

КЛИНИКО–ЛАБОРАТОРНЫЙ АЛГОРИТМ ДИАГНОСТИКИ ОСТРОЙ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ

А.В. Пермякова¹, Н.С. Поспелова¹, Е.В. Мелехина²

¹Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера, Пермь, Россия

²Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии, Москва, Россия

The clinical and laboratory algorithm for the diagnosis of acute cytomegalovirus infection in children

A.V. Permjakova¹, N.S. Pospelova¹, E.V. Melekhina²

¹Perm State Medical University named after academician E.A. Wagner, Perm, Russia

²Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia

Резюме

Цель: оптимизировать лабораторную диагностику цитомегаловирусной инфекции у детей путем определения клинических и лабораторных предикторов, соответствующих острой стадии инфекции.

Материалы и методы: представлены результаты амбулаторного наблюдения 65 детей с цитомегаловирусным мононуклеозом в возрасте от 1 до 3 лет. Маркеры герпес-вирусных инфекций (ЦМВ, ВЭБ, ВГЧ-6 типа) определяли методом ПЦР-real time (кровь, слюна) и серологически (IgM, IgG).

Результаты: установлено, что острая цитомегаловирусная инфекция может как протекать в виде инфекционного мононуклеоза, так и быть атипичной, сопровождаясь длительной лихорадкой и выраженной лимфаденопатией в большинстве случаев. Косвенными лабораторными маркерами острой цитомегаловирусной инфекции являются нейтропения и гипоиммуноглобулинемия IgA и IgG. Острая цитомегаловирусная инфекция сопровождается выделением вируса как в кровь, так и в слюну практически у всех пациентов, причем значения медиан вирусной нагрузки различны: для крови 3,9 lg копий ДНК/мл, для слюны – 4,9 lg копий ДНК/мл. С помощью математического моделирования определено «пороговое» значение вирусной нагрузки для слюны, равное 4,1 lg копий ДНК/мл, соответствующее 65,0% вероятности развития острой ЦМВИ.

Заключение: проведенное исследование позволило обосновать алгоритм диагностики острой цитомегаловирусной инфекции у детей раннего возраста, включающий в себя наиболее значимые клинико-лабораторные предикторы, а также рассчитанное «пороговое» значение вирусной нагрузки для слюны, равное 4,1 lg копий ДНК/мл. Определение вирусной нагрузки в слюне пациентов можно использовать как дополнительный диагностический критерий при атипичной форме острой цитомегаловирусной инфекции.

Ключевые слова: цитомегаловирус, дети, вирусовыделение, полимеразная цепная реакция, вирусная нагрузка, диагностический алгоритм.

Abstract

The aim of the study is to optimize the laboratory diagnosis of cytomegalovirus infection in children by finding clinical and laboratory predictors corresponding to the acute stage of infection.

Materials and methods. The results of 65 children age from 1 to 3 years outpatient of with cytomegalovirus mononucleosis are presented. Markers of herpes virus infections (CMV, EBV, HHV-6 type) were determined by PCR-real time (blood, saliva) and serologically (IgM, IgG).

Results. It has been established that acute cytomegalovirus infection can occur both in the form of infectious mononucleosis and be atypical accompanied by prolonged fever and severe lymphadenopathy in most cases. Indirect laboratory markers of acute cytomegalovirus infection are neutropenia and hypoimmunoglobulinemia IgA and IgG. Acute cytomegalovirus infection is accompanied by the virus shedding in both blood and saliva in almost all patients and the median values of the viral load are different: 3,9 lg DNA copies / ml for blood, 4,9 lg DNA copies / ml for saliva. Using mathematical modeling, the "cut off" value of viral load for saliva was determined to be 4,1 lg DNA copies / ml corresponding to 65.0% of the probability of developing acute CMV infection.

Conclusion. The study made it possible to substantiate the algorithm for diagnosing acute cytomegalovirus infection in young children which includes the most significant clinical laboratory predictors, as well as the calculated "cut off" value of viral load for saliva equal to 4,1 lg DNA copies / ml. Determining the viral load in the saliva of patients can be used as an additional diagnostic criterion for the atypical form of acute cytomegalovirus infection.

