

Савельева Е.В., Козлова С.Н.

Значимость определения вирусов герпеса у часто болеющих детей

ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, г. Екатеринбург

Savelyeva E.V., Kozlova S.N.

Importance of human herpes virus identification in frequently ill children

Резюме

Остается открытым вопрос роли вирусов герпеса в формировании группы часто болеющих детей. Проведено обследование методом полимеразной цепной реакции 179 детей в возрасте от 1 года до 5 лет с определением DNA цитомегаловируса (CMV), Эпштейн-Барр вируса (EBV), вируса герпеса 6 типа (HHV6) и количественной индикацией CMV, EBV, HHV6 у 102 детей. Установлена высокая частота выявления ассоциаций вирусов герпеса (CMV, EBV, HHV6) в соскобах со слизистой ротоглотки у часто болеющих детей (53%) в сравнении с эпизодически болеющими детьми (32,5%) ($p < 0,05$). Определение DNA HHV6 в соскобах со слизистой ротоглотки превалировало у ЭБД – 60% против 29% ($p < 0,05$). Медиана вирусной нагрузки DNA CMV в соскобах со слизистой ротоглотки у часто болеющих детей составила $\lg 2,54$ копий DNA/105 клеток (IQR 2,04-3,23) и была ниже, чем вирусная нагрузка DNA EBV $\lg 3,33$ копий DNA/105 клеток (IQR 2,9-4,21) ($p < 0,05$) и DNA HHV6 $\lg 3,4$ копий DNA/105 клеток (IQR 2,91-3,98) ($p < 0,05$).

Ключевые слова: часто болеющие дети, вирус герпеса 6 типа, цитомегаловирус, Эпштейн-Барр вирус

Summary

The question concerning the role of human herpes viruses in frequently ill children population remains open. We examined 179 children aged 1 to 5 years using polymerase chain reaction with DNA identification of cytomegalovirus (CMV), Epstein-Barr virus (EBV), and human herpes virus 6 (HHV6); we also performed quantitative DNA indication of CMV, EBV, and HHV6 in 102 children. We found significantly higher rates of human herpes virus associations (CMV, EBV, HHV6) in nasopharyngeal samples of frequently ill children (53%) compared to those of episodically ill children (32,5%) ($p < 0,05$). HHV6 DNA in nasopharyngeal samples was indicated in 60% of episodically ill children versus 27% of frequently ill children ($p < 0,05$). The median viral load of CMV DNA in nasopharyngeal samples of frequently ill children was $\lg 2,54$ DNA copies/105 cells (IQR 2,04-3,23) and appeared to be lower than the viral load of both EBV DNA $\lg 3,33$ DNA copies/105 cells (IQR 2,9-4,21) ($p < 0,05$) and HHV6 DNA $\lg 3,4$ DNA copies/105 cells (IQR 2,91-3,98) ($p < 0,05$).

Key words: frequently ill children, human herpes virus 6, cytomegalovirus, Epstein-Barr virus

Введение

В соответствии с современными представлениями часто болеющие дети (ЧБД) – это не нозологическая форма и не диагноз, а группа диспансерного наблюдения, в которую включают детей с более высоким, чем у сверстников уровнем заболеваемости острыми респираторными инфекциями (ОРИ). Для определения группы ЧБД в отечественной практике используют различные статистические показатели. Если придерживаться общепринятых критериев включения в группу ЧБД (у дошкольников в зависимости от возраста 4-6 ОРИ/год), то в организованных коллективах к часто болеющим могут быть отнесены 56,7% детей 1-3 лет и 30,5% детей 4-6 лет [1]. В настоящее время исследуются причины высокой заболеваемости детей респираторными инфекциями и поиск путей профилактики [1, 2, 3].

Особое место занимают инфекции, обусловленные герпесвирусами, которые широко циркулируют и часто диагностируются как у детей разного возраста, так и у взрослых [4, 5, 6, 7]. Распространенность герпесвирусов среди взрослого населения высока: инфицированность Эпштейн-Барр (EBV) вирусом составляет более 90% [8], цитомегаловирусом (CMV) – от 45% до 100% [9], вирусом герпеса 6 типа (HHV6) – более 80-90% [10].

