ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «ПЕРМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ АКАДЕМИКА Е.А. ВАГНЕРА» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

ЛЕГОТИНА НАТАЛЬЯ СЕРГЕЕВНА

ОПТИМИЗАЦИЯ ДИАГНОСТИКИ И ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА

14.01.08 –педиатрия

Научный руководитель:

доктор медицинских наук,

профессор И.И. Львова

Пермь - 2016

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ……..... 5

ГЛАВА I. КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА И ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ ЦМВИ У ДЕТЕЙ НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ) ……. 11

1.1. КЛИНИЧЕСКИЕ ФОРМЫ ЦМВИ У АМБУЛАТОРНЫХ ПАЦИЕНТОВ РАННЕГО ВОЗРАСТА……..……..…….….. 13

1.2. СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ЦМВИ …… 22

1.3. СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ЛЕЧЕНИЯ И ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ ЦМВИ У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА…….. 26

ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ …..... 30

2.1. МАТЕРИАЛЫ, ОБЪЕКТЫ И ОБЪЕМ ИССЛЕДОВАНИЯ ..…….. 30

2.2. ОРГАНИЗАЦИЯ И ПРОВЕДЕНИЕ ПРОСПЕКТИВНОГО СРАВНИТЕЛЬНОГО КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ …….…. 32

2.3. ЛАБОРАТОРНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ…… 39

2.4. СТАТИСТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ……... 44

ГЛАВА III. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ И ЛАБОРАТОРНЫХ ПАРАМЕТОРОВ У ЧБД РАННЕГО ВОЗРАСТА С ХРОНИЧЕСКОЙ АКТИВНОЙ ЦМВИ И БЕЗ ПРИЗНАКОВ АКТИВАЦИИ…….…… 48

3.1. КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ И ЛАБОРАТОРНЫЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ АКТИВНОЙ ЦМВИ У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА (ОГ)…… 48

3.2. КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ И ЛАБОРАТОРНЫЕ ПРОЯВЛЕНИЯ У ЧБД РАННЕГО ВОЗРАСТА БЕЗ ХРОНИЧЕСКОЙ АКТИВНОЙ ЦМВИ (ГС) ……..…….……..….. 56

3.3. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ И ЛАБОРАТОРНЫХ ПРОЯВЛЕНИЙ У ЧБД РАННЕГО ВОЗРАСТА ПРИ АКТИВНОЙ ЦМВИ И БЕЗ ПРИЗНАКОВ АКТИВАЦИИ …….. 60

ГЛАВА IV. АНАЛИЗ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ И СПЕЦИФИЧНОСТИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИРУСНОЙ НАГРУЗКИ В ПЦР И КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ СОПОСТАВЛЕНИЯ ПРИ РЕАКТИВАЦИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ЦМВИ ……..…….. 70

4.1. СЕРОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ РЕАКТИВАЦИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ЦМВИ …… 70

4.2. РЕЗУЛЬТАТЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИРУСНОЙ НАГРУЗКИ В ПЦР …….…… 73

4.3. СОПОСТАВЛЕНИЕ ДАННЫХ УРОВНЯ ВИРУСНОЙ НАГРУЗКИ С КЛИНИЧЕСКИМИ ДАННЫМИ (КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ ПАРАЛЛЕЛИ) ……...……. 79

4.4. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ИНФОРМАТИВНОСТИ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ …….……..... 84

4.5. ПОСТРОЕНИЕ МАТЕМАТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ АКТИВНОЙ ЦМВИ……..…… 90

ГЛАВА V. ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ РЕАКТИВАЦИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ЦМВИ С ПОМОЩЬЮ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИРУСНОЙ НАГРУЗКИ В ПЦР……..…….. 99

5.1. ОЦЕНКА КЛИНИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ЦМВИ У ЧБД …….…….....99

5.2. ОЦЕНКА ЛАБОРАТОРНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ЦМВИ У ЧБД ……..……..... 101

5.2.1. ОЦЕНКА СЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ЦМВИ У ЧБД ……..……..….. 103

5.2.2. ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ЦМВИ ПО УРОВНЮ ВИРУСНОЙ НАГРУЗКИ У ЧБД ……..... 105
5.3. ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ПЦР ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ЦМВИ……..…….. 107
ЗАКЛЮЧЕНИЕ……..... 117
ВЫВОДЫ…….……..... 126
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ……..……..... 127
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК ……..…….…..... 128
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ ……..…….....143
ПРИЛОЖЕНИЯ ……..…. 144

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

Особенностью современной патологии детей раннего возраста является широкая распространённость инфекций герпесвирусной группы, способных активироваться на фоне нарушения иммунной защиты, оказывая при этом дополнительное иммуносупрессивное действие и вызывая общую сенсибилизацию организма. Цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ) человека 5 типа (HHV-5), вызываемая условно патогенными внутриклеточными b-герпесвирусами, - самая распространенная оппортунистическая инфекция с вертикальной трансмиссией в 95% случаев занимает второе место после ВИЧ по иммунодепрессивной активности [17, 24, 27, 36, 80, 82, 110] и выявляется в 67,3% тяжёлых форм внутриутробных инфекций (ВУИ) с полиорганными поражениями [50, 51].

К полиорганности поражений приводит способность вирусов цитомегалии к активной репликации во всех органах и тканях организма ребенка при активации и реактивации инфекционного процесса на фоне возникшей иммуносупрессии [16, 43, 58]. Прогрессирующая иммунная недостаточность замыкает круг патологических реакций формированием хронической формы болезни. Клинические проявления хронической ЦМВИ у амбулаторных пациентов неспецифичны и представлены иммунопатологическими синдромами: самым распространенным – синдромом нарушения противоинфекционной защиты (СНПЗ) или инфекционным, а также аллергическим, лимфопролиферативным и реже аутоиммунным, и их сочетаниями [1, 19, 59, 61, 70]. В Пермском крае частота встречаемости хронической формы цитомегалии - клинического маркера СНПЗ среди детей раннего возраста из-за характерной для них незрелости и функциональной нестабильности иммунной системы достигает 24,6% [42]. К группе высокого риска активации латентной или реактивации хронической ЦМВИ относятся

дети раннего возраста из группы ЧБД (часто болеющих детей), численность которой колеблется в различных регионах России от 7 до 75% [3, 4, 5, 47].

Неблагоприятные отдаленные последствия, широкая распространенность бессимптомных форм при латентном течении инфекции, множество путей передачи, отсутствие вакцинопрофилактики послужили основанием для включения ЦМВИ Европейским бюро ВОЗ в группу заболеваний, определяющих будущее инфекционной патологии в XXI веке [24].

Диагностика и оценка эффективности терапии хронической ЦМВИ у детей раннего возраста в амбулаторных условиях нуждается в научно обоснованной оптимизации, что и определяет актуальность исследования.

В настоящее время в России для лабораторной верификации ЦМВИ используются следующие методы: вирусологический – «золотой» стандарт диагностики, но дорогой и трудоёмкий; цитологический с крайне низкой чувствительностью; иммуноферментный анализ (ИФА): IgM, IgG и индекс авидности IgG (ИА%) – косвенный; полимеразная цепная реакция (ПЦР) для амплификации ДНК качественным и количественным способом в реальном времени – прямой метод исследования. Каждый метод имеет определённое научно-практическое значение. Однако, благодаря высокой специфичности и чувствительности метода ПЦР осуществляется детекция ДНК ЦМВ и определение количества вирусных частиц в органах, тканях, биологических жидкостях, таких как слюна и моча, что позволяет установить этиологический диагноз неинвазивным методом, наиболее приемлемым в педиатрической практике [19, 53, 98, 116].

Оптимизация диагностики и оценки эффективности терапии хронической ЦМВИ у детей раннего возраста в амбулаторных условиях может базироваться на применении неинвазивной количественной детекции ДНК ЦМВ в слюне и моче (количество копий/мл) методом ПЦР. Информативный,

быстрый и точный способ определения уровня вирусовыделения может быть использован как для оценки интенсивности вирусной репликации в динамике, так и для оценки эффективности базисной терапии ЦМВИ.

Данные о научных исследованиях по сопоставлению интенсивности вирусовыделения с клинико-лабораторными показателями при хронической ЦМВИ у иммуннокомпрометированных амбулаторных пациентов раннего возраста отсутствуют. Следовательно, совершенствование диагностики хронической ЦМВИ у детей раннего возраста и оценки эффективности терапии является актуальным, а внедрение разработанной технологии в педиатрическую практику необходимым.

Степень разработанности темы исследования

Сведения об оптимизации диагностики и оценки эффективности терапии хронической ЦМВИ у детей раннего возраста в амбулаторных условиях отсутствуют.

Цель исследования

Оптимизировать диагностику и оценку эффективности терапии хронической цитомегаловирусной инфекции в фазе реактивации у ЧБД в возрасте 1-3 лет с помощью контроля динамики уровня вирусовыделения методом количественной ПЦР в реальном времени.

Задачи исследования

1. Проанализировать особенностей регистрации цитомегаловирусной инфекции у детей раннего возраста на уровне первичной медико-санитарной помощи.

2. Провести ранжирование уровня вирусной нагрузки по результатам количественного метода ПЦР для оценки реактивации хронической ЦМВИ и сопоставить с серологическими методами диагностики и клиническими данными.

3. Разработать методику применения количественного определения вирусной нагрузки методом ПЦР для оценки эффективности терапии реактивации хронической ЦМВИ у детей раннего возраста в амбулаторных условиях.

Этическая корректность исследования

Исследование одобрено локальным этическим комитетом при ГБОУ ВПО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России, протокол № 2 от 25.02.2015 г. Получено информированное согласие родителей или законных представителей пациентов на обследование и лечение.

Научная новизна и теоретическая значимость исследования

Определен характер современных клинико-лабораторных проявлений реактивации хронической ЦМВИ у детей раннего возраста из группы ЧБД; впервые проведено ранжирование уровня вирусовыделения ДНК ЦМВ при реактивации хронической ЦМВИ и сопоставление его с клиническими и традиционными лабораторными диагностическими тестами; дано научное обоснование объективного контроля терапии на основании количественного определения уровня вирусовыделения ДНК ЦМВ.

Практическая значимость

Разработка и внедрение в амбулаторную практику количественного определения уровня вирусовыделения ДНК ЦМВ в ПЦР для контроля терапии на основании ранжированной вирусной нагрузки ДНК ЦМВ с учетом анализа клинико-эпидемиологических факторов риска позволит оптимизировать диагностику и оценку эффективности терапии реактивации хронической цитомегаловирусной инфекции у ЧБД раннего возраста.

Положения, выносимые на защиту

1. У ЧБД раннего возраста с реактивацией хронической ЦМВИ количественный не инвазивный метод определения уровня ВН в ПЦР из слюны и мочи отражает степень репликативной активности ЦМВИ и может

использоваться для оценки тяжести инфекционного процесса и контроля эффективности проводимой терапии.

2. Наиболее информативной средой для скринингового обследования при реактивации хронической ЦМВИ является слюна с чувствительностью метода (Se) 95,0%, специфичности (Sp) - 74,0%, наименее информативной – кровь, с детекцией вируса цитомегалии лишь в 2,6% случаев.

3. Показатели уровня ВН, соответствующие реактивации хронической ЦМВИ для среды «слюна» > 3,93lg (Se =0,93, Sp=1,0) копий/мл, для среды «моча» > 3,1lg (Se=0,72, Sp=0,83) копий/мл.

Личный вклад автора

Автором самостоятельно проводилось: планирование и организация исследования; анализ данных официальной статистики по ПК и РФ и первичной медицинской документации; клиническое обследование в динамике; анализ параклинических результатов обследования; беседы с родителями; назначение иммунотерапии и контроль за ее фактическим выполнением; оценка эффективности терапии; анализ полученных данных; статистическая обработка материалов исследования; внедрение результатов исследования.

Апробация работы

Материалы диссертации доложены на 87-й итоговой научной конференции ПГМА (Пермь, 2013) на английском языке; на Всесоюзной конференции по проблемам пульмонологии у детей (Пермь, 2013); на конференциях инфекционистов Пермского края по проблемам герпесвирусных инфекций у детей и особенностям их вакцинопрофилактики (Пермь, 2013-2014); на городской конференции по проблемам лабораторной оценки эффективности терапии оппортунистических инфекций у детей (Пермь, 2014); на XIII Конгрессе детских инфекционистов России «Актуальные вопросы инфекционной патологии и вакцинопрофилактики у детей» (Москва, 2014); на краевой конференции инфекционистов «Актуальные вопросы инфекционной патологии» (Пермь, 2015).

Апробация работы проведена на межкафедральном заседании сотрудников кафедр педиатрического профиля 27.06.2016г.

Объем и структура работы

Диссертационная работа изложена на 150 страницах печатного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 3 глав собственных исследований, заключения, выводов, списка литературы, состоящего из 116 источников литературы, в том числе 83 отечественных и 33 зарубежных. Диссертация иллюстрирована 21 рисунком, 32 таблицами, включает 4 клинических примера.

Реализация результатов работы

По материалам диссертации опубликовано 9 научных работ, в том числе 4 в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Получен патент № 2566074 «Способ оценки эффективности терапии хронической цитомегаловирусной инфекции у детей», зарегистрирован в Государственном реестре изобретений Российской Федерации 23 сентября 2015г.

ГЛАВА I. КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА И ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).

В последнее время нарастает количество детей с вторичной иммунной недостаточностью, которые формируют диспансерную группу ЧБД [3, 4, 5, 47, 58]. При этом наблюдаются значительные изменения структуры инфекционной патологии с преобладанием оппортунистических инфекций, в частности герпесвирусной группы: инфекция вируса простого герпеса, цитомегаловирусная инфекция, Эпштейн-Барр вирусная инфекция, а также инфекции герпеса 6 и 7 типов [56, 59, 81, 82]. В условиях отсутствия регистрации всех форм оппортунистических инфекций, трудно сделать вывод о наибольшей актуальности одной из них. Однако, учитывая выраженную иммуносупрессивную активность цитомегаловируса, его можно выделить как наиболее значимый триггер усугубления иммунной недостаточности у ЧБД среди других герпесвирусных патогенов [24, 43].

ЦМВИ характеризуется повсеместным распространением, отсутствием сезонности и эпидемических вспышек. В экономически-развитых странах манифестные генерализованные формы внутриутробной ЦМВ переносят 0,5-2% новорожденных, 10-30% детей - в возрасте 1 года. В странах с низким уровнем социально-экономического развития и санитарно-гигиенической культуры населения заражение ЦМВ происходит в основном в раннем детском возрасте [24, 113, 114].

ЦМВИ является наиболее частой врождённой вирусной патологией и основной причиной врождённых пороков развития у детей раннего возраста и сенсо-невральной потери слуха [38, 40, 63, 80, 101, 104]. Вертикальная трансмиссия чаще реализуется в антенатальном периоде (95%), реже – интранатально (5%). При первичной ЦМВИ, которую во время беременности переносят 2% женщин, риск вертикальной трансмиссии составляет 30-50%, у

10% детей имеет место симптоматика врожденной ЦМВИ, а ещё у 10-15% возникают отдаленные последствия антенатального инфицирования. При реактивации ЦМВИ во время беременности (20% женщин) частота вертикальной передачи вируса значительно ниже (0,2-2%). В течение первых месяцев жизни ЦМВ заражаются 5-30% детей. Примерно 20% серопозитивных кормящих матерей выделяют ЦМВ с грудным молоком, слюной, мочой, калом и являются источником заражения детей. После начала посещения детского дошкольного учреждения источником дополнительного заражения ребенка служат дети-вирусовыделители [24].

Наличие антенатальных факторов риска значительно увеличивает вероятность внутриутробной инфекции плода. К факторам, отягощающим акушерско-гинекологический анамнез, относят спонтанные аборты, мертворождения, привычное невынашивание, рождение детей с множественными пороками развития или умерших в раннем возрасте, бесплодие. Облегчает трансмиссию вирусов также патологическое течение беременности и родов: угроза прерывания беременности, неполная или преждевременная отслойка плаценты, многоводие, преждевременное отхождение вод. Неблагоприятное воздействие также оказывают следующие факторы риска ВУИ: заболевания мочеполовой системы, инфекционные заболевания во время беременности, иммунодефицитные состояния (в том числе ВИЧ-инфекция), использование иммуносупрессивной терапии, а также повторные гемотрансфузии [37, 46, 115]. Выявление двух и более из указанных признаков позволяет отнести ребенка в группу высокого риска ВУИ с наибольшей вероятностью у недоношенных детей.

Недооценка антенатальных факторов риска ВУИ и неполный охват скрининговым исследованием беременных на TORCH-комплекс способствуют поздней диагностике ВУИ у новорожденных [51]. Кроме этого, отсутствие регистрации случаев как острой, так и хронической цитомегалии у детей раннего возраста, а также отсутствие мониторинга инфекционного

процесса у детей, снижает эффективность иммунореабилитации и возможность индивидуального управления этой инфекцией.

1.1. КЛИНИЧЕСКИЕ ФОРМЫ ЦМВИ У АМБУЛАТОРНЫХ ПАЦИЕНТОВ РАННЕГО ВОЗРАСТА

Репликация вируса в клетках системы мононуклеарных фагоцитов и последующая вирусемия в иммунокомпетентном организме, как правило, не приводит к развитию манифестных форм болезни. Вирус персистирует в состоянии латенции в лимфоидных образованиях. При этом клетки, инфицированные ЦМВ, не подвергаются лизирующему действию цитотоксических Т-лимфоцитов вследствие снижения экспрессии вирусных антигенов на мембране инфицированной клетки, а значит, не наступает полной элиминации вируса из организма, что является основой для формирования латентной (бессимптомной) формы ЦМВИ. Пожизненная персистенция в организме условно патогенного вируса может длительно протекать в латентной форме [94].

При иммуносупрессии происходит активация вируса, способного входить в жидкую среду и поражать многие органы. ЦМВ считается парадоксальным вирусом, который может быть молчаливым пожизненным симбионтом человека, превращающимся при благоприятных для него условиях депрессии защитных факторов в агрессивный патоген [2, 62, 77, 99, 112]. При этом, инфицируя лимфоциты, макрофаги и дендритные клетки, ЦМВ сохраняет способность к дальнейшей репликации даже при латентном течении инфекции [91, 109, 110]. Это зависит не только и не столько от биологических свойств вируса, сколько от индивидуальных (фило- и онтогенетических) особенностей иммунного ответа в ответ на инфицирование. Синтез вирусов определяет интенсивность внутриклеточного обмена. Наиболее высокий темп свойственен короткоживущим клеткам эпителиоидного типа, поэтому ЦМВ особенно хорошо колонизируют клетки эпителия слизистых оболочек, крови и

лимфатических тканей. Особенность инфекции определяет его способность к репликации без повреждения клетки, благодаря чему в одной инфицированной клетке может накапливаться до 10 тысяч вирусных частиц, формирующих крупные внутриядерные включения, значительно увеличивающие ее размеры. Это морфологический маркер ЦМВИ - цитомегалические клетки под названием «совиный глаз» [25, 63].

В инфектологии применяются несколько рабочих классификаций цитомегаловирусной инфекции. Наиболее известными из них являются классификации Казанцева А. П., Поповой Н. И. (1980 г.), Фарбера Н. А. (1989 г.), Орехова К. В. с соавт. (1991 г., 1998 г.), Ожегова А. М. (2000 г.), Чешика С. Г. с соавт. (2006 г.), Тимченко В. Н. (2006 г.). Каждая из предложенных классификаций имеет свои достоинства. В то же время в классификации Казанцева А. П. и Поповой Н. И. не указаны клинические варианты врожденной ЦМВИ; в классификации Ожегова А. М. с соавт. некоторые «осложнения», являются проявлениями тяжелых форм заболевания; в классификации Орехова К. В. с соавт. выделяется «резидуальная форма», клинические проявления которой больше соответствуют исходу заболевания, а церебральные и печеночные формы свидетельствуют о генерализации процесса с поражением внутренних органов, а не о локализованных проявлениях заболевания [6, 25, 52].

Классификация, которая должна отвечать современным представлениям о ЦМВИ у детей и эффективно использоваться в клинической практике, в соответствии с принципами Колтыпина должна отражать степень тяжести клинической формы инфекционного процесса с уточнением репликативной активности вируса в зависимости от вирусной нагрузки (ВН) крови, слюны и мочи.

Хронические рецидивирующие формы ЦМВИ являются клиническим маркером синдрома нарушения противоинфекционной защиты (СНПЗ), достигая 24,6% у детей раннего возраста Пермского края, и определяют риск

низкого иммунного ответа на вакцинные препараты. Доказательством является установленный факт, что показатель серологической защиты от дифтерии и кори у привитых детей с хронической ЦМВИ составил 69,7±5,9% и 56,5±6,3%, соответственно, против 91,8±3,9% ($p<0,01$) и 98,0±2,0% среди здоровых детей 1-3 лет жизни ($p<0,001$) [42, 90].

Широкая распространенность ЦМВИ в популяции с увеличением риска инфицирования на ранних стадиях онтогенеза предполагает двоякую трактовку этого явления: либо инфицирование ЦМВ оказывает отрицательное влияние на здоровье человека, способствуя старту патогенетических механизмов; либо длительная персистенция ЦМВ поддерживает адаптивно-приспособительный потенциал иммунной системы человека в состоянии напряжения [18]. И тот и другой механизм не могут быть перманентными: на фоне ослабления иммунологического контроля над вирусом происходит срыв адаптации.

Основная роль в контроле за ЦМВИ отводится клеточному иммунитету. При иммуносупресии различной этиологии (беременность, ВИЧ-инфекция, ранний детский возраст) возрастает риск манифестных форм болезни. В ряде исследований показано развитие тяжелых форм нейроинфекций, обусловленных ЦМВ на фоне снижения количества СД-4 лимфоцитов. Среди ВИЧ-инфицированных реактивация ЦМВИ наступает при снижении СД-4 менее 50-100 в мкл [76, 78].

Процессы развития и формирования иммунной системы у детей раннего возраста находятся в состоянии функционального напряжения и могут нарушаться под действием различных средовых факторов [39, 41]. Возникающие при этом транзиторные иммунодефицитные состояния могут стать причиной активации персистирующей или латентной ЦМВИ, приобретенной внутриутробно [13, 79, 89].

Врожденная ЦМВИ у части детей проявляется сразу после рождения или в течение первых трех недель жизни ребенка. Первыми признаками

болезни являются низкая оценка по шкале Апгар, низкая масса тела, лихорадка, интоксикация, геморрагический синдром, судороги, гепато- и спленомегалия, анемия, синдром дыхательных расстройств, т.е. характеризуется большим полиморфизмом клинических проявлений.

В периоде новорожденности у подавляющей части больных имеется манифестная неврологическая симптоматика, в основе которой могут быть пороки развития головного мозга как проявление ЦМВ-фетопатий: микроцефалия, микрогирия, макрогирия либо специфический воспалительный процесс (ЦМВ-энцефалит), который встречается в 3-8% случаев генерализованных форм, либо нарушения церебральной гемодинамики за счет развития эксудативно-пролиферативных васкулитов и гипоксии. Очаги размягчения мозговой ткани в дальнейшем подвергаются обызвествлению. Как правило, кальцификаты имеют околожелудочковое расположение. Угнетение рефлексов новорожденных, нарушения мышечного тонуса, иногда расстройства актов сосания и глотания наряду с признаками поражения черепно-мозговых нервов (косоглазие, нистагм, асимметрия мимической мускулатуры) - все это может выявляться в первые дни с момента рождения. Однако, дети с врожденной ЦМВИ при рождении могут выглядеть здоровыми, а симптомы болезни, включая нарушения слуха, проявляются в последующие после рождения месяцы.

При интранатальном инфицировании признаки ЦМВ-поражения ЦНС, как правило, отсутствуют. Но через 1-2 месяца появляется беспокойство, вялость, адинамия, сонливость, срыгивания, рвота. Развивается гидроцефалия или микроцефалия, спастические парезы. Может возникать хориоретинит, катаракта, атрофия зрительного нерва [59, 81, 84].

Кроме поражения ЦНС врожденная ЦМВ-инфекция может проявляться первично-хроническим гепатитом, для которого характерна желтуха, увеличение печени, признаки холестаза. Желтуха может начинаться и на второй неделе жизни. Интенсивность ее нарастает в течение нескольких дней

и держится 1-2 месяцев, приобретая иногда волнообразное течение [7, 10]. В генезе желтухи можно выделить три механизма: гемолитические свойства ЦМВ, поражение гепатоцитов и внутрипеченочный холестаз за счет развития облитерирующего холангита. Селезенка может увеличиваться незначительно и выступать на 1 -2 см из-под края реберной дуги, оставаясь при этом мягкой и эластичной. В биохимических показателях обычно отмечается повышение уровня общего билирубина, преимущественно за счет прямой фракции, с последующим увеличением непрямой, умеренно выраженная ферментемия, высокие значения ГГТ, щелочной фосфатазы, что свидетельствует о внутрипеченочном холестазе. Врожденный ЦМВ-гепатит может протекать как хронический гепатит с исходом в портальный фиброз печени. Silverio C.E. и соавт., 2015, проводили обследование детей раннего возраста с острой печеночной недостаточностью, с помощью которого удалось установить, что причиной этой патологии в большей степени являются не гепатотропные вирусы, а ЦМВ. Летальность детей от декомпенсированной печеночной недостаточности в данном исследовании составила 41,9% [111]. Ушакова Р.А. и соавт., 2010, отмечают, что в этиологической структуре неонатальных гепатитов, ВУИ-ассоциированные гепатиты составляют 68%, что значительно превышает относительные показатели частоты гепатитов В и С. При этом среди TORCH-ассоциированных гепатитов ведущая этиологическая роль принадлежит ЦМВ (55%) [66, 72].

Одним из наиболее частых проявлений врожденной инфекции является интерстициальная пневмония, которая обычно сопровождается бронхообструктивным синдромом в результате поражения мелких бронхов, бронхиол с развитием перибронхита. Поражаются альвеоциты, эпителий бронхиол. Наряду с цитомегалическим метаморфозом обнаруживаются неспецифические изменения в легочных сосудах, вокруг которых формируются муфтообразные лимфомоноцитарные инфильтраты. Васкулиты часто являются основой для тромбообразования. Симптомы поражения легких могут возникнуть в первые дни или спустя неделю. Обычно

температура не повышается выше субфебрильной; кашель, одышка, как правило, не сопровождаются аускультативными проявлениями со стороны легких.

Поражение органов мочевыделительной системы часто проявляется аномалиями их развития, которые не всегда сопровождается появлением клинических симптомов в периоде новорожденности. Очаговый интерстициальный ЦМВ-нефрит протекает с микропротеинурией, микрогематурией.

Кочкина С.С., Ситникова Е.П., 2013, [34] выявили значительное количество пороков развития внутренних органов у детей с отсутствием клинических проявлений ЦМВИ при рождении и считавшихся условно здоровыми, которым впоследствии был установлен диагноз внутриутробной цитомегаловирусной инфекции в возрасте от 1 до 3 лет. У 10 (28,6%) детей с врожденной ЦМВИ установлена патология почек: гидронефроз, врожденные сосудистые аномалии, гипоплазия почки. У 20 (57,1%) детей отмечались поражения глаз в виде очагового хориоретинита. У 16 (45,7%) человек выявлены пороки развития сердца: малые аномалии, стеноз аорты, дефект межпредсердной перегородки. 11 пациентов имели сочетанную патологию. Диагноз врожденной генерализованной ЦМВИ был выставлен в родильном доме только 2 детям. У них клиническая симптоматика развилась с первых суток жизни, в процесс были вовлечены многие органы и системы. Отмечались нарушения дыхания и сердечной деятельности, выявлялась желтуха, которая имела волнообразный характер, геморрагический синдром, связанный с тромбоцитопенией, наблюдалось развитие ЦМВ-энцефалита. У 40% детей имела место хроническая патология печени. Нарушения гистогенеза при фетопатиях в отличие от эмбриопатий происходят на фоне воспалительной реакции, вызванной наличием вируса в тканях плода. В настоящее время известно, что до гестационного возраста 20-24 недель плод не способен к локализации инфекционного процесса, и заболевание носит

генерализованный характер (ранние фетопатии) с нарушением кровообращения, с развитием генерализованных дистрофических и некробиотических процессов. Результатом этого могут быть изменения, напоминающие эмбриональные пороки развития (гидроцефалия, гидронефроз, кистозные изменения в органах и тканях). Для поздних фетопатий характерны гистогенетические, более зрелые воспалительные реакции с тенденцией к локализации процесса (гепатиты, нефриты, энцефалиты, миокардиты). По своей морфологии они сходны с аналогичными заболеваниями, возникающими в периоде новорожденности [44].

Таким образом, клинические проявления врожденной ЦМВ чрезвычайно многообразны, что затрудняет своевременную диагностику и требует дифференциального диагноза с рядом инфекционных эмбрио- и фетопатий, таких как краснуха, листериоз, токсоплазмоз, а также гемолитической болезнью новорожденных, сепсисом новорожденных, врожденным сифилисом.

Исходы врожденной ЦМВИ у выживших детей могут проявляться отставанием в физическом и психомоторном развитии, развитием ДЦП, микро- и гидроцефалии, эпилепсии, нейросенсорной тугоухости, энуреза, хронического гепатита и хронического интерстициального нефрита [20, 37, 38, 51, 88].

В настоящее время некоторые авторы полагают, что латентная форма - наиболее частая, хотя и не регистрируется, возникает у иммунокомпетентных лиц. Отсутствие каких-либо клинических проявлений приводит к тому, что диагноз ставится только на основании случайной или целенаправленной индикации маркеров возбудителя (ДНК вируса при ПЦР) и наличии специфического антительного ответа. Латентная форма на фоне снижения иммунитета может переходить в манифестные [29, 65, 113].

Главными проявлениями локализованной формы являются симптомы поражения слюнных желез (сиалоаденит), чаще околоушных, реже - подчелюстных и подъязычной. Мононуклеозная форма начинается остро с подъема температуры тела и появления симптомов интоксикации (снижение аппетита, вялость, адинамия, головная боль). Катаральные явления со стороны верхних дыхательных путей могут дополнять клинику начального периода. Среди главных симптомов следует отметить увеличение задне- и переднешейных лимфатических узлов, а также подчелюстных, которые могут сопровождаться гепатомегалией (край печени выступает на 2-3 см из-под реберной дуги, мягкой консистенции) [69]. В гемограмме лейкоцитоз, нейтрофилез и увеличение числа атипичных мононуклеаров. При биохимическом обследовании могут обнаруживать признаки гепатита в виде цитолитического синдрома, увеличения уровня холестерина, щелочной фосфатазы. Заболевание протекает доброкачественно, заканчивается клиническим выздоровлением при вирусной персистенции.

Наиболее изученными остаются острые манифестные формы цитомегалии, однако в последнее время внимание учёных привлекают формы с прогредиентно-хроническим течением с полиморфизмом клинических проявлений, хотя отчетливых данных по клинической картине данных форм в литературе нет. Длительность инфекционного процесса в организме способствует развитию вторичного иммунодефицита, особенно при наличии в организме других вирусов этого семейства (вирусов простого герпеса 1 и 2 типов, Эпштейн-Барр, вируса герпеса человека 6 типа) при этом долго не проявляя себя клинически. Инфицированные цитомегаловирусом и другими герпес-вирусами дети часто и «негладко» болеют респираторными заболеваниями, формируют контингент часто и длительно болеющих детей [5, 15]. Высокая частота заболеваемости детей повторными острыми респираторными инфекциями вирусного и/или бактериального происхождения маркирует иммунокомпрометированность. Иммунокомпрометированные пациенты, по определению Ярцева М.Н.,

2003г. – это дети с повышенной частотой ОРЗ, повторными ЛОР-инфекциями, рецидивирующей пиодермией при отсутствии первичного иммунодефицитного состояния (ИДС), но при преходящей функциональной нестабильности иммунитета, повышающей восприимчивость к инфекции [83], т.е. сформировавшимся инфекционным иммунопатологическим синдромом. В литературе имеются указания на наличие длительного субфебрилитета, как проявление инфекционного синдрома при герпесвирусных инфекциях [64].

Лимфопролиферативный (мононуклеозоподобный) иммунопатологический синдром характеризуется полиаденопатией с гепато- и спленомегалией, а также хроническими заболеваниями ЛОР-органов (аденоидит; фолликулярный и гранулёзный фарингит) [1, 23, 32, 35].

В исследовании В.К. Котлукова и соавт., 2006 , показана роль ЦМВИ у детей первых 3 лет жизни с частой респираторной заболеваемостью и рецидивирующим бронхообструктивным синдромом, о чем свидетельствуют также публикации ряда других авторов [11-14, 22, 33, 75]. Mareri, A., и соавт., 2013, констатируют факт сенсибилизирующего действия хронических герпесвирусных инфекций (ВПГ, ВЭБ, ЦМВ, ВГЧ 6) в возникновении рецидивирующей острой крапивницы у детей разного возраста [105].

Среди гематологических отклонений при хронических герпесвирусных инфекциях и ЦМВИ, в частности, описана анемия хронического заболевания, обусловленная длительно сохраняющимся избытком провоспалительных цитокинов в тканях и приводящая к перераспределению железа и нарушению последующих механизмов его реутилизации. В общем анализе крови таких больных отмечается длительное умеренное снижение уровня гемоглобина при нормальных или даже избыточных показателях накопления железа в тканях. Такая анемия не купируется приёмом железосодержащих препаратов, а нормализация уровня гемоглобина происходит на фоне адекватной системной противовирусной терапии [71, 87]. Кроме того, описаны случаи

тромбоцитопении, угнетения лимфоцитарного ростка и другие гематологические отклонения, иногда являющиеся единственным проявлением хронической ЦМВИ и других герпесвирусных инфекций [26, 62, 73].

Исходя из полиморфных клинических проявлений и выраженных иммунных расстройств, дети с хроническим течением ЦМВИ нуждаются в специфическом лечении, длительной иммунореабилитации и иммунотерапии до стабилизации инфекционного процесса.

1.2. СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ЦМВИ.

Лабораторная диагностика ЦМВИ опирается на комплекс методов, позволяющих верифицировать этиологический агент (выделение вируса, его генома, антигенов), определить наличие маркеров иммунного ответа (специфические антитела), оценить остроту инфекционного процесса.

Выявление этиологического фактора может осуществляться с помощью вирусологического исследования с определением цитопатического эффекта. Данный метод в силу трудоемкости и длительности в практическом здравоохранении практически не используется. Наиболее признанным и распространенным методом является выявление генома вируса с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). Клинически значимым является обнаружение в крови самого возбудителя (вирусемия), его генома (ДНК-емия) или его антигенов (антигенемия). К маркерам активной репликации ЦМВИ относятся: прямые - вирусемия, антигенемия, ДКН-емия; косвенные - анти-ЦМВ IgM, низкоавидные анти-ЦМВ IgG (у ранее серонегативных больных), нарастание титра антител в 4 раза и выше в парных сыворотках, отобранных с интервалом в 2-3 недели [48, 54, 55, 60, 65, 67, 86].

При оценке лабораторных данных следует принимать во внимание не только чувствительность используемых тестов, но и их специфичность.

Самый высокий показатель специфичности - 100% - это индикация ДНК ЦМВ в лейкоцитах [53, 96].

