

Возможности современной диагностики герпесвирусных инфекций у детей

А. Г. БОКОВОЙ, И. В. КОВАЛЕВ, Л. Ф. МАККАВЕЕВА, О. В. ВОЛОДИНА, Н. Б. ТАНИНА,
Ю. В. ПОЛЯКОВА, Н. А. ГРИШИНА, В. А. ДЕГТЯРЕВА, О. В. ЛОРИЯ

ФГБУ ЦКБП УДП РФ, Москва

У 828 детей в возрасте от 2 месяцев до 14 лет с различными клиническими формами герпесвирусных инфекций (ГВИ) были исследованы анамнестические, клинические и лабораторные данные, сочетание которых позволяет своевременно ставить этиологический диагноз и оценивать активность текущего инфекционного процесса. Учитывая полиморфизм клинических симптомов ГВИ, была показана высокая диагностическая значимость определения геномов герпесвирусов в трех средах (кровь, слюна, моча) методом ПЦР и высоких титров G-антител (439 ед. для ЦМВ и 212,3 ед. для ВГЧ-6).

Ключевые слова: герпесвирусные инфекции, дети, ПЦР, титры антител

The Possibilities of Modern Diagnostics of Herpesvirus Infections in Children

A. G. Bokovoy, I. V. Kovalev, L. F. Makkaveeva, O. V. Volodina, N. B. Tanina, Yu. V. Polyakova, N. A. Grishina, V. A. Degtyareva, O. V. Loria

Central Clinical Hospital and Polyclinic of Administration of the Presiden's Affairs RF, Moscow

Medical history, clinical and laboratory data were studied in 828 children aged from 2 months to 14 years. All of them had different clinical forms of herpesvirus infections (HVI). The combination of the information allows to form the etiologic diagnosis timely and to evaluate the activity of the current infection. Given the polymorphism of clinical symptoms of HVI, it was very important to determine herpesvirus genomes in three media (blood, saliva, urine) by PCR, and high titers of G-antibodies (439 u for CMV and 212.3 u for HHV-6).

Key words: herpes virus infection, children, PCR, antibody titers

Контактная информация: Боковой Александр Григорьевич — д.м.н., проф., зав. 5 детского и/о ЦКБ УДП РФ; 121108, Москва, ул. Пивченкова, д. 1, к. 3, кв. 33; (495) 414-03-44

УДК 616.9:578.825.11

Известный полиморфизм клинических проявлений герпесвирусных инфекций (ГВИ) у детей, а также выраженная тенденция этих болезней протекать в стертой, субклинической формах определяют трудности современной диагностики (а, следовательно, и своевременного лечения) у большинства наблюдаемых пациентов [1–4].

Между тем, существенно возросшие реальные возможности лабораторной диагностики уже сегодня позволяют с учетом комплекса анамнестических сведений, клинической симптоматики и данных лабораторных исследований не только проводить своевременную диагностику и прогнозировать дальнейшее течение ГВИ, но и контролировать результаты проводимой терапии у этих больных [5–8].

Проблема заключается в создании патогенетически обоснованного диагностического алгоритма, т. е. в адекватной, согласованной оценке данных классической триады — анамнестических, клинических и лабораторных данных.

Материалы и методы исследования

В 5 детском инфекционном отделении за последние 10 лет (2001–2011 гг.) из 6562 детей в возрасте от 2 месяцев до 14 лет, перенесших различные инфекционные болезни (острые респираторные инфекции: ОРВИ с бактериальными осложнениями — отиты, синуситы, бронхиты, пневмонии; острые кишечные инфекции: ОКИ — дизентерия, сальмонеллез, кампилобактериоз, иерсиниоз, ротавирусный гастроэнтерит, норовирусный гастроэнтерит и другие вирусные ОКИ; воздушно-капельные инфекции — корь, скарлатина и др.) выявлены 828 детей с ГВИ.

Среди 828 обследованных детей нами были установлены следующие клинические формы герпесвирусных инфекций:

— инфекционный мононуклеоз Эпштейна-Барр-вирусной, цитомегаловирусной, ВГЧ-6-вирусной и сочетанной этиологии — 312

— ветряная оспа — 38

— герпес зостер — 12

— кожно-слизистые формы ВГЧ-1 — 42

— внутриутробные ЦМВИ (ЦМВ инфекции) — 48

— микстинфекции ОРВИ + ЦМВИ — 126

— микстинфекции ОРВИ + ЦМВИ + ЭБВИ + ВГЧ-6 — 186

— ВГЧ-6-инфекции (лихорадка, фебрильные судороги) — 24

— ВГЧ-6-инфекции (внезапная экзантема) — 32

— ЦМВ-гепатиты — 3

— ЭБВ-гепатиты — 3

— ЭБВ-Т-клеточная лимфома — 1

— ЦМВ-энцефалит — 1

Возрастной состав обследованных детей: до 1 года — 68 (8,2%); до 3-х лет — 238 (28,8%); до 7 лет — 350 (42,3%); старше 7 лет — 172 (20,7%).