Частота инфицирования детей герпесвирусами зависит от возраста и типа вируса. Сероэпидемиологическое исследование, проведенное в Китае, показало, что инфицированность Эпштейн-Барр вирусом детей в возрасте 3 лет составляет 67,92% и увеличивается к 9 годам до 91,86% [11]. Распространенность антител к EBV у детей в США, по данным исследования 2009-2010 гг., была ниже и в возрасте 6-8 лет наличие антител к EBV

выявлено у 50% детей, 9-11 лет – у 55%. Младший возраст, медицинское страхование, высокий доход и образование были связаны с более низким уровнем антител к EBV [12]. По данным отечественных авторов серопозитивность детей 12-17 лет к CMV составляет 80%, EBV – 61,7%, HHV6 – 13% [13].

В настоящее время остаются открытыми и неизученными аспекты инфицирования часто и эпизодически болеющих детей вирусами семейства герпеса, взаимосвязь выявления CMV, EBV, HHV6 и вирусных ассоциаций с характером иммунологических изменений.

Цель исследования: определить частоту и значимость выявления вирусов герпеса у часто и эпизодически болеющих детей.

Материалы и методы

Проведено клинико-иммунологическое обследование 179 детей в возрасте от 1 года до 5 лет 7 месяцев. Пациенты ранжированы на две группы: первая группа (n=139) – дети с частыми повторными острыми респираторными заболеваниями, индексом резистентности (ИР) $\geq 0,5$; вторая группа (n=40) – эпизодически болеющие дети (ЭБД) с ИР $\leq 0,25$.

Медиана (Me) возраста детей в группе ЧБД составила 3 г. 3 мес. (30-49 мес.), что статистически значимо отличалось от возраста детей из группы ЭБД, медиана возраста которых составила 3 г. 11 мес. (39-54,5 мес.) ($p < 0,05$).

Обследование включало: анкетирование родителей (разработана анкета, состоящая 40 вопросов), изучение данных анамнеза, клинический осмотр и лабораторное обследование детей. Диагностика герпетических инфекций осуществлялась молекулярно-генетическим методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с качественным определением DNA CMV, EBV, HHV6 вирусов в соскобах со слизистой ротоглотки у 179 детей и количественной индикацией методом ПЦР DNA CMV, EBV, HHV6 вирусов в соскобах со слизистой ротоглотки у 102 детей («АмплиСенс EBV/CMV/HHV6-скрин-FL», Москва). Серологическая диагностика проведена методом иммуноферментного анализа (ИФА) с определением специфических антител класса IgM, IgG к CMV, Chlamydia pneumoniae, Mycoplasma pneumoniae, класса IgM VCA, IgG EA и IgG NA к EBV, класса IgG к HHV6 в крови детей.

Иммунологическое исследование выполнено у 98 детей с определением CD3+, CD19, CD20+, CD3+CD4+, CD3+CD8+, HLA-DR+CD3+, CD3-CD16+CD56+, TNK (CD3+CD16+CD56+) - клеток, IgG, IgM, IgA, IgE, фагоцитарной активности нейтрофилов и моноцитов (НСТ спон., НСТ стим., бактерицидная активность лейкоцитов, активность фагоцитоза нейтрофилов и моноцитов). Оценка уровней цитокинов (IL-2, IL-4, IL-10, IL-18, IFN- γ , TNF- α) в крови проведена у 94 детей (тест-системы «Вектор Бест», Новосибирск).

Статистическая обработка полученных данных выполнена с помощью пакета прикладных программ AtteStat, Statistica 10,0. При описании количественных

данных использовали следующие расчетные показатели: Me (IQR), где Me – медиана, IQR (Interquartile range) – интерквартильный размах между значениями 25-75-го перцентилей (при распределении данных, отличающихся от нормального); либо M (SD), где M – среднее арифметическое, SD (Standard deviation) – стандартное отклонение. Для показателей, характеризующих качественные признаки, указывали абсолютное число и относительную величину в процентах, а для их сравнения применяли χ^2 . В оценке достоверности различий изучаемых количественных признаков в выборках использовали критерий Манна-Уитни. Статистически достоверными различия в сравниваемых группах считали при $p < 0,05$. Корреляционный анализ проводили с помощью определения коэффициента корреляции Спирмена.