Пренатальная диагностика ЦМВИ ввиду убиквитарного характера и бессимптомного течения должна проводиться всем женщинам, встающим на учёт в женских консультациях. Постнатальная диагностика ЦМВИ у новорожденных проводится при указании на первичную или вторичную ЦМВИ у матери, наличии у ребенка неспецифических клинических признаков внутриутробной инфекции TORCH-комплекса: геморрагический синдром, гемолитическая анемия, стойкая гипербилирубинемия, гепато-спленомегалия, интерстициальная пневмония, гипотрофия, микроцефалия, гидроцефалия, внутричерепные кальцинаты, врожденные пороки развития и т.д.), отягощенном акушерско-гинекологическом анамнезе матери (выкидыши, мертворождения) [17, 24, 63].

Критериями активности внутриутробной ЦМВИ у новорожденных детей в раннем неонатальном периоде являются: обнаружение ДНК вируса в крови и ликворе (определение в других биологических средах требует дополнительной оценки характера антительного ответа); выявление в крови, в пуповинной крови анти-ЦМВ IgM и низкоавидных анти-ЦМВ IgG с нарастанием титра в динамике; сопоставление уровня специфических антител у ребенка с материнскими титрами для правильной трактовки результатов. Присутствие специфических IgM будет свидетельствовать об острой (первичной) инфекции. Специфические анти-ЦМВ IgG, выявлемые у новорожденных без клинических проявлений болезни, следует рассматривать как материнские транспланцентарные антитела при документальном подтверждении об их обнаружении у матери. При динамическом обследовании уровень их должен снижаться [46].

Серологические методы обнаружения антител имеют ряд недостатков. Обнаружение антител является косвенным методом, отражающим иммунный ответ на внедрение или реактивацию возбудителя и зависит от

функционирования иммунной системы. Диагностические трудности представляют новорождённые дети, полноценный антительный иммунный ответ которых формируется лишь на 3-4 неделе внеутробной жизни. При микст-инфицировании можно получить также ложно-отрицательные серологические тесты на наличие антител вследствие выраженной иммунодепрессии, вызванной персистенцией вирусов [19].

В настоящее время для лабораторной верификации ЦМВИ используется комплекс методов: иммуноферментный анализ (ИФА) с определением анти-ЦМВ IgM, IgG и индекса авидности IgG (ИА%); иммуно-блот (ИБ); быстрый культуральный метод (БКМ) и полимеразная цепная реакция (ПЦР) для амплификации ДНК качественным и количественным способом в реальном времени. Каждый метод имеет определённое значение в диагностике ЦМВИ в клинической практике [30].

Диагностика ЦМВИ основывается на клинико-эпидемиологических данных с обязательным лабораторным подтверждением, являющимся решающим диагностическим приемом. При этом используются лабораторные методы, включающие не только верификацию этиологического агента (идентификация самого вируса, его генома или антигенов) и обнаружение серологических маркеров иммунного ответа (специфических антител), но и определение остроты инфекционного процесса (изучение активности репликации вируса и раздельное определение анти-ЦМВ-АТ классов IgM и IgG с индексом авидности). Обнаружение IgG и IgM к ЦМВ указывает на репликацию и сборку вирусных частиц в инфицированных клетках, происходящую как при первичной инфекции, так и при реактивации.

Благодаря высокой специфичности и чувствительности ПЦР осуществляется детекция ДНК в органах и тканях, в биологических жидкостях, таких как слюна и моча [95, 100, 102], что позволяет установить

как этиологический диагноз, так и фазу инфекционного процесса неинвазивным методом, наиболее приемлемым педиатрической практике.

При хронических герпесвирусных инфекциях нет генерализованного процесса, а имеет значение определение уровня вирусной экскреции из слюны и мочи, т.к. в крови возбудитель, как правило, отсутствует, поэтому исследование крови с определением ВН при хронических ГВИ не целесообразно. Ganzenmueller T. и соавт., 2009, описаны преимущества количественного метода ПЦР для детекции ЦМВ в ткани (биопсийном материале) у иммунокомпрометированных пациентов с заболеваниями кишечника. Патоморфологические и клинические данные соответствовали высокому уровню репликации в ткани кишечника (более 6log), тогда как уровень антигенемии не подтверждал патоморфологический процесс, не диагностировал его [93]. Sun, Y.-Q. и соавт., 2015, проведено исследование предиктивной способности ПЦР диагностики ЦМВ из фекалий при развитии ЦМВ-ассоциированного энтерита у пациентов, перенёсших аллогенную трансплантацию стволовых клеток крови, по сравнению с «золотым стандартом» диагностики этого заболевания – колоноскопией. Чувствительность данного метода составила 28,6% при специфичности 86,3% [114].

В настоящее время количественные методы диагностики ЦМВИ в ПЦР используются в основном при ВИЧ-инфекции с целью оценки интенсивности вирусной репликации и контроля течения оппортунистических инфекций [77, 78, 92, 108]. Кроме этого, Nefzi, F. и соавт., 2015, описан мониторинг ЦМВИ и вируса герпеса человека 6 типа с помощью количественной ПЦР из крови и слюны при остром лейкозе, в котором показана более высокая чувствительность метода идентификации ДНК вирусов в слюне, что объясняется тропностью вируса к ткани слюнных желез [107].

Информативный, быстрый, точный, неинвазивный способ определения вирусной нагрузки ЦМВ может использоваться в широкой педиатрической практике в условиях детской поликлиники для оценки интенсивности

вирусной репликации в целях определения степени тяжести клинической формы заболевания и выбора базисной терапии, а также характера дальнейшей профилактики активации латентной и реактивации хронической цитомегалии. Вторым, не менее важным возможным направлением использования количественного метода ПЦР, является мониторинг ВН для оценки динамики ЦМВИ при проведении терапии. Сведения о применении количественного метода ПЦР для оценки эффективности терапии ЦМВИ у ЧБД отсутствуют, так же как и диагностические показания в медико-экономических стандартах (МЭС) для детской поликлиники.

1.3. СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ЛЕЧЕНИЯ И ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ ЦМВИ У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА.

Лечение больных с ЦМВИ легкой степени тяжести без осложнений проводится в амбулаторных условиях. Госпитализации в профильный стационар подлежат дети со среднетяжелыми и тяжелыми формами болезни, а также по известным эпидпоказаниям. Принципы лечения предусматривают одновременное решение нескольких задач: предупреждение дальнейшего развития патологического процесса и его генерализации, а также формирования остаточных явлений и инвалидизации. Они осуществляются с помощью режима, диеты, этиотропных препаратов (противовирусных и иммуномодулирующих), симптоматических средств. На выбор тактики лечения (спектра препаратов, продолжительности терапии) оказывают влияние: возраст ребенка, тяжесть заболевания, фаза инфекционного процесса (активная/неактивная), осложнения [28, 30, 49, 57, 106].

Согласно современным протоколам оказания помощи детям с ЦМВИ, перечень этиотропных и иммунокорригирующих лекарственных препаратов для медицинского применения, зарегистрированных на территории Российской Федерации, включает в себя: нуклеозиды и нуклеотиды (Ганцикловир при тяжелых формах ЦМВИ), Валганцикловир при

цитомегаловирусном ретините при СПИД); производные ортофосфорной кислоты: Фоскарнет (при тяжелых формах ЦМВИ у лиц с ВИЧ-инфекцией, а так же при резистентности ЦМВ к ганцикловиру); интерфероны (Интерферон альфа при легких и среднетяжелых формах заболевания); противовирусные препараты другие (Инозин пранобекс при легких и среднетяжелых формах заболевания); другие иммуностимуляторы: Меглюмина акридонацетат (при легких и среднетяжелых формах заболевания у детей старше 4 лет), Тилорон (при легких и среднетяжелых формах заболевания у детей старше 7 лет), Анаферон Детский (при легких и среднетяжелых формах заболевания), а также иммуноглобулины специфические (Иммуноглобулин человека антицитомегаловирусный при тяжелых и затяжных формах ЦМВИ), иммуноглобулины нормальные человеческие (Иммуноглобулин человека нормальный при тяжелых и затяжных формах ЦМВИ) [30].

Для хронических форм герпесвирусных инфекций (B25.8 - Другие цитомегаловирусные болезни, B25.9 - Цитомегаловирусная болезнь неуточненная, B27.1 Цитомегаловирусный мононуклеоз и др.) применение этиотропных и иммунокорригирующих лекарственных препаратов регламентирует Приказ Минздрава России от 09.11.2012 N 876н "Об утверждении стандарта специализированной медицинской помощи детям при хронических герпесвирусных инфекциях" [55]. Согласно данному документу для терапии хронической ЦМВИ используются следующие препараты: Ацикловир, Валацикловир, Инозин Пранобекс, Глюкозаминилмурамил дипептид (Ликопид), Интерферон альфа, Интерлейкин-2, Меглюмина акридонацетат (Циклоферон), Пидотимод (Имунорикс), Тилорон (Амиксин).

Целью терапии хронической ЦМВИ является купирование активного инфекционного процесса, подавление репликации возбудителя в органах и тканях. В условия иммуносупрессии, наилучшего эффекта лечения можно достигнуть путем проведения комбинированной виростатической и иммунотропной терапии. Несмотря на значительный прогресс в изучении

герпесвирусных инфекций, на сегодняшнем этапе остаётся актуальным вопрос объективизации критериев эффективности лечения и показаний к прекращению системной противовирусной терапии при хроническом течении цитомегалии у иммунокомпрометированых детей раннего возраста, осуществляемом в условиях детской поликлиники.

Оценка эффективности проводимой терапии хронической ЦМВИ у детей на практике основана на динамике клинических, серологических показателей, антигенемии и качественной ПЦР на ДНК ЦМВ из крови. Индикаторами лабораторной эффективности проведенной терапии являются, согласно одному из протоколов 2013 года, отсутствие ЦМВ в крови (антиген или ДНК вируса); отсутствие анти-ЦМВ IgM и анти-ЦМВ IgG с низкой авидностью; наличие анти-ЦМВ IgG с высокой авидностью [31, 103].

Большинство протоколов, регламентирующих оказание помощи детям, больным различными формами ЦМВИ не содержат описания критериев эффективности терапии, что создаёт предпосылки к отсутствию единой тактики терапии и её продолжительности.

Современные подходы и технологии здравоохранения изучают эффективность, уместность, стоимость и возможность их широкого применения, опирающееся на исследовательские данные и научный метод, с целью принятия оптимального решения по использованию данной технологии здравоохранения на различных административных уровнях. Инновации в здравоохранении предоставили огромные возможности медицинским специалистам повысить эффективность, безопасность и качество проводимого лечения [74]. Повышение медико-социальной и экономической эффективности терапии хронической цитомегаловирусной инфекции может быть достигнуто путем поиска, разработки, внедрения и рационального использования современных технологий.

История изучения ЦМВИ, как и других герпесвирусных инфекций насчитывает около 130 лет. За эти годы достигнуты значительные успехи в

диагностике и лечении этого заболевания, особенно тяжёлых генерализованных форм, выживаемость среди которых в начале 60-х годов составляла не более 2%. Нельзя сказать, что на сегодняшний день диагностика и лечение ЦМВИ достигли своего совершенства. Однако в настоящее время имеются высокочувствительные и высокоспецифичные прямые методы лабораторной диагностики (ПЦР), которые позволяют быстро и с высокой степенью достоверности не только верифицировать этиологию заболевания, но и объективно оценить репликативный процесс и эффективность проводимой терапии.

Для оптимизации лечебно-диагностических мероприятий в отношении иммуннокомпрометированных ЧБД в условиях поликлиники необходимо проведение ПЦР-диагностики оппортунистических герпесвирусных инфекций, в том числе ЦМВИ, а также иммунологического контроля.

ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.

Исследование выполнено в 2013-2016 гг. на базе кафедры детских инфекционных болезней ГБОУ ВПО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России.

2.1. МАТЕРИАЛЫ И ОБЪЕМ ИССЛЕДОВАНИЯ.

Таблица 1

Материалы и объем исследования

№ п/п	Материалы исследования	Количество наблюдений (n)	Направление исследования
1	Отчеты детских поликлиник г. Перми о частоте выявляемости ЦМВИ среди ЧБД детей 1-3 лет	23768	Установить частоту выявляемости ЦМВИ у амбулаторных пациентов раннего возраста.
2	«Истории развития ребенка» (форма 112/у) амбулаторных пациентов 1-3 лет с верифицированной реактивацией ЦМВИ серологическим методом из группы ЧБД **Основная группа – ОГ**	112	Изучить клинико-эпидемиологические и лабораторные особенности у детей с реактивации хронической ЦМВИ из группы ЧБД.
3	«Истории развития ребенка» (форма 112/у) амбулаторных пациентов 1-3 лет без верификации ЦМВИ из группы ЧБД **Группа сравнения – ГС**	43	Изучить клинико-эпидемиологические и лабораторные особенности ЧБД без верификации ЦМВИ.

4	«Индивидуальные карты ребенка» с верифицированной ЦМВИ 1-3 лет из группы ЧБД, получившие терапию по схеме 3х кратного чередования 10 дневных курсов препаратов: интерферон человеческий рекомбинантный альфа-2β+комплексный иммуноглобулиновый препарат (КИПферон® 500 000 МЕ) и глюкозаминилмурамил дипептид (Ликопид) **Группа лечения – ГЛ**	72	Оценить эффективность схемы терапии реактивации хронической ЦМВИ у детей раннего возраста с помощью количественного определения уровня ВН в ПЦР в реальном времени из слюны и мочи.
5	Результаты обследования - ОАК (дважды); - IgA, IgM, IgG; - АлАТ, АсАТ, ГГТП; - ИФА: IgM, IgG и ИА% IgG к ЦМВ; - ПЦР количественный метод из крови, слюны и мочи однократно - антитела к интерферону-альфа -ПЦР (количественный метод) на ДНК ЦМВ из слюны и мочи после терапии	 310 930 930 930 465 112 72	Проанализировать лабораторные признаки хронической ЦМВИ, верифицировать реактивацию хронической ЦМВИ, ранжировать и оценить уровень вирусовыделения из слюны и мочи до и после терапии.
6	- анкеты - опросники по динамике жалоб на состояние здоровья детей для родителей - «Дневник фактического выполнения рекомендаций»	227 72	Объективизация данных о клинической эффективности лечения. Контроль фактического выполнения лечебных назначений в семье.

2.2. ОРГАНИЗАЦИЯ И ПРОВЕДЕНИЕ ОБСЕРВАЦИОННОГО ПРОСПЕКТИВНОГО СРАВНИТЕЛЬНОГО КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ.

Из поликлиник 6 районов города Перми получены сведения о количестве детей диспансерной группы ЧБД в возрасте 1-3 лет, в т.ч. с выявленной среди них ЦМВИ серологическим методом ИФА с определением специфических антител класса IgM, IgG, ИА% IgG к ЦМВ. Показателем реактивации хронической ЦМВИ считалось обнаружение специфических антител класса IgM и/или низкоавидных анти-ЦМВ IgG (ИА<0,3).

Критерии отбора детей в группу ЧБД:

1. возраст 1-3 года;
2. индекс резистентности более 0,33 (за 6 месяцев, предшествующих исследованию);
3. средняя длительность одного случая болезни более 6 дней;
4. лечение антибиотиком не менее 1 раза за предшествующие 6 месяцев.

По данным официальных отчетов поликлиник г. Перми, всего детей из группы ЧБД в возрасте 1-3 лет, состоявших на диспансерном учете у врачей-педиатров с указанием в анамнезе на ЦМВИ за 2012-2013 гг., было 396 человек, что составило 23,1% (табл.2).

Таблица 2

Данные официальных отчетов детских поликлиник города Перми о количестве выявленной ЦМВИ у ЧБД детей 1-3 лет в 2012-2013г.

Район г. Перми	Всего детей	Всего ЧБД		ЦМВИ	
		абс.	%	абс.	%
Ленинский	1494	87	5,8	32	36,8
Свердловский	3617	510	14,1	135	26,5
Кировский	5582	338	6,1	142	42
Мотовилихинский	5633	83	1,5	13	15,7
Индустриальный	3189	340	10,7	38	11,2
Дзержинский	4253	354	8,3	36	10,2
Всего	23768	1712	7,2	**396**	**23,1**

Набор основной группы (ОГ) проводился в течение 2013-2014 гг. на консультативных приёмах детей изучаемой возрастной группы с верифицированной ЦМВИ, направленных из поликлиник г. Перми на кафедру детских инфекционных болезней ПГМУ (сплошной метод).

Критерии включения:

1. возраст 1-3 года;

2. наличие серологических маркеров активной ЦМВИ (IgM и /или низкоавидные IgG к ЦМВ);

Критерии исключения:

1. гестационный возраст - менее 36 недель в анамнезе;

2. тяжелая врожденная патология неинфекционного генеза (врожденные пороки сердца (ВПС), врожденные пороки центральной нервной системы (ВП ЦНС), врожденные пороки мочевыводящей системы (ВП МВС), муковисцидоз и др.);

3. тяжелая рецидивирующая аллергическая патология (бронхиальная астма, рецидивирующий отек Квинке и др.).

Всего скринировано 216 детей. Серологические маркеры активности ЦМВИ были подтверждены только у 157 направленных пациентов. Из них не вошли в исследование 45 детей, согласно критериям исключения: 22 ребенка родились недоношенными, 8 имели тяжелую соматическую патологию, 5 - тяжелую аллергическую патологию, 10 человек - из-за отказа родителей от участия в исследовании. Таким образом, в проспективное сравнительное исследование было включено 112 пациентов с лабораторными маркерами реактивации хронической ЦМВИ, составивших ОГ (рис. 1).

В подавляющем большинстве дети ОГ были пациентами ДГКП больницы им. П.И. Пичугина, которая является базовым ЛПУ кафедры детских инфекционных болезней ПГМУ (рис. 2). Структура районного распределения детей ОГ по поликлиникам города Перми представлена на

рисунке 2. Ретроспективный анализ показал соответствие критериев диагностики ЦМВИ протоколу [30].

Рис. 1. Процесс набора пациентов в ОГ

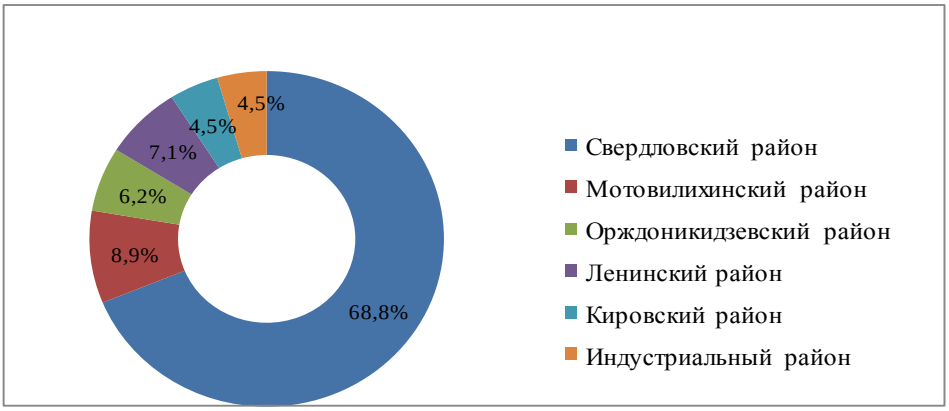

Рис. 2. Структура территориального распределения детей ОГ

В качестве группы сравнения (ГС) были набраны случайным способом в тот же период времени 67 детей также в возрасте 1-3 лет из диспансерной группы ЧБД, находящиеся под наблюдением у участковых педиатров разных поликлиник ДГКБ им. П.И. Пичугина.

Критерии включения:

1. возраст - 1-3 года;

2. отсутствие указания в анамнезе на ЦМВИ и отсутствие серологических маркеров активной инфекции на момент включения в исследование.

Критерии исключения:

1. гестационный возраст менее 36 недель в анамнезе;

2. тяжелая врожденная патология неинфекционного генеза (ВПС, ВП ЦНС, ВП МВС, муковисцидоз и др.);

3. тяжелая рецидивирующая аллергическая патология (бронхиальная астма, рецидивирующий отек Квинке и др.).

Из 67 направленных детей в исследование не вошли 24 человека, согласно критериям исключения: у 8 были выявлены впервые серологические маркеры активной ЦМВИ, 5 родились недоношенными, а 11 человек - из-за отказа родителей от участия в исследовании. Таким образом, в проспективное сравнительное исследование без лабораторных маркеров реактивации хронической ЦМВИ было включено 43 пациента, составивших ГС (рис. 3).

Рис. 3. Процесс набора пациентов в ГС

Распределение по полу и возрасту: в основной группе мальчиков –53,5% (60/112), девочек- 46,5% (52/112); 1-2лет - 70,5% (79/112); 2-3лет -29,5% (33/112). В группе сравнения: мальчиков -56% (24/43), девочек- 44% (19/24); 1- 2 лет- 67,4 % (29/43); 2-3 лет -32,6 % (14/43). Достоверных различий по полу и возрасту в сравниваемых группах установлено не было (p=0,3).

В группу лечения (ГЛ) вошли пациенты из ОГ (n=112), за исключением 40 пациентов (рис. 4).

Критерии включения:

1. амбулаторные пациенты 1-3 лет с активной ЦМВИ из ОГ;
2. отсутствие за предшествующие 3 месяца пролонгированной интерферонотерапии;
3. отсутствие антител к ИФ-альфа.

Критерии исключения:

1. наличие антител к ИФ-альфа,
2. пролонгированная интерферонотерапия.

Из 112 детей ОГ в исследовании не участвовали 40 человек, согласно критериям исключения: 8 - из-за отказа родителей от участия в исследовании, двое детей имели антитела к интерферону-альфа, у 32 имелись указания в анамнезе на пролонгированную интерферонотерапию в течение последних 3 месяцев. Таким образом, группа лечения (ГЛ) составила 72 человека (рис. 4).

Лечение хронической ЦМВИ в стадии реактивации проводилось по трехкратной схеме медикаментозной иммунотерапии с чередованием 10 дневного приёма препаратов: интерферон человеческий рекомбинантный альфа-2β+комплексный иммуноглобулиновый препарат (КИПферон® 500 000 МЕ) и глюкозаминилмурамил дипептид (Ликопид) с дальнейшим динамическим наблюдением в течение 3 месяцев и мониторингом вирусовыделения из слюны и мочи, а также иммунологических и других лабораторных показателей, в целях оценки эффективности лечебных мероприятий.

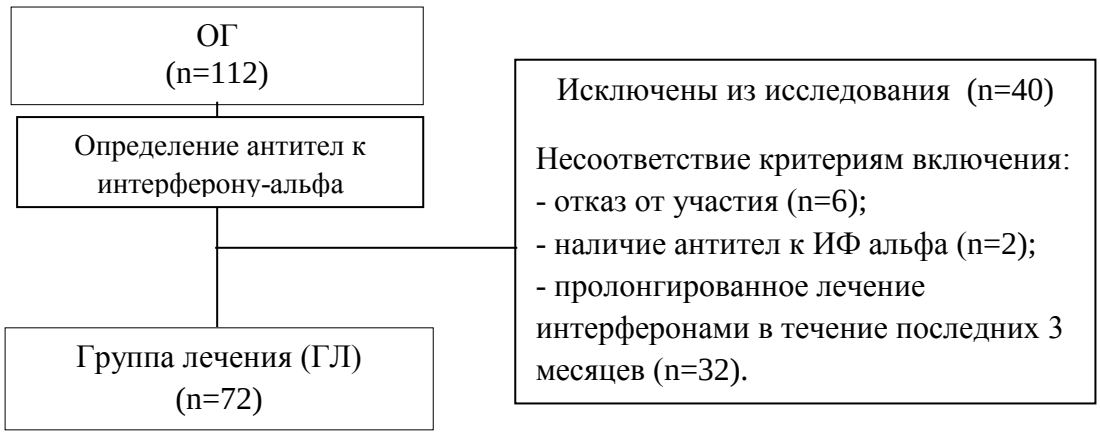

Рис. 4. Процесс набора пациентов в ГЛ

Проспективное сравнительное клинико-эпидемиологическое исследование заключалось в анализе эпидемиологических, клинических, лабораторных данных ЧБД из ОГ и ГС, начиная с антенатального периода, с помощью критериев в соответствии с разработанной «Индивидуальной картой ребенка» (Приложение 1) в целях изучения особенностей хронической активной ЦМВИ.

Прицельное внимание уделялось оценке факторов высокого риска ВУИ и ВИН перинатального периода с подробным анализом данных выписок новорожденных из акушерских стационаров, особенно в отношении здоровья и обследования на TORCH-комплекс матери.

По данным историй развития амбулаторных пациентов раннего возраста (формы 112/у) изучались аномалии развития, выявленные при УЗИ-скрининге.

Клинический метод заключался также в обследовании детей в динамике по общепринятым методикам: сбор жалоб, изучение анамнеза заболевания и объективное обследование. Учитывался характер течения инфекционного процесса (острое, хроническое, рецидивирующее, латентное). Оценивался индекс резистентности ретроспективно за прошедшие 6 месяцев по данным обращаемости; потребность в госпитализации (суммарное число дней госпитализации за 6 предыдущих месяцев амбулаторного наблюдения) и в антибактериальной терапии (число курсов антибактериальной терапии за 6 предыдущих месяцев). Устанавливалось наличие и вид иммунопатологических синдромов: инфекционного, аллергического, лимфопролиферативного и аутоиммунного.

Степень тяжести при реактивации хронической ЦМВИ оценивалась как легкая, среднетяжелая и тяжелая, согласно протоколу [30]. В исследовании принимали участие только амбулаторные пациенты, не имеющие тяжелой генерализованной формы ЦМВИ. Клинически легкая степень тяжести

диагностировалась при незначительных поражениях внутренних органов, не сопровождающихся функциональными нарушениями. Среднетяжелая форма – при поражении внутренних органов (не более 3), сопровождаемых функциональными нарушениями. Так, к среднетяжёлой форме при реактивации ЦМВИ были отнесены случаи ЦМВ-ассоциированного гепатита с синдромом цитолиза и холестаза, пневмония, бронхит, поражения ЖКТ и др. Кроме того, к средней степени тяжести были отнесены варианты течения заболевания при одновременном наличии 3 иммунопатологических синдромов, а также с лабораторными признаками ВИН в виде затяжной нейтропении 2-3 степени и/или выраженной сочетанной гипоиммуноглобулинемии (т.е. фагоцитарного и гуморального типов).

Далее пациентам, отобранным из основной группы в соответствиями с критериями включения и исключения (группа лечения – ГЛ) назначалась терапия реактивации хронической ЦМВИ согласно стандарту оказания специализированной медицинской помощи детям при хронических герпесвирусных инфекциях [55] по чередующейся десятидневной схеме трёхцикловой терапии.

Выбор лечебных препаратов был основан на официальном стандарте оказания специализированной медицинской помощи детям при хронических герпесвирусных инфекциях [55], в который включены использованные для терапии в настоящем исследовании препараты Интерферона альфа (Кипферон, как представитель фармакологической группы Интерферонов альфа) и глюкозаминилмурамил дипептид (Ликопид).

Также выбор был обоснован доказанными свойствами этих широко применяющихся в педиатрической практике препаратов, обладающих противовирусной активностью с иммуномодулирующим действием, в соответствии с инструкциями к применению. В связи с маркетинговыми причинами глюкозаминилмурамил дипептид (Ликопид) был переведен в безрецептурный отпуск препаратов, вследствие чего на данную

лекарственную форму были введены возрастные ограничения - применение с 3 лет. По официальному запросу от производителей данного лекарственного препарата получен документ, подтверждающий безопасность применения препарата Ликопид в возрастной категории с 1 года, что соответствует научным публикациям [21, 68].

Для оценки активности вирусной репликации при первичном обследовании служила количественная ПЦР на ДНК ЦМВ из крови, мочи и слюны.

После одного курса терапии проводилось повторное обследование на ДНК ЦМВ в количественной ПЦР в слюне и моче, а также мониторинг выявленных ранее лабораторных отклонений.

Оценка эффективности терапии пациентов проводилась в динамике через 3 месяца также по клиническим критериям с использованием социологического метода: анализ специально разработанных для родителей анкет «Динамики состояния здоровья ребенка» (Приложение 2, 3) и анкет «Дневник контроля фактического выполнения рекомендаций» (Приложение 4).

2.3 ЛАБОРАТОРНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.

Лабораторное обследование выполняли в динамике, в начале наблюдения и через 3 месяца. Оно включало в себя общий анализ крови (ОАК), биохимический анализ крови, исследование иммунологических показателей, вирусологическое исследование биологических материалов.

ОАК исследовался на гематологическом анализаторе Cell-Dyne Ruby («Abbott», США). Материалом для исследования служили образцы венозной крови пациентов, стабилизированной ЭДТА и забранной с использованием вакуумных систем для забора крови. Учитывая, что данный прибор оценивает 23 параметра ОАК, для их интерпретации использовали региональные показатели нормы, приведенные в литературе [9].

Биохимические маркеры поражения печени (АЛТ, АСТ, ГГТП) определяли фотометрическим методом на биохимическом анализаторе Architect 8000 (Abbott, США) с использованием оригинальных реагентов.

Иммунологические тесты первого уровня: концентрацию IgA, IgM, IgG оценивали иммунотурбодиметрическим методом на анализаторе Architect 8000 (Abbott, США) с использованием оригинальных реагентов.

С целью определения состояния гуморального иммунитета к ЦМВИ проводили серологическое обследование методом иммуноферментного (ИФА) и иммунохемилюминисцентного анализа (ИХЛА) с определением видоспецифических IgM, IgG и ИА% IgG к ЦМВ. Специфический иммунный ответ на инфицирование ЦМВ оценивался при обязательном приоритетном учете клинико-анамнестических данных. Наличие IgM и/или низкоавидных IgG к ЦМВ считали показателем активации хронического инфекционного процесса согласно документу «Клинические рекомендации (протокол лечения) оказания медицинской помощи детям больным цитомегаловирусной инфекцией», ФГБУ НИИДИ ФМБА России, утвержденному на заседании Профильной комиссии 9 октября 2015г. (доклинической диагностикой). Определение видоспецифических антител класса IgG к ЦМВ проводилось по методу ИХЛА с использованием набора реагентов «CMV IgG Immulite 2000 Systems» на автоматическим анализаторе Иммулайт 2000 («Siemens», США). Результаты IgG оценивались при помощи индекса AI, автоматически рассчитываемому прибором. При значении индекса AI менее 0,8 - отрицательный результат, свидетельствующий об отсутствии видоспецифических антител класса IgG; больше 1,1 - положительный результат; значения индекса AI в диапазоне 0,9-1,0 расценивали как сомнительный результат.

Антитела класса IgM и индекс авидности IgG к ЦМВ определяли с помощью иммуноферментного анализа на планшетном фотометре StatFax 2100 («Awareness Technology», США), с использованием реагентов «ВектоЦМВ-Ig M» и «ВектоЦМВ-IgG-авидность» («Вектор Бест» Россия).

Значение ИА ниже 30% расценивали как указание на реактивацию ЦМВИ, которая произошла не позднее трех месяцев к моменту обследования. Значение ИА в пределах 30-60% означало, что с момента первичного инфицирования либо реактивации прошло от 3 до 6 месяцев. Обнаружение ИА более 70% исключало недавнюю первичную инфекцию, по крайней мере, в течение предшествующих 6 месяцев к моменту обследования. Индекс авидности IgG указывает только на сроки инфицирования и не связан с клиникой и тяжестью инфекционного процесса.

Авидность IgG определялась только у детей, в сыворотке крови которых были выявлены антитела к ЦМВ класса IgG (100/112). Интерпретация полученного ИА IgG к ЦМВ проводилась согласно данным лаборатории: 0-30% - низкоавидные антитела, 30-50% - пограничные значения, >50% - высокоавидные антитела.

Для подтверждения наличия ЦМВ в биологическом материале использовали методы молекулярно биологического исследования – детекцию ДНК ЦМВ в биологическом материале. Изучали количество ДНК ЦМВ в слюне и крови обследованных, методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией ЦМВ в режиме реального времени (Real-time) на анализаторе IQ-5 Cycler («BioRad», США) использованием набора реагентов «АмплиСенс® CMV-скрин/монитор-FL».

Аналитическая характеристика использованной тест-системы: чувствительность – 400 копий/мл; линейный диапазон измерения набора реагентов – 400 - 10 000 000 копий/мл. Если результат больше 10 000 000, то он выдаётся как результат более 10 000 000 копий ДНК ЦМВ/мл. Если результат меньше, чем 400 копий/мл, то он выдается как менее 400 копий ДНК ЦМВ/мл. Специфическая чувствительность набора реагентов показана при исследовании референсного штамма AD 169, а также при исследовании клинического материала с последующим подтверждением результата методом секвенирования фрагментов амплификации. Показано отсутствие

активности компонентов набора в отношении ДНК других вирусов (Эпштейна-Барр вируса человека, вирусов простого герпеса 1 и 2 типа, вирусов герпеса 6 и 8 типа, вируса Варицелла-Зостер, Parvovirusa B 19 и др.), бактериальных возбудителей (Streptococcus pyogenes, Staphylococcus aureus, Streptococcus agalactiae и др.) и ДНК человека, что исключает перекрестные реакции.

Исследование лабораторных показателей, не входящих в медико-экономические стандарты, но необходимых при выполнении исследования (количественная ПЦР из крови, мочи и слюны на ДНК ЦМВ, а также антитела к ИФН-α) проводился с добровольного информированного согласия за счёт пациента.

Исследования проводились в независимой лаборатории ООО «МедЛабЭкспресс», г. Пермь.

Дизайн исследования представлен на рисунке 5.