Key words: cytomegalovirus, children, virus shedding, polymerase chain reaction, viral load, diagnostic algorithm.

Введение

Актуальность совершенствования диагностики цитомегаловирусной инфекции (ЦМВИ) обусловлена ее широким распространением в детской популяции, ростом инфицированности, разнообразием и неспецифичностью симптоматики, затрудняющими постановку диагноза по клиническим данным. Диагностика ЦМВИ основывается на анализе клинико-эпидемических данных с обязательным лабораторным подтверждением, являющимся решающим диагностическим приемом. Одним из методов подтверждения цитомегаловирусной инфекции, обладающим высокой прогностической ценностью, является ПЦР в реальном времени. Поскольку качественная и полуколичественная методики ПЦР однозначно не различают латентную, персистирующую и реактивированную инфекции, предпочтение отдается количественной ПЦР-real time, которая позволяет корректно проводить количественное тестирование (определение вирусной нагрузки, ВН), что имеет важное значение для терапевтической тактики [1].

Цель исследования — оптимизация клинико-лабораторной диагностики цитомегаловирусной инфекции у детей в амбулаторных условиях.

Материалы и методы

В проспективном исследовании по типу «случай — контроль» в течение 2013–2018 гг. принимали участие 455 детей 1–3 лет, наблюдавшиеся амбулаторно по поводу острого респираторного заболевания. У всех исследуемых определяли маркеры цитомегаловируса и других герпес-вирусов (ВЭБ, ВГЧ-6 типа) серологически (IgM, IgG) и методом ПЦР-real time (кровь, слюна). Согласно классификации отечественных авторов, маркерами острой формы цитомегаловирусной инфекции считали обнаружение ДНК вируса в крови, причем при отсутствии анти-IgG определяли первичную инфекцию, при наличии анти-IgG — реактивацию [2]. Наличие ДНК вируса в слюне, без ДНК-емии, расценивалось как проявление латентной формы инфекции. Согласно цели исследования, формировали две группы: основную, с острой ЦМВИ (ПЦР крови «+», анти-ЦМВ IgM «±») в виде инфекционного мононуклеоза, и сравнения (ПЦР крови «-», анти-ЦМВ IgM «-»). Всего маркеры ЦМВ-инфекции обнаружены у 77,2% (351/455) детей с острым респираторным заболеванием, причем у 65 из них ДНК ЦМВ определялась в крови, что послужило поводом для включения их в основную группу исследования. Клиническая картина острого заболевания у детей основной группы соответствовала инфекционному мононуклеозу. Группу сравнения составили 43 ребенка с острым респираторным заболеванием, у которых ДНК

ЦМВ в крови не определялась, анти-ЦМВ IgM отсутствовали. Контрольную группу составили 45 клинически здоровых детей того же возраста. Критерии включения в группы исследования: возраст 1–3 года; информированное согласие родителей на участие в исследовании. Критерии исключения: тяжелая врожденная патология, острые формы инфекции, вызванные другими герпес-вирусами или бактериальными возбудителями (коклюш и пр.).

Клиническое обследование проводилось по общепринятым методикам: сбор жалоб, изучение анамнеза жизни и заболевания, объективный осмотр. Лабораторное обследование выполнялось по стандартному плану: клинический анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови. У всех пациентов определяли маркеры герпес-вирусных инфекций: методом ПЦР-real time в крови (ЦМВ, ВЭБ, ВГЧ-6) и слюне (ЦМВ), серологически — антитела классов IgM к ЦМВ, ВЭБ, IgG к ЦМВ. ПЦР в режиме реального времени проводили на анализаторе IQ-5 Cycler («BioRad», США) с использованием набора реагентов «АмплиСенс®CMV-скрин/монитор-FL». Количество ДНК цитомегаловируса в исследуемых образцах (вирусную нагрузку) измеряли числом копий на миллилитр, результат выражали в виде логарифма $N \log_{10}$, где N — это степень, в которую возводится 10. Значения вирусной нагрузки ЦМВ ранжировали по следующей схеме: $VH \geq 6,0 \lg$ — высокая вирусная нагрузка, $4,0 \lg \leq VH < 6,0 \lg$ — средняя вирусная нагрузка, $VH < 4,0 \lg$ — низкая вирусная нагрузка [3].