Результаты и обсуждение

В результате проведенного исследования выявлено, что дебют частых острых респираторных инфекций в группе ЧБД пришелся на 1 год 10 мес. (12-29,5 мес.), индекс резистентности составил 0,84 (SD 0,24) с кратностью заболеваний 7,5 раз в год (6-10). В группе контроля кратность заболеваний была меньше – 2 раза в год (2-3), индекс резистентности составил 0,19 (SD 0,07) ($p < 0,001$), но возраст дебюта острых респираторных инфекций не отличался от группы ЧБД – 2 г. 3 мес. (24-30 мес.) ($p = 0,0825$).

По данным анкетирования, мамы часто болеющих детей переносили 3 и более эпизода острых респираторных заболеваний в год в 33% случаев и имели хронический тонзиллит в 16% случаев по сравнению с мамами эпизодически болеющих детей – 12,5% и 3% соответственно ($p_{1,2} < 0,05$). Дети обеих исследуемых групп посещали детские дошкольные образовательные учреждения: ЭБД – в 78% случаев и ЧБД – в 77% случаев, но чаще стали болеть с момента посещения ДОО в группе ЧБД – 94% детей, а в группе ЭБД – 65% детей ($p = 0,0001$). Эпизодически болеющие дети посещали ДОО в течение 1 г. 8 мес. (9-29 мес.), а часто болеющие дети – 11 мес. (7-20 мес.) ($p = 0,0041$). В возрасте до 1 года дети из группы ЧБД достоверно чаще болели ОРВИ – 2 раза (IQR 1-4) по сравнению с эпизодически болеющими детьми – 1 раз (IQR 0-2) ($p < 0,001$). Часто болеющие дети переносили эпизоды острых респираторных инфекций в течение 2 недель и более в 77% случаев, ЭБД – в 49% случаев ($p = 0,001$).

При лечении ОРВИ детям из группы ЧБД чаще назначалась антибактериальная терапия – 3 раза в год (2-4), чем детям из группы ЭБД – 1 раз в год (0-2), $p < 0,001$. Изучение взаимосвязи вакцинации против пневмококковой инфекции и кратности респираторных заболеваний показало, что в группе ЧБД иммунопрофилактику против пневмококка получили 11 детей (9%), а в группе ЭБД 12 детей (30%), $p = 0,0019$. Клинически у детей с частыми респираторными заболеваниями чаще выявлялись лимфаденопатия (93%), гепатомегалия (69%), аденоиды (25%), атопический дерматит (62%) по сравнению с группой ЭБД – 74% ($p = 0,0019$), 51% ($p = 0,0428$), 8% ($p = 0,0273$), 43% ($p = 0,04$) соответственно.

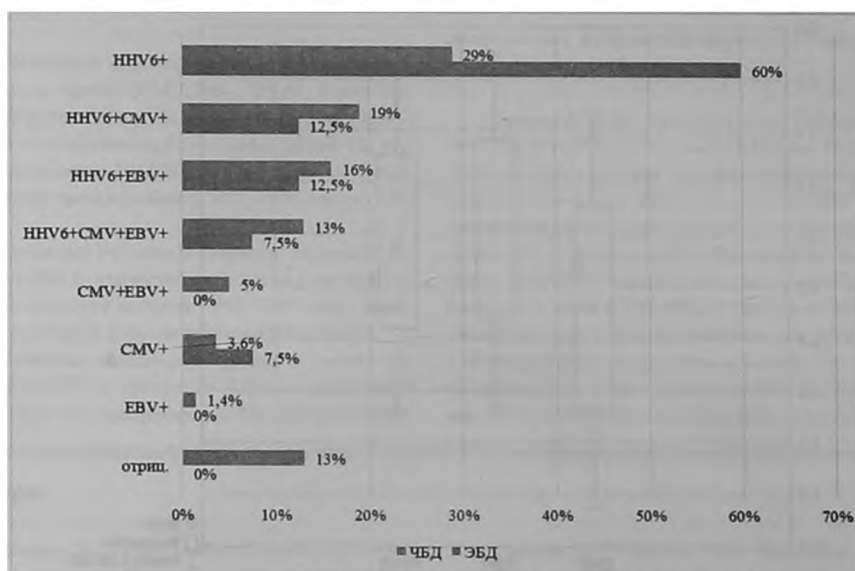


Рис. 1. Структура выявления DNA HHV6, CMV, EBV методом ПЦР в соскобах со слизистой ротоглотки у часто и эпизодически болеющих детей