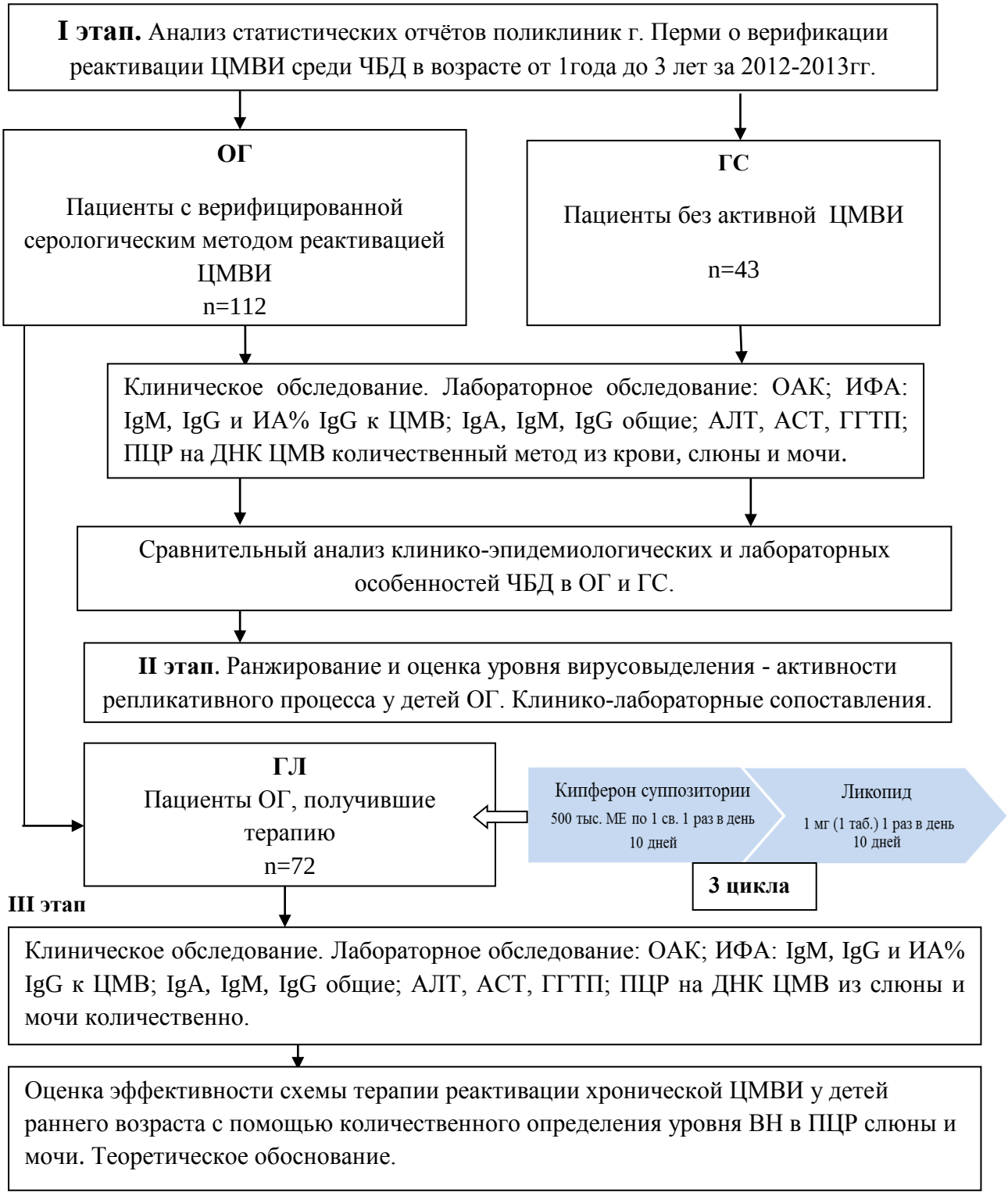

Рис. 5. Дизайн исследования

2.4. СТАТИСТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.

Обработку полученных результатов исследования проводили на персональном компьютере с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 10 фирмы StatSoftInc. (США). Для оформления результатов исследований применялись пакеты из системы «Microsoft Excel 2010».

При анализе данных использовали следующие методы математической статистики:

- связи между номинальными и порядковыми переменными рассчитывали с использованием критериев хи-квадрат ($\chi 2$) на основании таблиц сопряженных признаков. Таким же образом сравнивали частоты наступления событий;

- расчет корреляций между метрическими и порядковыми переменными проводили с использованием корреляций по Пирсону (Pearson K.) и Спирмену (Spearman C.E.);

- при сравнении независимых выборок применяли t-test.

Статистические решения принимали для критериев: t-test, и при расчете коэффициентов корреляции на 5% уровне значимости (двусторонняя альтернатива), для критерия χ 2 и дисперсионного анализа - на 5% уровне (односторонняя альтернатива).

Для удобства расчёта показателей уровня вирусовыделения, интегральная шкала количественной оценки ПЦР (коп/мл) была заменена на логарифмическую (log/ml), порог чувствительности метода в пересчете на логарифмическую шкалу составил 2,6lg. Изменение ВН обозначали как N $\log_{10}$, где N – это степень, в которую возводится 10. Все полученные значения вирусной нагрузки (ВН) ранжировали по следующей схеме:

1. ВН $\geq$ 6,0 lg - высокая вирусная нагрузка (ВВН);
2. 4,0 lg $\leq$ ВН < 6,0 lg - средняя вирусная нагрузка (СВН);

3. ВН < 4,0 lg - низкая вирусная нагрузка (НВН).

Рассчитывали чувствительность (Se) и специфичность (Sp) количественного ПЦР-метода для исследуемых сред. Чувствительность, выражает долю пациентов с активной ЦМВИ, точно идентифицированных тестом, специфичность, выражает долю пациентов без активной ЦМВИ, также точно идентифицированых тестом. Построена таблица 2х2 частот, содержащая истинно положительные результаты (TP), ложно-отрицательные (FN), истинно-отрицательные (TN) и ложноположительные результаты (FP)., Доверительный интервал (95%) для пропорции оценивали:

$$(p-[1{,}96\times\sqrt{p\frac{(1-p)}{n}}]);\quad (p+[1{,}96\times\sqrt{p\frac{(1-p)}{n}}])$$

, где

$\sqrt{p\frac{(1-p)}{n}}$ выражает стандартную ошибку среднего (SEM).

Для определения вероятности активной ЦМВИ при положительном результате ПЦР, рассчитывали прогностичность положительного результата теста (+VP, positive predictive value), определяемую как отношение доли пациентов с истинно положительным значением (TP), к общей доле положительных результатов (TP+FP), +VP=(TP)/ (TP+FP). Прогностичность отрицательного результата теста (-VP, negative predictive value), определяемая как вероятность отсутствия заболевания при отрицательном результате ПЦР-исследования, рассчитывали как отношение доли пациентов с истинно отрицательным значением (TN) к общему числу отрицательных результатов (TN+FN), -VP=(TN)/ (TN+FN).

Отношение правдоподобия (LR, likelihood ratio) определяет вероятность болезни у лиц с положительным и отрицательным результатом теста, отношение правдоподобия для положительного результата (LR(+)): LR(+)=Se /(1-Sp), для отрицательного результата LR(-) : LR(-)=(1-Se)/Sp.

Для вычисления апостериорной (послетестовой) вероятности использовали теорему Байеса. Чувствительность и специфичность предикторов оценена при помощи ROC-анализа: построен график (ROC-кривая) зависимости истинно положительного уровня (чувствительности) от ложноположительного (1 - специфичность, или представительность) для различных возможных значений предикторов.

Для построения математической модели использовали регрессионный анализ. Поскольку зависимая переменная (наличие активной ЦМВИ у пациента), бинарна, и подчиняется биноминальному закону распределения, применяли логистическую регрессию.

Модель логит-регрессии представляет вероятность возникновения определенного события по значениям множества количественных переменных следующим образом:

Logit (p)= ln (p/(1-p)), где p является оценкой условной вероятности того, что пациент будет иметь активную ЦМВИ, а (1-p) – это условная вероятность того, что пациент не будет иметь активную ЦМВИ. Отношение (p/(1-p) определяет шансы или относительную вероятность одной из двух этих ситуаций. Относительную вероятность того, что конкретный ребенок i будет иметь активную ЦМВИ, рассчитывали путем экспонирования представленного выше уравнения:

$$p_i = 1 /1+e^{-z_i}$$

где p_i – вероятность того, что произойдет интересующее событие, e – основание натурального логарифма, z_i – линейная комбинация предикторов,

$z_i = a+b_1x_1+b_2x_2+\dots b_kx_k$, где b – коэффициенты логистической регрессии.

Проверку значимости модели осуществляли при помощи критерия $\chi 2$, отвергающего нулевую гипотезу, что все оцениваемые коэффициенты равны

нулю, и коэффициента R^2, характеризующего долю вариации результативного признака y, объясняемую регрессией, в общей вариации (дисперсии) y. Предполагается что для приемлемых моделей, коэффициент детерминации R^2 должен быть хотя бы не меньше 50%.

Вариабельность показателей частоты ЦМВИ у детей из диспансерной группы ЧБД разных районов г.Перми оценивали при помощи однофакторного дисперсионного анализа ANOVA.

Для визуализации структуры исходных данных и полученных результатов использовали как графические возможности Statistica for Windows, так и модуль построения диаграмм системы Microsoft Office. Для представления частотных характеристик признаков построены столбиковые диаграммы.

ГЛАВА III. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ И ЛАБОРАТОРНЫХ ПАРАМЕТРОВ У ЧБД РАННЕГО ВОЗРАСТА С ХРОНИЧЕСКОЙ АКТИВНОЙ ЦМВИ И БЕЗ ПРИЗНАКОВ АКТИВАЦИИ.

3.1 КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ И ЛАБОРАТОРНЫЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ АКТИВНОЙ ЦМВИ У ЧБД РАННЕГО ВОЗРАСТА (ОГ).

По данным статистических отчётов поликлиник г. Перми за 2012-2013 год, доля диспансерной группы ЧБД раннего возраста составила в Дзержинском районе – 8,3% (354/42513), Индустриальном – 10,7% (340/3189), Мотовилихинском – 1,5% (83/5633), Свердловском - 14,1% (510/3617), Ленинском – 5,8% (87/1494) и в Кировском районе – 6,1% (338/5582). Среди часто болеющих детей первых трех лет жизни ЦМВИ была диагностирована: в Дзержинском районе –10,2% (36/354), Индустриальном – 11,2% (38/340), Мотовилихинском – 15,7% (13/83), Свердловском - 22,9% 9135/510), Ленинском – 36,8% (32/87) и в Кировском районе – 42% (142/338) (табл. 2).

Таким образом, доля детей с верифицированной ЦМВИ среди иммунокомпрометированных амбулаторных пациентов раннего возраста (7,2%, 1712/23786) в условиях детских поликлиник г. Перми составила, в среднем, 23,1% (396/1712).

В имеющихся группах (районах города) определен один фактор (число детей с ЦМВИ). Допускаем, что в интересующей нас популяции переменная (число детей с ЦМВИ) нормально распределена и дисперсия во всех группах одинакова. Применяем однофакторный дисперсионный анализ. При нулевой гипотезе, что групповые средние одинаковы, межгрупповая дисперсия будет подобна внутригрупповой. Если, однако, между группами есть различия, то межгрупповая дисперсия, будет больше чем внутригрупповая. Применив

дисперсионный анализ ANOVA, получаем критерий F=5,3, p=0,03. Таким образом, получены убедительные данные для отбрасывания нулевой гипотезы об отсутствии различий между группами.

Статистически достоверная вариабельность показателей частоты ЦМВИ у детей из диспансерной группы ЧБД разных районных детских поликлиник может быть связана с отсутствием единых подходов к клинико-эпидемиологическому обоснованию диагноза и лабораторному подтверждению.

Клинико-эпидемиологическая характеристика хронических оппортунистических герпесвирусных инфекций тесно связана с особенностями перинатального периода и раннего возраста детей, когда чаще всего происходит первичное инфицирование и хронизация процесса вследствие недостаточной иммунореактивности и высокой чувствительности к повреждающим факторам.

Матери детей ОГ во время беременности наблюдались в женской консультации по месту жительства регулярно. Лиц из группы социального риска не было. Анализ первичной медицинской документации показал широкую распространенность антенатальных факторов высокого риска ВУИ. Отягощенный акушерский анамнез зарегистрирован у 41,1% (46/112) матерей и представлен такими состояниями как длительное бесплодие (18,8% (21/112)), предшествующие выкидыши (17,9% (20/112)) и замершие беременности (8,9% (10/112)). Во всех случаях причина данных патологических состояний окончательно не была установлена.

Угроза прерывания беременности имела место в 59,8% (67/112) случаев, из них во время второй половины беременности - 15,2% (17/112). Признаки хронической фетоплацентарной недостаточности (ФПН) наблюдались у 42,0% (47/112) матерей. Повторные острые респираторные инфекции перенесли 27,7% (31/112), из них во второй половине беременности - 10,7%

(12/112). Обострение урогенитальных инфекций зарегистрировано в 37,5% (42/112) случаях, чаще в виде пиелонефрита и вагинита. Обострение хронических экстрагенитальных заболеваний имело место в 25% (28/112) случаев и представлено, главным образом, заболеваниями желудочно-кишечного тракта. Рецидивирующая инфекция, вызванная вирусами простого герпеса (ВПГИ), как типичный маркёр иммунологического неблагополучия, была отмечена в 35,7% (40/112) случаев, в том числе с эпизодами обострения непосредственно перед родами в 9,8% (11/112).

Результаты анализа лабораторного скрининга матерей в I триместре беременности на ЦМВИ (ВУИ), по данным выписок новорожденных, имели следующую картину: серонегативность - 20,5% (23/112); высокий антителогенез IgG – 18,7% (21/112). Серологические маркеры острой инфекции были определены по показаниям у 43,7% (49/112) беременных: IgM к ЦМВ выявлен в 12,2% (6/49), ИА IgG ниже 30% - в 20,4% (10/49), т.е. в 32,7% (16/49) случаев обследования. Число антенатальных факторов на 1 ребенка в среднем составило 3,2, что позволяет определить характер риска ВУИ как многофакторность. Таким образом, высокий антенатальный риск внутриутробной ЦМВИ имел место более, чем у половины детей ОГ - в 59,8% (67/112) (табл. 3).

Таблица 3

Характеристика антенатальных факторов риска у ЧБД раннего возраста с хронической активной ЦМВИ

Антенатальные факторы риска ВУИ	ОГ (n = 112)	
	Абс.	%
Отягощенный акушерско-гинекологический анамнез	46	41,1
Угроза прерывания беременности	67	59,8
Хроническая ФПН	47	42,0
Обострение хронических УГИ	42	37,5
Рецидивирующая ВПГИ с эпизодами обострения	40	35,7
Повторные ОРВИ во время беременности	31	27,7
Обострение хронической экстрагенитальной патологии	28	25

Высокий антителогенез к ЦМВ	21	18,7
Серонегативность к ЦМВ	23	20,5
Маркеры острой ЦМВИ (низкий ИА IgG, наличие IgM)	12	24,5
Всего детей с отягощенным перинатальным анамнезом	112	100

В результате оперативного родоразрешения родились 33% (37/112) детей ОГ. Согласно критериям включения, все дети были доношенными, однако у 12,5% (14/112) отмечена ЗВУР по гипотрофическому типу и незрелость к сроку рождения. Рождение с большой массой тела составило 9,8% (11/112).

По результатам ретроспективного анализа форм 112у, доля детей, госпитализированных в периоде новорождённости в отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) с генерализованными формами ЦМВИ, составила 8,9% (10/112): внутриутробная пневмония с ДН II ст.– 5,4% (6/112); тяжелые формы поражения ЦНС – 5,4% (6/112); первично-хронический ЦМВИ-ассоциированный гепатит с синдромом цитолиза и холестаза - 4,5% (5/112), геморрагический синдром–2,7% (3/112).

В раннем неонатальном периоде обращала на себя внимание значительная частота описанных при ультразвуковом исследовании (УЗИ) эмбрио- и фетодисплазий, что совпадает с данными других исследований [34, 37]. Признаки поражения ЦНС (скопление жидкости в межполушарной щели, лентикуло-стриарная ангиопатия, хориоидальные и субэпендимальные кисты, вентрикуломегалия) были выявлены в 57,1% случаев (64/112); поражение почек (пиелоэктазия, каликоэктазия, каликопиелоэктазия) - в 38,4% (43/112); сердца (ООО, ДМЖП, ДМПП) - в 22,9% (14/112); билиарной системы (фиксированный или функциональный перегиб и деформация желчного пузыря; расширение холедоха) – 28,6% (32/112). Клинически были выявлены паховые, пупочные грыжи, водянка яичек, свидетельствующие о характерном незаращении париетального листка брюшины, в 21,4% случаев (24/112) (рис. 6).

Рис. 6. Эмбрио- и фетодисплазии у детей ОГ с хронической активной ЦМВИ, по данным УЗИ

Во всех анализируемых случаях имел место диагноз ВУИ (ЦМВИ) в виде основного либо сопутствующего заболевания или риска ВУИ с поражением респираторного тракта и/или ЦНС, что может быть расценено как показатель ранней реализации инфекционного процесса в неонатальном периоде. Это подтверждают результаты ретроспективного анализа историй развития и болезни, согласно которому, все дети ОГ (100%) наблюдались и получали лечение по поводу ЦМВИ уже на первом году жизни.

Клиническими формами при манифестации ЦМВИ внутриутробного происхождения на первом году жизни были локализованные формы (с поражением не более трех отдельных органов) - 85,7% (72/112). У большинства детей имело место поражение респираторного тракта – 51,7% (58/112): в 32,1% (36/112) случаях бронхит с развитием обструкции в 47,2% (17/36), пневмонии - в 22,3% (25/112).

Поражение системы крови клинически проявлялось анемией у 37,5% (42/112) детей, которая в 61,9% случаев (26/42) не носила железодефицитный характер и была толерантна к ферротерапии на протяжении 1 месяца, что расценивается как следствие хронического инфекционного заболевания [73].

Функциональные и органические поражения ЦНС отмечены в 45,5% (51/112) случаев, из них 13,7% (7/51) составили тяжелые формы с судорожным синдромом без отдаленных последствий.

Как специфическую особенность детей исследуемой группы следует отметить высокую частоту встречаемости затяжной желтухи в 35,7% (40/112) длительностью более 21 дня. Гипербилирубинемия и холестаз имели волнообразное течение, показатели прямого билирубина превышали общую фракцию более, чем на 10%.

Манифестация ЦМВИ была зарегистрирована в возрасте 0-2 месяцев у 22,3% (25/112) детей; в 3-6 месяцев у 61,6% (69/112); во втором полугодии - у 16,1% (18/112). Преимущественный возраст манифестации ЦМВИ у детей первого года жизни составил 3-6 месяцев жизни (p=0,003). В это время уже сформировались иммунопатологические синдромы. Преобладал инфекционный синдром (96,4%, 108/112): частые ОРВИ с первых месяцев - у 67,8% (76/112) детей, включая не поддающиеся традиционной терапии - 29,5% (33/112); хронический тонзиллит и рецидивирующий стоматит - в 18,8% (21/112) и 8,9%(10/112) случаев, соответственно. Длительный субфебрилитет отмечался у 14,3% (16/112) детей.

Кратность ОРВИ за предшествующие исследованию полгода наблюдения у детей ОГ составила 3-8 эпизодов: среднее значение ИР составило 0,71. Госпитализация за прошедшие полгода потребовалась 23,2% (26/112) детям со средней продолжительностью - 9,7±1,6дней (ДИ 8,0;11,3).

Бактериальные осложнения ОРВИ у иммунокомпрометированных амбулаторных пациентов с хронической активной ЦМВИ встречались в 72,3% (81/112) случаев и были представлены пневмонией - 17% (19/112) и бронхитом - 20,5% (23/112); острым средним отитом - 27,7% (31/112), причём в 25,8%(8/31) рецидивирующего характера; ангиной - 16% (18/112). Потребность в антибиотикотерапии составила 2,8±0,2 (ДИ 2,5; 3,0) курсов.

Лимфопролиферативный (мононуклеозоподобный) синдром, диагностированный при клиническом обследовании почти у половины больных (48,2%, 54/112) (рис. 7), был представлен полиаденопатией - 10,7% (12/112), гепато- и спленомегалией - 18,8% (21/112) и 12,5% (14/112), а также

гиперплазией и гипертрофией небных миндалин I-II ст. – 42% (47/112), III ст. – 15,1% (17/112); аденоидитом I-IIст. – 45,5% (51/112), III ст. – 11,6% (13/112); фолликулярным и гранулёзный фарингитом - 19,6% (22/112).

Аллергический синдром имел место у 46,4% (52/112) детей (рис. 7). Атопический дерматит, манифестировавший с первых месяцев жизни, - у 42,8% (48/112), причем в 62,5% (30/48) случаев без наследственной отягощенности, что свидетельствует о триггерной роли активации оппортунистической вирусной инфекции в сенсибилизации организма [90]. Рецидивирующий обструктивный бронхит был зарегистрирован у 8% (9/112) детей ОГ.

Аутоиммунный синдром наблюдался в единичных случаях (1,8% (2/112)) в виде приобретённой гемолитической анемии, тромбоцитопении и затяжной, толерантной к терапии нейтропении (рис. 7).

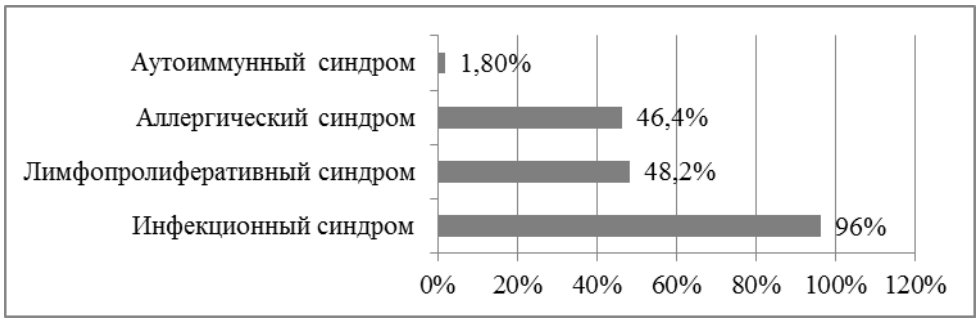

Рис. 7. Распространенность иммунопатологических синдромов у детей с хронической активной ЦМВИ

Основные характеристики гемограммы детей: лейкопения - 25,8% (29/112) со средним уровнем 5,7± 0,2×10^9/л (ДИ 5,5;5,9), лейкоцитоз- 6,25% (7/112) со средним уровнем 10,6± 0,5×10^9/л (ДИ 10,0;11,1); абсолютная нейтропения - 63,3% (71/112) со средним уровнем 1186,9± 70,6 (ДИ 1116,3; 1257,6) клеток в мкл, абсолютный нейтрофилёз – 10,7% (12/112) со средним уровнем 4602± 502,4 (ДИ 4099,8; 5104,6) клеток в мкл; абсолютная лимфоцитопения – 9,8% (11/112) со средним уровнем 3020± 75,3 (ДИ 2946,3; 3093,7) клеток в мкл, абсолютный лимфоцитоз - 27,7% (31/112) со средним

уровнем 6572,9± 436,2 (ДИ 6136,0; 7009,8) клеток в мкл; абсолютный моноцитоз - 42,8% (48/112) со средним уровнем 843,0± 74,6 (ДИ 768,4; 917,6). Применив однофакторный дисперсионный анализ получаем значение F=17,8, различия значимы при p=0,001, ведущим лабораторным отклонением среди выявленных является нейтропения.

Иммунологическое исследование свидетельствовало о недостаточности гуморального звена иммунитета, а именно, снижение IgA имело место у 44,6% (50/112) детей со средним уровнем 27,4±3,1 нг/дл (ДИ 24,4; 30,5), IgG – у 28,6% (32/112) со средним уровнем 371,1±38,8 нг/дл (ДИ 332,3; 409,9) и IgM – 15,2% (17/112) детей ОГ со средним уровнем 48,4±5,2 нг/дл (ДИ 43,2; 53,7). Сочетанные варианты гипоиммуноглобулинемии были выявлены у 20,5% (23/112): снижение IgA и IgG – 8,9% (10/112), IgA и IgM–3,6% (4/112), IgA, IgG и IgM – 8% (9/112).

При биохимическом исследовании крови установлено, что маркеры поражения печени были выявлены у 15,2% (17/112) детей: повышение АЛТ более, чем в 2 раза, одновременно с АСТ во всех случаях – 15,2% (17/112), при повышении ГГТ у 3 пациентов, что свидетельствует о ЦМВ-ассоциированном первично-хроническом гепатите с синдромом цитолиза и холестаза. У 13,4% (15/112) имело место изолированное повышение АСТ, что является неспецифическим показателем воспалительного процесса.

Согласно критериям тяжести хронической активной ЦМВИ, легкая степень была диагностирована в 61,6% (69/112) случаев, среднетяжёлая - в 38,4% (44/112).

Таким образом, у подавляющего большинства амбулаторных пациентов из группы ЧБД с верифицированной активной хронической ЦМВИ (88,4%, 99/112), имелись маркеры ВИН с рождения или с первых месяцев жизни, а клинические проявления имели множественный характер.

3.2. КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ И ЛАБОРАТОРНЫЕ ПРОЯВЛЕНИЯ У ЧБД РАННЕГО ВОЗРАСТА БЕЗ ХРОНИЧЕСКОЙ АКТИВНОЙ ЦМВИ (ГС).

В ГС детей из семей социального риска не было. Матери наблюдались во время беременности в женской консультации по месту жительства.

Отягощенный акушерский анамнез описан у 34,9% (15/43) матерей и был представлен такими состояниями как длительное бесплодие 11,6% (5/43), выкидыши 13,9% (6/43) и замершие беременности 7% (3/43).

Угроза прерывания беременности была установлена в 37,2% (16/43) случаев, из них во время второй половины беременности у 13,9% (6/43) матерей. Признаки хронической фетоплацентарной недостаточности имели 23,3% (10/43) матерей. Повторные острые респираторные инфекции переносили 25,6% (11/43) матерей, из них во второй половине беременности 11,6% (5/43). Обострение хронических экстрагенитальных заболеваний выявлено у 20,9% (9/43) матерей и представлено, главным образом, обострением заболеваний желудочно-кишечного тракта. Обострение урогенитальных инфекций зарегистрировано в 32,6% (14/43) случаях. Рецидивирующая инфекция, вызванная вирусами простого герпеса (ВПГИ), была отмечена в 20,9% (9/43), в том числе с эпизодами обострения непосредственно перед родами в 4,6% (2/43) случаев.

Результаты анализа скрининга матерей на TORCH-комплекс в I триместре беременности, по данным выписок новорожденных, показали, что серологические маркеры острой инфекции выявлены не были, а количество маркеров риска ВУИ (ЦМВИ) было единичным - 9,1% (5/43): серонегативность - 4,6% (2/43), как и высокий антителогенезIgG - 4,6% (2/43) случаев (табл. 4).

Таблица 4

Характеристика антенатальных факторов риска у ЧБД раннего возраста без признаков активной ЦМВИ

Антенатальные факторы риска ВУИ	ГС (n= 43)	
	Абс	%
Отягощенный акушерско-гинекологический анамнез	15	34,9
Угроза прерывания беременности	16	37,2
Хроническая ФПН	10	23,3
Обострение хронических УГИ	14	32,6
Рецидивирующая ВПГИ с эпизодами обострения	9	20,9
Повторные ОРВИ во время беременности	11	25,6
Обострение хронической экстрагенитальной патологии	9	20,9
Высокий антителогенез к ЦМВ	2	4,6
Серонегативность к ЦМВ	2	4,6
Маркеры острой ЦМВИ (низкий ИА IgG, наличие IgM)	0	0
Всего детей с отягощенным перинатальным анамнезом	39	90,7

В результате оперативных родов родились 11,6% (5/43) детей ГС. Согласно критериям включения, все дети были доношенными. У 7% (3/43) отмечена ЗВУР по гипотрофическому типу. Незрелых к сроку рождения детей в ГС не было. Рождение с большой массой тела установлено у 4,7% (2/43) детей.

По данным УЗИ-скрининга были выявлены следующие эмбрио- и фетодисплазии: поражение ЦНС -18,6% (8/43), почек – 13,9% (6/43), сердца – 18,6% (8/43), билиарной системы – 9,3% (4/43). Паховые и пупочные грыжи, водянка яичек и другие малые аномалии – 13,9% (6/43) (рис. 8).

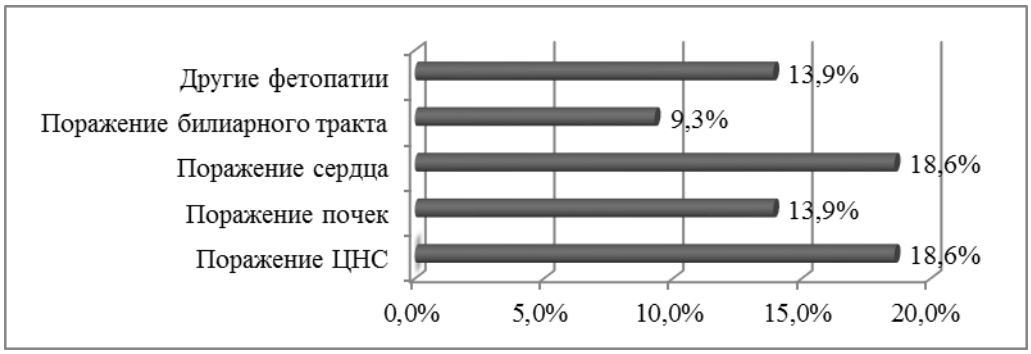

Рис. 8. Эмбрио- и фетодисплазии у ЧБД без признаков активной ЦМВИ, по данным УЗИ

В группе сравнения среди иммунопатологических состояний преобладал инфекционный синдром (93%, 40/43): частые ОРВИ с первых месяцев жизни - в 25,6% (11/43) случаев, включая не поддающиеся традиционной терапии - 27,9% (12/43); хронический тонзиллит и рецидивирующий стоматит - в 13,9% (6/43) и 4,6% (2/43), соответственно; длительный субфебрилитет - в 2,3% (1/43) детей. Кратность ОРВИ у детей группы сравнения составила 3-6 эпизодов за предшествующие полгода наблюдения. Таким образом, средний показатель ИР в ГС составил 0,60.

Госпитализация за прошедшие полгода потребовалась 18,6% (8/43) детей со средней продолжительностью - 6,6±1,4 (ДИ 5,2;8,1) дней. Потребность в антибиотикотерапии составила 1,7±0,3 (ДИ 1,4; 2,0) курса. Бактериальные осложнения ОРВИ у детей ГС встречались в 44,2% (19/43) случаев и были представлены пневмонией - 16,3% (7/43), бронхитом - 18,6% (8/43) в 37,5% (3/8) с обструктивным синдромом; острым средним отитом 23,3% (10/43) в 30% (3/10) рецидивирующего характера; ангиной - 4,6% (2/43).

Лимфопролиферативный (мононуклеозоподобный) синдром, диагностированный при клиническом обследовании у 41,8% (18/43) больных, был представлен полиаденопатией - 4,6% (2/43); гепато- и спленомегалией - 9,3% (4/43) и 4,6% (2/43) случаев, соответственно, а также гиперплазией и гипертрофией небных миндалин (ГНМ) I- II ст. – 23,3% (10/43), III ст. – 13,9% (6/43); аденоидитом I-II ст. – 27,9% (12/43), III ст. – 7% (3/43); фолликулярным и гранулёзным фарингитом - 27,9% (12/43).

Аллергический синдром, выявленный в 27,9% случаев (12/43), проявлялся рецидивирующим обструктивным бронхитом в 11,6% (5/43) случаев и атопическим дерматитом в 16,3% (7/43), манифестация которого с первых месяцев жизни наблюдалась у 3 из 7 детей при наличии генетической предрасположенности (рис. 9).

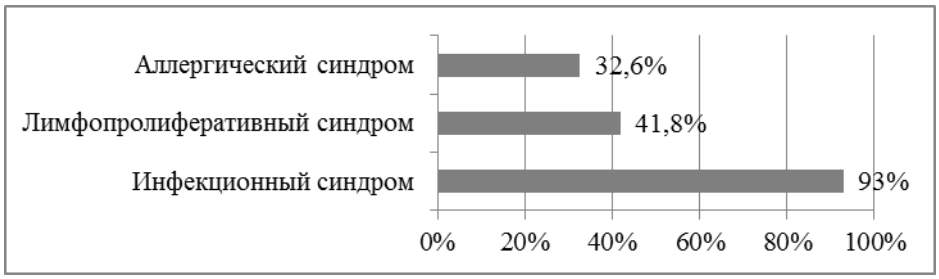

Рис. 9. Распространенность иммунопатологических синдромов у ЧБД без признаков активной ЦМВИ

Анемия на первом году жизни была выявлена у 30,2% (13/43) детей и в 84,6% случаев (11/13) носила железодефицитный характер.

Функциональные и органические поражения ЦНС зарегистрированы в историях развития 27,9% (12/43) пациентов. Органические поражения ЦНС были представлены кистами головного мозга в 4,6% (2/43) случаев, а также расширением межполушарной щели в 11,6% (5/43) случаев без отдаленных последствий к моменту включения в ГС.

Непродолжительная непрямая гипербилирубинемия без волнообразности течения была описана в 32,6% (14/43) историй развития.

Основные характеристики гемограммы ЧБД без активации ЦМВИ: лейкопения – 14% (6/43) со средним уровнем 5,7±0,4×10^9/л (ДИ 5,2;6,1), лейкоцитоз- 18,6% (8/43) со средним уровнем 12,1±0,9×10^9/л (ДИ 11,3;13,0); абсолютная нейтропения – 39,5% (17/43) со средним уровнем 1366,4± 103,4 (ДИ 1263,0; 1469,7) клеток в мкл, абсолютный нейтрофилез – 13,9% (6/43) со средним уровнем 4686±328,0 (ДИ 4358,7; 5014,7) клеток в мкл; абсолютная лимфоцитопения – 13,9% (6/43) со средним уровнем 2883,3±265,3 (ДИ 2618,0; 3148,6) клеток в мкл, абсолютный лимфоцитоз - 23,3% (10/43) со средним уровнем 7604,0±1043,4 (ДИ 6560,6; 8647,4) клеток в мкл; абсолютный моноцитоз - 37,2% (16/43) со средним уровнем 1084,4±174,8 (ДИ 909,6; 1259,1).

Иммунологическое исследование свидетельствовало о недостаточности гуморального звена иммунитета: снижение IgA - у 30,2% (13/43) детей со средним уровнем 35,2±2,0 нг/дл (ДИ 33,1; 37,2), IgG – у 18,6% (8/43) со средним уровнем 403,1±29,2 нг/дл (ДИ 373,9; 432,4) и IgM – 11,6% (5/43) детей ОГ со средним уровнем 52,6±8,5 нг/дл (ДИ 44,1; 61,1). Сочетанные варианты гипоиммуноглобулинемии имели место у 9,3% (4/43) детей: снижение IgA и IgG – 7% (3/43); IgA, IgG и IgM – 2,3% (1/43).

Биохимические маркеры поражения печени в ГС обнаружены не были. У 13,9% (6/43) имело место изолированное повышение АСТ, что является неспецифическим показателем воспалительного процесса.

3.3. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ И ЛАБОРАТОРНЫХ ПРОЯВЛЕНИЙ У ЧБД РАННЕГО ВОЗРАСТА ПРИ АКТИВНОЙ ЦМВИ И БЕЗ ПРИЗНАКОВ АКТИВАЦИИ.

Достоверные различия в сравниваемых группах выявлены в отношении антенатальных факторов риска ВУИ, свидетельствующих о выраженной гипоксии ребенка: частота угрозы прерывания беременности в ОГ превышала в 1,6 раз, составив 59,8% против 37,2% в ГС (p=0,02); признаки хронической ФПН – в 1,8 раз: 42,0%, против 23,3% в ГС (p=0,04). Серологические маркёры острого инфекционного процесса (хронической активной ЦМВИ) встречались только в ОГ - 24%. При этом, если в ОГ имели многофакторность риска ВУИ все дети (100%), то в ГС 9,3% детей таковых не имели (табл. 5).