Количественные данные, полученные в результате исследования, описывали при помощи следующих характеристик: среднее значение (M), ошибка среднего (m). Связи между номинальными и порядковыми переменными рассчитывали с использованием критериев хи-квадрат (2). Рассчитывали чувствительность (Se) и специфичность (Sp) количественного ПЦР-метода для исследуемых сред. Для построения математической модели использовали регрессионный анализ, применяли логистическую регрессию. Обработку полученных результатов исследования проводили на персональном компьютере с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel 2010, STATISTICA 10, Deductor Studio, Biostat.

Результаты и обсуждение

Классический комплекс симптомов мононуклеоза в виде длительной лихорадки, интоксикации, выраженной лимфаденопатии, затруднения носового дыхания отмечался у половины детей основной группы — 49,2% (32/65). Лимфатические узлы были увеличены, в основном за счет подчелюстной и заднешейной группы, размером не бо-

лее 2 см, безболезненные при пальпации, случаев генерализованной лимфаденопатии отмечено не было. У 12,5% (4/32) детей был отмечен синдром сиалоаденита, с выраженной болезненностью при глотании и при пальпации слюнных желез. Затруднение носового дыхания не сопровождалось полной обструкцией. При фарингоскопии отмечалась яркая гиперемия миндалин и дужек. На задней стенке глотки – «зернистость», миндалины у всех больных были отечны, увеличены до 2–3 степени, но наложения на миндалинах встречались у 15 из 32 детей (46,8%) и держались в среднем 3 дня. Умеренная гепатомегалия отмечена у 28,1% (9/32) детей. Увеличения селезенки не было выявлено.

У остальных детей (50,8% 33/65) основной группы клиническая картина мононуклеоза была стертой, без полного развертывания классического симптомокомплекса, а именно на фоне локализованной лимфаденопатии в 75,7% случаев (25/33) и лихорадки более 5 дней в 65,0% случаев (21/33) заболевание протекало по типу острого трахеобронхита (54,5%, 18/33), двустороннего отита (45,4%, 15/33), фаринготонзиллит отмечен у 30,0% (10/33) детей, случаев гепатомегалии в этой группе не было. В группе сравнения острое респираторное заболевание протекало по типу ларинготрахеита у 35,0% (15/43) детей, бронхита – у 19,0% (8/43), фаринготонзиллита – у 16,0% (7/43), отита (синусита и/или гайморита) – у 28,0% (12/43) детей, признаки бронхообструктивного синдрома отмечены в 12,0% (5/43) случаев. Локализованная лимфаденопатия отмечена у 16,0% (7/43) детей, длительность лихорадочного периода составляла 1–3 дня у 51,0% (22/43) пациентов, 4–6 дней – у 49,0% (21/43), гепатомегалии в группе сравнения отмечено не было. При анализе лабораторных отклонений установлены статистически значимые различия для нейтропении (46,1% в основной группе против 16,2% в группе сравнения, $p=0,001$) и гипоиммуноглобулинемии (IgA 49,0% против 30,2%, $p=0,001$ и IgG 51,0% против 18,6%, $p=0,03$). При изучении анамнестических данных между детьми основной группы и группы сравнения достоверных различий установлено не было, все они одинаково часто болели острыми респираторными заболеваниями (среднее число эпизодов за предшествующие 6 месяцев составило от 3 до 8), что характерно для данного возраста. Однако рецидивирующий гнойный отит достоверно чаще отмечен в анамнезе детей основной группы (41,5% против 4,6% в группе сравнения, $p=0,001$).