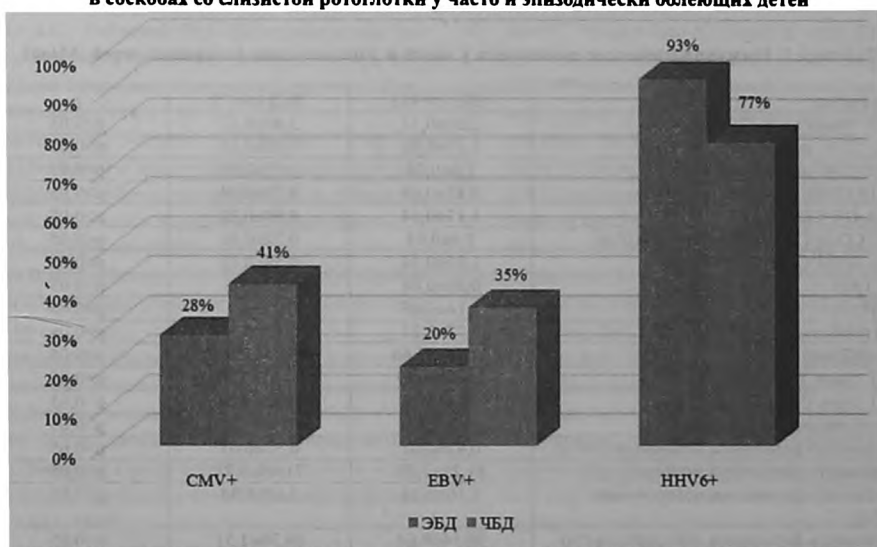


Рис. 2. Частота индикации DNA HHV6, CMV, EBV методом ПЦР в соскобах со слизистой ротоглотки у часто и эпизодически болеющих детей

При анализе индикации группы вирусов герпеса выявлено, что у 87% часто болеющих детей и 100% эпизодически болеющих детей методом ПЦР в соскобах со слизистой ротоглотки верифицирована DNA вирусов герпеса (HHV6, CMV, EBV) ($p=0,0356$). Среди обследованных часто болеющих детей ассоциации DNA вирусов герпеса (CMV, EBV, HHV6) в соскобах со слизистой ротоглотки встречались достоверно чаще (53%) в сравнении с ЭБД – 32,5% ($p=0,0329$), а индикация DNA HHV6 в соскобах со слизистой ротоглотки преваляровала у ЭБД – 60% против 29% ($p=0,0006$) (рис.1). Суммируя данные по выявлению

DNA герпесвирусов в соскобах со слизистой ротоглотки необходимо отметить, что DNA HHV6 определялась у 107 часто болеющих детей (77%), в 2 раза реже обнаружена DNA CMV – у 57 (41%) и DNA EBV – у 49 (35%) (рис. 2).

Медиана вирусной нагрузки DNA CMV в соскобах со слизистой ротоглотки у часто болеющих детей составила $lg2,54$ копий DNA/105 клеток (IQR 2,04–3,23) и была ниже, чем вирусная нагрузка DNA EBV $lg3,33$ копий DNA/105 клеток (IQR 2,9–4,21) ($p=0,0016$) и DNA HHV6 $lg3,4$ копий DNA/105 клеток (IQR 2,91–3,98) ($p=0,0011$) (рис.3).

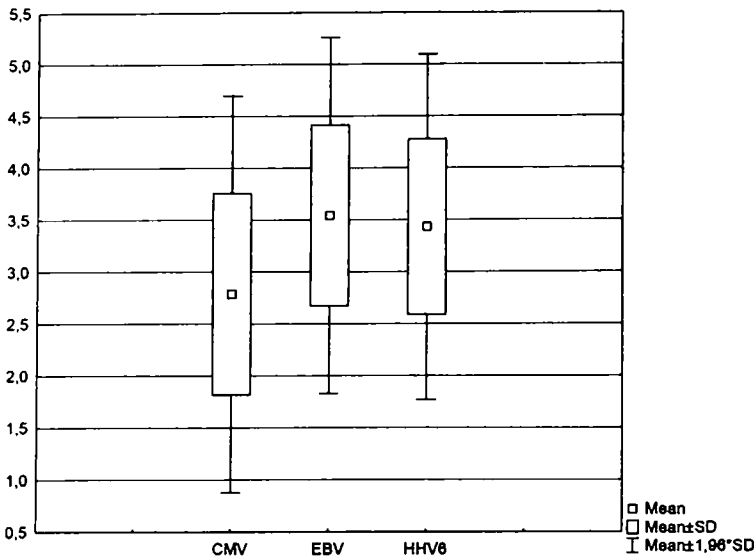


Рисунок 3. Логарифм вирусной нагрузки CMV, EBV, HHV6 в соскобах со слизистой ротоглотки у часто болеющих детей