Таблица 5

Сравнительная характеристика факторов риска антенатального периода у ЧБД раннего возраста ОГ и ГС

Антенатальные факторы риска ВУИ	ОГ n = 112		ГС n = 43		χ^2	P
	Абс.	%	Абс.	%		
Отягощенный акушерско-гинекологический анамнез	46	41,1	15	34,9	0,27	0,6
Угроза прерывания беременности	67	59,8	16	37,2	5,50	0,02
Хроническая ФПН	47	42,0	10	23,3	3,9	0,04
Обострение хронических УГИ	42	37,5	14	32,6	0,15	0,69
Рецидивирующая ВПГИ	40	35,7	9	20,9	2,49	0,11
Повторные ОРВИ во время беременности	31	27,7	11	25,6	0,004	0,95
Обострение хронической экстрагенитальной патологии	28	25	9	20,9	0,10	0,75
Высокий антителогенез к ЦМВ	21	18,7	2	4,6	3,8	0,05
Серонегативность к ЦМВ	23	20,5	2	4,6	4,7	0,03
Маркеры острой ЦМВИ (низкий ИА IgG, наличие IgM)	12	10,7	0	0	3,6	0,05
Всего детей с отягощенным перинатальным анамнезом	112	100	39	90,7	7,3	0,007

Косвенным признаком внутриутробного неблагополучия ребенка является наличие малых аномалий развития (псевдопороков) - эмбрио- и фетодисплазий. Известно, что при внутриутробном инфицировании данные проявления могут быть полиморфны [34]. Поражения ЦНС, типичные для ВУИ цитомегаловирусной этиологии, подробно описаны отечественными и зарубежными авторами. И действительно, достоверно чаще в 3 раза они встречались в ОГ, чем в ГС: 57,1% (64/112) против 18,6% (8/43) в ГС (p=0,00). По данным УЗИ, поражение почек также регистрировалось в 2,8 раз чаще в ОГ: 38,4% (43/112) против 13,9% (6/43) в ГС (p=0,006), что обусловлено особой тропностью ЦМВ к эпителию почечных канальцев [63]. Ультразвуковые находки различных морфологических изменений гепато-билиарного тракта также достоверно чаще в 3 раза были обнаружены в ОГ: 28,6% (32/112) против 9,3% (4/43) в ГС (табл. 6).

Таблица 6

Сравнительный анализ частоты эмбрио- и фетодисплазий в ОГ и ГС по днным УЗИ

Эмбрио- и фетодисплазии	ОГ n=112		ГС n=43		χ^2	P
	Абс	%	Абс	%		
Поражение ЦНС	64	57,1%	8	18,6%	17,0	0,001
Поражение почек	43	38,4%	6	13,9%	7,49	0,006
Поражение сердца	14	22,9%	8	18,6%	0,51	0,47
Поражение билиарного тракта	32	28,6%	4	9,3%	5,43	0,02
Другие фетопатии	24	21,4%	6	13,9%	0,68	0,40

Сравнительная характеристика иммунопатологических синдромов у ЧБД ОГ и ГС представлена в таблице 7. Частота регистрации инфекционного синдрома в исследуемых группах не имела достоверных различий, т.к. дети ОГ и ГС относились к категории ЧБД. Вместе с тем, с высокой достоверностью в 2,6 раза отличался возраст начала повторных ОРВИ: с первых месяцев жизни - у 67,8% (76/112) детей против 25,6% (11/43) в ГС (p=0,001), а также наличие длительного субфебрилитета (в 4,2 раза): в ОГ в 14,3% случаев против 3,4% в ГС (p=0,06).

В отношении лимфопролиферативного синдрома достоверные различия установлены по отдельным клиническим проявлениям. Это касается гипертрофии небных миндалин 1 и 2 степени, которая встречалась в ОГ чаще в 1,8 раза у 42% (47/112) детей против 23,3% (10/43) в ГС (p=0,05) и аденоидита 1 и 2 степени - у 45,5% (51/112) против 27,9% (12/43) в ГС (в 1,6 раза чаще) (p=0,07).

Атопический дерматит, как проявление аллергического синдрома, также достоверно чаще в 2,6 раза регистрировался в ОГ: 42,8% (48/112) против 16,3% (7/43) в ГС (p=0,04) (табл. 7).

Таблица 7

Сравнительная характеристика иммунопатологических синдромов у ЧБД ОГ и ГС

Клинические проявления иммунопатологических синдромов	ОГ n = 112		ГС n = 43		χ^2	P
	Абс.	%	Абс.	%		
Инфекционный синдром	108	96,4	40	93	0,23	0,63
ОРВИ с первых месяцев жизни	76	67,8	11	25,6	20,8	0,002
ОРВИ, не поддающиеся традиционной терапии	33	29,5	12	27,9	0,0	0,99
Хронический тонзиллит	21	18,8	6	13,9	0,21	0,63
Длительный субфебрилитет	16	14,3	1	2,3	3,4	0,06
Стоматиты	10	8,9	2	4,6	0,31	0,57
Рецидивирующие ИМВП	10	8,9	2	4,6	0,31	0,57
Индекс резистентности	0,71		0,6		2,2	0,13
Лимфопролиферативный синдром	54	48,2	18	41,8	0,28	0,59
Полиаденопатия	12	10,7	2	4,6	0,75	0,38
Гипертрофия небных миндалин I-IIст.	47	42	10	23,3	3,9	0,05
Гипертрофия небных миндалин IIIст.	17	15,1	6	13,9	0,004	0,9
Аденоид I-II ст.	51	45,5	12	27,9	3,3	0,07
Аденоид III ст.	13	11,6	3	7	0,3	0,58
Гепатомегалия	21	18,8	4	9,3	1,4	0,23
Спленомегалия	14	12,5	2	4,6	1,3	0,25
Гранулёзный фарингит	22	19,6	12	27,9	1,3	0,25
Аллергический синдром	52	46,4	12	27,9	3,6	0,05
Атопический дерматит	48	42,8	7	16,2	4,4	0,004
Обструктивный бронхит	9	8	5	11,6	0,14	0,7
Аутоиммунный синдром	2	1,8	0	0	0,08	0,9

Статистически значимые различия установлены и по отклонениям лабораторных показателей в исследуемых группах (табл. 8). Достоверно чаще в 1,8 раза встречалась нейтропения как самостоятельное проявление нарушения иммунитета в ОГ: 70,5% (79/112) против 39,5% (17/43) в ГС (p=0,00). Нейтропения в сочетании с комбинированной гипоиммуноглобулинемией A, M и G в 11,6% (13/112) встречалась только в ОГ (p=0,04). Статистически достоверные различия получены и по изолированному снижению IgA в ОГ (в 2,4 раза): 61,6% (69/112) против 30,2% (13/43) в ГС (p=0,00) и по снижению IgG также у детей с реактивацией хронической ЦМВИ: 38,4% (43/112) против 18,6% (8/43) (p=0,03) (в 2 раза).

Такие типичные для ВИН гематологические изменения, достоверно чаще встречавшиеся в ОГ можно объяснить выраженным иммуносупрессивным действием вирусов цитомегалии.

Повышение АЛТ - биохимического маркера цитолиза при гепатите – было зарегистрировано только при реактивации ЦМВИ (в ОГ): 15,2% (17/112) (p=0,001), всегда в сочетании с АСТ, в 3 случаях с повышенным маркером холестаза - ГГТ. В ГС повышения АЛТ и ГГТ не зарегистрировано ни в одном случае (табл. 8).

Таблица 8

Сравнительная характеристика частоты отклонений лабораторных показателей в ОГ и ГС

Лабораторный синдром	ОГ n= 112		ГС n = 43		χ^2	P
	Абс.	%	Абс.	%		
Лейкопения	29	25,9	6	14	1,8	0,16
Лейкоцитоз	15	13,4	8	18,6	0,31	0,57
Нейтропения	79	70,5	17	39,5	11,3	0,001
Нейтрофилёз	12	10,7	6	13,9	0,06	0,7
Лимфоцитоз	31	27,7	10	23,3	0,12	0,7
Лимфоцитопения	22	19,6	6	14	0,34	0,55
Моноцитоз	52	46,4	16	37,2	0,73	0,39
Нейтропения с лимфоцитопенией	17	15,2	5	11,6	0,09	0,75
Снижение иммуноглобулина А	69	61,6	13	30,2	11,04	0,0004
Снижение иммуноглобулина G	43	38,4	8	18,6	4,6	0,03
Снижение иммуноглобулина М	17	15,2	5	11,6	0,09	0,75
Сочетанное снижение иммуноглобулинов А и G	35	31,3	5	11,6	5,2	0,22
Сочетанное снижение иммуноглобулинов А и М	4	3,6	0	0	0,47	0,49
Сочетанное снижение иммуноглобулинов А, М и G	17	15,2	2	4,7	2,3	0,13
Сочетанное снижение общих иммуноглобулинов с нейтропенией	13	11,6	0	0	4,0	0,04
Повышение АЛТ и АСТ	17	15,2	0	0	5,6	0,01
Повышение ГГТ	3	2,7	0	0	0,18	0,66
Изолированное повышение АСТ	15	13,4	6	13,9	0,02	0,86

Таким образом, сравнительный клинико-эпидемиологический анализ здоровья ЧБД амбулаторных пациентов с верифицированной реактивацией

хронической ЦМВИ и без признаков активной инфекции позволил выявить статистически значимые отличия, представленные на рисунках 11, 12. Факторы риска антенатального периода, способствующие гипоксии плода и активации оппортунистических вирусных инфекций, а именно, угроза прерывания беременности – чаще в 1,6 раза; хроническая ФПН - в 1,8 раз. Данные УЗИ-скринига новорожденных: поражения ЦНС - чаще в 3 раза; почек - 2,8 раз; печени – в 3 раза.

Серологические маркёры высокого риска ЦМВИ у беременных матерей, многофакторность риска во всех случаях и тяжелая патология, потребовавшая госпитализации в ОРИТ в периоде новорожденности – только при верифицированной активной ЦМВИ (рис.10).

Возраст начала частых ОРВИ с первых месяцев жизни – чаще в 2,6 раза; длительный субфебриллитет – в 4,2 раза; лимфопролиферативный синдром с гипертрофией миндалин 1-2 степени и аденоидита 1-2 степени – в 2,3 – 2 раза; атопический дерматит – в 2 раза.

Лабораторные проявления ВИН такие, как нейтропения, были выявлены при реактивации хронической ЦМВИ внутриутробного происхождения в 1,8 раз чаще, а снижение показателей IgA - в 2,4 раза. Нейтропения в сочетании с гипоиммуноглобулинемией IgG и IgA имела место только при верификации активной инфекции, также как сочетанная гиперферментемия АЛТ и АСТ (рис.11).

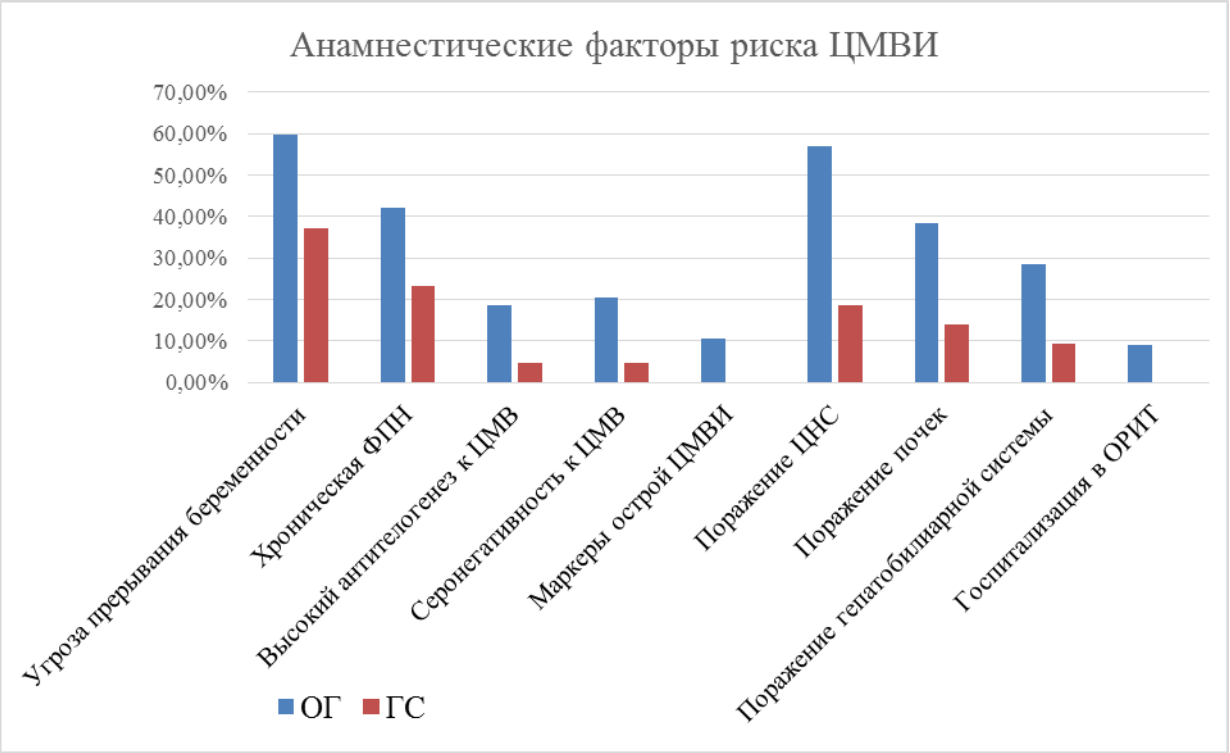

Рис. 10. Сравнительная диаграмма достоверных отличий частот анамнестических факторов риска ЦМВИ в ОГ и ГС

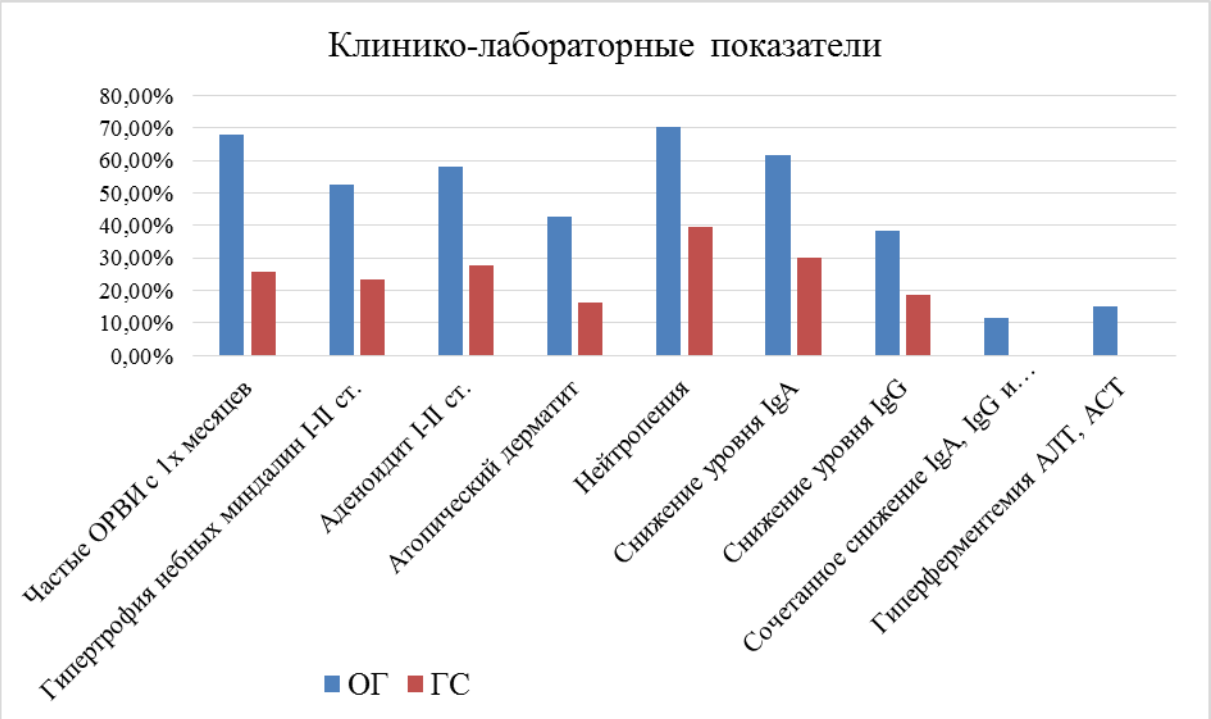

Рис. 11. Сравнительная диаграмма достоверных отличий частот клинико-лабораторных признаков в ОГ и ГС

Выявленные отличия могут рассматриваться как маркеры реактивации хронической ЦМВИ внутриутробного происхождения, а значит, могут служить для клинической диагностики в практике детской поликлиники. На основании полученных данных разработан алгоритм диагностики ЦМВИ в амбулаторной практике (рис. 12).

Выявление анамнестических факторов риска хронической ЦМВИ

1 этап

Со стороны матери (антенатальный период)

1. Наличие лабораторных маркёров активации ЦМВИ: высокий уровень IgG, низкий индекс авидности IgG; положительная ПЦР или серонегативность к ЦМВ.
2. Наличие лабораторных маркёров активации или серонегативности к другим оппортунистическим инфекциям.

2 этап

Выявление клинических факторов риска хронической ЦМВИ

У матери во время беременности

1. Заболевания мочеполовой системы, в том числе, пролонгированный дизбиоценоз урогенитального тракта.
2. Инфекционные заболевания, включая ОРВИ и их кратность.
3. Реактивация хронической ВПГИ с указанием кратности и триместра.
4. Иммунодефицитные состояния.

У ребёнка в неонатальном периоде

1. ЗВУР, недоношенность, незрелость к сроку.
2. Необъяснимо низкие прибавки в массе.
3. Затяжная (более 3 недель) желтуха, гепатоспленомегалия, волнообразность течения.
4. Ранняя манифестация аллергического синдрома без наследственной отягощенности.
5. ОРИ с первых месяцев жизни без контакта с вирусо/бактериовыделителями.
6. Тромбоцитопения, анемия, нейтропения, гипоиммуноглобулинемия, толерантные к традиционной терапии.

+ ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ МАРКЕРЫ ЦМВИ (УЗД)

Лабораторное подтверждение диагноза

3 этап

Наличие лабораторных маркёров активной ЦМВИ:

1. IgM и/или низкого ИА IgG к ЦМВ
2. ВН ЦМВ из слюны>3,9lg копий/мл и/или ВН из мочи >3,1lg копий/мл

Отсутствие лабораторных маркеров активной ЦМВИ:

1. Отрицательные IgM и наличие IgG к ЦМВ с высоким ИА
2. ВН ЦМВ из слюны <3,9lg копий/мл и/или ВН из мочи <3,1lg копий/мл

Активная форма хронической ЦМВИ

Неактивная форма хр. ЦМВИ / Латентная ЦМВИ

1. Медикаментозная терапия хронической ЦМВИ.
2. Динамическое клиническое наблюдение, лабораторный мониторинг 1 раз в 3 месяца.

1. Профилактика реактивации при хроническом течении.
2. Динамическое клиническое наблюдение, лабораторный мониторинг при наличии признаков реактивации.

Рис. 12. Алгоритм постановки диагноза и контроля терапии хронической ЦМВИ у детей раннего возраста

Заключение. Доля детей с верифицированной ЦМВИ среди диспансерной группы ЧБД в детских поликлиниках г. Перми составляет 23,1%. Статистически достоверная вариабельность показателей частоты выявляемости ЦМВИ связана с отсутствием единых подходов к обоснованию диагноза и лабораторного подтверждения.

Хроническая ЦМВИ характеризуется многофакторностью сочетаний перинатального риска внутриутробной инфекции; множественностью фето- и эмбриодисплазий; реактивацией в раннем возрасте в виде инфекционного, лимфопролиферативного и аллергического синдромов, часто с первых месяцев жизни, без наследственной предрасположенности, на фоне высокой частоты и комбинаций лабораторных маркёров ВИН.

Основой диагностического алгоритма должен служить клинико-эпидемиологический анализ истории развития ребенка, начиная с антенатального периода.

ГЛАВА IV. АНАЛИЗ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ И СПЕЦИФИЧНОСТИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИРУСНОЙ НАГРУЗКИ В ПЦР И КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ СОПОСТАВЛЕНИЯ ПРИ РЕАКТИВАЦИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ЦМВИ

4.1. СЕРОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ РЕАКТИВАЦИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ЦМВИ.

Согласно условиям исследования, основную группу наблюдения составили дети с верифицированной ЦМВИ. Реактивация ЦМВИ в основной группе исследования была верифицирована по обнаружению специфических IgM в 51,8% (58/112) случаев и по IgG с низкой степенью авидности (ИА<0,3) в 48,2% (54/112) случаев.

В целом IgG к ЦМВ выявлены у 89,3% детей (100/112).

В настоящем исследовании распределение значений было следующим:

- отрицательные результаты (AI<0,8) определены у 12/112 (10,7 %) детей;

- сомнительные результаты (AI=0,9-1,0) не получены;

- положительный результат (AI>1,1) определены у 100/112 (89,3%) детей.

Полученные в результате исследования значения IgG к ЦМВ определялись в диапазоне AI=1,1; 41,3. Медиана исходной выборки для значений индекса AI=11,0. Среднее арифметическое значение в исходной выборке $\bar{x}_{AI}$=14,1±1,4, среднеквадратичное отклонение значений индекса AI для IgG к ЦМВ σ=14,0. Доверительный интервал значений индекса AI для IgG к ЦМВ, при 95,0% значимости ДИ (10,6;17,6) (табл. 9).

Таблица 9

Статистическая характеристика значений IgG в основной группе

Показатель	Исходная выборка
Максимум	41,3
Верхний квартиль	17,3
Среднее	14,1

арифметическое	
Медиана	11,0
Нижний квартиль	6,0
Минимум	1,1
Количество значений	112
Среднеквадратическое отклонение	14,0
Коэффициент вариации	102%
Стандартная ошибка средней	1,4
Доверительный интервал средней	±3,5
Нижняя граница	10,6
Верхняя граница	17,6
Значимость p	95%

Значения индекса AI выражают концентрацию иммуноглобулинов IgG к ЦМВ, и косвенно подтверждают напряженность иммунитета к данной инфекции.

Обнаружение только анти-ЦМВ-АТ IgG не позволяет охарактеризовать период заболевания. Антитела данного класса, появляясь вслед за IgM в острой фазе инфекционного процесса, продолжают синтезироваться в течение длительного времени в ответ на антигенную стимуляцию, обусловленную присутствием вируса ЦМВ в тканях и органах. Сегодня нет достоверных сведений о корреляции увеличения титра IgG и уровня интенсивности репликации вируса.

Было установлено, что в основной группе исследования антитела класса IgM были выявлены у 51,8 % (58/112) детей, в сочетании с низкоавидными анти-ЦМВ-АТ IgG в 34,5% (20/58) случаев.

Авидность IgG определялась только у детей, в сыворотке крови которых были выявлены антитела к ЦМВ класса IgG (100/112). Значения индекса

авидности распределились следующим образом: в 66% (66/100) – ниже 30%, в 26% (26/100) в диапазоне от 30 до 60%, и в 8,0% (8/100) - в диапазоне более 70%.

Таблица 10

Статистическая характеристика значений ИА IgG в основной группе

Показатель	Исходная выборка
Максимум	0,95
Верхний квартиль	0,48
Среднее арифметическое	0,37
Медиана	0,29
Нижний квартиль	0,25
Минимум	0,09
Количество значений	112
Среднеквадратическое отклонение	0,02
Коэффициент вариации	56%
Стандартная ошибка средней	0,02
Доверительный интервал средней	±0,039
Нижняя граница	0,33
Верхняя граница	0,41
Значимость p	95,0%

Полученные в результате исследования значения ИА определялись в диапазоне от 9 до 95%. Медиана исходной выборки составила 29%. Среднее арифметическое значение в исходной выборке $\bar{x}_{ИА}$=37±2%, среднеквадратичное отклонение значений ИА σ=0,02. Доверительный интервал значений при 95,0% значимости ДИ (33;41).

Анализируя полученные значения ИА IgG к ЦМВ, можно сделать вывод, что у 66,0% детей реактивация ЦМВИ произошла не позднее 3 месяцев к

моменту обследования, в 26,9% случаев с момента инфицирования прошло от 3 до 6 месяцев, и лишь в 8,0% недавняя реинфекция исключалась, однако эти пациенты имели IgM, как показатели активности инфекционного процесса.

4.2. РЕЗУЛЬТАТЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИРУСНОЙ НАГРУЗКИ В ПЦР.

На следующем этапе исследования решалась задача выявления маркеров ЦМВИ прямым методом ПЦР в реальном времени с количественным определением ДНК ЦМВ в трех средах: крови, моче и в слюне.

В целях решения задачи определения вирусной нагрузки ЦМВ, сопоставления с результатами серологического метода и возможности использования полученных значений концентрации вируса для оценки эффективности терапии по динамике значений ВН интегральная шкала количественной оценки ПЦР (коп/мл) была заменена на логарифмическую (log/ml). Порог чувствительности метода в пересчете на логарифмическую шкалу составляет 2,6 lg. Изменение вирусной нагрузки обозначают как N log10, где N — это степень, в которую возводится 10. Так, например, значение результатов ПЦР в 500 000 коп/мл, в переводе на логарифмическую шкалу выглядит как 5,7 lg.

Известно, что выявление ДНК ЦМВ в клетках крови свидетельствует об активной острой ЦМВИ, с высокой степенью коррелируя с клиническими симптомами ЦМВ-болезни. Прямая корреляция между величиной вирусной нагрузки и интенсивностью клинических симптомов при врожденной ЦМВИ была констатирована в работе исследователей США [85]. Однако, отрицательный результат определения ДНК в плазме крови не исключает возможность репликации вируса в желудочно-кишечном тракте [8, 45], костном мозге, коже, нервных ганглиях, лимфоузлах и др., что наиболее характерно для группы гамма-герпесвирусов.

Обнаружение ДНК ЦМВ в моче, как в исходно стерильной биологической среде, свидетельствует о контаминации мочи вирусом при его

нисходящем поступлении в мочевыделительную систему ребенка. В связи с этим обнаружение ЦМВ в моче рассматривалось нами, как признак реактивации вируса. Известны также работы зарубежных авторов, указывающие на то, что в моче ДНК ЦМВ обнаруживается в количествах в 180 раз больших, чем в крови [97].

Выбор слюны, как биологического объекта исследования, был обоснован прежде всего неинвазивностью методики. Слюна идеально подходит для диагностики, так как содержит специфические растворимые биологические маркеры (биомаркеры), имеет осмотическое давление и гидратацию.

Присутствие внутриклеточной ДНК ЦМВ в слюне и моче является маркером инфицированности и может свидетельствовать об определенной вирусной активности.

Для удобства расчетов все полученные значения вирусной нагрузки (ВН) ранжировались по следующей схеме:

1. ВН ≥ 6,0 lg - высокая вирусная нагрузка (ВВН).
2. 4,0 lg ≤ ВН < 6,0 lg - средняя вирусная нагрузка (СВН).
3. ВН < 4,0 lg - низкая вирусная нагрузка (НВН).

По результатам молекулярно-генетического исследования методом ПЦР, в основной группе ДНК ЦМВ была обнаружена в крови у 2,6 % (3/112) детей, в моче у 81,3 % (91/112) детей, в слюне у 95,5% (107/112). Хотя бы в одной среде ДНК ЦМВ обнаруживалась у всех (100%) пациентов ОГ. Вирусная ДНК не определялась в 18,7% (21/112) случаев - в моче, в слюне 4,5% (5/112), p=0,002.

При сравнительном анализе ВН ЦМВ в моче и слюне выявлены достоверные различия значений медиан: в моче - lg3,7± 0,2 копий ДНК/мл (ДИ 3,1;7,9), в слюне - lg4,9±0,1 копий ДНК/мл (ДИ 4,8;5,3) (t=-4,8, p=0,001) (табл. 11).

Таблица 11

Описательная статистика значений ДНК ЦМВ (log/мл)
в моче и слюне (ОГ)

Показатель ДНК ЦМВ (log/мл)	Значение в среде - моча (n=91)	Значение в среде-слюна (n=107)
Максимум	7,9	7,7
Верхний квартиль	5,1	6,1
Среднее арифметическое	3,5	5
Медиана	3,7	4,9
Нижний квартиль	2,9	4,5
Минимум	2,6	0
Количество значений	112	112
Среднеквадратическое отклонение	2,0	1,5
Коэффициент вариации	58%	30%
Стандартная ошибка средней	0,2	0,1
Нижняя граница ДИ	3,1	4,8
Верхняя граница ДИ	7,9	5,3
Значимость p	95,0%	95,0%

Доверительные интервалы также имели некоторые отличия, так ДИ для значений ДНК в моче составил (3,1;7,9), что гораздо шире, чем для значений ДНК в слюне – ДИ (4,8;5,3). При равном числе исследований и одном и том же значении стандартной ошибки (0,2) это свидетельствует о большей изменчивости данных в первом случае (58,0%) и о более высокой точности оценки – во втором.

В крови величина ВН составила 2,6 lg ±0,03, коррелируя во всех трех случаях с обнаружением антител классов IgM при средних значениях ИА (от 43,0 до 56,0%). Для дальнейшего сравнительного анализа значения вирусной

нагрузки в крови не использовались, ввиду их незначительного количества (табл. 12).

Таблица 12

Ранжирование вирусной нагрузки ДНК ЦМВ в моче и слюне в ОГ

Степень вирусной нагрузки	Среда - моча (n=112)		Среда - слюна (n=112)		χ^2	p
	Абс. значения	Доля (%)	Абс. значения	Доля (%)		
ВН=0	21	18,7	5	4,5	9,7	0,002
ВН низкая	44	39,3	8	7,1	30,6	0,001
ВН средняя	47	42,0	69	61,6	7,8	0,005
ВН высокая	0	0	30	26,8	8,9	0,003

В ходе исследования ВН у детей основной группы установлено, что в моче низкая и средняя степень ВН распределена равномерно: 39,2% и 42,0%, соответственно, высокая степень не выявлялась. В слюне доля низкой ВН составила только 7,1%, что достоверно меньше, чем в моче (p=0,001); доля средней ВН - 61,6%, что достоверно выше (p=0,005). Высокая степень вирусной нагрузки имела место только в слюне, составив 26,8% (рис. 13).

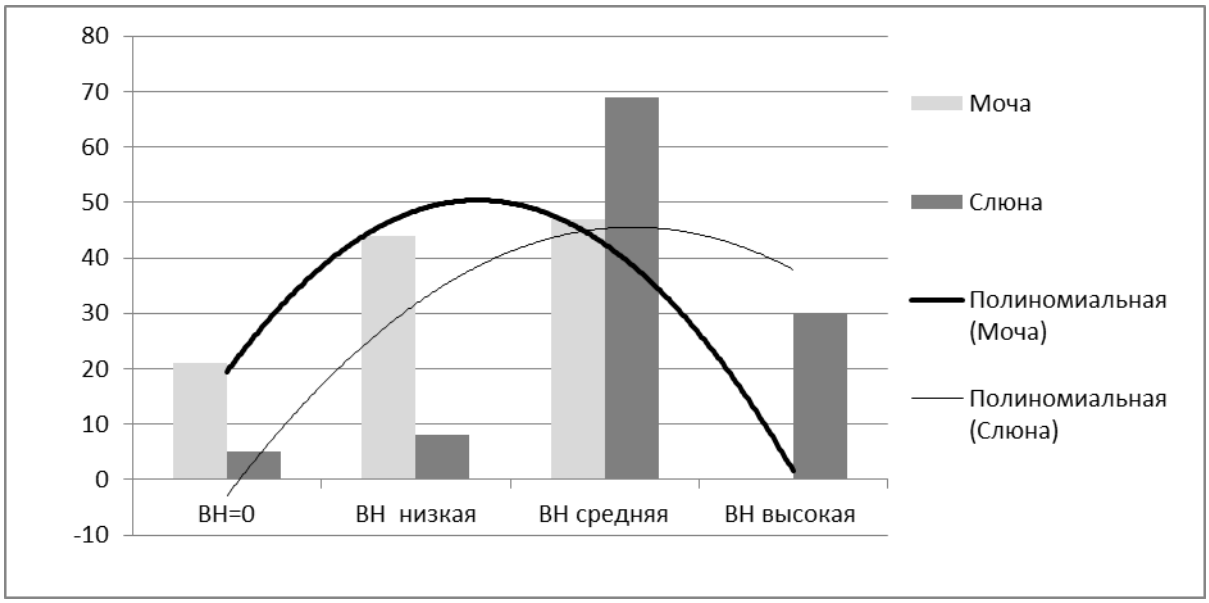

Рис. 13. Распределение значений ВН (%) в моче и слюне с полиномиальными линиями тренда

Таким образом, ДНК ЦМВ у детей ОГ определялась в моче в 81,3% случаев; медиана ВН, измеренная в десятичных логарифмах, составляла 3,7±0,02lg копий ДНК/мл, что достоверно ниже, чем в слюне (p=0,001); к низкой и средней степени ВН относились 100% всех значений. В слюне ДНК ЦМВ определялась в 95,5 % случаев; медиана ВН составляла 4,9±0,1 lg копий ДНК/мл, что достоверно выше ВН, чем в моче (p=0,001). На долю средних и высоких значений приходилось 92,0% всех измерений; только в слюне выявлена высокая ВН, составившая 26,8%.

В группе сравнения ДНК ЦМВ в крови не была обнаружена. Выявление в моче составило 6,9% (3/43), в слюне - 25,5% (11/43) при диапазоне значений в пределах ≤ 4lg, что соответствует низкой ВН (табл. 13).

При сравнении значений вирусной нагрузки ДНК ЦМВ в моче и слюне, достоверной разницы не получено: медиана ДНК ЦМВ в моче составила 2,6±0,1 lg копий/мл, в слюне - 3,1±0,2 lg копий/мл (ДИ 2,6;5,1), (p=0,09).

Сравнительный анализ полученных данных в ОГ и в ГС показал: что в крови амбулаторных пациентов раннего возраста из группы ЧБД ДНК вируса определяется крайне редко, составляя 2,6% только у детей с

верифицированной активной ЦМВИ (ОГ), причем в количествах, равных пределу чувствительности метода (2,6 lg). В моче вирус цитомегалии определяется достоверно чаще, чем в крови: в ОГ в 81,3% всех случаев, только в низкой и средней степени ВН, против 7,0% случаев в ГС и только в низкой степени ВН (χ^2=66,7, p=0,001) (рис. 14).

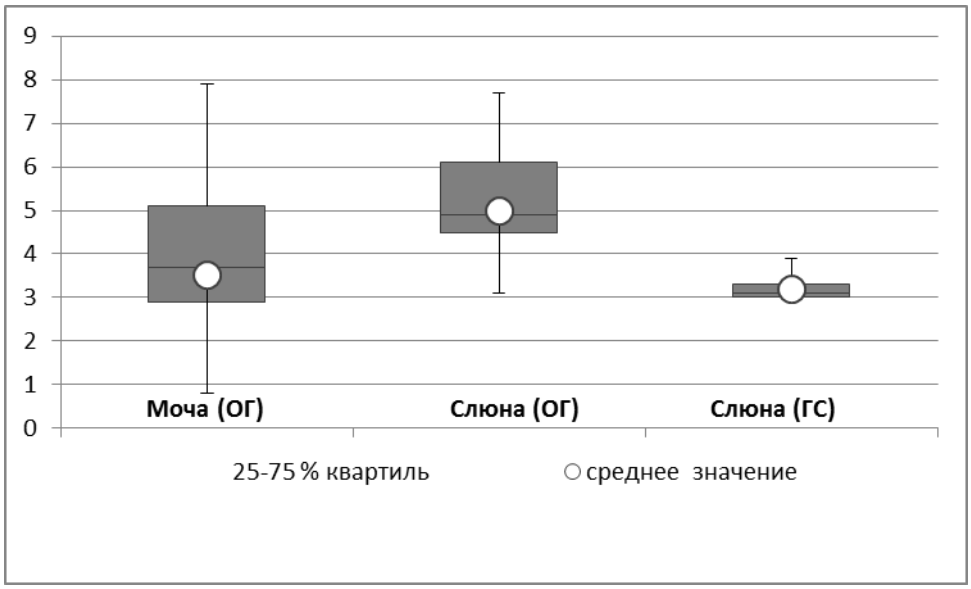

Рис. 14. Разброс значений ВН (log) в различных средах в группах сравнения

Таблица 13

Ранжирование вирусной нагрузки ДНК ЦМВ в моче и слюне в ГС

Степень вирусной нагрузки	Моча (n=43)		Слюна (n=43)		χ^2	p
	Абс. значения	Доля (%)	Абс. значения	Доля (%)		
ВН=0	40	93,0	32	74,4	4,1	0,04
ВН низкая	3	7,0	11	25,6	4,1	0,04
ВН средняя	0	0	0	0	0	0
ВН высокая	0	0	0	0	0	0

В слюне детекция вируса методом ПЦР в реальном времени была максимальной, достигая 95,5% в ОГ и 25,6% в ГС (табл. 14).

