


Рисунок 4. Возрастные особенности инфицирования ВГЧ-4,5,6А/В: снижение доли ЦМВ и ВГЧ6А/В (в 1,5-2,5 раза), повышение доли ЭБВ (в 3 раза).

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 ДНК ВГЧ-4,5,6А/В была обнаружена у 40,6% (63/155) детей, с тенденцией снижения с возрастом для ЦМВ и ВГЧ6А/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).

#### **Анализ клинико-лабораторных характеристик инфекции, вызванной вирусами ВГЧ-4,5,6А/В в зависимости от фазы инфекционного процесса**

Для решения задач поставленных в исследовании, проводили описательный и сравнительный анализ в двух группах: основной (активная ВГЧ-4,5,6А/В инфекция) и сравнения (неактивная ВГЧ-4,5,6А/В инфекция). В основной группе, активная ВГЧ-4,5,6А/В инфекция протекала в виде острого лихорадочного заболевания с лимфаденопатией в 60,5% (472/780) случаев, из них типичному мононуклеозу (ИМ) с развертыванием полной классической картины заболевания соответствовало 29% (227/780) случаев, в 31,4% (245/780)

случаев мононуклеоз был расценен как атипичный. Еще в 32,7% (255/780) случаев активная ВГЧ-4,5,6А/В инфекция протекала в виде острого лихорадочного заболевания, в 5,6% (40/780) случаев - в виде фебрильного судорожного приступа, и в виде внезапной экзантемы в 1,9% (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 от 1 мес до 1 года). В младшей возрастной группе активная ВГЧ-4,5,6А/В инфекция протекала в основном в виде острого лихорадочного заболевания (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) дети переносили острое респираторное заболевание, сопровождавшееся 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 сравнении клинических характеристик активной/неактивной ВГЧ-4,5,6А/В инфекцией были показаны характерные особенности, таблица 4.

Таблица 4. Сравнительный анализ клинических характеристик активной и неактивной ВГЧ-4,5,6А/В инфекции

Клиническая характеристика	OR	ДИ
Активная форма ВГЧ-4,5,6А/В инфекции (первичная/реактивированная)		
лимфаденопатия	7	5,1-9,6
лихорадка более 5 дней	6,7	5,0-8,9
спленомегалия	5,8	3,4-9,9
гепатомегалия	4,7	3,2-7,0
налеты на миндалинах	2,8	2,1-3,7
заложенность носа	1,8	1,4-2,4
Неактивная форма ВГЧ-4,5,6А/В инфекции		
кашель	7,2	5,4-9,7
риноррея	9,8	7,3-13,2

У пациентов с активной формой инфекции чаще отмечалась лихорадка более 5 дней, лимфаденопатия, гепатомегалия, спленомегалия, налеты на миндалинах, заложенность носа. Жалобы респираторного характера такие как кашель, риноррея преобладали при неактивной форме ВГЧ-4,5,6А/В инфекции. Сравнительный анализ сопутствующей патологии показал, что у пациентов с активной ВГЧ-4,5,6А/В инфекцией чаще отмечались следующие состояния: рецидивирующие воспалительные заболевания нижних отделов респираторного тракта, такие как 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 клинического анализа 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, лейкопения, лимфоцитоз, тромбоцитоз, таблица 5.

Таблица 5. Лабораторные характеристики активной ВГЧ-4,5,6А/В инфекции (в сравнении с неактивной)

Лабораторные характеристики	OR	ДИ
лейкоцитоз	2,5	1,9-3,3
лейкопения	2,2	1,5-3,2
лимфоцитоз за счет CD4/ CD8	1,4	1,1-1,8
тромбоцитоз	1,67	1,0-2,7

У детей первого года жизни при активной ВГЧ-4,5,6А/В инфекции 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 частоту встречаемости при активной ВГЧ-4,5,6А/В атипичных мононуклеаров (OR=2,6, OR=8,2) и невысокую частоту встречаемости эозинофилии (OR=0,2, OR=1,0). 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). При изучении коррелятивных связей значений ВН ДНК ВГЧ-4,5,6А/В в крови и слюне в активную фазу инфекционного процесса, таковые были установлены только для ЭБВ-мононуклеоза (прямая положительная связь): 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 эмпирически, и свидетельствуют о том, что величина вирусной нагрузки играет важную роль в выраженности клинической картины активной ВГЧ-4,5,6А/В инфекции. Таким образом, в общем, активная ВГЧ 4,5,6А/В-инфекция протекает в виде лихорадочного заболевания с лимфопролиферативным синдромом, поражением органов ретикуло-эндотелиальной системы, разнонаправленными изменениями количества лейкоцитов от лейкопении до лейкоцитоза, характеризуется преобладанием иммунного ответа Th2 типа.

Выявление анамнестических факторов, способствующих реактивации ВГЧ-4,5,6А/В инфекции, проводили в сравнении с контрольной группой здоровых серопозитивных ВГЧ-4,5,6А/В пациентов (155 человек) в двух возрастных

группах: у детей от 1 месяца до 1 года, и у детей от 1 до 7 лет. В старшей возрастной группе достоверно чаще имелись указания на перенесенный инфекционный мононуклеоз (OR=1,7, ДИ 1,16-2,7) и рецидивирующие респираторные заболевания (OR=1,58, ДИ 1,1-2,35). Построенная регрессионная модель показала, что данные анамнестические факторы имеют высокую чувствительность (95,7%), но крайне низкую специфичность (9,7%), и могут быть применены только в качестве скрининга.

### **Сравнительный анализ клинико-лабораторных характеристик различных форм активной инфекции, вызванной вирусами ВГЧ-4,5,6А/В**

Особенности клинико-лабораторной картины реактивированной ВГЧ-4,5,6А/В изучались в группе из 478 детей наблюдавшихся как амбулаторно, так и в стационаре. Клиническая картина реактивированной ВГЧ-4,5,6А/В инфекции в 60% случаев соответствовала типичному мононуклеозу, а в 30% случаев имела неполную симптоматику (атипичное течение), еще в 10% заболевание протекало в виде ОРИ с лихорадкой. Возрастными особенностями клинической картины реактивированной ВГЧ 4,5,6А/В-инфекции являлось преобладание (в 1,5 раза) типичного мононуклеоза у детей старше четырех лет. Наиболее значимыми общими субъективными симптомами заболевания являлись - повышенная температура тела, слабость, вялость, головные боли, нарушение носового дыхания.