При серологическом обследовании установлено, что анти-ЦМВ IgG в основной группе определялись в 57,0% (37/65) случаев, в группе сравнения – в 81,0% (35/43) случаев, среди здоровых детей – в 82,0% (38/45) случаев при среднеарифметических значениях без достоверных различий. Анти-ЦМВ IgM определялись у 55,4% (36/65) детей

только в основной группе. Методом ПЦР-real time в крови всех пациентов основной группы определялась ДНК цитомегаловируса: значения вирусной нагрузки распределились неравномерно в диапазоне от 2,6 до 4,8 lg копий ДНК/мл, медиана вирусной нагрузки в крови составила $3,4 \pm 0,1$ lg копий ДНК/мл, доля низких значений – 83,0% (54/65), средних – 17,0% (11/65), высоких значений не было. В группе сравнения и среди здоровых детей ДНК цитомегаловируса в крови не обнаружена. В слюне детей основной группы ДНК ЦМВ определена у 99,0% (64/65), в группе сравнения – у 69,7% (30/43), среди здоровых – у 60,0% (28/46). Медианы вирусной нагрузки имели достоверные отличия для основной группы и группы сравнения: $4,9 \pm 0,1$ lg копий ДНК/мл против $2,9 \pm 0,1$ lg копий ДНК/мл, $p=0,001$, среди здоровых медиана вирусной нагрузки в слюне составила $2,9 \pm 0,1$ lg копий ДНК/мл. Достоверные отличия определены при ранжировании значений вирусной нагрузки: высокая степень определялась только в слюне детей основной группы – 20,0% (13/65). В слюне детей группы сравнения и у здоровых все значения вирусной нагрузки были низкими и средними. Надежность метода ПЦР для определения цитомегаловирусной инфекции по слюне оценили, рассчитав чувствительность (Se) и специфичность (Sp), которые составили 98,0% и 36,0%. Низкое значение показателя специфичности не дает возможности использовать слюну для идентификации больных острой ЦМВИ. Для повышения точности необходимо рассчитать значение вирусной нагрузки, соответствующее острой стадии инфекции. С этой целью воспользовались математическим моделированием, которое осуществляли при помощи регрессионного анализа.

Независимой переменной для модели (предиктором) определили значение вирусной нагрузки, выраженное десятичным логарифмом, зависимой переменной – наличие острой формы ЦМВИ у пациента (да/нет). Получили линейное уравнение регрессии: $y = -6,68 + 1,75x$, где x – значение десятичного логарифма вирусной нагрузки. Далее рассчитывали значения вероятности наличия острой ЦМВИ. Критерием выбора порогового значения (cut off) определили баланс между чувствительностью и специфичностью, т.е. когда $Se \approx Sp$: $Cut\ off = \min |Se - Sp|$. Оптимальный порог для значений вирусной нагрузки ДНК ЦМВ в слюне составил $cut\ off = 4,11\lg$ ($Se = 0,85$, $Sp = 0,83$). Таким образом, согласно построенной модели, острой ЦМВИ будут соответствовать значения $VN \geq 4,11\lg$ ДНК ЦМВ в слюне, вероятность острой ЦМВИ в этом случае составляет 65,0%. Максимальная специфичность теста (определение подлинно больного пациента), согласно моделированию, будет достигаться при $VN \geq 5,0\lg$ ДНК ЦМВ в слюне.

Далее решали задачу вероятностного прогнозирования острой цитомегаловирусной инфекции. Для окончательной модели отбор производили из 11 эмпирически выбранных клинико-anamnestических и лабораторных данных (предикторов), на основании показателя значимости ($p \leq 0,05$) и величины OR (отношение шансов), при значении которой больше 1 делали вывод, что предиктор способствует увеличению шансов наличия острой ЦМВИ (табл. 1).

В окончательную модель вошли 4 предиктора с достоверной значимостью: лимфаденопатия, нейтропения, сочетанная гипоиммуноглобулинемия Ig A и IgG и указание в анамнезе на гнойные заболевания ЛОР-органов (табл. 2).