Таблица 14

Ранжирование вирусной нагрузки ДНК ЦМВ в моче и слюне в ОГ и ГС

Степень ВН	ОГ				Р	ГС				Р
	Моча (n=112)		Слюна (n=112)			Моча (n=43)		Слюна (n=43)		
	Абс.	Доля (%)	Абс.	Доля (%)		Абс.	Доля (%)	Абс.	Доля (%)	
0	21	18,7	5	4,5	0,002	40	93,0	32	74,4	0,04
Низкая	44	39,3	8	7,1	0,001	3	7,0	11	25,6	0,04
Средняя	47	42,0	69	61,6	0,005	0	0	0	0	0
Высокая	0	0	30	26,8	0,003	0	0	0	0	0

Таким образом, у детей с активной хронической ЦМВИ (ОГ) с помощью ПЦР в реальном времени верификация ДНК ЦМВ составила: в моче - 81,3% случаев с низкой и средней степенью нагрузки; в слюне - 95,5 % случаев со средней и высокой степенью нагрузки в подавляющем большинстве исследований (92,0%). В ГС показатель верификации ДНК ЦМВ составил: в моче - 7%, в слюне - 25,6% только в низких количествах, не более 4lg, что в пересчете на копии в мл среды соответствует 10 000. Только в слюне детей с активной хронической ЦМВИ (ОГ) выявлена высокая вирусная нагрузка, составившая 26,8%, что в пересчете на копии в мл соответствует 1 000 000 коп/мл и более.

Возможно, эти уровни следует принять в качестве лабораторных критериев выраженности репликативной вирусной активности: при высоких значениях определяющих степень тяжести клинических форм активной ЦМВИ, а при показателях - менее 10 000 копий в мл слюны, исключающих («отсекающих») активность инфекции, т.е. свидетельствующих о периоде ремиссии или латентном течении инфекционного процесса («активность/не активность»).

4.3. СОПОСТАВЛЕНИЕ ДАННЫХ УРОВНЯ ВИРУСНОЙ НАГРУЗКИ С КЛИНИЧЕСКИМИ ДАННЫМИ (КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ ПАРАЛЛЕЛИ).

С целью решения задачи сопоставления лабораторных показателей уровня вирусовыделения ЦМВ и клинических проявлений реактивации хронической ЦМВИ у детей ОГ пациенты были разделены на 2 подгруппы: ОГ1 – с высокой ВН в слюне (30/112), ОГ2 – со средней и низкой ВН в слюне (77/112). В качестве критерия разделения на подгруппы были выбраны показатели уровня вирусовыделения из слюны по причине более узкого доверительного интервала разброса значений копий/мл, что говорит о более высокой точности показателей именно из этой среды. Среди детей ОГ у 5 из 112 ПЦР из слюны показала отрицательный результат, при наличии серологических маркёров активной инфекции.

В группе детей с высокой ВН в слюне (ОГ1) мальчиков было – 70% (21/30), девочек – 30% (9/30); в ОГ2 – мальчиков было 57,1% (44/77), девочек – 42,9 (33/77). Группы сопоставимы по полу, достоверных различий не выявлено ($p>0,05$). Сравнительная характеристика возрастных интервалов в группах с высокой (ОГ1) и средней и низкой ВН (ОГ2) представлена в таблице 15.

Таблица 15

Сравнительная характеристика возрастных интервалов в группах с высокой и средней и низкой ВН

Возрастной интервал, годы	ОГ1 (n=30)		ОГ2 (n=77)		χ^2	p
	Абс.	%	Абс.	%		
1-1,5	22	73,3	32	41,5	7,4	0,001
1,5-2	6	20,0	16	20,8	0,03	0,8
2-2,5	2	6,7	15	19,5	1,7	0,18
2,5-3	0	0	14	18,2	4,8	0,02
Всего	30	100	77	100		

Выявлены возрастные особенности уровня вирусовыделения из слюны у детей: высокий уровень ВН достоверно чаще имел место в возрасте до 1,5 лет, а в возрасте 2,5 - 3 лет отсутствовал. Снижение вирусовыделения с увеличением возраста пациентов, начиная с 1,5 лет, прослеживается и в

группе с более низким уровнем ВН (ОГ2). Именно с возрастными особенностями детей в исследуемых группах (сформированных по высоте вирусной нагрузки) можно связать более частую регистрацию хронического тонзиллита после двухлетнего возраста в ОГ2 и субфебрилитета - до 2 лет в ОГ1 с высоким уровнем репликативной активности ЦМВИ. Частота встречаемости инфекционного и лимфопролиферативного синдромов в зависимости от высоты показателя ВН не имела достоверных различий. Однако и полиаденопатия достоверно чаще встречалась в ОГ1 у самых младших детей, что можно расценить как иммунный ответ на активную репликацию лимфотропного β-герпесвируса (ЦМВ) в организме иммунокомпрометированного ребенка. Аллергический синдром также достоверно чаще встречался у детей с высокими показателями вирусовыделения из слюны (табл. 16).

Таблица 16

Сравнительная характеристика иммунопатологических синдромов у детей ОГ1 и ОГ2

Клинические проявления ВИН	ОГ1 n = 30		ОГ2 n=77		χ^2	P
	Абс.	%	Абс.	%		
Инфекционный синдром	30	100	75	97,4	0,794	0,92
ОРВИ с первых месяцев жизни	24	80	50	64,9	1,6	0,2
ОРВИ, не поддающиеся традиционной терапии	12	40	20	25,9	1,4	0,23
Хронический тонзиллит	2	6,7	19	24,7	4,439	0,05
Длительный субфебрилитет	8	26,7	8	10,4	4,498	0,05
Стоматиты	4	13,3	6	7,8	0,782	0,26
Рецидивирующие ИМВП	3	10	6	7,8	0,137	0,98
Индекс резистентности	0,72		0,69			
Лимфопролиферативный синдром	13	43,3	38	49,3	0,11	0,73
Полиаденопатия	7	23,3	5	6,5	6,148	0,03
Гипертрофия небных миндалин I-IIст.	10	33,3	31	40,2	0,44	0,65
Гипертрофия небных миндалин III ст.	2	6,7	14	18,2	2,251	0,23
Аденоид I-II ст.	11	36,7	29	37,7	0,009	0,89
Аденоид III ст.	2	6,7	10	13	0,866	0,55
Гепатомегалия	10	33,3	10	13	5,881	0,03

Спленомегалия	4	13,3	10	13	0,002	0,78
Гранулёзный фарингит	9	30	13	16,9	2,274	0,2
Аллергический синдром	20	66,7	31	40,3	6,035	0,02
Атопический дерматит	18	56,7	29	37,7	4,373	0,06
Обструктивный бронхит	5	16,7	4	5,2	3,688	0,12

Потребность в госпитализации детей за последние полгода наблюдения в ОГ1 составила 23,3% (7/30) и 24,7% (19/77) в ОГ2. Длительность госпитализации в сравниваемых группах отличалась в среднем на 1 день: 10,1±4,4 (ДИ 5,7; 14,6) в ОГ1 и 9,1±1,6 (ДИ 7,5; 10,7) в ОГ2. Потребность в курсовом назначении антибиотиков также не имела достоверных отличий: 2,7±0,4 (ДИ 2,3; 3,1) и 2,8±0,3 (ДИ 2,5; 3,0), соответственно.

Основные характеристики гемограммы и показателей гуморального иммунитета детей ОГ1 и ОГ2 представлены в таблице 17. Достоверные отличия выявлены относительно нейтропении: 86,7% (26/30) в ОГ1 против 64,9% (50/77) в ОГ2 (в 1,3 раза). В группе с высокими показателями ВН в слюне достоверно чаще регистрировалась гипоиммуноглобулинемия A и G: 93,3% против 15,96% (в 5,8 раза) и 60% против 29,9% (в 2 раза), соответственно, а также сочетанные варианты снижения IgA и IgG: 56,7% против 23,4% (в 2,3 раза) и IgA и IgM: 10,0 против 1,3% (в 7,7 раз).

При биохимическом исследовании крови установлено, что маркеры поражения печени достоверно чаще выявлялись у детей ОГ1: повышение АЛТ более, чем в 2 раза, одновременно с АСТ– 40% (12/30). Повышение ГГТ у 3 детей регистрировалось только в ОГ1. Частота изолированного повышения АСТ, как неспецифического показателя воспалительного процесса, в группах достоверно не отличалась.

Таблица 17

Отклонения гемограммы и гуморального иммунитета у детей ОГ1 и ОГ2

Лабораторный синдром	ОГ1 n= 30		ОГ2 n = 77		χ^2	P
	Абс.	%	Абс.	%		
Лейкопения	10	33,3	18	23,4	1,108	0,42
Лейкоцитоз	4	13,3	9	11,7	0,055	0,92
Нейтропения	26	86,7	50	64,9	4,95	0,04
Нейтрофилёз	3	10	8	10,4	0,004	0,76
Лимфоцитоз	7	23,3	21	27,3	0,173	0,86
Лимфоцитопения	5	16,6	17	22,1	0,387	0,72
Моноцитоз	13	43,3	36	46,7	0,102	0,23
Нейтропения с лимфоцитопенией	3	10	9	11,7	0,062	0,92
Снижение иммуноглобулина А	28	93,3	40	52	14,2	0,001
Снижение иммуноглобулина G	18	60	23	29,9	8,29	0,001
Снижение иммуноглобулина М	7	23,3	10	13	1,73	0,3
Сочетанное снижение иммуноглобулинов А и G	17	56,7	18	23,4	10,87	0,001
Сочетанное снижение иммуноглобулинов А и М	3	10	1	1,3	2,4	0,11
Сочетанное снижение иммуноглобулинов А, М и G	4	13,3	6	7,8	0,78	0,6
Сочетанное снижение общих иммуноглобулинов с нейтропенией	3	10	6	7,8	0,137	0,6
Повышение АЛТ и АСТ	12	40	5	6,5	18,14	0,001
Повышение ГГТ	3	10	0	0	7,92	0,001
Изолированное повышение АСТ	6	20	9	11,7	1,24	0,42

Таким образом, в группе детей с высокими показателями уровня вирусовыделения из слюны достоверно чаще регистрировались такие клинические проявления, как длительный субфебрилитет, полиаденопатия, гепатомегалия и аллергический синдром. Среди лабораторных отклонений наиболее значимыми явились нейтропения, гипоиммуноглобулинемия А и G, а также сочетанные варианты снижения IgA и IgG, и IgA с IgM. Биохимические маркёры поражения печени, также чаще определялись в группе с высоким вирусовыделением. Совокупность клинико-лабораторных отличий между сравниваемыми группами подчёркивает системный характер инфекционного процесса, активность которого напрямую связана с

репликативной активностью вирусной инфекции (ЦМВИ) у детей из группы ЧБД. Интенсивность вирусовыделения из слюны отражает активность репликативного процесса данной вирусной инфекции в организме иммунокомпрометированного ребенка и может быть критерием оценки репликативной активности, согласно предложенному ранжированию.

4.4. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ИНФОРМАТИВНОСТИ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ.

На следующем этапе исследования была выдвинута гипотеза о сопоставимости информативности двух диагностических методов – серологического и молекулярно-генетического (ПЦР) для верификации активной формы ЦМВ-инфекции.

В основной группе исследования во всех случаях наличие активной формы ЦМВИ подтверждено серологически (IgM -51,8%, низкоавидные IgG-48,2%), и поскольку по «Протоколу оказания медицинской помощи детям, больным цитомегаловирусной инфекцией» этого достаточно, для верификации диагноза, мы приняли результаты ИФА-диагностики в качестве эталонных.

Для проведения ПЦР-диагностики, учитывая результаты предыдущих этапов исследования, были выбраны среды с наибольшей частотой детекции вирусной ДНК – моча и слюна.

При определении ВН в моче в ОГ 81,3 % (91/112) проб определялись как ПЦР-положительные, в ГС - лишь 6,9 % (3/43). Построена таблица 2х2 частот. Таким образом, из 112 человек с активной хронической ЦМВИ 91 имеет положительные результаты тестирования (истинно положительные, TP), а 21 человек имеет отрицательные результаты тестирования (ложно-отрицательные, FN), Из 43 детей, не имеющих активации ЦМВИ, 41 имеет истинно-отрицательные (TN) результаты тестирования, а 3 - ложноположительные (FP) (табл. 18).

Таблица 18

Частоты положительных и отрицательных результатов ПЦР-исследования для среда моча

Результат тестирования	ОГ (активная ЦМВИ «+»)	ГС (неактивная ЦМВИ «-»)	Итого
Положительный	91(TP)	3(FP)	94
Отрицательный	21 (FN)	41(TN)	62
Итого	112	43	155

Таким образом, чувствительность (Se), выражающая долю пациентов с активной ЦМВИ, точно идентифицированных тестом, равна: Se =91/112=0,81 (81,0%).

95% доверительный интервал (ДИ) для пропорции оценивается:

$(p-[1{,}96\times\sqrt{p\frac{(1-p)}{n}}]);\quad (p+[1{,}96\times\sqrt{p\frac{(1-p)}{n}}])$, где $\sqrt{p\frac{(1-p)}{n}}$ выражает стандартную ошибку среднего (SEM).

Для чувствительности Se =0,81, SEM=0,041, ДИ (0,73;0,89).

Специфичность (Sp), выражающая долю пациентов без активной ЦМВИ, которые точно идентифицированы тестом равна Sp=41/43=0,95 (95,0%), SEM=0,031, ДИ (0,90;1,00).

Для того чтобы определить с какой вероятностью пациент имеет/не имеет активную ЦМВИ при положительном результате ПЦР мочи, рассчитали прогностичность положительного результата теста (+VP, positive predictive value), определяемую как отношение доли пациентов с истинно положительным значением (TP), к общей доле положительных результатов (TP+FP), +VP=(TP)/ (TP+FP);

+VP (ПЦР мочи) =91/94= 0,96 = 96,0%, (SEM=0,02, ДИ (0,92;0,98).

Прогностичность отрицательного результата теста (-VP, negative predictive value), определяемая как вероятность отсутствия заболевания при отрицательном результате ПЦР-исследования мочи на ДНК ЦМВ, рассчитывается как отношение доли пациентов с истинно отрицательным значением (TN) к общему числу отрицательных результатов (TN+FN),

-VP=(TN)/ (TN+FN);

-VP (ПЦР мочи)=41/62=0,66=66,0%, (SEM=0,07, ДИ (0,56;0,79).

В практической работе, при проведении диагностического теста, врача прежде всего интересует, насколько высока вероятность болезни у лиц с положительным результатом и насколько она низка у лиц с отрицательным результатом, для определения этой вероятности рассчитываем отношение правдоподобия (LR, likelihood ratio).

Отношение правдоподобия для положительного результата (LR(+)):

$$LR(+)=Se /(1-Sp) ,$$

для отрицательного результата LR(-) : $LR(-)=(1-Se)/Sp$.

В нашем случае: LR(+) для ПЦР мочи = 16,2,

LR(-) для ПЦР мочи =0,2.

Полученное нами для положительного результата ПЦР мочи значение LR(+)=16,2 означает, что положительный результат, встречается в 16,2 раза чаще при активной ЦМВИ, чем при ее отсутствии. Высокое значение отношения правдоподобия для положительного результата в совокупности с близким к нулю значением для отрицательного, предполагает, что метод ПЦР для определения ДНК ЦМВ в моче является достаточно информативным.

При определении ВН в слюне в ОГ 95,5% (107/112) проб определялись как ПЦР-положительные, в группе сравнения - 25,5% (11/43).

Построена таблица 2х2 частот. Таким образом, из 112 человек имеющих активную ЦМВИ, 107 имеет положительные результаты тестирования (истинно положительные, TP), а 5 человек имеет отрицательные результаты тестирования (ложно-отрицательные, FN), из 43 не имеющих активации ЦМВИ 32 человека имеет истинно-отрицательные (TN) результаты тестирования, а 11 имеют ложноположительные результаты (FP) (табл. 19).

Таблица 19

Частоты положительных и отрицательных результатов ПЦР-исследования для среды слюна

Результат тестирования	ОГ (активная ЦМВИ «+»)	ГС (неактивная ЦМВИ «-»)	Итого
Положительный	107(TP)	11(FP)	118
Отрицательный	5(FN)	32(TN)	37
Итого	112	43	155

Таким образом, чувствительность (Se), выражающая долю пациентов с активной ЦМВИ, точно идентифицированных тестом, равна: Se =107/112=0,95 (95,0%), SEM=0,02, ДИ (0,92;0,98).

Специфичность (Sp), выражающая долю пациентов без активной ЦМВИ, которые точно идентифицированы тестом, равна: Sp=32/43=0,74 (74,0%), SEM=0,08, ДИ (0,59;0,89).

Для того чтобы определить с какой вероятностью пациент имеет/не имеет активную ЦМВИ при положительном результате ПЦР слюны, рассчитали прогностичность положительного результата теста (+VP, positive predictive value), определяемую как отношение доли пациентов с истинно положительным значением (TP), к общей доле положительных результатов (TP+FP), +VP=(TP)/ (TP+FP);

+VP (ПЦР слюны) =107/118= 0,90 = 90,0%, (SEM=0,03, ДИ (0,85;0,95).

Прогностичность отрицательного результата теста (-VP, negative predictive value), определяемая как вероятность отсутствия заболевания при отрицательном результате ПЦР-исследования слюны на ДНК ЦМВ, рассчитывается как отношение доли пациентов с истинно отрицательным значением (TN) к общему числу отрицательных результатов (TN+FN),

-VP=(TN)/ (TN+FN);

-VP (ПЦР слюны)=32/37=0,86=66,0%, (SEM=0,07, ДИ (0,77;0,95).

Рассчитываем отношение правдоподобия LR для положительного и отрицательного результата:

LR(+) для ПЦР слюны = 3,6,

LR(-) для ПЦР слюны =0,06.

Полученное нами для положительного результата ПЦР слюны значение LR(+)=3,6, означает, что положительный результат, по-видимому, встречается в 3,6 раза чаще при активной ЦМВИ, чем при ее отсутствии (табл. 20).

Таблица 20

Информативность ПЦР-диагностики в средах сравнения.

Среда – моча				Среда – слюна		
	Абс.	SEM	ДИ	Абс.	SEM	ДИ
Se	0,81	0,04	0,73;0,89	0,95	0,02	0,92;0,98
Sp	0,95	0,031	0,90;1,00	0,74	0,08	0,59;0,89
+VP	0,96	0,02	0,92;0,98	0,90	0,03	0,85;0,95
-VP	0,66	0,07	0,56;0,79	0,86	0,07	0,77;0,95
LR(+)	16,2			3,6		
LR(-)	0,2			0,06		

Для вычисления апостериорной (послетестовой) вероятности выдвинутой в начале исследования гипотезы воспользуемся теоремой

$$P(d \mid s) = \frac{P(s \mid d) \cdot P(d)}{P(s)}.$$

Байеса.

Эта теорема позволяет определить вероятность $P\ (d \mid s)$ появления события d при условии, что произошло событие s через заранее известную условную вероятность $P(s \mid d)$. В полученном выражении $P(d)$ – априорная вероятность наступления события d, а $P(d|s)$ – вероятность того, что событие d произойдет, если известно, что событие s свершилось. (рис. 15).

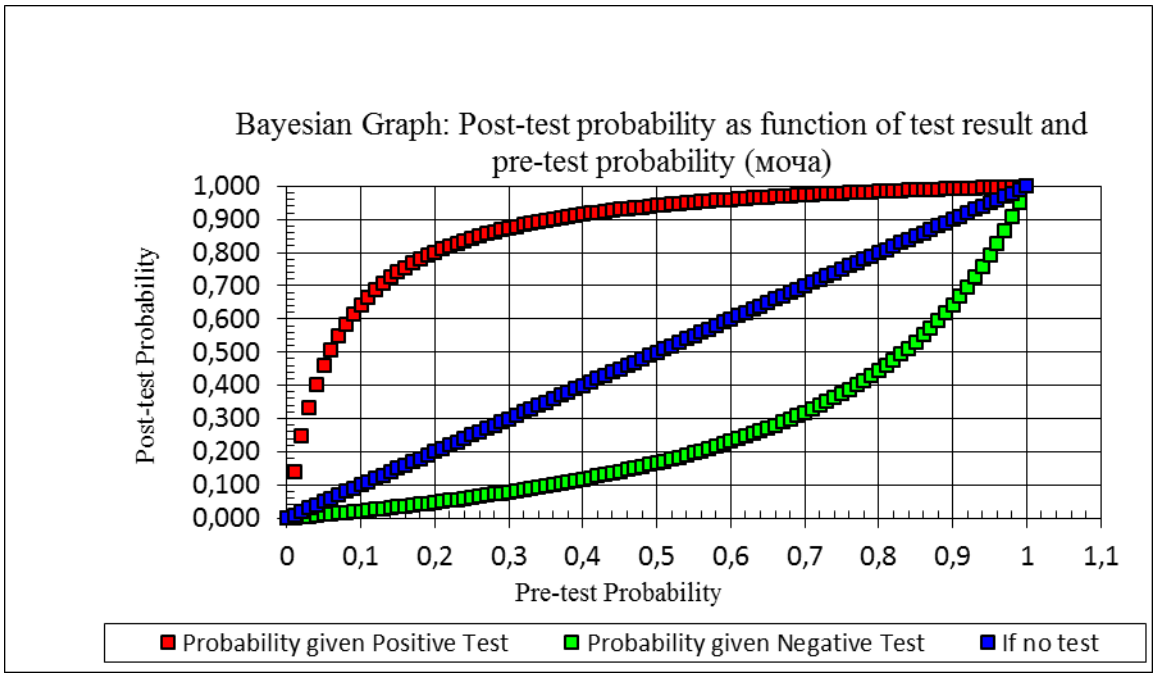

Рис. 15. Апостериорная (послетестовая вероятность) для среды – моча.

Априорная вероятность активной ЦМВ при определении ДНК вируса в моче составляет 0,81 (81,0%), априорные шансы - (0,81/(1-0,81) = 4,2 Отношение правдоподобия LR=16,2.

Произведя вычисления, получаем: апостериорные шансы 16,2×0,81/(1-0,81)=69; апостериорная вероятность 69/(1+69)=0,98.

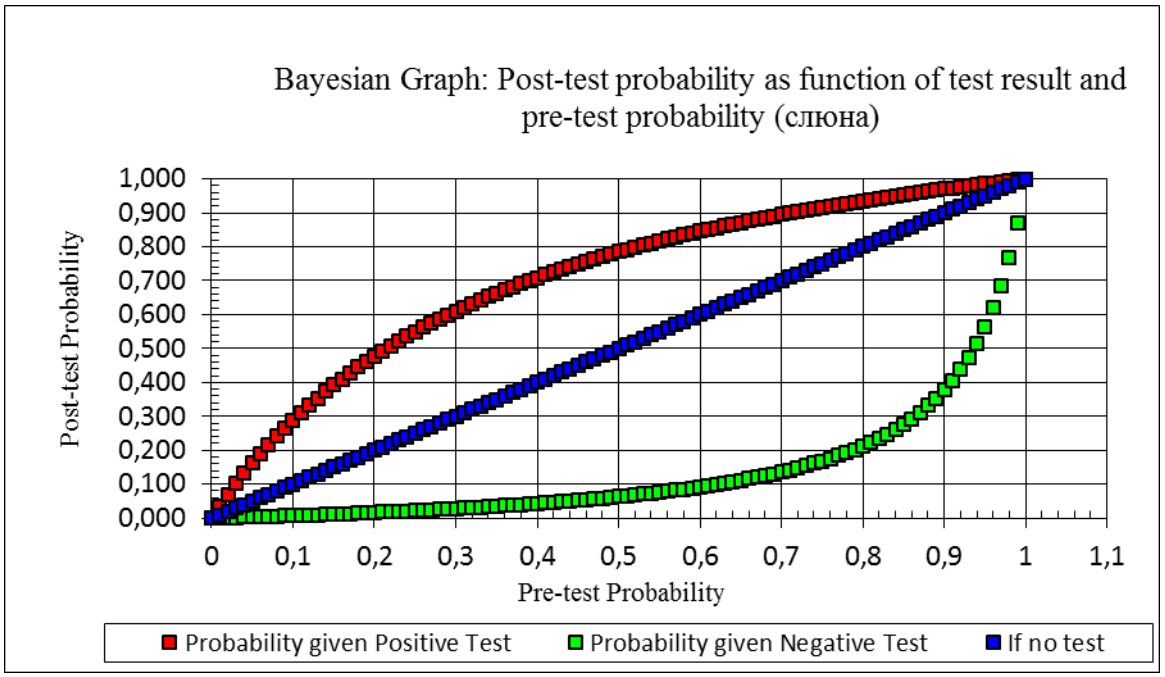

Рис. 16. Апостериорная (послетестовая вероятность) для среды – слюна.

Для слюны: априорная вероятность 0,95, априорные шансы 19, отношение правдоподобия LR=3,6, тогда - апостериорные шансы 3,6×0,95/(1-0,95)=0,68, апостериорная вероятность 69/(1+69)=0,98 (рис. 16)

Учитывая все полученные результаты, выдвинутая в начале исследования гипотеза о сопоставимой информативности двух диагностических методов может считаться достоверной с вероятностью 98,0%. Исходя из этого, в практической работе педиатра детской поликлиники с детьми из группы ЧБД для максимально точной лабораторной диагностики активной ЦМВИ методом ПЦР в реальном времени необходимо использовать две среды исследования - слюну и мочу.

4.5. ПОСТРОЕНИЕ МАТЕМАТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ АКТИВНОЙ ЦМВИ.

С целью определения наличия и характера связи между исследуемыми переменными был проведен регрессионный анализ. Независимой переменной (вход, предиктор) в нашем случае являлось значение вирусной нагрузки, выраженное десятичным логарифмом; зависимая переменная (отклик, выход)

– наличие активной ЦМВИ у пациента (да/нет). Зависимая переменная является бинарной и подчиняется биноминальному закону распределения, поэтому в качестве инструмента исследования была выбрана логистическая регрессия. С помощью логистической регрессии получим классификатор, который на выходе обеспечивает отнесение входной переменной (значение ВН) к одному из двух классов: «0»- ЦМВИ неактивна, «1»- ЦМВИ активна.

В результате проведенного корреляционного анализа взаимосвязи высоты ВН с бинарным исходом «ЦМВИ активна»/ «ЦМВИ неактивна» (1/0), для среды слюна коэффициент корреляции =0,79 (прямая сильная связь), для среды моча = 0,53 (прямая связь средней силы).

Поскольку зависимая переменная бинарна, применяя логит-преобразование в уравнении регрессии, вычислена вероятность того, что пациент классифицируется в ближайшую категорию зависимой переменной. Предсказываем непрерывную переменную со значениями на отрезке [0,1] при любых значениях независимых переменных.

Математически модель логистической регрессии представлена в виде зависимости логарифма шанса наступления прогнозируемого события (логита) от линейной комбинации факторных переменных:

$$p = \frac{1}{1 + e^{-z}}$$

где p – вероятность того, что произойдет интересующее событие, e – основание натурального логарифма, y – стандартное уравнение регрессии ($y = a + bx$, где a- оценка константы, b –коэффициент логистической регрессии, x – значение независимой переменной).

Учитывались данные значений вирусной нагрузки ДНК ЦМВ в 155 результатах ПЦР-анализа мочи (ОГ+ГС). Получено линейное уравнение регрессии: $y = -0{,}55 + 0{,}7x$, где x – значение десятичного логарифма вирусной нагрузки (табл. 21)

Таблица 21

Переменные уравнения логистической регрессии

по результатам регрессионного анализа

Фактор	Коэф ф. B	-2LL	R^2	χ^2	Ст. ошибка	Коэфф. Вальда	Значимость	Отн. шансов (exp.B)	95% ДИ для отн. шансов	
									Мин.	Макс.
Активная ЦМВИ	0,73	122,5	0,29	51,4	0,12	34,8	0,001	2,007	1,62	2,64
Константа	-0,55									

Теперь, подставив любое значение ВН, в уравнение регрессии $p=1/1+e^{-(0,55+0,7x)}$, получим значение вероятности наличия активной ЦМВИ при данной ВН. Модель является статистически значимой, p=0,001. Коэффициент детерминации (R^2) данной модели - 0,296.

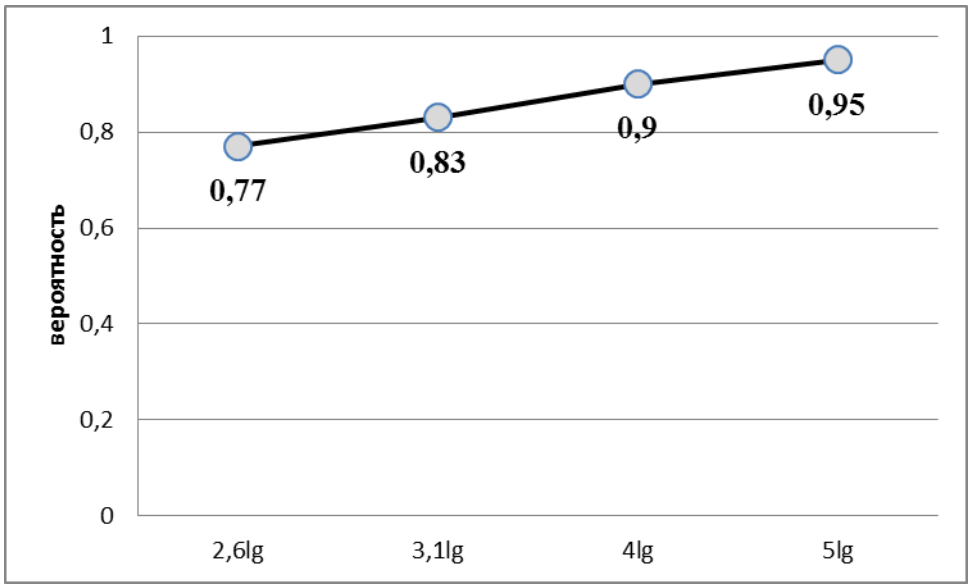

Рис. 17. Шкала вероятности активной формы ЦМВИ для среды моча

Далее подбирали пороговое значение (точка отсечения, cut off value) y_0 таким образом, что если значение y регрессионного уравнения при заданных

величинах параметров b и входов удовлетворяет неравенству $y \geq y_0$, то входной объект относят к классу «1» (ЦМВИ активна), если $y < y_0$ - к классу «0» (ЦМВИ не активна). Варьируя значение точки отсечения, каждый раз можно получить новый бинарный классификатор. Для того, чтобы выбрать из множества полученных тестов наиболее эффективный, обладающий наилучшей предсказательной способностью, использовался ROC-анализ, широко применяющийся для визуализации, упорядочивания и отбора классификаторов на основании их эффективности.

Применив ROC-анализ (пороговое значение 0,16), матрица неточностей вычисленная алгоритмом будет следующей:

Таблица 22

Матрица неточностей для оценки активности ЦМВИ

Результат тестирования	ОГ (активная ЦМВИ «+»)	ГС (активная ЦМВИ «-»)	Итого
Положительный	81 (TP)	7 (FP)	88
Отрицательный	31(FN)	36(TN)	67
Итого	112	43	155

Построен график (ROC-кривая) зависимости истинно положительного уровня (чувствительности) от ложноположительного (1 - специфичность, или представительность) для различных возможных значений вирусной нагрузки (предиктора). Точность теста определяется с помощью площади под ROC-кривой (AUC). Идеальный тест имеет значение AUC, равное 1. AUC, равное 0,5, означает, что тест является неэффективным. Чем ближе кривая к диагонали, соответствующей AUC = 0,5, тем ниже дифференцирующая способность теста между здоровыми и больными пациентами.

В нашем случае для ПЦР мочи AUC=0,83 (ДИ 0,77-0,89). Определен оптимальный порог отсечения (cut off value) – то значение ВН, при котором сумма чувствительности и специфичности для данного теста максимальна, и которая показывает, после какого значения вероятности один класс

сменяется другим, в нашем случае оптимальный порог cut off =3,1lg (Se =0,72, Sp=0,83). Точка отсечения в 3,1lg значит, что все значения ВН≤3,1lg, могут трактоваться, как не имеющие активной ЦМВИ (рис. 18).

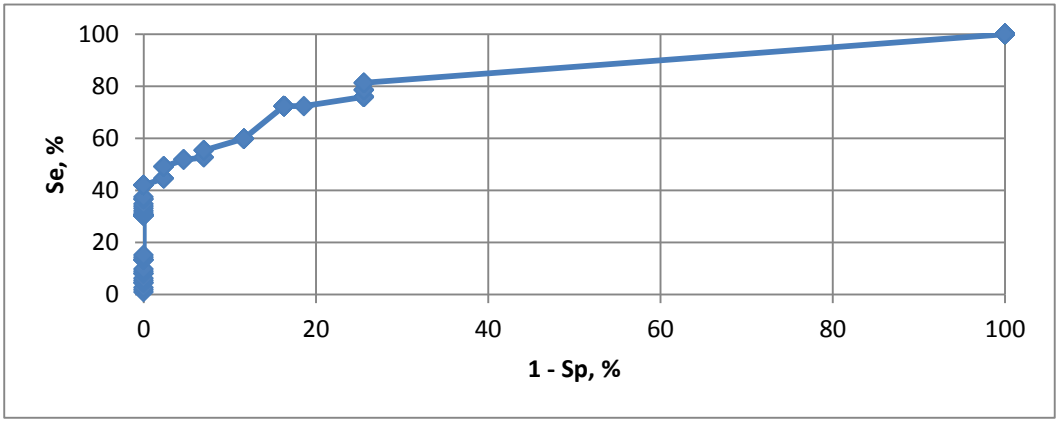

Рис. 18. ROC-кривая для значений ВН ПЦР мочи

Для значений вирусной нагрузки ДНК ЦМВ в слюне также проведен регрессионный анализ 155 результатов ПЦР-диагностики (ОГ+ГС). Получено линейное уравнение регрессии: $y = -2{,}8 + 1{,}18x$, где x – значение десятичного логарифма вирусной нагрузки (табл. 23).