Объективные симптомы имели различия в зависимости от типа инфицирования: реактивированная инфекция ВГЧ-4,5,6А/В в сочетанном варианте представленная мононуклеозом и/или мононуклеозоподобным синдромом, характеризовалась 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 соответствовала 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 характеризовалась выраженным лимфопролиферативным синдромом, налетами на миндалинах и высокой частотой развития осложнений в виде отита; реактивированная моно ВГЧ6А/В-инфекция протекала в виде острого респираторного заболевания, бронхита, пневмонии, а также, в виде лихорадки и характеризовалась наименьшей выраженностью лимфопролиферативного синдрома. В сравнительном анализе клинических особенностей *первичной и реактивированной* форм ВГЧ-4,5,6А/В инфекции было установлено, что синдромокомплекс инфекционного мононуклеоза, при реактивации встречался в 1,8 раза реже, чем при первичной инфекции (40% против 73,15%,  $p=0,03$ ) и заболевания протекали легче (29,8% легких форм против 14,2%  $p=0,01$ ).



Наиболее значимыми субъективными симптомами реактивированной формы ВГЧ-4,5,6А/В были - слабость, вялость, головные боли и нарушение носового дыхания, симптомы типичного мононуклеоза наблюдались только при реактивированной моно ЭБВ-инфекции. Реактивированная ЦМВ- и ВГЧ-6А/В инфекции имели неспецифическую картину заболевания с лихорадкой и умеренным лимфопролиферативным синдромом.

Сравнительный анализ результатов гематологического исследования установил различия в зависимости от варианта инфицирования: реактивированная ЭБВ-инфекция характеризуется менее выраженным (в 1,5-2 раза,  $p \leq 0,05$ ) лимфо-моноцитозом, при реактивированной ЦМВ-инфекции более выражена лейкопения – (36,8%, против 7,7,  $p=0,009$ ), при реактивированной форме моно ВГЧ-6А/В инфекции менее выражена нейтропения (19,2% против 54,5%,  $p=0,011$ ). Сравнительный анализ медианных значений иммунологических показателей установил, что в целом, повышенные показатели не характерны для реактивированной формы ВГЧ 4,5,6А/В-инфекции, тогда как при первичной форме отмечены достоверно более высокие значения иммуноглобулина А, и CD8+ лимфоцитов. Таким образом, клиническая картина реактивированной ВГЧ-4,5,6А/В инфекции в одной трети случаев имеет неспецифическую симптоматику и более легкое течение заболевания, отличается менее выраженными изменениями лабораторных характеристик таких как лейкоцитоз, повышенное СОЭ, наличие атипичных мононуклеаров. Вирусная нагрузка ДНК ВГЧ-4,5,6А/В в крови при первичной и реактивированной инфекции не имеет значимых различий, таблица 6.

Таблица 6. Медиана вирусной нагрузки ДНК ВГЧ-4,5,6А/В в крови (lg копий ДНК/мл) IQR

Тип инфекции	Первичная инфекция	Реактивированная инфекция
ЦМВ-инфекция	4,5 (4,0-4,7)	4,45 (4,2-4,7)
ЭБВ-инфекция	3,2 (3,1-3,3)	3,26 (3,1-3,34)
ВГЧ 6А/В инфекция	3,9 (3,7- 4,2)	3,89 (3,5- 4,1)

В слюне при реактивированной форме инфекции значения вирусной нагрузки ДНК ВГЧ-4,5,6А/В достоверно ниже, чем при первичной инфекции.

### **Клинические и лабораторные характеристики активной цитомегаловирусной инфекции**

Среди всех детей с активной ВГЧ-4,5,6А/В инфекцией цитомегаловирусная инфекция была определена у 255/780 (32,7%) человек, составивших группу изучения. При серологическом обследовании IgG антитела к ЦМВ определялись

в 62,7% (160/255) случаев: 52,8% (75/142) в младшей возрастной группе, и 88,8% (48/54) случаев - в старшей. Антитела IgM к ЦМВ определялись у 49,8% (127/255) детей, без возрастных различий. Лабораторно, первичную ЦМВИ (ПЦР+ кровь, IgM±, IgG-) переносили 37% (95/225) детей, у 63% (160/255) была диагностирована реактивация. Первичная ЦМВИ достоверно чаще во всех возрастных группах манифестировала острым лихорадочным состоянием с лимфаденопатией (OR=1,7, ДИ 1,1-3,0), таблица 7.

Таблица 7. 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
лейкоцитоз	52	73	2,0
нейтропения	22	78	1,3
лимфоцитоз	54	72	1,6

Реактивированная форма протекала по типу инфекционного мононуклеоза у детей старшей возрастной группы (OR=3, ДИ 1,2-7,4). Группу сравнения (неактивной ЦМВИ) составили 100 серопозитивных к ЦМВ детей с клиническими проявлениями острого респираторного заболевания в виде ларинготрахеита (24%), острого отита (19%), бронхита (17%), тонзиллита (17%), риносинусита (15%), и пневмонии (9%). Клинико-лабораторные характеристики активной ЦМВИ имели различную специфичность и чувствительность. При помощи математического моделирования были установлены наиболее значимые клинико-лабораторные характеристики, обладающие высокой специфичностью – *критерии* активной фазы инфекции. Для возрастной группы от 1 месяца до 1 года математическая модель вероятности активной ЦМВИ:  $p = 1/(1 + e^{-z}) \times 100\%$ ,  $z=0,29-16X_{\text{лихор}}+18X_{\text{лимф-з}}$  где p- вероятность активной ЦМВИ,  $X_{\text{лихор}}$  – наличие лихорадки более 5 дней,  $X_{\text{лимф-з}}$  – наличие лимфоцитоза. Для возрастной группы от 1 до 7 лет в математическую модель вошли две характеристики - лихорадка более 5 дней и лимфоцитоз:  $z=-0,38+0,98X_{\text{лихор}}+1,48X_{\text{лимф-з}}$ . Таким образом, критериями активной ЦМВИ у детей от 1 месяца до 7 лет можно считать лихорадку длительностью более 5 дней, протекающую на фоне лимфоцитоза.