Лимфаденопатию определяли при увеличении в размерах 2 и более анатомически смежных групп лимфоузлов. Нейтропению определяли при снижении абсолютного числа нейтрофилов ниже 1500/мкл. Гнойные заболевания ЛОР-органов, та-

кие как острый гнойный отит, аденоидит, мастоидит, учитывали при частоте их развития более 3 раз за последний год.

Для каждого из полученных 4 предикторов ($x_{1,2,3,4}$) составили уравнение регрессии и вычислили вероятность (p) зависимой переменной – острой ЦМВИ. Так, например, для x_1 (лимфаденопатия): $p = e^{-2.1+2.4}/1 + e^{-2.1+2.4} = 2,5/3,5 = 0,7$, ($p = 71,0\%$); для x_2 (нейтропения) $p = e^{-2.1+2.1}/1 + e^{-2.1+2.1} = 2,2/3,2 = 0,68$, ($p = 68,0\%$); для x_3 (гнойные заболевания ЛОР-органов в анамнезе) $p = e^{-2.1+2.0}/1 + e^{-2.1+2.0} = 2,1/3,1 = 0,67$, ($p = 67,0\%$); для x_4 (сочетанная гипоиммуноглобулинемия) $p = e^{-2.1+2.0}/1 + e^{-2.1+2.0} = 2,1/3,1 = 0,67$ ($p = 67,0\%$), где p – теоретическая вероятность острой ЦМВИ. Модель статистически значима ($p = 0,000$). Оценены параметры модели: чувствительность (Se), выражающая долю пациентов с острой ЦМВИ, точно идентифицированных в

Таблица 1

Клинико-лабораторные предикторы математической модели

№ п/п	Предиктор	Значимость	Отношение шансов (OR)	Использование в окончательной модели
Объективные данные				
1	Лимфаденопатия	0,004	24,3	Использован
2	Нейтропения	0,0002	11,1	Использован
	Гипоиммуноглобулинемия G	0,05	8,8	Использован
3	Анемия	0,2	7,4	Не использован
4	Гипоиммуноглобулинемия A	0,01	2,9	Использован
5	Лихорадка более 7 дней	0,6	0,5	Не использован
6	Затяжное течение заболевания	0,2	0,3	Не использован
Анамнестические данные				
8	Рецидивирующие гнойные заболевания ЛОР-органов	0,0008	7,5	Использован
9	Регулярное посещение детского дошкольного учреждения (ДДУ)	0,9	7,3	Не использован
10	Рекуррентные респираторные заболевания	0,6	2,7	Не использован
11	Аллергический синдром	0,87	1,2	Не использован

Таблица 2

Сводные данные по регрессионной модели острой ЦМВИ

Предикторы математической модели	(OR = e^b) Отношение шансов	95% ДИ OR	Значимость	Коэффициент Вальда	Коэффициент логистической регрессии (b)
Лимфаденопатия (x_1)	11,4	2,9;44	0,0005	12,2	2,4 (b_1)
Нейтропения (x_2)	8,2	2,6;25,3	0,0003	13,2	2,1 (b_2)
Гнойные заболевания ЛОР-органов в анамнезе (x_3)	7,5	2,6;21,2	0,0002	14,3	2,0 (b_3)
Гипоиммуноглобулинемия сочетанная (x_4)	7,5	1,8;32,2	0,006	7,5	2,0 (b_4)
Константа	-2,1				

процессе моделирования, $Se = 77,0\%$, специфичность (Sp), выражающая долю пациентов без острой ЦМВИ, которые точно идентифицированы моделью, $Sp = 85,0\%$. Чувствительность и специфичность предикторов, в свою очередь, оценили при помощи ROC-анализа. По результатам построения ROC-кривой ($AUC = 0,9$) сделан вывод о высоком качестве модели.