Таблица 23

Переменные уравнения логистической регрессии по результатам регрессионного анализа

Фактор	Коэфф. B	-2LL	R^2	χ^2	Ст. ошибка	Коэфф. Вальда	Значимость	Отношение шансов (exp.B)	95% ДИ для отн. шансов	
									Мин.	Макс.
Активная ЦМВИ	1,18	63,7	0,64	112	0,18	41,8	0,001	3,2	2,3	4,6
Константа	-2,8									

Теперь, подставив любое значение ВН, в уравнение регрессии $p=1/1+e^{-(-2{,}8+1{,}18x)}$, получим значение вероятности наличия активной

ЦМВИ при данной ВН. Модель является статистически значимой, p=0,00. Коэффициент детерминации (R^2) данной модели составляет 0,64 (рис. 19).

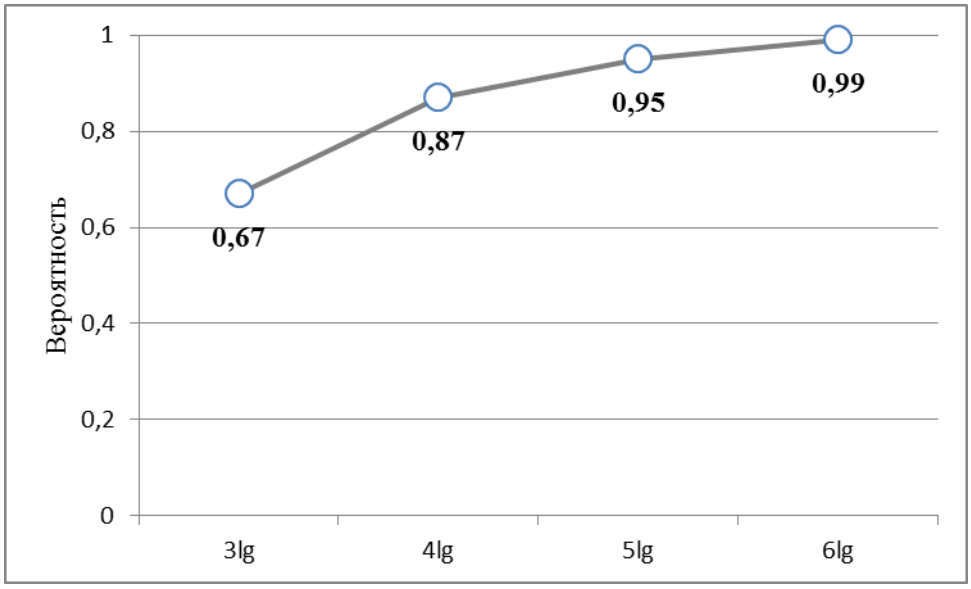

Рис. 19. Шкала вероятности активной ЦМВИ для среды слюна

Применив ROC -анализ (пороговое значение 0,87), матрица неточностей, вычисленная алгоритмом будет следующей (табл. 24):

Таблица 24

Матрица неточностей, вычисленная алгоритмом

Результат тестирования	ОГ(активная ЦМВИ «+»)	ГС(активная ЦМВИ «-»)	Итого
Положительный	97 (TP)	0 (FP)	97
Отрицательный	15 (FN)	43 (TN)	58
Итого	112	43	155

Построили график (ROC-кривую) для различных возможных значений вирусной нагрузки ПЦР слюны AUC=0,96 (ДИ 0,94-0,99). Определен оптимальный порог отсечения (cut off value) – то значение ВН, при котором сумма чувствительности и специфичности для данного теста максимальна, и которая показывает, после какого значения вероятности один класс сменяется другим, в нашем случае оптимальный порог cut off =3,93 lg (Se

=0,93, Sp=1,0). Точка отсечения в 3,93 lg значит, что все значения ВН≤3,93lg, могут трактоваться, как не имеющие активной ЦМВИ (рис. 20).

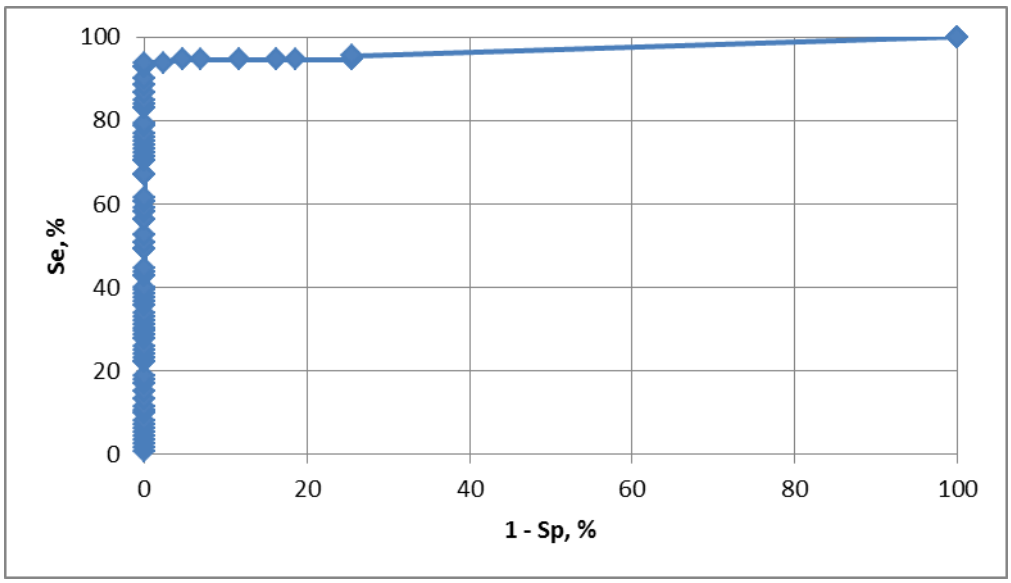

Рис. 20. ROC-кривая для значений ВН ПЦР слюны

При сравнении полученных математических моделей, следует отметить, что для оценки адекватности модели можно использовать следующие величины:

- коэффициент R^2, который характеризует долю вариации (дисперсии) результативного признака *y*, объясняемую регрессией, в общей вариации (дисперсии) *y*. Коэффициент детерминации рассчитывается для оценки качества подбора уравнения регрессии. Для приемлемых моделей предполагается, что коэффициент детерминации должен быть хотя бы не меньше 50%;

- χ^2 для ковариат, тестирует нулевую гипотезу о том, что коэффициенты регрессии в модели равны нулю;

- отношение шансов (экспонента коэффициента регрессии B), это оценка относительного риска, в значении больше 1 указывает, что существует увеличенный риск в группе с определенным фактором, по сравнению с группой без фактора (табл. 25).

Таблица 25

Сравнение коэффициентов математической модели

	R^2	χ^2	Ст. ошибка	Значимость	Отношение шансов (exp.B)	95% ДИ для отн. шансов	
						Мин.	Макс.
Для среды «моча»	0,29	51,4	0,12	0,001	2,007	1,62	2,64
Для среды «слюна»	0,64	112	0,18	0,001	3,2	2,3	4,6

Сравнив коэффициенты полученных математических моделей для двух биологических сред, следует заметить следующее; для биологической среды «моча» коэффициент согласия модели R^2=0,29, означает, что модель объясняет только 29,0% всех случаев, для среды «слюна» R^2=0,64, что гораздо выше (p=0,001) и говорит о возможном практическом применении данной модели. Результаты проведенного ROC-анализа, также подтверждают приоритетную возможность использования, особенно в качестве скрининга, ПЦР-исследования слюны ($AUC_{ПЦР\ слюны}$ = 0,96 (ДИ 0,94-0,99).

Таким образом, тяжесть клинических проявлений активной хронической ЦМВИ у детей из группы ЧБД находится в прямой связи с репликативной активностью вируса, проявляющейся в интенсивности вирусовыделения в организме иммунокомпрометированного ребенка. Предложенное ранжирование вирусной нагрузки может служить критерием оценки степени тяжести активной хронической ЦМВИ.

Информативность ПЦР в реальном времени определяющей вирусную нагрузку ДНК ЦМВ в слюне и в моче, сопоставима с вероятностью 98,0%, поэтому в практической работе педиатра детской поликлиники с детьми из группы ЧБД для максимально точной лабораторной диагностики активной

ЦМВИ необходимо использовать две среды исследования с предпочтением слюны, особенно для скрининговых исследований.

ГЛАВА V. ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ РЕАКТИВАЦИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ЦМВИ С ПОМОЩЬЮ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИРУСНОЙ НАГРУЗКИ В ПЦР.

5.1. ОЦЕНКА КЛИНИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ЦМВИ У ЧБД.

Оценка клинической эффективности терапии хронической активной ЦМВИ в группе ЧБД, из которых была сформирована группа лечения (ГЛ) (72/112), заключалась в сравнении иммунопатологических синдромов до и после лечения (табл. 26).

Таблица 26

Сравнительная характеристика иммунопатологических синдромов у детей ГЛ до и после терапии

Клинические проявления хронической ЦМВИ	ГЛ до лечения n =72		ГЛ после лечения n = 72		χ^2	P
	Абс.	%	Абс.	%		
Длительный субфебрилитет	12	16,7	2	2,8	7,9	0,01
Индекс резистентности	0,7		0,4			
Лимфопролиферативный синдром	34	47,2	22	30,5	4,2	0,05
Полиаденопатия	8	11,1	0	0	8,47	0,01
Гипертрофия небных миндалин I-IIст.	30	41,6	21	29,2	2,46	0,68
Гипертрофия небных миндалин III ст.	11	15,3	9	8,3	0,23	0,07
Аденоид I-II ст.	28	38,9	17	23,6	3,9	0,07
Аденоид III ст.	9	12,5	5	7	1,26	0,39
Гепатомегалия	14	19,4	6	8,3	3,7	0,09
Спленомегалия	8	11,1	1	1,4	5,8	0,05
Гранулёзный фарингит	15	20,8	8	11,1	2,5	0,17
Аллергический синдром	45	62,5	31	43	5,5	0,03
Атопический дерматит	42	58,3	29	40,3	4,7	0,04
Обструктивный бронхит	5	6,9	2	2,8	1,35	0,43

Среди пациентов ГЛ инфекционный синдром был у всех детей (100%). Субфебрилитет отмечался у 16,7% (12/72), купировался после курса лечения в 83,3% (10/12) случаев. Кратность ОРВИ составляла 3-5 эпизодов за 6 месяцев наблюдения; индекс резистентности до лечения за полгода

ретроспективного анализа в ГЛ - 0,7, а за 3 месяца лечения и наблюдения проспективно– 0,4.

Госпитализированы были 7 человек: в 2 случаях по поводу неосложненной ОКИ вирусной этиологии в легкой форме; в 5 случаях по поводу ОРВИ, осложненной в 3 случаях острым бронхитом и острым средним отитом.

За время терапии в течение 3 месяцев ОРВИ перенесли 57% пациентов (41/72), из них 83% (34/41) в легкой форме.

После терапии значительно сократилось количество осложнений ОРВИ. Если анамнестически до лечения в ГЛ регистрировались такие осложнения, как пневмония в 13,9% (10/72), острый бронхит – 19,4% (14/72), острый средний отит – 23,6% (17/72), ангина – 9,7% (7/72), то частота осложнений ОРВИ за время терапии составила 29,2% (21/72): острый бронхит – 8,3% (6/72), острый средний отит – 16,7% (12/72), ангина – 4,2% (3/72). Пневмония как осложнение ОРВИ не регистрировалась ни в одном случае. Потребность в антибиотикотерапии в ГЛ до лечения составляла 2,9±0,3 (ДИ 2,6; 3,3), а за время терапии дети получали в среднем 0,8±0,2 (ДИ 0,6;1,0) курсов антибиотикотерапии.

Лимфопролиферативный синдром регистрировался в ГЛ до лечения у 47,2% (34/72), после лечения – 30,5% (22/72). Полиаденопатия в ГЛ после лечения не встречалась. ГНМ 1,2 ст. до лечения встречалась в 41,6% (30/72) против 29,2% (21/72) после терапии, 3 ст. – 15,3% (11/72) до лечения против 8,3% (6/72). Аденоидит 1,2 ст. имели 38,9% (28/72) детей до лечения, а после – 23,6% (17/72), 3 ст. – 12,5% (9/72) до лечения, после – 7% (5/72). Фолликулярный и гранулезный фарингит до лечения был выявлен у 20,8% (15/72), после – 11,1% (8/72). Гепатомегалия в ГЛ до терапии была диагностирована в 19,4% (14/72) случаев, после – у 8,3% (6/72). Спленомегалия была зарегистрирована до лечения у 11,1% (8/72), после – у 1,4% (1/72).

Аллергический синдром присутствовал у 62,5% (45/72) до лечения, проявления аллергии в виде аллергодерматоза (42/72) были купированы после окончания терапии – у 38,1% (16/42). С рецидивирующими БОС в ГЛ вошли 5 человек, за время терапии у 2 были однократные эпизоды БОС во время интеркуррентных ОРВИ.

5.2. ОЦЕНКА ЛАБОРАТОРНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ЦМВИ У ЧБД.

Во время терапии 62% (13/21) детей, изначально имевшие анемию 1-2 степени тяжести (21/72 – 29,2%) и состоящие на учете у врача-педиатра с этим диагнозом, получали препараты железа. 38,1% (8/21) детей получали противовирусную терапию без ферротерапии. У всех детей, получавших препараты железа, анемия была купирована, со средним приростом гемоглобина 13,7±2,0 (ДИ 11,7; 15,7). Отмечалась нормализация уровня гемоглобина без ферротерапии также у всех детей, со средним приростом гемоглобина 13,0±1,4 (ДИ 11,6;14,4). Достоверных отличий в группах нет.

Таблица 27

Частота лабораторных отклонений гемограммы и гуморального иммунитета у детей ГЛ до и после терапии

Лабораторные показатели	ГЛ до терапии n= 72		ГЛ после терапии n = 72		χ^2	P
	Абс.	%	Абс.	%		
Лейкопения	16	22,2	5	6,9	6,75	0,01
Лейкоцитоз	10	13,9	3	4,2	4,14	0,08
Нейтропения	47	65,3	21	29,2	18,84	0,001
Нейтрофилёз	9	12,5	1	1,4	6,88	0,02
Лимфоцитоз	22	30,5	10	13,9	5,79	0,02
Лимфоцитопения	16	22,2	5	6,9	6,75	0,01
Моноцитоз	34	47,2	16	22,2	9,93	0,001

Нейтропения с лимфоцитопенией	9	12,5	2	2,8	4,82	0,06
Снижение иммуноглобулина A	42	58,3	12	16,7	26,7	0,002
Снижение иммуноглобулина G	28	38,8	9	12,5	13,1	0,001
Снижение иммуноглобулина M	11	15,3	5	6,9	2,53	0,18
Сочетанное снижение иммуноглобулинов A и G	23	31,9	8	11,1	9,25	0,001
Сочетанное снижение иммуноглобулинов A и M	4	5,6	0	0	4,11	0,12
Сочетанное снижение иммуноглобулинов A, M и G	10	13,9	2	2,8	5,82	0,03
Сочетанное снижение общих иммуноглобулинов с нейтропенией	9	12,5	0	0	9,6	0,001
Повышение АЛТ и АСТ	12	16,7	3	4,2	6,03	0,02
Повышение ГГТ	2	2,8	0	0	2,03	0,47
Изолированное повышение АСТ	10	13,9	2	2,8	5,87	0,03

В ГЛ до начала терапии лейкопения отмечалась у 22,2% (16/72), лейкоцитоз – у 13,9% (10/72). После терапии лейкопения купирована у 68,7% (11/16), лейкоцитоз в ГЛ после терапии был диагностирован у 3 пациентов и связан с наслоением интеркуррентных заболеваний.

Нейтропения купирована у 55,3% (26/47). Среди детей, у которых нейтропения была купирована не полностью, отмечалось повышение абсолютных показателей нейтрофилов, снижения зарегистрировано не было. Показатели лимфоцитов нормализовались у 60,5% (23/38).

Иммуноглобулины A и G нормализовались в 71,4% (30/42) и 67,8% (19/28) случаев, соответственно. Частота комбинированного дефицита иммуноглобулинов A и G также достоверно снизилась – 31,9% (23/72) против 11,1% (8/72).

После терапии достоверно сократилось количество детей, имевших сочетанное снижение общих иммуноглобулинов с нейтропенией.

Достоверные отличия получены по частоте гиперферментемии АЛТ и АСТ, отражающей поражение печени. После терапии снизилось число детей с повышенными показателями в 4 раза: 16,7% (12/72) против 4,2% (3/72).

5.2.1. ОЦЕНКА СЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ЦМВИ У ЧБД.

Реактивация ЦМВИ в основной группе исследования была верифицирована по обнаружению специфических IgM в 65,2% (47/72) случаев и по IgG с низкой степенью авидности (ИА<30%) в 34,7% (25/72) случаев. В целом IgG к ЦМВ выявлены у 83,3% детей (60/72). Полученные в результате исследования значения IgG к ЦМВ определялись в диапазоне AI=1,1; 41,3. Медиана для значений индекса AI=11,0. Среднее арифметическое значение в исходной выборке x_{AI}=15,7±2,1, среднеквадратичное отклонение значений индекса AI для IgG к ЦМВ σ=17,3. Доверительный интервал значений индекса AI для IgG к ЦМВ, при 95,0% значимости ДИ (11,6;19,7).

Значения индекса авидности (60/72) распределились следующим образом: ниже 30% - 41,5 % (25/60), в диапазоне от 30 до 60% - 41,5% (25/60), в диапазоне более 60% – 17,0% (10/60). Полученные в результате исследования значения ИА определялись в диапазоне от 9 до 95%. Медиана исходной выборки составила 28%**.** Среднее арифметическое значение в исходной выборке $\bar{x}_{ИА}$=32±2%, среднеквадратичное отклонение значений ИАσ=2**.** Доверительный интервал значений при 95,0% значимости ДИ (26;37).

Критерии оценки эффективности лечения активной ЦМВ-инфекции основывались на клинической оценке течения заболевания, динамике серологических показателей: уменьшение/исчезновение титра антител IgM к ЦМВ, повышение значений индекса авидности.

После проведенного курса лечения достоверно снизилась доля детей имевших маркеры активной ЦМВИ: IgM к ЦМВ после лечения определялись у 2,7% (2/72) детей, против 65,2 (47/72) (χ^2 =59,8, p=0,001), доля низких значений индекса авидности до лечения составляла 41,5% (25/60), после лечения – 5,0% (3/59) (χ^2 =20,1, p=0,011). Доля значений индекса авидности более 60% после лечения достоверно повысилась - 45,8% (27/59) против 17,0% (10/60), χ^2 =10,4, p=0,001 (табл. 28, 29).

Таблица 28

Серологические показатели активности ЦМВИ (IgM) до и после лечения

Показатель	Доля (%)	Абс. знач.
IgM к ЦМВ до начала лечения	65,2	47/72
IgM к ЦМВ после лечения	0	0/72

Таблица 29

Серологические показатели активности ЦМВИ (IgG и ИА IgG) до и после лечения

Показатель	Доля (%)	Абс. Знач.	Диапазон значений	Мсуе диана М	Ср.ариф м. $\bar{x}$	**Ср. кв. откл Σ**	Доверит. интервал
IgG к ЦМВ до начала лечения	83,3	60/72	1,1-41,3	11,0	15,7±2,1	17,3	11,6; 19,7
IgG к ЦМВ после лечения	82,0	59/72	0,0 – 29,0	13,0	16,9±1,8	15,7	11,1;22,6
ИА IgG до начала лечения (%) ИА IgG < 30 30 < ИА IgG < 60 60 < ИА IgG	83,3 41,5 41,5 17,0	60/72 25/60 25/60 10/60	9 – 95	28	**32±2**	2	26;37
ИА IgG после лечения ИА IgG < 30 30 < ИА IgG < 60 60 < ИА IgG	82,0 5,0 49,2 45,8	59/72 3/59 29/59 27/59	0 - 83	34	34±2	12	27;4

5.2.2. ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ЦМВИ ПО УРОВНЮ ВИРУСНОЙ НАГРУЗКИ У ЧБД.

По результатам молекулярно-генетического исследования методом ПЦР, в основной группе ДНК ЦМВ была обнаружена в крови у 2,7 % (2/72) детей, в моче у 77,7 % (56/72) детей, в слюне у 93,0% (67/72). Хотя бы в одной среде ДНК ЦМВ обнаруживалась у всех (100%) пациентов ОГ. Вирусная ДНК не определялась в 22,3% (16/72) случаев - в моче, в слюне 7,0% (5/72).

При сравнительном анализе ВН ЦМВ в моче и слюне выявлены достоверные различия значений медиан: в моче - ВН 3,2 lg копий ДНК/ml (ДИ 2,5;3,6), в слюне 4,8 lg ±0,2 копий ДНК/ml (ДИ 4,3;5,3) (p=0,001).

Таблица 30

Ранжирование вирусной нагрузки ДНК ЦМВ в моче и слюне до и после лечения

Степень вирусной нагрузки	Моча (n=72) доля (%), (абс. знач.)		p	Слюна(n=72) доля (%), (абс. значения)		p
	До лечения	После лечения		До лечения	После лечения	
ВН=0	22,3 (16/72)	51,3 (37/72)	0,001	7,0 (5/72)	11,1 (8/72)	0,56
ВН низкая	43,0 (31/72)	25,0 (18/72)	0,03	5,5 (4/72)	45,8 (33/72)	0,002
ВН средняя	33,3 (25/72)	23,6 (17/72)	0,19	66,6 (48/72)	40,3 (29/72)	0,003
ВН высокая	0	0	0	20,8 (15/72)	2,8 (2/72)	0,001

Сравнительный анализ показал, что после лечения произошли существенные изменения вирусовыделения в биологических средах. Так, достоверно увеличилась доля детей с отрицательным значением ПЦР в моче (51,3 против 22,3%, p=0,001). Почти в 5 раз увеличилась доля детей с низкой вирусной нагрузкой в слюне (5,5 против 45,8%, p=0,002), и также достоверно уменьшились доли детей со средней и высокой ВН. Следует заметить, что незначительное повышение ВН (0,2-0,4lg копий ДНК/ml) отмечено в 4,2%

(3/72) случаев в моче, и в 2,7% (2/72) – в слюне, во всех случаях связанные с перенесенной за время системной противовирусной терапии бактериальной респираторной или кишечной инфекции средней тяжести, потребовавшей госпитализации.

При анализе значений медиан в средах исследования после лечения установлены следующие достоверные изменения: в моче M=1,3 lg копий ДНК/мл (против 3,2 lg копий ДНК/мл, p=0,001), в слюне M=3,9 lg копий ДНК/мл против 4,8 lg ±0,2 копий ДНК/мл, p=0,001).

Оценку изменения вирусной нагрузки (ΔВН) после лечения производили по вычисленным среднеарифметическим значениям ($\bar{x}$ ΔВН) и 95% доверительным интервалам.

Таблица 31

Изменения вирусной нагрузки (ΔВН) в средах исследования после лечения

Биологическая среда	Среднее арифм. значение ($\bar{x}$ΔВН)	Медиана ΔВН	Диапазон значений ΔВН	Ст. отклонение ΔВН	Доверит. интервал ΔВН
Моча (N=65)	-1,5±0,2	1,0	0,0 – 4,0	1,3	(-1,0;-1,9)
Слюна (N=70)	-1,1±0,1	1,1	0,0 – 2,7	0,5	(-0,9; -1,2)

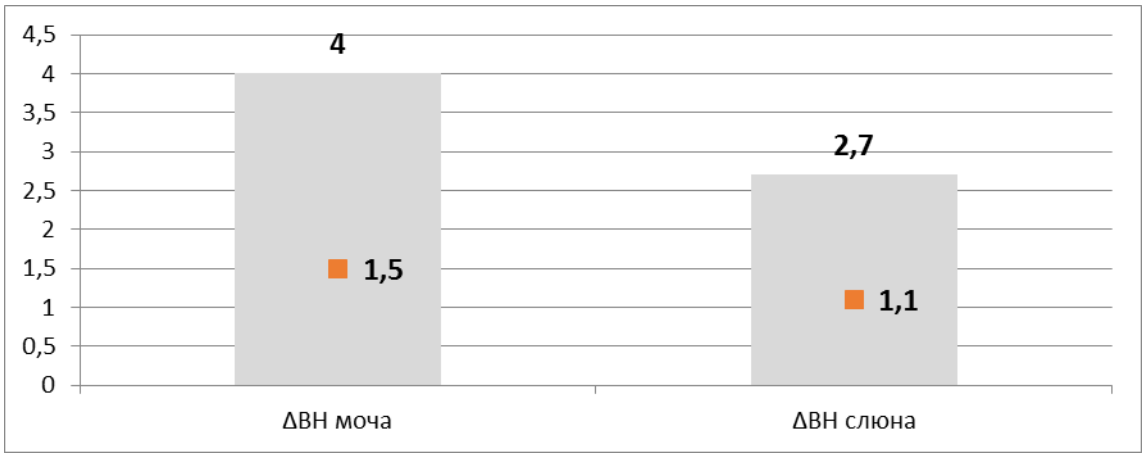

Рис. 21. Диапазон значений и среднее арифметическое ΔВН в моче и слюне.

Среднее снижение вирусной нагрузки в моче составило -1,5±0,2lg коп/мл, ДИ (-1,0;-1,9), или в 31,5 раза. Для слюны снижение составило -1,1±0,1lg коп/мл, ДИ (-0,9; -1,2), или в 13 раз.

5.3. ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ПЦР ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ЦМВИ.

Количественный метод ПЦР-диагностики из слюны и мочи отражает степень репликативной активности и взаимосвязан с интенсивностью инфекционного процесса. Высокие показатели уровня вирусовыделения (более 3,9lg) из слюны и/или мочи свидетельствуют о системном инфекционном процессе (висцеральные формы) и требуют более длительной и комплексной терапии до репарации поврежденных органов и стабилизации инфекционного процесса.

Для оценки клинико-лабораторной эффективности проведенной терапии реактивации хронической ЦМВИ все дети группы лечения были разделены на 3 подгруппы (А, В, С) в зависимости от изменения уровня ВН (ΔВН) в слюне следующим образом: группа А (20/72; 27,8%) – пациенты, у которых после терапии уровень ВН снизился более, чем на 2log; группа В (40/72; 55,5%) - пациенты, у которых уровень ВН снизился менее, чем на 2log, но более, чем на 1log; группа С (12/72; 16,7%) - пациенты, у которых уровень ВН снизился менее, чем на 1log. В данных подгруппах был проведен анализ клинико-лабораторных изменений в зависимости от вирусологического ответа на системную противовирусную и иммуномодулирующую терапию (табл. 32).

Таблица 32

Частота клинических проявлений хронической ЦМВИ в зависимости от вирусологического ответа на терапию

Клинические признаки	Группа А (n=20)		Группа В (n=40)		Группа С (n=12)	
	Абс. показ.	%	Абс. показ.	%	Абс. показ.	%
Индекс резистентности (ИР)	0,31		0,43		0,52	
Длительный субфебрилитет	0	0	0	0	2	16,7
Лимфопролиферативный синдром	3	15	11	27,5	8	66,7
Гипертрофия небных миндалин I-IIст.	3	15	11	27,5	8	66,7
Гипертрофия небных миндалин III ст.	0	0	4	10,0	5	41,7
Аденоид I-II ст.	2	10	9	22,5	6	50
Аденоид III ст.	0	0	2	5,0	3	25
Гепатомегалия	0	0	1	2,5	5	41,7
Спленомегалия	0	0	0	0	1	8,3
Аллергический синдром	5	25	17	42,5	9	75
Атопический дерматит	5	25	17	42,6	7	58,3
Обструктивный бронхит	0	0	0	0	2	16,7

По индексу резистентности у пациентов группы А можно судить о нормализации противоинфекционной защиты. В единичных случаях после одного курса терапии сохранялся лимфопролиферативный синдром с увеличением нёбных миндалин и аденоидной ткани I, II степени. У 5 детей сохранялся аллергический синдром в виде минимальных проявлений атопического дерматита. Пациенты группы В по-прежнему имели пониженную резистентность к инфекционным заболеваниям, а также более выраженный лимфопролиферативный синдром, в единичных случаях с увеличением нёбных миндалин и аденоидной ткани до III степени. Только у

пациентов из группы С сохранялись такие клинические проявления как длительный субфебрилитет, спленомегалия и обструктивный бронхит. Проявления лимфопролиферативного синдрома имели более половины детей, а купировать аллергический синдром удалось лишь в 25% случаев.

С помощью критерия Крускелла-Уоллиса была доказана статистическая достоверность различий частот клинических признаков в группах А, В и С, критерий H=6,7, p=0,003. Согласно парным сравнениям с применением двухвыборочного критерия ранговых сумм Вилкоксона, пациенты группы А достоверно отличались от пациентов группы В (p=0,05) и группы С (p=0,006).

Таким образом, пациенты группы А с вирусологическим ответом на терапию по данным количественного определения ВН в слюне более, чем на 2 log, имели минимальные клинические проявления хронической ЦМВИ, что можно расценивать как переход к фазе ремиссии, а результат одного курса терапии - высокоэффективным. Клиническую эффективность терапии пациентов группы В, где снижение ВН произошло менее, чем в 100 раз (ΔВН<2log) следует считать, как умеренно эффективную ввиду наличия единичных значимых клинических проявлений хронической ЦМВИ. Динамика клинических изменений пациентов группы С не позволяет говорить о фазе ремиссии хронической ЦМВИ из-за присутствия нескольких значимых клинических проявлений, что позволяет оценить эффективность терапии этой группы как низкую.

Мониторинг уровня вирусовыделения из слюны и мочи в ходе лечения длительно и волнообразно протекающей хронической ЦМВИ с частыми эпизодами реактивации у ЧБД необходим для оценки эффективности терапии, определяющий ее успешность. Оценка эффективности терапии хронической ЦМВИ осуществляется следующим образом: при первичном обращении пациент с установленным диагнозом «Хроническая цитомегаловирусная инфекция, фаза реактивации» получает курсовую

системную противовирусную и иммуномодулирующую терапию с учетом установленной ВН (копий/мл), ранжированной по предлагаемой схеме:

1. Высокая (8-6) log10, т.е.100.000.000-1.000.000.
2. Средняя (6-4) log10, т.е. 1.000.000-10.000.
3. Низкая (4-3) log10, т.е. 10.000- 1.000.
4. Минимальная (3-2) log10, т.е. 1.000-100.

Через 3 месяца от начала терапии проводят оценку эффективности лечения с помощью количественной ПЦР на ДНК ЦМВ из слюны на основании степени снижения показателя ВН (копий/мл):

высокая эффективность - снижение ВН на 2 log_{10}, и более (в 100 и более раз);

умеренная эффективность - снижение более, чем на 1 и менее 2 log_{10} (менее 100 и более 10 раз);

низкая эффективность - снижение менее, чем на 1log_{10} (менее, чем в 10 раз).

При высокой эффективности и достижении минимальной ВН системную противовирусную терапию завершают и проводят реабилитационные мероприятия в целях профилактики реактивации ЦМВИ в режиме «антигенного щажения»: предотвращение интеркуррентных заболеваний и временный отвод от профилактических прививок.

При умеренной эффективности системную терапию продолжают до подавления репликативной активности ЦМВ.

При низкой эффективности системную терапию продолжают с изменением схемы.

ПРИМЕРЫ КОНКРЕТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ

ПРИМЕР 1. Больной А., 2 года 5 мес. ДДОУ не посещает.

Диагноз: хроническая ЦМВИ, реактивация, активная фаза, с поражением респираторного тракта и ЛОР-органов. Вторичная иммунная недостаточность, субкомпенсированная, гуморального типа.

Высокий антенатальный риск ВУИ (ВПГ, ЦМВ): 1 запоздалые роды в 42 недели гестации с обострением хронической рецидивирующей ВПГИ во II триместре беременности в виде герпетического стоматита, серонегативность к ЦМВ.

На первом году жизни ребёнка: в возрасте 2 месяцев манифестация кожной аллергии без выявления виновного аллергена и генетической предрасположенности; 5 эпизодов ОРВИ с 1 месяца жизни длительностью более 10 дней, в том числе, дважды с обструктивным бронхитом. На третьем году жизни за последние 6 месяцев - 5 эпизодов ОРВИ, дважды с антибиотикотерапией по поводу бактериальных осложнений острым средним отитом и бронхитом.

При осмотре: гипертрофия небных миндалин II ст., гранулёзный фарингит. Подчелюстные лимфоузлы II порядка.

ИФА: анти-CMV IgM – отрицательно, анти-CMV IgG – 19,8МЕ/л, ИА– 29%. Заключение: низкоавидные IgG анти-CMV – острая фаза ЦМВИ.

ПЦР на ДНК ЦМВ количественно в слюне 1.350.000 копий/мл. Заключение: высокая вирусная нагрузка.

Вторичная иммунная недостаточность (ВИН), субкомпенсированная, гуморального типа диагностирована на основании клинической картины и снижения общих иммуноглобулинов А и М: IgA – 12,7 мг/дл (N – 21-291), IgM – 30,5 мг/дл (N – 41-183).

Лечение: ректальные суппозитории Кипферона 500.000 МЕ 2 раза в день 3 курса по 10 дней, ликопид 0,001 (1 таб.) 2 раза в день 3 курса по 10 дней с цикличным чередованием, на фоне местной терапии - панавир-инлайт-гель-спрей, 1 доза 2 раза в день 10 дней и оральной детоксикации.

Через 3 месяца от начала терапии - положительный клинический эффект: уменьшение размеров миндалин и лимфоузлов, отсутствие гранул на задней стенке глотки; не болел.

Положительный лабораторный эффект: ПЦР на ДНК ЦМВ количественно в слюне – 160.000 копий/мл. Заключение: средняя ВН, умеренная эффективность терапии. Назначена повторная схема лечения.

Через 6 месяцев – ПЦР на ДНК ЦМВ количественно в слюне – отрицательно. Заключение: высокая эффективность лечения.

Терапия закончена. Рекомендована профилактика ОРВИ препаратами топического действия (виферон-гель, ИРС19, имудон). Контроль ПЦР на ДНК ЦМВ при интеркуррентных заболеваниях из слюны количественно.

ПРИМЕР 2. Больная Д., 1 год 3 мес. Диагноз: хроническая ЦМВИ, реактивация, острая фаза, с поражением печени (гепатит с синдромом цитолиза). ВИН, субкомпенсированная, смешанного типа (нейтропения, гипоиммуноглобулинемия G). Анемия легкой степени.

Высокий перинатальный риск ВУИ (ЦМВ): угроза прерывания 1 беременности в сроке 14 и 26 недель гестации; высокий антителогенез к ЦМВ (IgG 1: 6400) на фоне ОРВИ в I триместре. Иктеричность с 1 суток до 1,5 месяцев. Максимальный уровень общего билирубина 243 мкмоль/л, прямой билирубин 56 мкмоль/л (более 10% от общего); АЛТ 98 Е/л (3 N), АСТ 79 Е/м (2,5 N) с волнообразным снижением и повышением в динамике.

В настоящее время жалобы на плохой аппетит, диспепсию (запоры), недостаточную прибавку в массе.

При осмотре: пониженного питания; увеличение подчелюстных лимфоузлов (II порядка) и размеров печени (выступает на 3 см из-под края реберной дуги).

УЗИ – гепатоспленомегалия, реактивные изменения в печени.

Анемия легкой степени поставлена на основании Hb – 100 г/л.

ВИН, субкомпенсированная смешанного типа диагностированная на основании нейтропении с абсолютным числом нейтрофилов 980 кл/мл (менее 1000 кл/мл) и гипоиммуноглобулинемии - IgG 273мг/дл (N – 350-1400).