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

В крови всех пациентов с активной ЦМВИ определялась ДНК ЦМВ (условие включения в исследование). 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. У пациентов с неактивной ЦМВИ ДНК вируса в крови не обнаруживалась. В группе здоровых детей ДНК ЦМВ в крови определялась в 8% случаев (12/155), медианное значение ВН составило 3 lg копий ДНК ЦМВ/мл (IQR 2,6-3,3). Таким образом, чувствительность тестирования ДНК ЦМВ в крови составила 100%, специфичность 92%, ДИ (0,91;0,99), прогностичность положительного результата 95%, ДИ (0,93;0,99) отрицательного - 100%. «Пороговое» значение (cut off) ВН ДНК ЦМВ в крови, разделяющее активную и неактивную фазы инфекции вычислено по уравнению  $y = 1,03 - 2,06x$ , составило 3,6lg (или 4700 коп ДНК/мл),  $Se = 0,78$ ,  $Sp = 1,00$ .

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 ЦМВ/мл (IQR 4,9-6,4) при первичной форме против 5 lg копий ДНК ЦМВ/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 lg копий ДНК ЦМВ/мл (IQR 4,0-5,1). При неактивной ЦМВИ ПЦР-положительные образцы слюны встречались в 74% (74/100) случаев, с возрастом их доля уменьшалась от 100% до 52%, медиана ВН ДНК ЦМВ составила 3,7 lg копий ДНК ЦМВ/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 3lg копий ДНК ЦМВ/мл (IQR 2,0-3,8). Таким образом, чувствительность тестирования ДНК ЦМВ в слюне составила 100%, специфичность 92%, ДИ (0,91;0,99), прогностичность положительного результата 95%, ДИ (0,93;0,99) отрицательного - 100%. «Пороговое» значение (cut off) ВН ДНК ЦМВ в слюне, разделяющее активную и неактивную фазы инфекции вычислено по уравнению  $y = -6,4 + 1,29x$ , составило 4,7lg ДНК ЦМВ ( $Se = 0,87$ ,  $Sp = 1,00$ ).

В моче ДНК ЦМВ обнаруживалась у 61% (157/255) детей с активной формой инфекции, с тенденцией 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 ЦМВ/мл (IQR 4,1-5,2), от 1 года до 4 лет - 4 lg копий ДНК ЦМВ/мл (IQR 3,9-4,3), у детей старше 7 лет - 3,5 lg копий ДНК ЦМВ/мл (IQR 3,0-3,8). При неактивной инфекции в моче ДНК ЦМВ определялась только у детей до 4 летнего возраста - 33% (33/100) 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% (11/155) случаев, медиана составила 2,9 lg копий ДНК ЦМВ/мл (IQR 2,3-3,0). Чувствительность тестирования активной ЦМВИ по анализу мочи составила 61%, специфичность – 77%, PPV=82%, NPV=40%. Из уравнения  $y = -0,65 + 0,45x$  определили пороговое значение ВН ДНК ЦМВ для мочи, которое составило 3lg коп ДНК ЦМВ/мл (Se=65%, Sp=90%), таблица 8.

Таблица 8. Медианы вирусной нагрузки при активной ЦМВИ

Субстрат	Активная инфекция lg копий ДНК/мл	Неактивная инфекция lg копий ДНК/мл	Условно здоровые lg копий ДНК/мл	Чувствительность %	Специфичность %	cut off lg ДНК/мл
Кровь	4,5	-	3,0	100	92	3,6
Слюна	5,9	3,7	3,0	91	26	4,7
Моча	5,0 -4,0	2,8	2,9	61	77	3,0

Таким образом наибольшими значениями чувствительности (Se=100%) и специфичности (Sp=92%) тестирования активной ЦМВИ обладают результаты количественной ПЦР крови, вирусная нагрузка ДНК ЦМВ в крови выше 3,6lg, является критерием активной фазы инфекционного процесса.

### Многофакторный анализ активной ЦМВИ у детей от 1 мес до 7 лет

Нашим исследованием установлено, что такие характеристики активной ЦМВИ как: ВН ДНК ЦМВ в крови более 3,6lg коп ДНК, лихорадка длительностью более 5 дней и лимфоцитоз, обладают высокой чувствительностью и специфичностью. Однако в исследовании установлены еще 9 характеристик, 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).

Проведенный анализ позволил получить новые переменные (факторы), и оценить корреляционные зависимости между ними (факторами). Полученные

факторы, преобразованные в численное значение, были использованы для дальнейшего статистического анализа, таблица 9.

Таблица 9. Матрица факторных нагрузок активной ЦМВИ

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

Наблюдаемую зависимость описывали уравнением:  $z=1,3+0,43R_1+1,24R_2$ . Регрессионные коэффициенты определили, что факторы R1 и R2 имеют прямую связь с вероятностью развития активной ЦМВИ. Основной фактор увеличивает шансы активной ЦМВИ в 3,5 раз (OR=3,37, ДИ2,4-4,9), а дополнительный - в 1,5 раза (OR=1,54, ДИ1,09-2,2). Полученная регрессионная модель является статистически значимой ( $p=0,001$ ), критерий  $R^2$ Нейджелкерка=0,30. Высокие значения чувствительности (84%) и специфичности (75%) позволяют применять данную модель на практике.

### Клинические и лабораторные характеристики активной инфекции, вызванной вирусом Эпштейна-Барр

Активная инфекция вызванная вирусом Эпштейна-Барр, была определена у 318/780 детей (40,3%), составивших основную группу. При серологическом исследовании анти-ЭБВ антитела IgG определялись в 49,6% (158/318) случаев: в 36,5% (19/52) - в младшей группе, и в 56,8% - в старшей. Антитела к капсидному антигену ЭБВ IgM определялись у 57% (182/318) детей, без возрастных различий. Лабораторно, первичная ЭБВ-инфекция (ПЦР+ кровь, IgM±, IgG-) определена у 50% (160/318) больных, у оставшихся 50% была диагностирована реактивация. У детей до 1 года первичная ЭБВ-инфекция составила 63% случаев, из них в 88% заболевание было представлено атипичной формой ИМ, в виде лихорадки с лимфаденопатией, на долю типичного мононуклеоза пришлось 12% случаев. Реактивированная ЭБВ-инфекция у детей до 1 года отмечалась реже - в 36,8%, случаев, и была представлена типичным мононуклеозом в 26% случаев. В возрасте от 1 до 4 лет доля первичной и реактивированной форм были примерно равными. Манифестация ЭБВ-инфекции 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 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%), встречавшийся чаще при первичном инфицировании - 32% (49/153), OR=2,7, ДИ 1,3-5,4. С целью установления значимых характеристик активной ЭБВ-инфекции проводили клинические сравнения с группой неактивной ЭБВ-инфекции, которую составили 100 серопозитивных детей, наблюдавшихся по поводу острого респираторного заболевания сопровождавшегося отитом (29%), тонзиллитом (21%), ларинготрахеитом (16%), пневмонией (15), риносинуситом (10%), бронхитом (9%). Клинико-лабораторные характеристики активной ЭБВИ имели различную специфичность и чувствительность, таблица 10.