Вышеперечисленные клинико-лабораторные предикторы не являются специфичными для ЦМВИ и могут быть присущи и другим герпес-вирусным инфекциям (ВЭБ, ВГЧ-6 типа и пр.) [4]. Поэтому в клинической практике они обязательно должны быть дополнены таким специфичным лабораторным маркером, как величина вирусной нагрузки ДНК цитомегаловируса, с определением «порогового», отсекающего значения.

Диагностический алгоритм для верификации острой ЦМВИ в амбулаторных условиях дополнили показателем вирусной нагрузки для слюны $VH \geq 4,1lg$ ДНК ЦМВ/мл, соответствующим высокой вероятности заболевания.

Таким образом, для осуществления пошагового алгоритма диагностики острой формы ЦМВИ, особенно при атипичном ее течении, предлагается определение вышеперечисленных 4 предикторов. Если ни один из них не определяется, то острая форма ЦМВИ маловероятна. При положительном ответе (хотя бы 1 предиктор) рекомендуется провести исследование слюны методом ПЦР-real time, при определении вирусной нагрузки выше «порогового» значения ($VH \geq 4,1lg$ копий ДНК/мл) следует перейти к следующему шагу алгоритма – исследованию крови пациента методом ПЦР на наличие ДНК ЦМВ, а также определению анти-ЦМВ IgG и анти-ЦМВ IgM серологически. При наличии ДНК ЦМВ в крови делают вывод об острой ЦМВИ. При отсутствии ДНК ЦМВ в крови, но при определении вирусной нагрузки в слюне выше «порогового» значения острая ЦМВИ маловероятна, рекомендуется произвести дальнейший диагностический поиск в отношении других герпес-вирусных инфекций (ВЭБ, ВГ-6) (рис.).