В биохимическом анализе крови, по-прежнему, сохраняется повышение активности трансаминаз: АЛТ – 74 Е/л (N – 0-31), АСТ – 60 Е/л (N – 0-32) при нормальном значении ГГТП – 28 Е/л (N – 8-61).

ИФА: анти-CMV IgM – положительно, анти-CMV IgG – 6,3 МЕ/л, ИА– 68%. Заключение: острая фаза ЦМВИ.

ПЦР на ДНК ЦМВ количественно: в слюне 8.800.000 копий/мл. Заключение: сверхвысокая вирусная нагрузка.

Лечение: ректальные суппозитории Кипферона 500 000 МЕ 2 раза в день 3 курса по10 дней, ликопид 0,001 (1 таб.) 1 раз в день 10 дней 3 курса с цикличным чередованием, на фоне урсодезоксихолиевой кислоты (урсофальк) в дозе 15 мг/кг (135 мг однократно на ночь) и оральной детоксикации.

Через 3 месяца от начала терапии – положительный клинический эффект: улучшился аппетит, повысилась прибавка в массе, нормализовался размер печени и стул, уменьшились подчелюстные лимфоузлы.

Положительный лабораторный эффект: снижение до верхней границы нормы АЛТ – 31 Е/л, АСТ – 32 Е/л. Повышение количества нейтрофилов до 1700 кл/мл и IgG до возрастной нормы (370 мг/дл). ПЦР на ДНК ЦМВ количественно в слюне 1.270.000 копий/мл. Заключение: высокая ВН, умеренная эффективность лечения. Назначена повторная схема лечения.

Через 6 месяцев ПЦР на ДНК ЦМВ количественно в слюне – 500 копий/мл. Заключение: минимальная вирусная нагрузка, высокая эффективность лечения.

Системная противовирусная терапия закончена. Рекомендован режим «антигенного щажения», контроль ПЦР на ДНК ЦМВ через 3 месяца, а также контроль АЛТ, АСТ после интеркуррентных заболеваний.

ПРИМЕР 3. Больной Е., 2 года 10 месяцев. Посещает ДДОУ с 1года 8 мес. Диагноз: хроническая ЦМВИ, фаза реактивации, острое течение, с поражением ЛОР-органов: хронический рецидивирующий аденоидит. Тонзиллофарингит. ВИН, субкомпенсированная, смешанного типа (нейтропения, лимфоцитопения, гипоиммуноглобулинемия A,G).

Высокий перинатальный риск ВУИ (ЦМВИ): 3 беременность у женщины 40 лет (1 выкидыш, 2 - замершая) с угрозой прерывания в сроке 12 и 22 недель; ОРВИ в сроке 24 недели при активации латентной ЦМВИ (ИА IgG к ЦМВ 12%).

На 1 году жизни 7 эпизодов ОРВИ, трижды с госпитализацией и антибиотикотерапией. Хронический аденоидит с двух лет с частыми обострениями. С момента начала коллективного воспитания ОРВИ ежемесячно с непрекращающимся насморком в интервалах.

На втором году жизни за последние 6 месяцев 5 эпизодов ОРВИ. Индекс резистентности (ИР)=0,83 (низкий).

При осмотре: круги под глазами, носовое дыхание значительно затруднено, ночной «храп». Лимфоузлы подчелюстные и передне-шейные II порядка. ГНМ III степени с умеренной гиперемией и отёком, гранулезный фарингит. Дыхание пуэрильное, проводные хрипы.

ВИН, субкомпенсированная, смешанного типа поставлена на основании клинической картины; нейтропении с абсолютным числом нейтрофилов 1380 кл/мл (менее 1500 кл/мл), лимфоцитопении (1900 клеток в мл); гипоиммуноглобулинемии A – 6,6 мг/дл (N – 21-291) и G - 210 мг/дл (N – 350-1400).

ИФА: анти-CMV IgM – положительно, анти-CMV IgG – 106,4 МЕ/л, ИА– 28%. Заключение: острофазные анти-CMV IgM и низкоавидные IgG– острая фаза ЦМВИ.

ПЦР на ДНК ЦМВ количественно в слюне: 2.350.000 копий/мл. Заключение: высокая вирусная нагрузка.

Лечение: ректальные суппозитории Кипферона 500000 МЕ 2 раза в день 3 курса по10 дней, ликопид 0,001 (1 таб.) 1 раз в день 10 дней 3 курса с цикличным чередованием на фоне местной терапии - фюзафюнжин (биопарокс) на миндалины и в нос 2 раза в день 10 дней. Затем панавир-инлайт-гель-спрей 1 доза 2 раза в день 10 дней, затем имудон 1 таблетка для рассасывания 4 раза в день 14 дней и оральной детоксикации.

Через 3 месяца от начала терапии - положительный клинический эффект: ОРВИ на первом месяце терапии в легкой форме (острый ринофарингит), улучшилось носовое дыхание, перестал храпеть ночью, уменьшились подчелюстные лимфоузлы. Однако, из-за контакта в ДДОУ, перенес на третьем месяце после окончания терапии ветряную оспу в форме средней тяжести.

Несмотря на некоторый положительный лабораторный эффект: повышение количества нейтрофилов до 1500 кл/мл и IgG до 300 (нижняя граница нормы - 350 мг/дл), ПЦР на ДНК ЦМВ количественно в слюне 810.000 копий/мл. Заключение: средняя вирусная нагрузка, низкая эффективность лечения.

В связи с отсутствием значимого вирусологического ответа и достижением ребенком возраста 3 лет схема лечения изменена на следующую: инозин пранобекс (изопринозин) 500 мг (1/2 таб.) 3 раза в день 3 курса по 10 дней, ликопид 0,001 (1таб.) 1 раз в день 10 дней 3 курса с цикличным чередованием на фоне местной терапии лизобактом 1 таблетка для рассасывания 4 раза в день 1 месяц и оральной детоксикации.

Через 6 месяцев после лечения состояние с положительной динамикой со стороны органов ротоглотки, ОРВИ 1 раз в легкой форме. Произошла нормализация показателей общего анализа крови и гуморального иммунитета (повышение IgA и IgG до возрастной нормы). Количественная ПЦР на ДНК ЦМВ: в слюне – 1.000 коп/мл. Заключение: низкая вирусная нагрузка, высокая эффективность лечения.

Системная противовирусная терапия закончена. Назначена поддерживающая иммунотерапия: тонзилгон 10 капель 3 раза в день 1 месяц. Рекомендован режим «антигенного щажения» и профилактика ОРВИ препаратами топического действия (виферон-гель, ИРС19, имудон). Контроль ПЦР на ДНК ЦМВ через 3 месяца.

Положительный эффект данной методики – возможность объективной оценки контроля эффективности терапии ЦМВИ по показателям вирусной нагрузки, отражающим активность инфекционного процесса, с помощью неинвазивного экспресс-метода - количественной ПЦР в реальном времени со 100% специфичностью и высокой чувствительностью.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По данным статистических отчётов поликлиник г. Перми за 2012-2013 год, доля диспансерной группы ЧБД раннего возраста составила в Дзержинском районе – 8,3% (354/4253), Индустриальном – 10,7% (340/3189), Мотовилихинском – 1,5% (83/5633), Свердловском - 14,1% (510/3617), Ленинском – 5,8% (87/1494) и в Кировском районе – 6,1% (338/5582). Среди часто болеющих детей первых трех лет жизни ЦМВИ была диагностирована: в Дзержинском районе –10,2% (36/354), Индустриальном – 11,2% (38/340), Мотовилихинском – 15,7% (13/83), Свердловском - 22,9% 9135/510), Ленинском – 36,8% (32/87) и в Кировском районе – 42% (142/338). Доля детей с верифицированной ЦМВИ среди иммунокомпрометированных амбулаторных пациентов раннего возраста (7,2%, 1712/23786) в условиях детских поликлиник г. Перми составила, в среднем, 23,1% (396/1712).

Такая статистически достоверная вариабельность показателей частоты ЦМВИ у детей из диспансерной группы ЧБД разных районных детских поликлиник может быть связана с отсутствием единых подходов к клинико-эпидемиологическому обоснованию диагноза и лабораторному подтверждению. В целях оптимизации диагностики внедрен в работу детских поликлиник Свердловского района диагностический алгоритм на основе клинико-эпидемиологического анализа с лабораторным подтверждением комплексным методом ИФА и ПЦР.

Сравнительный клинико-эпидемиологический анализ здоровья ЧБД амбулаторных пациентов с верифицированной реактивацией хронической ЦМВИ и без признаков активной инфекции позволил выявить достоверные статистически значимые отличия, касающиеся факторов риска антенатального периода, способствующие гипоксии плода и активации оппортунистических вирусных инфекций, а именно, угроза прерывания беременности – чаще в 1,6 раза в ОГ; хроническая ФПН - в 1,8 раз в ОГ.

Данные УЗИ-скринига новорожденных: поражения ЦНС - чаще в 3 раза в ОГ; почек - в 2,8 раз в ОГ; печени – в 3 раза в ОГ.

Серологические маркёры высокого риска ЦМВИ у беременных матерей, многофакторность риска во всех случаях и тяжелая патология, потребовавшая госпитализации в ОРИТ в периоде новорожденности имели место только при верифицированной активной ЦМВИ.

У иммуннокомпрометированных пациентов с верифицированной реактивацией хронической ЦМВИ по сравнению с группой сравнения достоверно чаще в 2,6 раза частые повторные ОРВИ начинались с первых месяцев жизни без контактов в семье; в 4,2 раза чаще имел место длительный субфебрилитет; в 2,3-2 раза развивался иммунопатологический лимфопролиферативный синдром с гипертрофией миндалин и аденоидов 1-2 степени; в 2 раза чаще регистрировался атопический дерматит с первых месяцев жизни без наследственной предрасположенности.

При реактивации хронической ЦМВИ внутриутробного происхождения лабораторные проявления такие, как нейтропения, были выявлены чаще в 1,8 раз, а снижение показателей IgA - в 2,4 раза. Нейтропения в сочетании с гипоиммуноглобулинемией IgG и IgA имела место только при верификации активной инфекции, также как и сочетанная гиперферментемия АЛТ и АСТ, свидетельствующая о поражении печени.

При серологическом обследовании детей основной изучаемой группы специфические IgM к ЦМВ были обнаружены в 51,8% (58/112) случаев, а IgG с низким индексом авидности (ИА) (<30%) в 48,2% (54/112).

Авидность IgG определялась только у детей, в сыворотке крови которых были выявлены антитела к ЦМВ класса IgG (100/112). Значения ИА распределились следующим образом: в 66% (66/100) – ниже 30%, в 26% (26/100) в диапазоне от 30 до 60%, и в 8,0% (8/100) - в диапазоне более 70%. Анализируя полученные значения ИА IgG к ЦМВ, можно сделать вывод, что

у 66,0% детей реактивация ЦМВИ произошла не позднее 3 месяцев к моменту обследования, в 26,9% случаев с момента инфицирования прошло от 3 до 6 месяцев и лишь в 8,0% недавняя реактивация исключалась, однако эти пациенты имели IgM, как показатель активности инфекционного процесса.

Количественные показатели ВН, полученные в результате ПЦР-анализа в исследуемых средах, для дальнейшей статистической обработки были ранжированы следующим образом:

4. ВН ≥ 6,0 lg - высокая вирусная нагрузка (ВВН).
5. 4,0 lg ≤ ВН < 6,0 lg - средняя вирусная нагрузка (СВН).
6. ВН < 4,0 lg - низкая вирусная нагрузка (НВН).

У детей с активной хронической ЦМВИ (ОГ) с помощью ПЦР в реальном времени верификация ДНК ЦМВ составила: в крови у 2,6 % (3/112) детей, в моче - 81,3% случаев с низкой и средней степенью нагрузки; в слюне - 95,5 % случаев со средней и высокой степенью нагрузки в подавляющем большинстве исследований (92,0%). Хотя бы в одной среде ДНК ЦМВ обнаруживалась у всех (100%) пациентов ОГ. Вирусная ДНК не определялась в 18,7% (21/112) случаев - в моче, в слюне 4,5% (5/112), p=0,002. При сравнительном анализе ВН ЦМВ в моче и слюне детей ОГ выявлены достоверные различия значений медиан: в моче - lg3,7± 0,2 копий ДНК ЦМВ/мл (ДИ 3,1;7,9), в слюне - lg4,9±0,1 копий ДНК ЦМВ/мл (ДИ 4,8;5,3) (t=-4,8, p=0,000).

В крови величина ВН составила 2,6 lg ±0,03, во всех трех случаях сопутствуя обнаружению антител классов IgM при средних значениях ИА (от 43,0 до 56,0%). Для дальнейшего сравнительного анализа значения вирусной нагрузки в крови не использовались, ввиду их незначительного количества.

В ходе исследования ВН у детей основной группы установлено, что в моче низкая и средняя степень ВН распределена равномерно: 39,2% и 42,0%, соответственно, высокая степень не выявлялась. В слюне доля низкой ВН

составила только 7,1%, что достоверно меньше, чем в моче (p=0,001); доля средней ВН - 61,6%, что достоверно выше (p=0,005). Высокая степень ВН имела место только в слюне, составив 26,8%.

В ГС показатель верификации ДНК ЦМВ составил: в моче - 7%, в слюне - 25,6% только в низких количествах, не более 4lg, что в пересчете на копии в мл среды соответствует 10 000. Только в слюне детей с активной хронической ЦМВИ (ОГ) выявлена высокая вирусная нагрузка, составившая 26,8%, что в пересчете на копии в мл соответствует 1 000 000 коп/мл и более.

В группе сравнения ДНК ЦМВ в крови не была обнаружена. Выявление в моче составило 6,9 % (3/43), в слюне - 25,5% (11/43) при диапазоне значений в пределах ≤ 4lg, что соответствует низкой ВН. Сравнительный анализ полученных данных в ОГ и в ГС показал: что в крови амбулаторных пациентов раннего возраста из группы ЧБД ДНК вируса определяется крайне редко, составляя 2,6% только у детей с верифицированной активной ЦМВИ (ОГ), причем в количествах, равных пределу чувствительности ПЦР-метода (2,6 lg). У данной категории пациентов в качестве диагностического лабораторного метода ПЦР крови на ЦМВ не может быть скрининговым тестом. В моче вирус цитомегалии определяется достоверно чаще, чем в крови: в ОГ в 81,3% всех случаев, только в низкой и средней степени ВН, против 7,0% случаев в ГС и только в низкой степени ВН (χ^2=66,7, p=0,001).

С целью решения задачи сопоставления лабораторных показателей прямого количественного метода ПЦР на ДНК ЦМВ и клинических проявлений реактивации хронической ЦМВИ у детей ОГ пациенты были разделены на 2 подгруппы: ОГ1 – с высокой ВН в слюне (30/112), ОГ2 – со средней и низкой ВН в слюне (77/112).

Выявлены особенности уровня вирусовыделения из слюны в зависимости от возраста у детей в исследуемых группах: высокий уровень ВН достоверно чаще имел место в возрасте до 1,5 лет, а в возрасте 2,5 - 3 лет

отсутствовал. Снижение вирусовыделения с увеличением возраста пациентов, начиная с 1,5 лет, прослеживается и в группе с более низким уровнем ВН (ОГ2).

Именно с особенностями возраста детей в исследуемых группах (сформированных по высоте вирусной нагрузки) можно связать более частую регистрацию хронического тонзиллита после двухлетнего возраста в ОГ2 и субфебрилитета - до 2 лет в ОГ1 с высоким уровнем репликативной активности ЦМВИ.

Частота встречаемости инфекционного и лимфопролиферативного синдромов в зависимости от высоты показателя ВН не имела достоверных различий. Однако полиаденопатия достоверно чаще встречалась в ОГ1 у самых младших детей, что можно расценить как иммунный ответ на активную репликацию лимфотропного β-герпесвируса (ЦМВ) в организме иммунокомпрометированного ребенка. Аллергический синдром также достоверно чаще встречался у детей с высокими показателями вирусовыделения из слюны.

В результате анализа чувствительности (Se) и специфичности (Sp) ПЦР-метода из слюны и мочи для диагностики ЦМВИ выявлено, что чувствительность (Se), выражающая долю пациентов с активной ЦМВИ, точно идентифицированных тестом по среде - моча, равна: Se =91/112=0,81 (81,0%). Специфичность (Sp), выражающая долю пациентов без активной ЦМВИ, которые точно идентифицированы тестом по среде – моча, равна Sp=41/43=0,95 (95,0%).

Чувствительность (Se), выражающая долю пациентов с активной ЦМВИ, точно идентифицированных тестом по среде - слюна, равна: Se =107/112=0,95 (95,0%), SEM=0,02, ДИ (0,92;0,98). Специфичность (Sp), выражающая долю пациентов без активной ЦМВИ, которые точно идентифицированы тестом по среде - слюна, равна: Sp=32/43=0,74 (74,0%).

Построен график (ROC-кривая) зависимости истинно положительного уровня (чувствительности) от ложноположительного (1 - специфичность, или представительность) для различных возможных значений вирусной нагрузки (предиктора). Точность теста определяется с помощью площади под ROC-кривой (AUC). Идеальный тест имеет значение AUC, равное 1. В нашем случае для ПЦР мочи AUC=0,83 (ДИ 0,77-0,89), для ПЦР слюны - AUC=0,96 (ДИ 0,94-0,99). Определен оптимальный порог отсечения (cut off value) – то значение ВН, при котором сумма чувствительности и специфичности для данного теста максимальна, и которая показывает, после какого значения вероятности один класс сменяется другим, в нашем случае оптимальный порог cut off =3,1lg (Se =0,72, Sp=0,83) для среды «моча», cut off =3,93 lg (Se =0,93, Sp=1,0) – для среды «слюна». Точка отсечения в 3,1lg для среды «моча» значит, что все значения ВН≤3,1lg, могут трактоваться, как не имеющие активной ЦМВИ. А для среды «слюна» - 3,93 lg значит, что все значения ВН≤3,93lg, могут трактоваться, как не соответствующие активной ЦМВИ.

Сравнив коэффициенты полученных математических моделей для двух биологических сред, следует заметить следующее; для биологической среды «моча» коэффициент согласия модели R^2=0,29, означает, что модель объясняет только 29,0% всех случаев, для среды «слюна» R^2=0,64, что гораздо выше (p=0,00) и говорит о возможном практическом применении данной модели. Результаты проведенного ROC-анализа, также подтверждают приоритетную возможность использования, особенно в качестве скрининга, ПЦР-исследования слюны AUC ПЦР слюны= 0,96, (ДИ 0,94-0,99).

Таким образом, тяжесть клинических проявлений активной хронической ЦМВИ у детей из группы ЧБД находится в прямой связи с репликативной активностью вируса, проявляющейся в интенсивности вирусовыделения в организме иммунокомпрометированного ребенка.

Предложенное ранжирование вирусной нагрузки может служить критерием оценки степени тяжести активной хронической ЦМВИ.

Информативность ПЦР в реальном времени определяющей вирусную нагрузку ДНК ЦМВ в слюне и в моче, сопоставима с вероятностью 98,0%, поэтому в практической работе педиатра детской поликлиники с детьми из группы ЧБД для максимально точной лабораторной диагностики активной ЦМВИ необходимо использовать две среды исследования с предпочтением слюны, особенно для скрининговых исследований.

Оценка клинической эффективности терапии хронической активной ЦМВИ в группе ЧБД, из которых была сформирована группа лечения (ГЛ) (72/112), заключалась в сравнении иммунопатологических синдромов и лабораторных отклонений до и через 3 месяца после окончания терапии.

Среди пациентов ГЛ инфекционный синдром был у всех детей (100%). Субфебрилитет отмечался у 16,7% (12/72), купировался после курса лечения в 83,3% (10/12) случаев. Кратность ОРВИ составляла 3-5 эпизодов за 6 месяцев наблюдения; индекс резистентности до лечения за полгода ретроспективного анализа в ГЛ - 0,7, а за 3 месяца наблюдения и лечения – 0,4.

Госпитализированы были 7 человек: в 2 случаях по поводу ОКИ вирусно-бактериальной этиологии в средне-тяжелой форме; в 5 случаях по поводу ОРВИ, осложненной в 3 случаях острым бронхитом и острым средним отитом. За время терапии в течение 3 месяцев ОРВИ перенесли 57% пациентов (41/72), из них 83% (34/41) в легкой форме.

После терапии значительно сократилось количество осложнений ОРВИ. Если анамнестически до лечения в ГЛ регистрировались такие осложнения, как пневмония в 13,9% (10/72), острый бронхит – 19,4% (14/72), острый средний отит – 23,6% (17/72), ангина – 9,7% (7/72), то частота

осложнений ОРВИ за время терапии составила 29,2% (21/72): острый бронхит – 8,3% (6/72), острый средний отит – 16,7% (12/72), ангина – 4,2% (3/72). Пневмония как осложнение ОРВИ не регистрировалась ни в одном случае. Потребность в антибиотикотерапии в ГЛ до лечения составляла 2,9±0,3 (ДИ 2,6; 3,3), а за время терапии дети получали в среднем 0,8±0,2 (ДИ 0,6;1,0) курсов антибиотикотерапии.

Лимфопролиферативный синдром регистрировался в ГЛ до лечения у 47,2% (34/72), после лечения – 30,5% (22/72). Полиаденопатия в ГЛ после лечения не встречалась. ГНМ 1,2 ст. до лечения встречалась в 41,6% (30/72) против 29,2% (21/72) после терапии, 3 ст. – 15,3% (11/72) до лечения против 8,3% (6/72). Аденоидит 1,2 ст. имели 38,9% (28/72) детей до лечения, а после – 23,6% (17/72), 3 ст. – 12,5% (9/72) до лечения, после – 7% (5/72). Фолликулярный и гранулезный фарингит до лечения был выявлен у 20,8% (15/72), после – 11,1% (8/72). Гепатомегалия в ГЛ до терапии была диагностирована в 19,4% (14/72) случаев, после – у 8,3% (6/72). Спленомегалия была зарегистрирована до лечения у 11,1% (8/72), после – у 1,4% (1/72).

Аллергический синдром присутствовал у 62,5% (45/72) до лечения, проявления аллергии в виде аллергодерматоза (42/72) были купированы после окончания терапии – у 38,1% (16/42). С рецидивирующими БОС в ГЛ вошли 5 человек, за время терапии у 2 были однократные эпизоды БОС во время интеркуррентных ОРВИ.

В ГЛ до начала терапии лейкопения отмечалась у 22,2% (16/72), лейкоцитоз – у 13,9% (10/72). После терапии лейкопения купирована у 68,7% (11/16), лейкоцитоз в ГЛ после терапии был диагностирован у 3 пациентов и связан с наслоением интеркуррентных заболеваний.

Нейтропения купирована у 55,3% (26/47). Среди детей, у которых нейтропения была купирована не полностью, отмечалось повышение

абсолютных показателей нейтрофилов, снижения зарегистрировано не было. Показатели лимфоцитов нормализовались у 60,5% (23/38).

Иммуноглобулины А и G нормализовались в 71,4% (30/42) и 67,8% (19/28) случаев, соответственно. Частота комбинированного дефицита иммуноглобулинов А и G также достоверно снизилась – 31,9% (23/72) против 11,1% (8/72). После терапии не было выявлено сочетанного снижения общих иммуноглобулинов с нейтропенией. Достоверные отличия получены по частоте гиперферментемии АЛТ и АСТ, отражающей поражение печени. После терапии снизилось число детей с повышенными показателями в 4 раза: 16,7% (12/72) против 4,2% (3/72).

Критерии оценки эффективности лечения активной ЦМВ-инфекции основывались на клинической оценке течения заболевания, динамике серологических показателей: уменьшение/исчезновение титра антител IgM к ЦМВ, повышение значений индекса авидности. После проведенного курса лечения достоверно снизилась доля детей имевших маркеры активной ЦМВИ: IgM к ЦМВ после лечения не определялись, доля низких значений индекса авидности до лечения составляла 41,5% (25/60), после лечения – 5,0% (3/59) (χ^2 =20,1, p=0,011). Доля значений индекса авидности более 60% после лечения достоверно повысилась - 45,8% (27/59) против 17,0% (10/60), χ^2 =10,4, p=0,001.

Сравнительный анализ показал, что после лечения произошли достоверные изменения вирусовыделения в биологических средах. Так, достоверно увеличилась доля детей с отрицательным значением ПЦР в моче (51,3 против 22,3%, p=0,00). Почти в 5 раз увеличилась доля детей с низкой вирусной нагрузкой в слюне (5,5 против 45,8%, p=0,00), и также достоверно уменьшились доли детей со средней и высокой ВН. Следует заметить, что незначительное повышение ВН (0,2-0,4lg копий ДНК/ml) отмечено в 9,7 % (7/72) случаев в моче, и в 2,7 % (2/72) – в слюне.

ВЫВОДЫ

1. Частота выявляемости реактивации хронической ЦМВИ у ЧБД раннего возраста в детских поликлиниках г. Перми в среднем составляет 23,1% с достоверной вариабельностью показателей, что связано с отсутствием единых подходов к обоснованию диагноза и лабораторному подтверждению.

2. Уровень ВН из слюны и мочи, установленный в количественной ПЦР, отражает степень репликативной активности ЦМВ и находится в прямой корреляционной связи средней силы с серологическими маркёрами активной ЦМВИ (IgM и низким ИА IgG) и определяет клинико-лабораторные проявления реактивации хронической ЦМВИ: длительный субфебрилитет, полиаденопатию, гепатомегалию и аллергический синдром, а также нейтропению, гипоиммуноглобулинемию А и G и гиперферментемию АЛТ, АСТ, ГГТП.

3. В качестве методики оценки эффективности терапии хронической ЦМВИ предложено использование определения уровня ВН в ПЦР из слюны и мочи до и через 3 месяца после начала терапии. Высокой эффективностью терапии считается снижение ВН на $2\log_{10}$ и более (в 100 и более раз); умеренной эффективностью - снижение более, чем на 1 и менее $2\log_{10}$ (менее 100 и более 10 раз); низкой эффективностью - снижение менее, чем на $1\log_{10}$ (менее, чем в 10 раз). Свидетельством неактивной ЦМВИ является уровень ВН в слюне ниже 3,9log и в моче ниже 3,1log копий ДНК/мл.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В целях совершенствования диагностики хронической ЦМВИ у детей раннего возраста в амбулаторных условиях педиатру необходимо проводить клинико-эпидемиологический анализ перинатального периода жизни ребенка в соответствии с предложенным алгоритмом, опираясь на достоверные, научно доказанные предикторы: угроза прерывания беременности, хроническая фетоплацентарная недостаточность, серологические маркёры высокого риска ЦМВИ во время беременности, данные УЗИ-скринига новорожденного о поражении ЦНС, почек; многофакторность риска и тяжелая патология, потребовавшая госпитализации в ОРИТ в периоде новорожденности.

3. Верификация реактивации хронической ЦМВИ может осуществляться с помощью количественного определения уровня ВН в ПЦР на ДНК ЦМВ из слюны и мочи с оценкой тяжести клинической формы по уровню ВН в соответствии с ранжированием: ВН ≥6,0lg - высокая (ВВН); 4,0 lg ≤ВН< 6,0lg - средняя (СВН); ВН<4,0lg - низкая (НВН). Критерием реактивации хронической ЦМВИ следует считать уровень ВН для среды «слюна» = 3,93lg (Se =0,93, Sp=1,0) копий/мл, для среды «моча» = 3,1lg (Se=0,72, Sp=0,83) копий/мл.

4. Оценка эффективности терапии хронической ЦМВИ у детей раннего возраста в амбулаторных условиях помимо критериев положительной клинической динамики заболевания и серологических показателей, должна базироваться на динамике уровня ВН из слюны и мочи, с длительностью лечебных мероприятий до снижения уровня ВН из слюны и мочи, свидетельствующего об отсутствии активной ЦМВИ: для среды «слюна» ниже 3,9log, для среды «моча» ниже 3,1log копий ДНК/мл.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК:

1. Абдуллаев А.К. Клинико - функциональное значение герпесвирусного инфицирования у детей с рецидивирующими заболеваниями респираторного тракта и ЛОР - органов: Автореф. дис. … канд. мед. наук / Абдуллаев Аликбек Курбанович; РГМУ. - М., 2011. – 24 с.

2. Агзамова Ш.А. Клеточный и гуморальный иммунитет у детей раннего возраста, инфицированных внутриутробно цитомегаловирусом и вирусом простого герпеса. / Ш.А. Агзамова // Вятский медицинский вестник. - 2015. - № 2 (46). - С. 13-17.

3. Альбицкий В.Ю. Часто болеющие дети / В.Ю. Альбицкий, А.А. Баранов, И.А. Камаев, М.Л. Огнева. - Нижний Новгород: Издательство Нижегородской государственной медицинской академии, 2003. - 180 с.

4. Бабаченко И.В. Патогенез формирования частых респираторных заболеваний у детей с Эпштейна-Барр-вирусной и цитомегаловирусной инфекцией. / И.В. Бабаченко, А.С. Кветная, О.В. Мельник, А.С. Левина // Журнал инфектологии. -2011. -Т. 3.- № 4.- С. 67-72.

5. Бабаченко И.В. Цитомегаловирусная инфекция у часто болеющих детей. / И.В. Бабаченко, О.В. Мельник, А.С. Левина // Лечение и профилактика. - 2012. - №3(4).- С. 19-24.

6. Баранова И.П. Клинические варианты и классификация цитомегаловирусной инфекции у детей раннего возраста. / И.П. Баранова, Ж.Н. Керимова, О.А. Коннова, О.Н. Лесина, М.В. Никольская, Л.И. Краснова // Детские инфекции. - 2010. - Т. 9. - № 2. - С. 22-28.

7. Баранова И.П. Поражение печени при цитомегаловирусной инфекции у детей раннего возраста. / И.П. Баранова, Ж.Н. Керимова, О.А. Коннова, М.В. Никольская // Международный научно-исследовательский журнал. - 2013. - № 5-3 (12). - С. 68-69.

8. Барышников Е.Н. Цитомегаловирусная инфекция у больных язвенным колитом. / Е.Н. Барышников, В.Н. Дроздов, И.С. Шулятьев, А.И. Парфенов, Л.Б. Лазебник // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. - 2010. - № 10. - С. 25-28.

9. Бахметьев Б.А. Основные показатели иммунограммы детей и взрослых Пермской области: справочно-методические материалы для врачей / Б.А. Бахметьев, С.В. Ширшев, Н.Н. Кеворков. – Пермь, 2002. – 43 с.

10. Бачурина М.Н. Поражение печени ЦМВ этиологии у детей первого года жизни. / М.Н. Бачурина // Бюллетень Северного государственного медицинского университета.- 2012.- № 1 (28). - С. 42-43.

11. Булгакова В.А. Влияние персистирующей вирусной и бактериальной инфекции на иммунный статус детей с бронхиальной астмой / В.А. Булгакова // Медицинский Совет. – 2007. - № 4. – С. 76.

12. Булгакова В.А. Острые респираторные инфекции у часто болеющих детей / В.А. Булгакова, И.И. Балаболкин, Т.Б. Сенцова // Медицинский Совет. – 2007. - № 3. – С. 16-22.

13. Булгакова В.А. Респираторные инфекции и бронхиальная астма у детей / В.А. Булгакова, И.И. Балаболкин // Сборник докладов Всероссийской научно-практической конференции «Инфекционные аспекты соматической патологии у детей». – М., 2009. – С. 9 -11.

14. Булгакова В.А. Современное состояние проблемы часто болеющих детей / В.А. Булгакова, И.И. Балаболкин, В.В. Ушакова // Педиатрическая фармакология. – 2007. – Т. 4, № 2. – С. 48-52.

15. Бурдина О.М. Роль персистирующих инфекций в генезе частой респираторной заболеваемости детей / О.М. Бурдина // Интеграция науки и образования: сборник статей Международной научно- практической конференции (13 - 14 июня 2014 г., г. Уфа). - Уфа: РИО «ОМЕГА - САЙНС», 2014. - С.29 – 31.

16. Воронина Л.Н. Иммуномодулирующая терапия хронической врожденной цитомегаловирусной инфекции у детей / Л.Н. Воронина, Г.В. Санталова, Е.С. Гасилина и др. // Бюллетень медицинских Интернет - конференций. - 2013. - Т.3. – N 1. – С.7.

17. Герпетическая инфекция у детей. Учебное пособие для студентов / Под ред. А.У. Сабитова, С.А. Царьковой, В.В. Фомина. - Екатеринбург: УГМА, 2013.

18. Джумагазиев А.А. Цитомегаловирусная инфекция: влияние на здоровье детей раннего возраста. / А.А. Джумагазиев, Э.И. Джальмухамедова, Д.В. Райский // Астраханский медицинский журнал. - 2014. - Т. 9. - № 1. - С. 8-23.

19. Долгих Т.И. Клинико-лабораторные параллели герпесвирусных инфекций, сопряженных с лимфоаденопатиями у детей. / Т.И. Долгих, Т.Ф. Соколова, Н.Е. Турок, Ф.В. Носкова // Педиатрия. - 2011. - Т. 90. - №4. - С.70-72

20. Дробаченко О.А. Цитомегаловирусная инфекция с перинатальным поражением центральной нервной системы. / О.А. Дробаченко, В.Н. Тимченко, Т.В. Малашенко // Педиатр. - 2010. – Т. 1 - № 2. - С. 38-42.

21. Иванова В.В. Влияние иммуномодулирующей терапии на метаболический ответ лимфоцитов у больных ОРВИ на фоне герпетического инфицирования. / В.В. Иванова, Л.В. Говорова, Е.Н. Вершинина // Детские инфекции. – 5 (2). – 2006. – С. 6-11.

22. Иванова Л.В. Клинико-иммунологические особенности течения атопического дерматита и бронхиальной астмы, ассоциированных с цитомегаловирусной инфекцией: Автореф. дис… канд. мед. Наук / Иванова Людмила Васильевна; УрГМА. - Екатеринбург. – 2007.- 31с.

23. Иванюк С.Н. Клинико-иммунологические особенности рецидивирующего назофарингита, ассоциированного с цитомегаловирусной инфекцией, у детей. / С.Н. Иванюк, Э.Б. Белан, Т.Л. Садчикова, А.А. Желтова, А.А. Панина // В сборнике: Клиническая иммунология и аллергология -

междисциплинарные проблемы Труды Международного форума. - 2014. -С. 92-93.

24. Инфекционные болезни у детей: учебное пособие / Э.Н. Симованьян, А.Д. Плескачев, Л.Ф. Бовтало, В.Б. Денисенко, М.Н. Колодяжная, Р.Г. Ловердо, П.Ф. Рогозин, Л.Д. Мартыненко; под ред. Э.Н. Симованьян. – Изд. 2-ое, доп. и перераб. – Ростов н/Дону: Феникс, 2011. – 767 с.

25. Инфекционные болезни у детей: под ред. проф. В.Н. Тимченко. – 4-е изд., испр. и доп. - СПб.: СпецЛит, 2012. – С. 218-224.

26. Исаева Б.Э. Тромбоцитопении у детей. // Вестник КГМА им. И.К. Ахунбаева. - 2013. - Т. 2. - № 4. - С. 72-75.

27. Исаков В.А. Герпесвирусные инфекции человека: руководство для врачей / В.А. Исаков, Е.И. Архипова, Д.В. Исаков. – СПб.: СпецЛит, 2013. – 670 с.