Таблица 10. Оценка клинико-лабораторных характеристик активной ЭБВИ

Клинико-лабораторные 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
лимфоцитоз	75	34	1,7
снижение IgA	69	54	1,4
повышение АЛТ	39	54	1,2

Значимость клинико-лабораторных характеристик изучали при помощи математического моделирования. В возрастной группе от 1 месяца до 1 года построили математическую модель вероятности активной ЭБВ-инфекции которую описали уравнением:  $z=0,21- 2,5X_{\text{лихор}}+0,18X_{\text{ЛАП}}$ , где p- вероятность активной ЭБВ-инфекции,  $X_{\text{лихор}}$  – наличие лихорадки более 5 дней,  $X_{\text{ЛАП}}$  – лимфаденопатия «пакетами», Se=84%, Sp=67%. В возрастной группе от 1 до 4 лет получили математическую модель с тремя критериями - лимфаденопатия «пакетами», лихорадка более 5 дней и лимфоцитоз:  $z=0,25-38X_{\text{лихор}}+1,8X_{\text{лимф}}-z+17,8 X_{\text{ЛАП}}$ , Se=91%, Sp=72%, в группе от 4 до 7 математическую модель имела два критерия - лимфаденопатия «пакетами» и лихорадка более 5 дней:  $z=-0,08 +2,3X_{\text{лихор}}+1,6X_{\text{ЛАП}}$ , Se=90%, Sp=58%, Таким образом, общими для всех возрастных групп критериями активной фазы ЭБВ-инфекции можно считать лихорадку длительностью более 5 дней, лимфаденопатию «пакетами» и

лимфоцитоз.

### **Вирусная нагрузка ДНК ЭБВ в крови и слюне как критерий активной инфекции, вызванной вирусом Эпштейна-Барр**

В крови всех пациентов с активной ЭБВ-инфекцией определялась ДНК ЭБВ. 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 ЭБВ/мл (IQR 3,1-3,3), без возрастных различий. У пациентов с неактивной ЭБВ-инфекцией в крови ДНК ЭБВ не была обнаружена. В группе здоровых детей ДНК ЭБВ в крови определялась в 3,8% случаев (6/155), медианное значение составило 2,7 lg копий ДНК ЭБВ/мл (IQR 2,6-3,0), чувствительность 100%, специфичность 96%, ДИ (0,91;0,98), прогностичность положительного результата 98%, ДИ (0,96;0,99) отрицательного - 100%. «Пороговое» значение ВН ДНК ЭБВ в крови cut off =3,1lg (Se=97%, Sp=100%), вычислили по уравнению  $y = -2,5 + 0,002x$ . Качество моделирование оценено при помощи AUC=0,98 и индекса Юдена=0,97, как высокое, таблица 11.

Таблица 11. Медианы вирусной нагрузки при активной ЭБВИ

Субстрат	Активная инфекция lg копий ДНК/мл	Неактивная инфекция lg копий ДНК/мл	Условно здоровые lg копий ДНК/мл	Чувствительн ость %	Специфичность %	cut off lg копий ДНК/мл
Кровь	3,2	-	2,7	100	96	3,1
Слюна	5,1-4,9	3,8	2,9	89	31	3,7

В слюне ДНК ЭБВ определялась у 88,6% (282/318) детей с активной инфекцией, с преобладанием максимальных значений в младшем возрасте при первичном инфицировании: 5,1 lg копий ДНК/мл (IQR 5,0-5,3) против 4,9 lg копий ДНК ЭБВ/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 ЭБВ/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 составила 3,6 lg копий ДНК ЭБВ/мл (IQR 3,2-4,1), старше года - 3,8 lg копий ДНК ЭБВ/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 lg (IQR 2,6-3,2) копий ДНК ЭБВ/мл, специфичность 91%, ДИ (0,86;0,95). В моче ДНК ЭБВ не обнаруживалась ни в одной группе.

Таким образом количественная ПЦР слюны при тестировании активной ЭБВ-инфекции имеет чувствительность 88,6%, и специфичность 31%. Для

минимизирования ложноположительных результатов, определили «пороговое» значение вирусной нагрузки путем регрессионного анализа, из уравнения:  $y = -1,7 + 1,25x$ , где  $x$  – значение десятичного логарифма вирусной нагрузки. Критерием выбора порогового значения «cut off» выбрали максимальную специфичность, таким образом «пороговое» значение ВН ДНК ЭБВ в слюне cut off 3,7lg (Se=54, Sp=90%). Таким образом наибольшими значениями чувствительности (Se=100%) и специфичности (Sp=96%) в тестировании активной ЭБВ-инфекции обладают результаты количественной ПЦР крови, вирусная нагрузка ДНК ЭБВ в крови выше 3,1lg, характеризует активную фазу инфекционного процесса.

### Многофакторный анализ активной ЭБВ-инфекции у детей до 7 лет

Многофакторный анализ позволил сгруппировать наиболее значимые критерии в два фактора, обозначенных нами как основной (R1) и дополнительный (R2). Установлено, что отобранные факторы позволяют описать 77,4% всех клинических характеристик активной ЭБВ-инфекции, а именно: основному фактору соответствуют такие характеристики, как лихорадка длительностью более 5 дней, лейкоцитоз, гепатомегалия, выраженная регионарная лимфаденопатия «пакетами», и значения ВН ДНК ЭБВ в крови более 3,1lg в острый период заболевания, дополнительному - рецидивирующие заболевания нижних дыхательных путей в анамнезе, таблица 12.

Таблица 12. Матрица факторных нагрузок активной ЭБВ-инфекции

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

Исходя из значений регрессионных коэффициентов уравнения  $z = 1,9 + 1,8R_1 - 0,69R_2$ , основной фактор R1 имеет прямую связь с вероятностью развития активной ЭБВ-инфекции, увеличивая шансы в 5,5 раз (OR=5,5, ДИ 3,8-8,0), дополнительный фактор - в 1,8 раз (OR=1,8, ДИ 1,1-2,5). Таким образом, получили прогнозирующую модель с двумя прогнозирующими факторами определяющими вероятность активной ВЭБИ. Чувствительность модели 81% и специфичность 71%. Полученная регрессионная модель является статистически значимой ( $p=0,001$ ), критерий  $R^2$  Нейджелкерка=0,47.