Таблица 1. Иммунологические показатели у часто и эпизодически болеющих детей (M±m)

Показатели	ЧБД (n=81)	ЭБД (n=17)	p
CD3 ⁺ лимфоциты (10 ⁹ /л)	2,91±0,12	2,49±0,22	p>0,05
CD3 ⁺ CD4 ⁺ лимфоциты (10 ⁹ /л)	1,67±0,08	1,45±0,12	p>0,05
CD3 ⁺ CD8 ⁺ лимфоциты (10 ⁹ /л)	1,0±0,05	0,79±0,09	p>0,05
CD19.CD20 ⁺ лимфоциты (10 ⁹ /л)	0,85±0,05	0,73±0,09	p>0,05
HLA-DR*CD3 ⁺ (%)	1,17±0,14	0,99±0,22	p>0,05
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ лимфоциты (10 ⁹ /л)	0,4±0,03	0,22±0,05	p<0,05
TNK (CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺) (%)	1,05±0,14	0,58±0,12	p>0,05
IgA (г/л)	0,66±0,04	0,6±0,06	p>0,05
IgM (г/л)	1,14±0,05	1,25±0,1	p>0,05
IgG (г/л)	7,77±0,27	8,19±0,53	p>0,05
IgE (МЕ/мл)	127,6±35,66	156,44±58,8	p>0,05
НСТ спонт. (%)	11,23±1,29	14,41±2,53	p>0,05
НСТ стим. (%)	18,43±1,8	24,41±3,91	p>0,05
Бактерицидная активность (%)	31±1,49	33±3,45	p>0,05
Активность фагоцитоза моноцитов (10 ⁹ /л)	0,42±0,02	0,37±0,03	p>0,05
Активность фагоцитоза моноцитов (%)	81,29±1,23	71,43±3,75	p<0,05
Активность фагоцитоза нейтрофилов (10 ⁹ /л)	3,16±0,14	3,63±0,34	p>0,05
Активность фагоцитоза нейтрофилов (%)	90,14±0,64	88,34±1,51	p>0,05

Для выявления активных форм герпетических инфекций проанализирована частота обнаружения в крови IgM к CMV и IgM VCA к EBV. Статистически значимых различий в обеих исследуемых группах не получено. У 9% часто болеющих детей определялись IgM к CMV, у 10% - IgM VCA EBV, в группе эпизодически болеющих детей IgM к CMV выявлены у 6% детей, IgM VCA EBV – у 6% (p>0,05).

При исследовании серологического ответа к аттичным возбудителям установлено, что антитела IgM к Chl. pneumoniae и M. pneumoniae определялись у 4% и 5% часто болеющих детей и достоверно не отличались от группы ЭБД – 0% и 6% соответственно (p>0,05).

При исследовании иммунного статуса установлено более высокое содержание в крови CD3-CD16+CD56+ клеток, активность фагоцитоза моноцитов в группе ЧБД выше по сравнению с группой ЭБД, что отражает состояние факторов врожденного иммунитета (табл. 1).

Проведено изучение взаимосвязи количественных показателей индикации DNA герпесвирусов у ЧБД с параметрами врожденного и адаптивного иммунитета. Установлена взаимосвязь уровня вирусной нагрузки DNA HHV6 и продукции IFNγ в крови (r=-0,3995; p=0,0287), DNA CMV и CD19,CD20+ лимфоцитами (r=0,5047; p=0,0275), CMV и CD3-CD16+CD56+ лимфоцитами (r=0,5609; p=0,01247), CMV и активностью фагоцитоза моноцитов (r=0,5356; p=0,018).

Выводы

1. Установлена высокая частота выявления ассоциаций вирусов герпеса (CMV, EBV, HHV6) в соскобах со слизистой ротоглотки у часто болеющих детей (53%) в сравнении с эпизодически болеющими детьми (32,5%) ($p < 0,05$). Определение DNA HHV6 в соскобах со слизистой ротоглотки превалировало у ЭБД – 60% против 29% ($p < 0,05$).