28. Калинина Н.М. Роль иммунотропной терапии в повышении эффективности лечения герпес-вирусных инфекций / Н.М. Калинин, Н.И. Давыдова // Terra Medica. – 2009. – № 1(56). – С.17-22.

29. Касымова Е.Б. Динамика герпесвирусных инфекций у детей Астраханской области по данным ПЦР-диагностики. / Е.Б. Касымова, О.А. Башкина, Х.М. Галимзянов, Р.Ш. Зулькарнеев // Астраханский медицинский журнал. - 2012. - Т. 7. - № 2. - С. 116-119.

30. Клинические рекомендации (протокол лечения) оказания медицинской помощи детям больным цитомегаловирусной инфекцией. ФГБУ НИИДИ ФМБА России. Утверждено на заседании Профильной комиссии 9 октября 2015г.

31. Клинический протокол цитомегаловирусная инфекция у детей. Утвержден протоколом заседания Экспертной комиссии по вопросам развития здравоохранения МЗ РК № 23 от «12» декабря 2013 года.

32. Козлова С.Н. Аденоиды как проблема хронической Эпштейн-Барр вирусной и цитомегаловирусной инфекций и состояние мукозального иммунитета в системе «мать-дитя» / С.Н. Козлова, А.Г. Коробкина // Российская оториноларингология.- 2008. - №2. – С. 59-64.

33. Котлуков В.К. Цитомегаловирусная инфекция и синдром бронхиальной обструкции у детей первых трех лет жизни/ Котлуков В.К., Блохин Б.М., Румянцев А.Г., Делягин В.М., Мельникова М.А. // Вопросы практической педиатрии. – 1 (3). – 2006. - С. 30-33.

34. Кочкина С.С. Клинические «маски» врожденной цитомегаловирусной инфекции у детей. / С.С. Кочкина, Е.П. Ситникова // Вестник современной клинической медицины. - 2013. - № 1. –Т. 6. - С. 31-33.

35. Крамарь Л.В. Этиологическая структура и клинико-лабораторная характеристика мононуклеозоподобного синдрома у детей. / Л.В. Крамарь, О.А. Карпухина, А.А. Арова // Фундаментальные исследования. - 2012. - № 7-1. - С. 92-95.

36. Краснов В.В. Клинико-лабораторная характеристика и показания для лечения цитомегаловирусной инфекции у детей / В.В. Краснов, О.В. Халецкая, А.П. Обрядина, А.А. Кулова // Сборник научных трудов: «Актуальные вопросы педиатрии перинаталогии и репродуктологии» III Выпуск под ред. А. В. Прахова, г. Н. Новгород 2006 г. - С.60-63

37. Куля Е.О. Цитомегаловирусная инфекция как предиктор патологии плода, новорожденных и детей раннего возраста. // Запорожский медицинский журнал. - 2014. - № 6 (87). -С. 94-100.

38. Левина А.С. Клинические «маски» цитомегаловирусной инфекции у детей первого года жизни / А.С. Левина, И.В. Бабаченко // Материалы VI Российского Форума с международным участием «Педиатрия Санкт – Петербурга: опыт, инновации, достижения». 4 - 5 сентября 2014г. – СПб.: 2014. - С.250 – 251.

39. Львова И.И. Диагностика вторичной иммунной недостаточности в

детских организованных коллективах: методические рекомендации / И.И. Львова, И.П. Корюкина, Н.В. Минаева // – Пермь. - 2009. - 32с.

40. Львова И.И. Значение цитомегаловирусной инфекции в генезе внезапной смерти детей раннего возраста. [Электронный ресурс] / И.И. Львова, Г.Г. Фрейнд, А.В. Дерюшева, Н.С. Леготина, Е.В. Сидор // Здоровье семьи – 21 век: электронное периодическое издание. - 2013. - № 1(1). – URL: http://fh-21.perm.ru/download/2013-1-10.pdf

41. Львова И.И. Иммунитет детей начального звена обучения на приближенных к мегаполису территориях Пермского района / И.И. Львова, Н.В. Минаева, С.Н. Лузина // Перм. гос. мед. академия. Материалы юбилейн. науч. сессии 2006г. – Пермь. - 2006. - Т.2.- С.171-172.

42. Львова И.И. Хронические вирусные инфекции как фактор риска формирования поствакцинального противодифтерийного и противокоревого иммунитета у детей / И.И. Львова, И.В. Фельдблюм, Н.В. Минаева, А.В. Дерюшева // Социально-гигиенические и эпидемиологические проблемы сохранения и укрепления здоровья военнослужащих и населения: Научные труды Федерального научного центра гигиены им. Ф.Ф.Эрисмана. - Вып. 16. - Н. Новгород, 2006. - С. 367-370.

43. Любошенко Т.М. Сравнительная оценка клинико-иммунологических показателей больных с цитомегаловирусной и вызванной вирусом Эпштейна–Барр инфекциями. // Медицинские науки. - 2014. - №7. - С. 988-992.

44. Манзенюк О.Ю. Цитомегаловирусная инфекция у детей с различной инфекционно-воспалительной патологией / О.Ю. Манзенюк, О.В. Москалец // Инфекционная иммунология. - 2009. - Т.5. - №3-4. - С. 305-306.

45. Маркова Д.О. Цитомегаловирусная инфекция у детей с воспалительными заболеваниями кишечника. / Д.О. Маркова, М.О. Ревнова, Р.А. Насыров // Вопросы практической педиатрии. - 2012. - Т.: 7. - № 6. - С. 66-70.

46. Мельникова С.Е. Цитомегаловирусная инфекция и беременность. / С.Е. Мельникова, Е.Б. Троик // Детская медицина северо-запада. - 2012. - №3. - С. 63-67.

47. Минаева Н.В. Часто болеющие дети: учебное пособие / Н.В. Минаева, К.В. Плахина. // Пермь: ГБОУ ВПО ПГМА им. ак. Е.А. Вагнера Минздравсоцразвития России. - 2011. - 60 с.

48. Мурина Е.А. Взаимоотношения между циркуляцией свободных антител различной степени авидности и репликацией вирусов при острых и хронических формах оппортунистических инфекций / Е.А. Мурина, З.А. Осипова, А.Л. Мукомолова // Всероссийский ежегодный конгресс - Инфекционные болезни у детей: диагностика, лечение и профилактика. Сборник материалов конгресса. - Санкт-Петербург. - 2010. - С. 136.

49. Нестерова И.В. Проблемы лечения вирусно - бактериальных инфекций у часто и длительно болеющих иммунокомпрометированных детей / И.В. Нестерова, Е.И. Клещенко, С.В. Ковалева // Российский аллергологический журнал. - 2011. - Т.2 – С. 86 – 93.

50. Новиков М.Ю. Комплексная оценка здоровья детей трехлетнего возраста, перенесших тяжелую внутриутробную инфекцию. / М.Ю. Новиков, И.И. Львова, И.Б. Яковлев // Детские инфекции. - 2011. - Т. 10. - № 4. - С. 29-32.

51. Новиков М.Ю. Последствия тяжелых форм внутриутробной инфекции у детей раннего возраста: Дисс. … канд. мед. наук/ Новиков Максим Юрьевич; Пермская Государственная Медицинская Академия. - г. Пермь. – 2011. – 28 с.

52. Ожегов А.М. Рабочий вариант классификации цитомегаловирусной инфекции у детей / А. М. Ожегов, С. В. Мальцев, Э. М. Шакирова // Российский вестник перинатологии и педиатрии. -2000. - N 4. - С. 21 – 23.

53. Павлова М.В. Цитомегаловирусная инфекция у недоношенных новорожденных детей: количественные методы лабораторного анализа. / М.В. Павлова, Н.Е. Федорова, А.А. Адиева, З.С. Гаджиева, Е.Г. Гетия, М.В. Дегтярева, С.Н. Щербо, Ж.В. Евсегнеева, В.С. Гущин, Е.Н. Выжлова, В.В.

Малиновская, А.А. Кущ // Журнал научных статей Здоровье и образование в XXI веке. - 2007. - Т. 9. - № 1. - С. 70-71.

54. Половцева Т.В. Диагностика герпесвирусной инфекции у детей раннего возраста. / Т.В. Половцева, Н.В. Каражас, М.Ю. Калугина, Е.А. Мамедова, Н.А. Финогенова, И.Н. Лаврентьева // Детские инфекции. – 2012. - № 2. – С. 51–53.

55. Приказ Минздрава России от 09.11.2012 N 876н "Об утверждении стандарта специализированной медицинской помощи детям при хронических герпесвирусных инфекциях" (Зарегистрировано в Минюсте России 01.02.2013 N 26784).

56. Пронькина Н.С. Характеристика параметров иммунного статуса у больных хронической герпетической инфекцией с формированием синдрома хронической усталости и иммунной дисфункции. / Н.С. Пронькина, Г.В. Булыгин, Н.И. Камзалаков, Ю.С. Тихонова // Фундаментальные исследования. - 2013. - № 5-1. - С. 124-128.

57. Романцов М.Г. Терапия различных клинических проявлений герпетической болезни: лекция для врачей / М.Г. Романцов, Т.В. Сологуб, С.Б. Рыбалкин. - Санкт-Петербург - 2010г. – 32с.

58. Романцов М.Г. Часто болеющие дети. Современная фармакотерапия: руководство для врачей / М.Г. Романцов, Ф.И. Ершов. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 352 с.

59. Савватеева В.Г. Прогнозирование исходов цитомегаловирусной инфекции, перенесенной на первых месяцах жизни. / В.Г. Савватеева, Н.С. Ветрова, И.М. Михалевич // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. - 2015. - № 6 (106). - С. 35-39.

60. Савватеева В.Г. Характеристика течения цитомегаловирусной инфекции у новорожденных с учетом виремии. / В.Г. Савватеева, Н.С. Ветрова // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). - 2014. - Т. 131. - № 8. - С. 98-100.

61. Савенкова М.С. Значение герпесвирусных инфекций у детей. / М.С. Савенкова, Л.В. Вашура, А.К. Абдулаев, А.Е. Анджель, Г.М. Балакирева, И.Г. Румянцева, Е.С. Кузнецова // Педиатрия. – 2016. – Т. 95. - № 2. - С. 134-141.

62. Садыбакасова Г.К. Состояние иммунного статуса у детей с цитомегаловирусной инфекцией. / Г.К. Садыбакасова, К.С. Омурзакова // Наука, новые технологии и инновации. - 2014. - № 3. - С. 91-93.

63. Самохин П.А. Цитомегаловирусная инфекция у детей (клинико-морфологические аспекты). – М.: Медицина - 1987. – 160с.

64. Семёнова Л.Ю. Клинико-лабораторная характеристика длительного субфебрилитета у детей подросткового возраста и их качество жизни. // Современная медицина: актуальные вопросы. - 2013. - № 24. - С. 18-26.

65. Сижажева А.М. Лабораторная диагностика цитомегаловирусной инфекции. // Инновационная наука. - 2015. - № 12-2. - С. 289-292.

66. Скородумова Н.П. Врожденный цитомегаловирусный гепатит в XXI веке - уже не редкость! / Н.П. Скородумова, Т.И. Коваленко, Е.В. Шведкая, Е.В. Хмара // Здоровье ребенка. - 2014. - № 5 (56). - С. 139-144.

67. Смирнова А.И. Лабораторная диагностика цитомегаловирусной инфекции. / А.И. Смирнова, Е.В. Россихина, Е.П. Колеватых // Вятский медицинский вестник. - 2010. - № 3. - С. 45-50.

68. Соболева Н.Г. Результаты двойного слепого рандомизированного исследования клинической эффективности Ликопида в комплексном лечении цитомегаловирусного гепатита у детей. / Н.Г. Соболева, Т.И. Шаповалова, И.Г. Осипова // Педиатрия. – 2009. – 87 (2). - С. 100-103.

69. Соколова Т.И. Клинико-лабораторные параллели герпесвирусных инфекций, сопряженных с лимфоаденопатиями у детей / Т.И. Соколова, Н.Е. Турок, Ф.В. Носкова // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. - 2011. - Т. 90. - № 4. - С. 70-72.

70. Тузанкина И.А. Диагностика иммунозависимых заболеваний. / И.А. Тузанкина, Е.В. Власова, И.А. Пашнина. // Методические рекомендации. – Екатеринбург, 2008. – 32 с.

71. Ушакова Н.Г. Гематологические изменения при цитомегаловирусной инфекции у детей раннего возраста. / Н.Г. Ушакова, Р.А. Такташев, Е.Н. Епинетова, Н.В. Касаткина // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. - 1996. - Т. 75. - № 1. - С. 31.

72. Ушакова Р.А. Современные аспекты формирования затяжной желтухи у новорождённых детей. / Р.А. Ушакова, О.П. Ковтун, Б.С. Каганов // Вестник Уральской медицинской академической науки. - 2010. - № 2 (30). - С. 33-37.

73. Фаткуллина Г.Р. Анемия хронического заболевания и герпетические инфекции у детей. / Г.Р. Фаткуллина, В.А. Анохин, Р.И. Азюкова // Практическая медицина. Педиатрия. - 2014.- № 9 (85).

74. Хабриев Р.У. Оценка технологий здравоохранения. / Р.У. Хабриев, Р.И. Ягудина, Н.Г. Правдюк // М.: Медицинское информационное агентство, 2013.- 405 с.

75. Харламова Ф.С. Клинико-патогенетическое обоснование иммуннокоррегирующей и противовирусной терапии при персистирующей герпетической инфекции у детей с рецидивирующим крупом и обструктивном бронхитом / Ф.С. Харламова, В.Ф. Учайкин, Т.П. Легкова и др. // Детские инфекции. - 2005. – Т. 4. - №4. - С. 10-14.

76. Шахгильдян В. И. Структура вторичных заболеваний и современные походы к их лабораторной диагностике у больных ВИЧ-инфекцией. / В. И. Шахгильдян, М.С. Ядрихинская, А.П. Сафонова, Э.А. Домонова, О.Ю. Шипулина, М.В. Альварес-Фигероа, Е.А. Долгова, О.А. Тишкевич // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. - 2015. - №1. - С. 24-30.

77. Шахгильдян В.И. Герпесвирусные инфекции. // В кн.: В.В. Покровский ред. ВИЧ-инфекция и СПИД. Национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. - С. 202–236.

78. Шахгильдян В.И., Долгих Т.И., Домонова Э.А. Ермак Т.Н., Шипулина О.Ю. Цитомегаловирусная инфекция. В кн.: Покровский В.В., Творогова М.Г., Шипулин Г.А. ред. Лабораторная диагностика инфекционных болезней. Справочник. М.: БИНОМ, 2013. – С. 113–119.

79. Ширяев С.Н. Факторы риска реактивации цитомегаловирусной инфекции и влияние ЦМВ-ДНКемии на риск рецидива острого лейкоза у детей и подростков после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. / С.Н. Ширяев, И.М. Бархатов, В.Н. Вавилов, Н.В. Станчева, А.Б. Чухловин, Л.С. Зубаровская, Б.В. Афанасьев // Гематология и трансфузиология. - 2014. - Т. 59. - № S1. - С. 71-72.

80. Щербак В.А. Современные представления о цитомегаловирусной инфекции у детей раннего возраста. / В.А. Щербак, Н.Г. Попова, Н.Н. Степанова // ЭНИ Забайкальский медицинский вестник. – 2013 - №1.

81. Щербак В.А. Цитомегаловирусная инфекция у новорожденных: необходимость смены устоявшихся представлений. / В.А. Щербак, Н.Г. Попова, Н.Н. Степанова // Вопросы практической педиатрии. - 2015.- Т. 10. - № 1. - С. 46-53.

82. Юлиш Е.И. Особенности периода новорожденности детей, часто и длительно болеющих в раннем возрасте респираторными заболеваниями на фоне персистирующей цитомегаловирусной инфекции. / Е.И. Юлиш, Л.А. Иванова, С.Я. Ярошенко // Здоровье ребенка. - 2007. - № 4. - С. 41-47.

83. Ярцев М.Н. Клинико-лабораторная оценка иммунитета у детей и подходы к иммуномодулирующей терапии. / М.Н. Ярцев, К.П. Яковлева, М.В. Плахтиенко // Український пульмонологічний журнал. – 2010. - № 1. - С. 57-62.

84. Albanna E.E., El-latif R.S., Kamal G., Basem M.I. Diagnosis of Congenital Cytomegalovirus Infection in High Risk Neonates. // Meditter J. Hematol Infect. Dis. - 5. - 2013; Open Journal System.

85. Arav-Boger R., Pass R. Viral load in congenital cytomegalovirus infection. // Herpes. – 2007. - 14(1). - P. 17–22.

86. Barkai G., Brazilai A., Mendelson E., Tepperberg-Oikawa M. et al. Newborn screening for congenital cytomegalovirus using real-time polymerase chain reaction in umbilical cord blood. // IMAJ 2013. - 15. - P. 279-283.

87. Cullis J. Anaemia of chronic disease. // Clin. Med. — 2013. - Apr; 13 (2): 193-6. doi: 10.786 1/clinmedicine. 13-2-193.

88. Desmonsa A., Terradec C., Boulagnond C., et al. Post-mortem diagnosis, of cytomegalovirus and varicella zoster virus co-infection by combined histology and tissue molecular biology, in a sudden unexplained infant death. // J. Clin. Virol. – 2013. – 58. – P. 486-489.

89. Emery V.C. Cytomegalovirus: recent progress in understanding pathogenesis and control. // QJ Med. – 2012. – 105. - P. 401-405.

90. Fallah S., Tabatabaei A., Pournasir Z., Chavoshzadeh Z., et al. Cutaneous cytomegalovirus infection in a child with hyper IgE and specific defects in antibody response to protein vaccines. // Braz J Infect Dis.- 2011.- Sep-Oct;15(5). – P. 484-485.

91. Fliss P.M., Brune W. Review: Prevention of Cellular Suicide by Cytomegaloviruses. // Viruses J. – 2012. – 4. – P. 1928-1949.

92. Gaeta A., Nazzari C., Verzaro S., Latte M.C., et al. Application of Real Time PCR in post transplant monitoring of cytomegalovirus infection: comparison with other diagnostic approaches. // New Microbiologica. – 2006. – 29. – P. 185-192.

93. Ganzenmueller T., Henke-Gendo C., Schlué J., Huebner S., et al. Quantification of cytomegalovirus DNA levels in intestinal biopsies as a diagnostic tool for CMV intestinal disease. // Journal of Clinical Virology. – 2009. - 46 (3). P. 254–258.

94. Goodrum F., Caviness K., Zagallo P. Human Cytomegalovirus Persistence.// Cell Microbiol. – May 2012. – 14 (5). – P. 644-655.

95. Grys T.E., Doreen L.D., Bruce W., Cole I., et al. Precision across the Analytical Measuring Range of a Quantitative Real-Time PCR Assay for Cytomegalovirus Detection among Three Clinical Laboratories. // J of Clin Microbiol. - Aug. 2011. - 49 (8). – P. 3044-3046.

96. Gunson R.N., Maclean A.R., Shepherd S.J., Carman W.F. Simultaneous detection and quantitation of cytomegalovirus, Epstein-Barr virus, and adenovirus by use of real-time PCR and Pooled Standards. // J of Clin Microbiol. - Mar. 2009. – P. 765-770.

97. Halwachs-Baumann G., Genser B., Pailer S., Engele H., et al. Human cytomegalovirus load in various body fluids of congenitally infected Newborns / Department of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, University Hospital Graz, Austria // J. Clin. Virol. — 2002. — № 25. — Suppl. 3. — P. 81-7.

98. Hayden R.T., Gu Z., Ingersoll J., Abdul-Ali D., et al. Comparison of droplet digital PCR to real-time PCR for quantitative detection of cytomegalovirus.// J of Clin Microbiol. - Feb. 2013. - 51 (2). – P. 540-546.

99. Humara A., Asberg A., Kumara D., Hartmann A., et al. An assessment of herpes virus co-infections in patients with CMV disease: correlation with clinical and virologic outcomes. // American Journal of Transplantation. - 2009. – 9. – P. 374-381.

100. Jessica L, Michael J. C., Scott D. G., Stephanie R. B. Laboratory testing and diagnostic coding for cytomegalovirus among privately insured infants in the United States: a retrospective study using administrative claims data. // BMC Pediatrics. - 2013. - 13:90. - doi:10.1186/1471-2431-13-90.

101. Johnson J., Anderson B., Pass R.F. Prevention of Maternal and Congenital Cytomegalovirus Infection. // Clin Obstet Gunecol. – June 2012. - 55 (2). – P. 521-530.

102. Leung J., Cannon M.J., Grosse S.D., Bialek S.R. Laboratory testing and diagnostic coding for cytomegalovirus among privately insured infants in the United

States: a retrospective study using administrative claims data.// BMC Pediatrics. – 2013. - 13: 90.

103. Lvova I. I. Improvement of Control the Efficiency of Treatment of Cytomegalovirus Infection in Children / I.I. Lvova, N.S. Legotina, A.V. Deryusheva // World Applied Sciences Journal. - 2013. - №25 (7). - P. 1023-1026.

104. Manal F., David M., Martha F., Jeffrey M. Severe late-onset multisystem cytomegalovirus infection in a premature neonate previously treated for congenital infection. // BMC Pediatrics. – 2013. - 13: 142.

105. Mareri A., Adler S.P., Nigro G. Herpesvirus-associated acute urticaria: An age matched case-control study. // PLoS ONE 8 (12), e85378. -2013. - Open Access.

106. Nathan B., Mark N. Progress in the development of new therapies for herpesvirus infections. // Curr Opin Virol. - 2011. - December 1. - 1(6). – P. 548-554.

107. Nefzi F., Ben Salem N.A., Khelif A. Quantitative analysis of human herpesvirus in blood and saliva from patients with acute leukemia. // Journal of Medical Virology. - 2015. - 87 (3).

108. Pinheiro R.S., Ferreira D.C., Nóbrega F., Santos N.S., et al. Current status of herpes virus identification in the oral cavity of HIV-infected children. // Rev Soc Bras Med Trop. – 2013. - 46 (1). – P. 15-19.

109. Rossini G., Cerboni C., Santoni A., Landini M.P., et al. Interplay between human cytomegalovirus and intrinsic/innate host responses: a complex bidirectional relationship. // Mediators of Inflammation. – 2012. - Article ID 607276: 1-16.

110. Schleiss M.R. Persistent and recurring viral infections: the human herpesviruses // Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care. – 2009. – 39(1). - P. 7-23.

111. Silverio C.E, Smithen-Romany C.Y., Hondal N.I., Díaz H.O., et al. Acute liver failure in Cuban children. // MEDICC Review. – Vol. 17. - Issue 1. - 1 January 2015. – P. 48-54.

112. Stack G., Stacey M.A., Humphreys I.R. Herpes virus exploitation of host immune inhibitory pathways. // Viruses J. – 2012. – 4. - P. 1182-1201.

113. Sun X., Liu Z., Wang B., Shi L., et al. Sero-epidemiological survey of human cytomegalovirus-infected children in Weifang (Eastern China) between 2009 and 2012. // Virology Journal. – 2013. - 10: 42.

114. Sun Y.-Q., Xu L.-P., Han T.-T., Zhang X.-H., et al. Detection of human cytomegalovirus (CMV) DNA in feces has limited value in predicting CMV enteritis in patients with intestinal graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation. // Transplant Infectious Disease. – Vol. 17. - Issue 5. - October 2015. – P. 655-661.

115. Susan P., Ricardo P., Erica M., Paul S., et al. Cytomegalovirus in pregnancy: to screen or not to screen. // BMC Pregnancy and Childbirth. – 2013. - 13: 96.

116. Vincent E., Zhengming G., Morgenstern M., Gibson C., et al. Detection of Cytomegalovirus in Whole Blood Using Three Different Real-Time PCR Chemistries. // Journal of Molecular Diagnostics. – 2009. - 11 (1). – P. 54-59.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АЛТ - аланинаминотрансфераза

АСТ - аспаргинаминотрансфераза

БОС - бронхообструктивный синдром

ВИН - вторичная иммунная недостаточность

ВН - вирусная нагрузка

ВУИ - внутриутробная инфекция

ГС - группа сравнения

ДИ - доверительный интервал

ЧБД - часто болеющие дети

ИА - индекс авидности

ИФА - иммуноферментный анализ

ОАК - общий анализ крови

ОГ - основная группа

ОРВИ - острая респираторная вирусная инфекция

ОРИТ - отделение реанимации и интенсивной терапии

ПЦР - полимеразно-цепная реакция

УЗИ - ультразвуковое исследование

ЦМВ - цитомегаловирус

ЦМВИ - цитомегаловирусная инфекция

IgA - иммуноглобулин А

IgE - иммуноглобулин Е

IgG - иммуноглобулин G

IgM - иммуноглобулин М

Приложение 1.

ИНДИВИДУАЛЬНАЯ КАРТА РЕБЁНКА

Критерии исключения: индекс резистентности менее 0,33 (за 6 месяцев предшествующего года, по данным обращаемости); средняя длительность болезни менее 6 дней; лечения антибиотиком не проводилось (за 6 месяцев предшествующего года); гестационный возраст - менее 36 недель; установленная тяжелая врожденная патология неинфекционного генеза (ВПС, ВП ЦНС, ВП МПС, муковисцидоз и др.); установленная рецидивирующая аллергическая патология средней тяжести и тяжелая (бронхиальная астма, аллергический ринит).

1. Паспортная часть.

Ф.И.О._____

Возраст на момент первичного обращения_____

Дата рождения_____

2. Анамнестические данные.

1. Число ОРВИ за 6 месяцев предшествующего года, по данным обращаемости	
2. ИР	
3. Средняя длительность болезни (более 6 дней)	
4. Лечение антибиотиком не менее 1 раза (за 6 месяцев предшествующего года), число курсов	
5. Потребность в госпитализации в днях за 6 месяцев	
Перинатальный период (высокий риск ВУИ):	
Антенатальный	замершая беременность___, выкидыши___, длительное бесплодие, аборты____, смерть детей в раннем возрасте, ОРВИ во время беременности___ в сроке_____, ВПГИ во время беременности_____; в сроке ____ ,
Интранатальный	оперативные роды по причине_____, масса при рождении = ; ЗВУР , гипотрофия; другие патологические синдромы_____
Постнатальный ранний	желтуха, поражение ЦНС, токсическая эритема, геморрагический синдром; другие_____

3. Заболеваемость на 1-м месяце жизни:

3.1. ОРВИ – _____ кратность_____ тяжесть_____ осложнения_____

3.2. Аллергия - возраст_____ кратность_____ тяжесть_____

3.3. Гепатоспленомегалия

4. Предшествующее обследование

4.1. Таблица серологической динамики течения ВУИ

	Дата	ЦМВ		
		IgM	IgG	ИА
Мать				
Ребенок				

4.2. Серологические исследования крови

Дата	Возраст	ЦМВ		
		IgM	IgG	ИА

4.3. УЗИ внутренних органов (эмбриофетодисплазии)

	Дата	Возраст	Патологические изменения
Головной мозг			
Почки			
Печень			
Желчный пузырь с протоками			
Селезёнка			
Сердце			

4.4. Поражение других органов и систем по данным других методов исследования:

5. Инфекционный синдром (СНПЗ)

5.1. Кратность ОРВИ на 1 году _____ ИР=

На 2 году_____ ИР=

На 3 году_____ ИР=

5.2. Средняя длительность ОРВИ, в днях_____

5.3. Осложнения

Осложнения	**Возраст**	**Кратность**
Отит		

Пневмония		
Ангина		
Острый бронхит		
Рецидивирующий бронхит		
Обструктивный бронхит		
Пиелонефрит		
Другие		

5.4. Постоянные изменения в ротоглотке - да/нет (фарингит). Кандидоз слизистых

5.5. Рецидивирующие ИМВП_____ (кратность)

5.6. ОРВИ по контакту с родителями, старшими детьми в семье, без контакта

5.7. Осмотр: насморк, заложенность носа, ротовое дыхание, гиперемия в ротоглотке, увеличение миндалин 1, 2, 3 степени, отёк миндалин, гиперемия миндалин. Другие_____

5.8. Рецидивы ВПГИ (форма – кожная, слизистая (стоматиты)_____, кратность в год_____, возраст начала_____)

6. Лимфопролиферативный синдром

Проявления	Визит 1	Визит 2
Аденоидит I степени		
II степени		
II степени		
Гиперплазия НМ I степени		
II степени		
III степени		
Гипертрофия НМ I степени		
II степени		
III степени		
Хр.тонзиллит		
гранулезный/фолликулярный фарингит		
Увеличение л/у подчелюстных I II III, Постоянное		
других групп,		
2-3 и более групп (полиадения)		

6.1. Гепатомегалия (+ см), спленомегалия (+ см)

7. Аллергический синдром кожная, респираторная, мукозная, смешанная.

7.1. Отягощенность по линии матери, отца, других близких родственников (кто, чем болен)/нет отягощенности.

7.2. Клинические проявления: кожные (шершавость кожи, сыпь постоянная, рецидивирующая, характер).

Респираторные_____

7.3. Поддается лечению антигистаминными препаратами и др. традиционному лечению/нет.

8. Данные лабораторного обследования:

8.1. ОАК

Таблица динамики показателей ОАК у ЧБД

Показатели	Эритроциты	Гемоглобин	Лейкоциты	Эозинофилы	Нейтрофилы	Лимфоциты	Моноциты	СОЭ мм/час
1 визит								
2 визит								

8.2. Гипоиммуноглобулинемия:

Общие иммуноглобулины	Визит 1	Визит 2
IgA		
IgG		
IgM		

8.3. Другие показатели иммунного статуса

Другие показатели иммунного статуса	Визит 1	Визит 2
Антитела к ИФ-альфа		

8.4. Биохимические показатели:

	Визит 1	Визит 2
АЛТ		
АСТ		
ГГТ		
Билирубин Общ.		
Билирубин Прям.		

8.5. Таблица серологической динамики ЦМВИ с оценкой эффективности

Инфекция	Дата Возраст Интервал			Дата Возраст Интервал			Оценка эффективности
	IgM	IgG	ИА	IgM	IgG	ИА	
ЦМВИ							

8.6. Таблица динамики ВН ДНК ЦМВ с оценкой эффективности

Инфекция	Дата Возраст Интервал			Дата Возраст Интервал			Оценка эффективности
	Слюна, коп/мл	Кровь, коп/мл	Моча, коп/мл	Слюна, Коп/мл	Кровь, коп/мл	Моча, коп/мл	
ЦМВИ							

Приложение 2.

Анкета для родителей иммуннокомпрометированных детей.

Проводится в целях объективной оценки клинической эффективности проводимого лечения по состоянию ребенка

Дата рождения
Точный возраст
Дата 1 обращения
Точный возраст

1. Аппетит хороший, плохой, избирательный. Всегда или при ухудшении состояния.
2. Сон хороший, плохой, с быстрым/медленным засыпанием, просыпается ночью, плачет.
3. Характер спокойный/вспыльчивый, плаксивый, неуживчивый.
4. Стул
   4.1. Нормальный (регулярный, оформленный)
   4.2. Неустойчивый (запор – жидкий нечастый)
   4.3. Наклонность к запору.
   4.5. Частый жидкий, непереваренный, со слизью, иногда с прожилками крови
5. Боли в животе, связанные с едой/не связанные
6. Срыгивания, наклонность к рвоте.
7. Частые ОРВИ. Дата последнего случая
   7.2. Длительность (дней)
   7.5. Осложнения бактериальные (ангина, отит, бронхит, пневмония, пиелонефрит, др.)
   Лечение антибиотиком
   7.6. Постоянный насморк/нет, кашель или затяжной после ОРВИ
8. Аллергия кожная, респираторная, смешанная
   8.1. Отягощенность по линии матери, отца (кто, чем болен)/нет отягощенности
   8.2. Поддается антигистаминным препаратам и др. назначенному лечению/нет
   8.3. Сыпь аллергическая/нет; постоянная, не поддающаяся терапии
   8.4. Состояние кожи, ногтей, волос. Шершавость, ломкость, выпадение
9. Пузырьковая сыпь на коже губ, носа.
   Язвочки на слизистой рта.
   Частота за год.
   Одновременно с членами семьи/нет. С кем?
   Во время ОРВИ, переохлаждения, чрезмерного пребывания на солнце.
10. Увеличены лимфоузлы
   10.1. Подчелюстные
   10.2. Нескольких групп, сохраняются длительно
   10.3. Храпящее дыхание/нет
   10.4. Затрудненное носовое дыхание – дышит ртом
   10.5. Рот открыт во сне.

Приложение 3.

Анкета для родителей иммуннокомпрометированных детей.

Проводится в целях объективной оценки клинической эффективности проводимого лечения по состоянию ребенка

Дата рождения
Точный возраст
Дата 2 обращения
Точный возраст
Интервал

1. Аппетит хороший, плохой, избирательный. Всегда или при ухудшении состояния.
2. Сон хороший, плохой, с быстрым/медленным засыпанием, просыпается ночью, плачет.
3. Характер спокойный/вспыльчивый, плаксивый, неуживчивый.
4. Стул
   4.1. Нормальный (регулярный, оформленный)
   4.2. Неустойчивый (запор – жидкий нечастый)
   4.3. Наклонность к запору.
   4.5. Частый жидкий, непереваренный, со слизью, иногда с прожилками крови
5. Боли в животе, связанные с едой/не связанные
6. Срыгивания, наклонность к рвоте.
7. Частые ОРВИ. Дата последнего случая
   7.2. Длительность (дней)
   7.5.Осложнения бактериальные (ангина, отит, бронхит, пневмония, пиелонефрит, др.)
   Лечение антибиотиком
   7.6. Постоянный насморк/нет, кашель или затяжной после ОРВИ
8. Аллергия кожная, респираторная, смешанная
   8.1.Отягощенность по линии матери, отца (кто, чем болен)/нет отягощенности
   8.2.Поддается антигистаминным препаратам и др. назначенному лечению/нет
   8.3.Сыпь аллергическая/нет; постоянная, не поддающаяся терапии
   8.4. Состояние кожи, ногтей, волос. Шершавость, ломкость, выпадение
9. Пузырьковая сыпь на коже губ, носа
   Язвочки на слизистой рта
   Частота за год
   Одновременно с членами семьи/нет. С кем?
   Во время ОРВИ, переохлаждения, чрезмерного пребывания на солнце
10. Увеличены лимфоузлы
   10.1.Подчелюстные
   10.2. Нескольких групп, сохраняются длительно
   10.3. Храпящее дыхание/нет
   10.4. Затрудненное носовое дыхание – дышит ртом
   10.5. Рот открыт во сне

Дневник контроля фактического выполнения рекомендаций Приложение 4

Ф.И.О. Дата начала лечения

Возраст Пол Дата окончания лечения

Лечение	Дни наблюдений																													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Кипферон__ св. __раз в день																														
Ликопид _таб. _раз в день																														
Контроль течения заболевания																														
Температура (отмечается ежедневно)																														
Беспокойство																														
Вялость																														
Нарушение сна																														
Снижение аппетита																														
Насморк																														
Кашель																														
Увеличение лимфоузлов																														
Сыпь																														
Герпетические пузырьки																														
Рвота																														
Боли в животе																														
Жидкий стул																														
Запор																														
Храп во сне																														
Нарушения мочеиспускания																														

Уважаемые родители! Дневник ведётся исключительно в интересах Вашего ребенка!