## Клинические и лабораторные характеристики активной инфекции, вызванной ВГЧ-6А/В

Активная фаза инфекции, вызванной вирусом герпеса 6 типа была определена у 207/780 детей (26,6%) составивших основную группу. При серологическом исследовании антитела IgG к ВГЧ-6А/В, маркирующие реактивированную форму инфекции определялись в 77,3% (160/207) случаев, имелись выраженные возрастные отличия: 90,7% (78/86) в младшей группе, 77,2% (54/70) в средней группе и 55% (28/51) - в старшей. Первичная форма ВГЧ-6А/В инфекции (ПЦР+ кровь, IgG-) отмечена у 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.

У детей от 1 мес до 1 года первичная инфекция отмечалась в виде внезапной экзантемы во всех случаях, от 1 года до 4 лет на эту форму инфекции пришлось 37,5% (6/16) случаев, в 31% (5/16) случаев была отмечена респираторная форма, и в 31% (5/16) – лихорадочно-судорожная. У детей старшей возрастной группы первичная инфекция в 52% (12/23) случаев протекала в виде респираторной формы, в 35% (8/23) случаев в виде мононуклеозоподобной формы, и в 13% (3/23) - лихорадочно-судорожная форма. Реактивированную форму ВГЧ-6А/В инфекции переносили 77,3% (160/207) 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), лихорадочно-экзематозной в 5% (4/78). В группе 4-7 лет: респираторная форма – 12,8%(10/78), мононуклеозоподобная форма – 28,2% (22/78), лихорадочно-судорожная форма – 5% (4/78), лихорадочно-экзематозная – 12,8% (10/78). В целом среди обследуемых детей активная ВГЧ-6А/В инфекция чаще протекала в виде респираторной формы (45,8%, 95/207), как при реактивации, так и при первичном инфицировании, в виде внезапной экзантемы – чаще при первичном инфицировании (OR=6,3, ДИ 2,6-15,5). С целью установления значимых клинических характеристик активной ВГЧ-6А/В инфекции проводили клинические сравнения с группой неактивной 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%). Клинико-лабораторные характеристики активной ВГЧ-6А/В имели различную специфичность и чувствительность, таблица 13.

Таблица 13. Оценка клинических и анамнестических характеристик активной ВГЧ 6А/В инфекции

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

Значимость клинико-анамнестических характеристик изучали при помощи математического моделирования. В возрастной группе от 1 месяца до 1 года в математическую модель вошли два критерия - фебрильный судорожный приступ и лихорадка более 5 дней:  $z = -0,36 - 0,43 X_{\text{лихор}} + 2,14 X_{\text{ФСП}}$ , где  $p$  - вероятность активной ВГЧ6А/В,  $X_{\text{лихор}}$  - наличие лихорадки более 5 дней,  $X_{\text{ФСП}}$  - фебрильный судорожный приступ,  $Se = 82\%$ ,  $Sp = 26\%$ . В возрастной группе от 1 до 4 лет получили прогнозирующую модель с тремя переменными  $z = 0,45 + 0,39 X_{\text{лихор}} - 1,9 X_{\text{лпения}} - 0,7 X_{\text{ЛАП}}$ ,  $Se = 91\%$ ,  $Sp = 45\%$ . В возрастной группе от 4 до 7 лет:  $z = 0,19 - 0,37 X_{\text{лихор}} + 0,8 X_{\text{ЛАП}} + 1,8 X_{\text{лпения}}$ ,  $Se = 90\%$ ,  $Sp = 26\%$ . Таким образом, общим критерием активной фазы ВГЧ-6А/В инфекции для всех возрастных групп можно считать лихорадку длительностью более 5 дней. В возрастной группе до 1 года анамнестическим критерием активной ВГЧ6А/В является упоминание о фебрильном судорожном приступе, а у детей старше года клинико-лабораторными критериями являются регионарная лимфаденопатия и лейкопения.

### **Вирусная нагрузка ДНК ВГЧ-6А/В в крови и слюне как критерий активной фазы инфекции**

В крови всех пациентов с активной ВГЧ-6А/В инфекцией определялась ДНК ВГЧ-6А/В. 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 ВГЧ6 А/В/мл (IQR 3,7-4,2), при реактивированной ВГЧ-6А/В инфекции - 3,9 коп ДНК ВГЧ-6А/В /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-6АВ в крови определялась в 7,7% случаев (12/155), медианное значение составило 3lg коп ДНК ВГЧ-6А/В /мл (IQR 2,8-3,2), чувствительность

100%, специфичность 92%, ДИ (0,86;0,95), прогностичность положительного результата 94%, ДИ (0,90;0,96), отрицательного - 100%. «Пороговое» значение ВН ДНК ВГЧ6 А/В в крови cut off =3,2lg (Se=100%, Sp=98%), вычислили по уравнению  $y = -7,3 + 3,1x$ . Качество моделирование оценено при помощи AUC=0,98 и индекса Юдена=0,97, как высокое, таблица 14.

Таблица 14. Медианы вирусной нагрузки при активной ВГЧ-6АВ

Субстрат	Активная инфекция lg копий ДНК/мл	Неактивная инфекция lg копий ДНК/мл	Условно здоровые lg копий ДНК/мл	Чувствительность %	Специфичность %	cut off lg копий ДНК/мл
Кровь	3,8		3,0	100	92	3,2
Слюна	3,9	3,1	3,1	91	13	3,7

В слюне ДНК ВГЧ-6А/В определялась у 91,8% (190/207) детей имевших активную форму инфекции, с преобладанием максимальных значений в младшем возрасте при первичном инфицировании: 3,9 lg копий ДНК ВГЧ6 А/В/мл (IQR 3,7-4,1) против 3,5 lg копий ДНК ВГЧ-6А/В /мл (IQR 3,2-3,9) в группе реактивированной инфекции. 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 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 инфекцией 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.