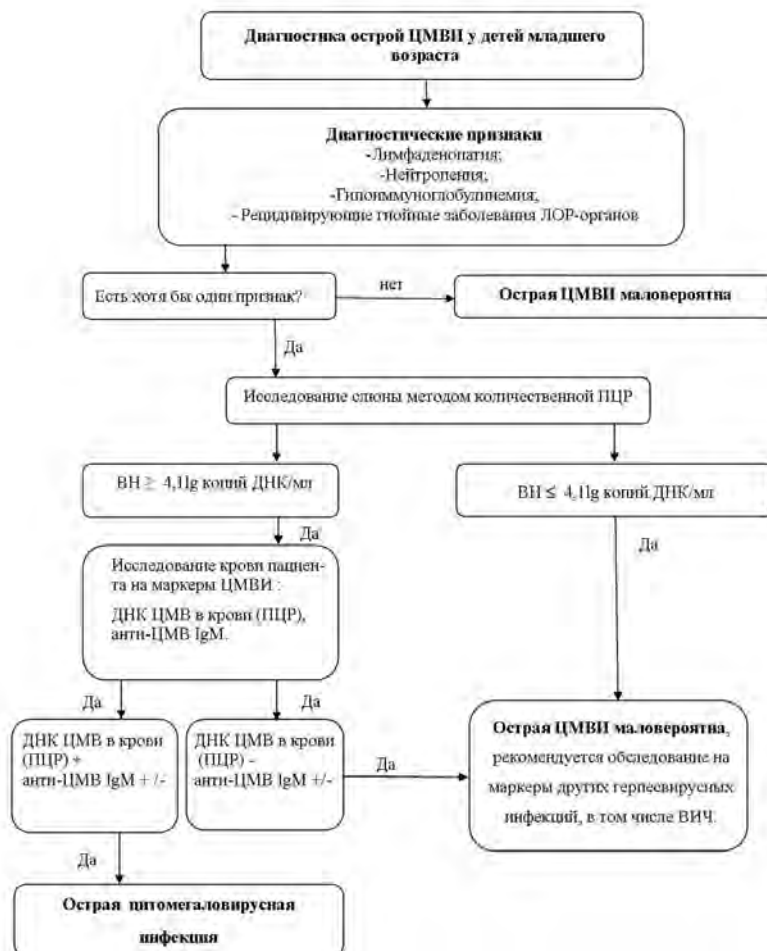


Рис. Алгоритм диагностики острой цитомегаловирусной инфекции у детей

Заключение

В результате проведенного исследования установлено, что острая цитомегаловирусная инфекция у детей 1–3 лет может как протекать в виде инфекционного мононуклеоза, так и быть атипичной, сопровождаясь длительной лихорадкой и выраженной лимфаденопатией в большинстве случаев. Косвенными лабораторными маркерами острой ЦМВИ являются нейтропения (46,1%) и гипоиimmunоглобулинемия IgA (49,0%) и IgG (51,0%). Острая цитомегаловирусная инфекция сопровождается выделением вируса как в кровь, так и в слюну практически у всех пациентов, причем значения медиан вирусной нагрузки различны: для крови 3,9 lg копий ДНК/мл ($p=0,00$), слюны 4,9 lg копий ДНК/мл ($p=0,00$). Проведенное исследование позволило обосновать алгоритм диагностики острой цитомегаловирусной инфекции у детей раннего возраста, включающий в себя наиболее значимые предикторы, а также рассчитанное «пороговое» значение вирусной нагрузки для слюны, равное 4,1 lg копий ДНК/мл. Определение вирусной нагрузки в слюне пациентов можно использовать как дополнительный диагностический критерий атипичных форм острой цитомегаловирусной инфекции.

Литература

1. Калугина, М.Ю. Проблемы диагностики и лечения заболеваний, вызванных β -герпесвирусами, на современном этапе / М.Ю. Калугина [и др.] // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. — 2015. — Т. 17, № 1. — С. 11–17.

2. Герпес-вирусная инфекция (эпидемиология, клиника, диагностика, профилактика и лечение): Методические рекомендации / Н.В. Каражас [и др.]. — М.: Спецкнига, 2007. — 28 с.

3. Пат. № 2566074, Российская Федерация, МПК G01N33/53. Способ оценки эффективности терапии хронической цитомегаловирусной инфекции у детей / Леготина Н.С., Львова И.И., Дерюшева А.В., опубл. 20.10.2015, БИ № 29.

4. Львова, И.И. Клинико-лабораторные особенности герпес-вирусной инфекции 6 типа у иммунокомпрометированных детей, наблюдавшихся в детской поликлинике / И.И. Львова [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2013. — № 4. — С. 35–39.

References

1. Kalugina M.Ju., Karazhas N.V., Meljohina E.V., Bosh'jan R.E., Rybalkina T.N., Feklisova L.V. et al. Problems of diagnosis and treatment of diseases caused by β -herpesviruses, at the present stage. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya himioterapiya*. 2015; 17(1): 11-17 (in Russian).

2. Karazhas N.V., et al. Herpes virus infections in children (epidemiology, clinic, diagnosis, treatment and prevention): a method. recommendations : *Speckniga*, 2007: 28 (In Russian).

3. Legotina N.S., L'vova I.I., Derjusheva A.V. Method of estimating efficiency of therapy of chronic cytomegaloviral infection in children. Russian Federation patent RU 2566074; 2015 Oct 20 (In Russian).

4. L'vova I.I., Derjusheva A.V., Legotina N.S., Sidor E.V. Clinical and laboratory features of HHV-6 infection in immunocompromised children followed up at the children's polyclinic. *Jepidemiologija i infekcionnye bolezni*. 2013; 4: 35-39 (in Russian).

Авторский коллектив:

Пермякова Анна Владимировна — доцент кафедры детских инфекционных болезней Пермской государственной медицинской академии имени академика Е.А. Вагнера, к.м.н.; тел.: 8(342)244-05-35

Поспелова Наталья Сергеевна — аспирант кафедры детских инфекционных болезней Пермской государственной медицинской академии имени академика Е.А. Вагнера; тел.: 8(342)244-05-35

Мелехина Елена Валериевна — старший научный сотрудник клинического отдела инфекционной патологии Центрального научно-исследовательского института эпидемиологии, к.м.н., доцент; тел.: 8(495)672-11-58