2. Определен различный уровень вирусной нагрузки в соскобах со слизистой ротоглотки у часто болеющих детей: вирусная нагрузка DNA CMV ниже значений других серотипов вирусов герпеса EBV и HHV6.

3. Выявлена взаимосвязь уровня вирусной нагрузки DNA HHV6 и продукции IFN γ в крови, DNA CMV и CD19,CD20+-лимфоцитами, CD3-CD16+CD56+-

лимфоцитами, активностью фагоцитоза моноцитов у часто болеющих детей. ■

Савельева Е.В. – к.м.н., главный специалист-педиатр Управления здравоохранения Администрации города Екатеринбурга, доцент кафедры поликлинической педиатрии и педиатрии ФПК и ПП ФГБОУ ВО Уральского государственного медицинского университета Минздрава РФ, г. Екатеринбург; *Козлова С.Н.* – профессор, д.м.н., профессор кафедры поликлинической педиатрии и педиатрии ФПК и ПП ФГБОУ ВО Уральского государственного медицинского университета Минздрава РФ, г. Екатеринбург; *Автор, ответственный за переписку - Савельева Е.В.*, 620219, Екатеринбург, ул. Тургенева, 19, тел. (343) 350-94-50, e-mail: bredichina@yandex.ru

Литература:

1. Заплатников А.Л., Гирина А.А. К проблеме «часто болеющих детей». *Педиатрия* 2015; 94 (4): 215-221.
2. Самсыгина Г.А. Проблема часто болеющих детей в педиатрии. *Педиатрия* 2015; 94 (4): 211-214.
3. Левина А.С., Бабаченко И.В. Персистирующие инфекции у часто и длительно болеющих детей, возможности этиопатогенетической терапии. *Детские инфекции* 2014; 13 (4): 445.
4. Tanaka-Taya K., Kondo T., Mukai T. et al. Seroepidemiological study of human herpesvirus-6 and -7 in children of different ages and detection of these two viruses in throat swabs by polymerase chain reaction. *J. Med. Virol.* 1996; 48: 88-94.
5. Исаков В.А., Рыбалкин С.Б., Романцов М.Г. Герпес-вирусная инфекция. *Руководство для врачей.* Спб., 2006: 96 с.
6. Бархатова Т.В., Синягина Н.Е. Влияние вируса герпеса человека 6 типа на течение пиелонефрита у детей. *Детские инфекции* 2014; 13(1): 26-28.
7. Васьур Л.В., Савенкова М.С., Савенкова М.П. и соавт. Значение вируса герпеса 6-го типа в генезе судорожного синдрома у детей. *Детские инфекции* 2014; 13(4): 18-23.
8. Cohen J.I. Epstein-Barr virus infection. *N. Engl. J. Med.* 2000; 343: 481-492.
9. Cannon M.J., Schmid D.S. Terri B.H. Review of cytomegalovirus seroprevalence and demographic characteristics associated with infection. *Rev. Med. Virol.* 2010; 20: 202-213.
10. Mori T., Tanaka-Taya K., Satoh H. et al. Transmission of chromosomally integrated human herpesvirus 6 (HHV6) variant A' from a parent to children leading to misdiagnosis of active HHV-6 infection. *Transpl. Infect. Dis.* 2009; 11: 503-506.
11. Xiong G., Zhang Bo, Huang M. et al. Epstein-Barr Virus (EBV) Infection in Chinese Children: A Retrospective Study of Age-Specific Prevalence. *PLoS One.* 2014 Jun 10; 9(6): e99857. doi: 10.1371/journal.pone.0099857. eCollection 2014.
12. Balfour Jr H.H., Sifakis F., Sliman J.A., Knight J.A., Schmeling D.O., Thomas W. Age-Specific Prevalence of Epstein-Barr Virus Infection Among Individuals Aged 6-19 Years in the United States and Factors Affecting Its Acquisition. *JID* 2013; 208: 1286-1293.
13. Жебрун А.Б., Куляшова Л.Б., Ермоленко К.Д., Закровская А.В. Распространенность герпесвирусных инфекций у детей и взрослых в С.Петербурге по данным серозидемиологического исследования. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии* 2013; 6: 30-36.