Таким образом тестирование активной ВГЧ-4,5,6А/В инфекции методом ПЦР имеет чувствительность 91%, и специфичность 13,7%. Для минимизирования ложноположительных результатов, определили «пороговое» значения вирусной нагрузки из уравнения:  $y = -17,5 + 3,9x$ , где  $x$  – значение десятичного логарифма вирусной нагрузки. Критерием выбора порогового значения «cut off» выбрали максимальную специфичность, таким образом «пороговое» значение ВН ДНК ВГЧ-4,5,6А/В в слюне cut off 3,7lg (Se=100%, Sp=100%).

Таким образом, наибольшими значениями чувствительности (Se=100%) и специфичности (Sp=92%) в определении активной ВГЧ-4,5,6А/В обладают результаты количественной ПЦР крови, вирусная нагрузка ДНК ВГЧ-6А/В в крови выше 3,2lg, является критерием активной фазы инфекционного процесса.

## Многофакторный анализ активной ВГЧ-6А/В-инфекции у детей до 7 лет

В результате проведенного анализа, установили факторы позволяющие описать 90% всех клинических характеристик активной ВГЧ-6А/В инфекции, а именно: основной (R1) и дополнительный (R2), таблица 15.

Таблица 15. Матрица факторных нагрузок активной ВГЧ-6А/В инфекции

Клинические и анамнестические характеристики активной ВГЧ6	Основной R1	Дополнительный R2
фебрильный судорожный приступ в анамнезе	0,45	0,92
регионарная лимфаденопатия	0,54	0,91
ВН ДНК ВГЧ6 в крови более 3,2lg	0,99	0,12
лихорадка более 5 дней	0,81	0,56

Зависимость между факторами описывали уравнением:  $z = 1,3 + 8,8R_1 - 4,9R_2$ . Исходя из значений регрессионных коэффициентов, основной фактор 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  $R^2$  Нейджелкера=0,85.

### Определение фазы инфекционного процесса вызванного ВГЧ-4,5,6А/В у детей

Полученные в исследовании критерии активной ВГЧ-4,5,6А/В инфекции, разделили на две группы, в соответствии со значениями чувствительности и OR: общие, с высокими значениями чувствительности и OR, и - частные. Алгоритм диагностики активной ВГЧ 4,5,6А/В-инфекции включает все обязательные общие критерии и часть частных. Посредством корреляционного анализа в нашем исследовании вычислили общий критерий активной 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: 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), атипичные мононуклеары (Sp=84%, OR>2,5), лейкоцитоз в остром периоде заболевания (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 16.

Таблица 16. Оценка критериев активной ВГЧ-4,5,6А/В инфекции

Градация критериев по частоте и периоду заболевания			Оценка предиктивности критериев для различных типов инфекции		
			Se%, OR		
			ЦМВИ	ВЭБИ	ВГЧ-6А/В
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	в анамнезе	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)	
		ФСП			95% (2,6)
	рецидивирующие заболевания нижних дыхательных путей		79% (1,8)		
	хронические ЛОР-заболевания	65% (1,45)			

Таким образом, с учетом специфичности и чувствительности полученных критериев, 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, рисунок 5.

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

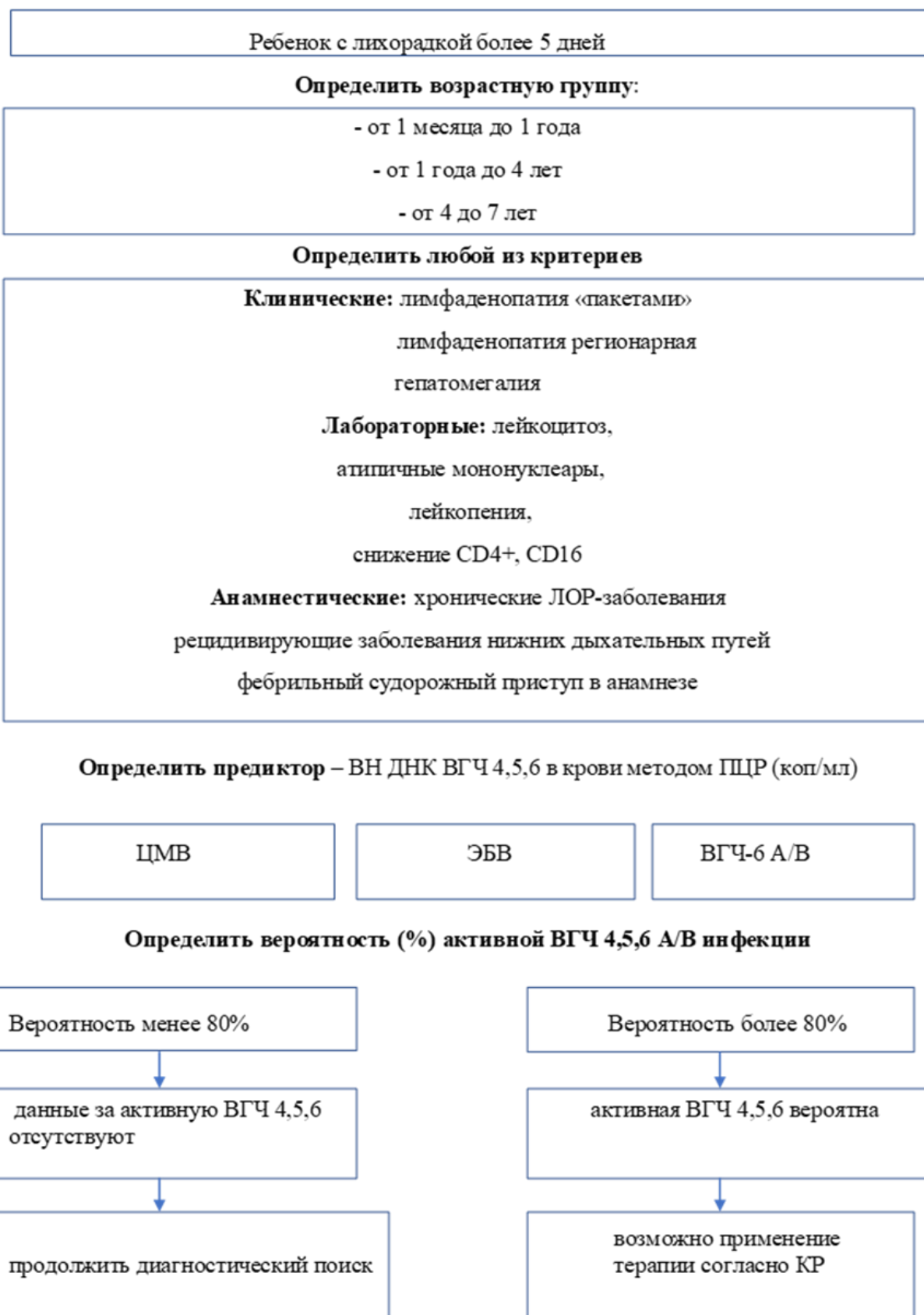


Рисунок 5. Алгоритм диагностики активной ВГЧ-4,5,6А/В инфекции.

## 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 ВГЧ-4,5,6А/В– 61% против 45%, в превосходящих количествах: для ЦМВ на 1,4lg, для ЭБВ – на 1 lg для ВГЧ-4,5,6А/В– на 1,5lg. В слюне частота выявления ДНК ВГЧ-4,5,6А/В среди больных и здоровых не имеет достоверных различий, но количество ДНК ВГЧ-4,5,6 всегда больше при активной форме инфекции: для ЦМВ на 2lg, для ЭБВ – на 1,1 lg для ВГЧ-4,5,6А/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 ВГЧ-6А/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 - 3,61g коп ДНК ЦМВ/мл, 3,11g коп ДНК ЭБВ/мл, 3,21g коп ДНК ВГЧ6-А/В/мл, для слюны - 4,71g коп ДНК ЦМВ/мл, 3,71g коп ДНК ЭБВ/мл, 4,51g коп ДНК ВГЧ-6А/В/мл.

7. Бинарная классификация определяет фазы инфекционного процесса, вызванного ВГЧ 4,5,6А/В 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-4,5,6А/В, 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.



## 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.

## **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.

## Список опубликованных по теме диссертации работ

1. Дерюшева А.В. (**Пермякова А.В.**) Клинико-лабораторные особенности герпесвирусной инфекции 6 типа у иммунокомпрометированных детей, наблюдающихся в детской поликлинике / И.И. Львова, Н.С. Леготина, Е.В. Сидор // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2013.-№4. С.35-39.
2. Дерюшева А.В. (**Пермякова А.В.**) Иммунотерапия в комплексном лечении туберкулеза легких у подростков И.И. Львова, А.А. Шурыгин, Ю.А. Шабалина // Детские инфекции. 2014. - №13 (1). - С. 44-47.
3. Дерюшева А.В. (**Пермякова А.В.**) Тяжелая форма висцерального лейшманиоза у ребенка раннего возраста на фоне активации оппортунистических герпесвирусных инфекций /И.И. Львова, Н.С. Леготина, Г.В. Батракова, Т.В. Гирева, Н.В. Банько и др. //Пермский медицинский журнал. 2015. - №3 (32). – С.136-140.
4. Дерюшева А.В. (**Пермякова А.В.**) Клинико-лабораторные критерии диагностики хронической цитомегаловирусной инфекции у детей раннего возраста // Н.С. Леготина, И. Львова // Пермский медицинский журнал. 2015. - № 3 (32). – С. 63-69.
5. Дерюшева А.В. (**Пермякова А.В.**) /Патент на изобретение № RU 2566074 Способ оценки эффективности терапии хронической цитомегаловирусной инфекции у детей [<https://findpatent.ru/patent/256/2566074.html>]/Н.С.Леготина, И.И. Львова. - 2015 г.
6. Дерюшева А.В. (**Пермякова А.В.**) Патент на изобретение № RU 2646472 Способ оценки эффективности терапии инфекции, вызванной вирусом герпеса 6 типа у детей [<https://patents.google.com/patent/RU2639593C1/ruc/>]/Леготина Н.С., И.И. Львова // 2016.
7. **Пермякова А.В.** Частота выявления цитомегаловирусной инфекции у детей, родившихся в результате применения репродуктивных технологий/ И.И. Львова, С.Э. Махмудова // Пермский медицинский журнал. 2017. - № 2 (34). С. 51-55.
8. **Пермякова А.В.** Обоснование программы лечебно-профилактических мероприятий у часто болеющих детей раннего возраста / И.И. Львова, Н.С. Леготина // Детские инфекции. 2017. - № 1 (16). С. 15-20.
9. **Пермякова А.В.** О возрастных особенностях инфекционного мононуклеоза / И.И. Львова, А.Ю. Дерюшева // Пермский медицинский журнал. 2017. - №5 ( 34). - С. 63-68.
10. **Пермякова А.В.** О возможностях лабораторной верификации цитомегаловирусной инфекции у детей/ Львова И.И., Поспелова Н.С. //Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2017. - № 62(6). – С.45-50.
11. **Пермякова А.В.** Патент на изобретение № RU 2639С1 Способ оценки

- активности инфекции, вызванной вирусами 4,5, и 6 типа у детей [<https://patents.google.com/patent/RU2639593C1/ru>]/Н.С. Леготина, И.И. Львова // 2017 г.
12. **Пермякова А.В.** Патент на изобретение № RU 2618391C1 Способ оценки эффективности терапии инфекции, вызванной вирусом Эпштейна-Барр, у детей [<https://edrid.ru/rid/217.015.c585.html>]/ Н.С. Леготина, И.И. Львова, Е.И. Филиппева. // 2017г.
  13. **Пермякова А.В.** Оптимизация диагностики цитомегаловирусной инфекции у детей младшего возраста / Н. С. Поспелова, И. И. Львова // Детские инфекции. 2018. - № 17(3). – С.51-56.
  14. **Пермякова А.В.** Результаты катамнестического наблюдения острой цитомегаловирусной инфекции у детей/Н. С. Поспелова, А.Ю. Дерюшева // Пермский медицинский журнал .2019. – Т.36 -№ 1 . – С. 91-96.
  15. **Пермякова А.В.** Клинико-лабораторный алгоритм диагностики острой цитомегаловирусной инфекции у детей / Поспелова Н.С., Мелехина Е.В. // Журнал инфектологии. 2019.- Т. 11.- № 4. - С. 92-97.
  16. **Пермякова А.В.** К вопросу о критериях тяжести инфекционного мононуклеоза у госпитализированных детей /Поспелова Н.С., Постановова Н.О., Сатюкова М.О., Дерюшева А.Ю.//Детские инфекции. 2020. - Т. 19. - № 1 (70). - С. 26-28.
  17. **Пермякова А.В.** Возможности биологического и математического моделирования инфекции, вызванной вирусом Эпштейна-Барр / Сажин А.В., Мелехина Е.В., Горелов А.В.// Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2020. - Т. 10. - № 1. - С. 93-97.
  18. Дерюшева А.В. (Пермякова А.В.) Влияние инфекции, вызванной вирусами простого герпеса, на соматическую патологию у детей школьного возраста / И.И. Львова // Материалы I Всероссийской научно-практической конференции «Инфекционные аспекты соматической патологии у детей». М. 2008.- С.36-39.
  19. Дерюшева А.В. (Пермякова А.В.) Факторы риска и профилактика развития тяжелых форм ветряной оспы у детей / И.И. Львова, В.В. Голев //Проблемы педиатрии, детской нефрологии и неврологии в XXI веке. Материалы Российской конференции с междунар. участием, посвящ. 90-летию Пермской педиатрической школы. VI Пичугинские чтения. Пермь . 2012. – С.123-127.
  20. Дерюшева А.В. Значение цитомегаловирусной инфекции в генезе внезапной смерти детей раннего возраста / И.И. Львова, Г.Г. Фрейнд, Н.С. Леготина, Е.В. Сидор // Электронное периодическое издание. Здоровье семьи – 21 век. LSSN 2077-2548. 2013. - №1. – С.1-12.
  21. Deryusheva A.V. (Пермякова А.В.) Improvement of control the efficiency of treatment of cytomegalovirus infection in children/I. I.Lvova, N. S.Legotina //World Applied Sciences Journal. 2013.- №25. 7. С.1023-1026.
  22. Deryusheva A.V. The prevention of herpes-viral infections with interferon

- therapy in combined treatment of pulmonary tuberculosis /A. A. Shurygin, I. I. Lvova, A. A. Varankina, N. S. Legotina //Life Science Journal. 2014. - №11(9s). P.125-128.
23. Дерюшева А.В. (Пермякова А.В.) Клинико-лабораторные маркеры внутриутробного инфицирования при хронической цитомегаловирусной инфекции у иммунокомпрометированных амбулаторных пациентов / Н.С. Леготина, И.И. Львова // Актуальные вопросы педиатрии. Материалы межрегиональной научно-практической конференции с международным участием Пермь.2015. – С. 69-72.
24. Дерюшева А.В. (Пермякова А.В.) Возможности математического моделирования в клинической практике /И.И. Львова, А.Д. Селин // Проблемы развития современной науки: сборник научных статей по материалам I Международной научно-практической конференции (г. Екатеринбург). Пермь. 2016. – С.204-208.
25. Пермякова А.В. Возможности применения DATA MINING в учебных клинических исследованиях //Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. -2017. - № 12 (часть 1) - С. 39-42.
26. Пермякова А.В. Об этиологической роли цитомегаловирусной инфекции в патогенезе хронического воспалительного процесса ЛОР-органов у детей /Львова И.И., Поспелова Н.С.//В сборнике «Актуальные вопросы педиатрии». 2018. - №3. С.162.- 166.
- 27.Пермякова А.В. Возрастные особенности динамики вирусывыделения при персистирующей форме цитомегаловирусной инфекции/ Мельникова А.Р., Дерюшева А.Ю. //В сборнике: «Актуальные вопросы педиатрии». 2018. - №3.- С.158-162.
28. Пермякова А.В. Математическое моделирование цитомегаловирусной инфекции у детей младшего возраста / Поспелова Н.С. // В сборнике: Математика и междисциплинарные исследования - 2019. Материалы Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых с международным участием. 2019. С. 302-304.
29. Пермякова А.В. Результаты катамнестического наблюдения острой цитомегаловирусной инфекции у детей / Поспелова Н.С., Дерюшева А.Ю. // Пермский медицинский журнал. 2019. - Т. 36. - № 1. - С. 91-96.
30. Пермякова А.В. Возрастные аспекты инфицирования герпесвирусами 4, 5, 6-го типов: обзор литературы /Дерюшева А.Ю.// В сборнике: Актуальные вопросы педиатрии. Материалы краевой научно-практической конференции. Пермский государственный медицинский университет им. ак. Е.А. Вагнера. Пермь. 2020.- С. 144-147.
31. Пермякова А.В. Роль инфекционного фактора в неблагоприятном прогнозе здоровья детей, нуждающихся в паллиативной помощи / Асланова А.В.К., Полухинских А.Э., Мурзакаева Л.Н., Бербер И.Э. // В сборнике: Актуальные вопросы педиатрии. Материалы краевой научно-практической конференции. Пермский государственный медицинский университет им. ак. Е.А. Вагнера. Пермь, 2020. - С. 23-26.
32. Пермякова А.В. Клинико-вирусологические особенности острой

цитомегаловирусной инфекции у детей раннего возраста в катамнезе / Поспелова Н.С., Мелехина Е.В., Львова И.И., Дерюшева А.Ю. // В книге: Молекулярная диагностика и биобезопасность - 2020. Сборник материалов. Под редакцией: В.Г. Акимкина, М.Г. Твороговой. 2020. - С. 256.

33. Пермякова А.В. О различных вариантах инфекционного мононуклеоза у детей / Дерюшева А.Ю., Постаногова Н.О. // В сборнике: актуальные вопросы педиатрии. материалы краевой научно-практической конференции. Пермский государственный медицинский университет им. ак. Е.А. Вагнера. Пермь, 2020. - С. 70-74.

## **СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ**

АЛТ - Аланинаминотрансфераза

АСТ - Аспаратаминотрансфераза

ВГЧ-6А/В – вирус герпеса человека 6А/В

ВГЧ-4,5,6А/В– вирусы герпеса человека 4,5,6А/В типа

ВИЧ- вирус иммунодефицита человека

ВПС – врожденный порок сердца

ВН- вирусная нагрузка

ВЭБ – вирус Эпштейна-Барр

ГВИ - герпесвирусные инфекции

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ДНК ВГЧ-4,5,6А/В и ДНК ВГЧ-4,5,6 (синонимы в данной работе) -  
дезоксирибонуклеиновая кислота герпесвирусов 4,5,6 А/В типа

ДИ – доверительный интервал

ЖКТ – желудочно – кишечный тракт

ИР – индекс резистентности

ИФА – иммуноферментный анализ

ИФН - интерферон

ИФН-γ – интерферон гамма

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

ЭБВ - – вирус Эпштейна-Барр

ЭБВИ – инфекция, вызванная вирусом Эпштейна-Барр

IgG - иммуноглобулин G

IgA - иммуноглобулин А

IgE - иммуноглобулин Е

IgM - иммуноглобулин М