Наряду с рутинными обследованиями (общий анализ крови, анализ мочи, кал на яйца глист, кал на кишечную группу) проводились дополнительные исследования — мазки из носовых ходов в реакции ИФ для выявления антигенов респираторных вирусов, выявление в реакции ИФА антител к респираторным вирусам, бактериологические исследования слизи из ротоглотки, кала на кишечную микрофлору, УЗИ брюшной полости, рентгенография придаточных пазух и легких.

У больных проводили также специальные исследования: — подсчет атипичных мононуклеаров в общем анализе крови;

— определение в сыворотке крови в ИФА IgM и IgG-антител количественным методом к ВГЧ-1 (вирусу герпеса человека 1-го типа), ВГЧ-4 (вирусу герпеса человека 4-го ти-

па), ВГЧ-5 (вирусу герпеса человека 5-го типа), ВГЧ-6 (вирусу герпеса человека 6-го типа);

— определение в крови, моче и слюне методом ПЦР геномов ВГЧ-1, ВГЧ-4, ВГЧ-5, ВГЧ-6;

— IgM- IgG- к хламидиям и микоплазмам методом ИФА.

Исследования проводились в клинических лабораториях центральной клинической больницы и в центре молекулярной диагностики Центрального научно-исследовательского института эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва.

Результаты и их обсуждение

Подробный анализ совокупности анамнестических данных показал, что традиционные для инфекционных заболеваний указания на наличие инфекционного очага (в семье, детском саду, школе) или контакт с больным (носителем возбудителя) были выявлены лишь у 104 из 828 больных (12,6%) — главным образом у детей, перенесших ветряную оспу (у 32 из 38), герпес зостер (у 8 из 12), внутриутробные цитомегаловирусные инфекции (у 32 из 48), инфекции, вызванные ВГЧ-1 (у 20 из 42) и лишь у 12 из 312 детей, (3,8%) перенесших инфекционный мононуклеоз (ИМ) и другие клинические формы ЭБВ-инфекции.

Кроме указанных контактов, у 778 детей были выявлены анамнестические данные, частота которых в зависимости от этиологии и клинических форм герпесвирусных инфекций колеблется в широких пределах.

Так, в группе детей, перенесших типичные и стертые формы инфекционного мононуклеоза, (вызванные вирусами ВГЧ-4, ВГЧ-5, ВГЧ-6, или их сочетаниями) а также различные клинические формы Эпштейна-Барр-вирусной инфекции (рецидивирующие тонзиллиты, фарингиты, лимфадениты) в анамнезе наиболее часто выявляются лимфадениты (62%), частые ОРВИ (54,5%), повторные ангины (41,8%), у детей преимущественно раннего возраста — стоматиты, обструктивные бронхиты (35,5%), а также субфебрилитет (30,4%). В этой группе также обращает на себя внимание высокая частота заложенности носовых ходов без ринита, затрудняющая носовое дыхание вследствие отека слизистых оболочек верхних отделов носоглотки (62%) а также пятнистые кореподобные сыпи у детей, получавших аминопенициллины: ампициллин, аугментин, амоксиклав (75,6%). При изучении результатов исследований общих анализов крови, сделанных в анамнезе у 96 детей этой группы в сроки от 2-х лет до 6 мес. перед настоящим поступлением в стационар оказалось, что у 48 из них (50%) на фоне различных острых инфекционных заболеваний (ОРВИ, острая кишечная инфекция, вирусный гепатит А) кратковременно обнаруживались атипичные мононуклеары (от 3 до 12% к форменным элементам белой крови).

В группе детей (42 ребенка), перенесших различные кожно-слизистые формы инфекции, вызванной герпесвирусом 1 типа (ВГЧ-1) в анамнезе с наибольшей частотой выявлялись лимфадениты (50,0%), стоматиты, синдром бронхиальной обструкции (47,6%), частые ОРВИ (26,2%), тонзиллиты, фарингиты (25,0%), недоношенность (62,5%).

У детей раннего возраста (от 3-х мес. до 2 лет 4 мес.), у которых были диагностированы внутриутробные цитомега-

ловиральные инфекции, в анамнезе наиболее часто были отмечены хронические заболевания матерей — тонзиллиты, гастродуодениты, синдром хронической усталости (33,3%), аборт, выкидыши (18,7%), нарушения течения беременности (45,8%), недоношенность (62,5%), стоматиты, субфебрилитет (50,0%), и нерезко выраженная герпатоспленомегалия (50,0%). У 42,9% детей этой группы в анамнестическом периоде на фоне преимущественно ОРВИ в общем анализе крови обнаруживались атипичные мононуклеары.

Анамнестические данные детей, перенесших вирусно-вирусные микстинфекции (ОРВИ+ инфекции, вызванные герпесвирусами 4-го, 5-го и 6-го типов или их сочетаниями) характеризовались повышенной частотой субфебрилитета (41,5% — 27,4%), частыми ОРВИ (64,0% — 56,5%), тонзиллитами, фарингитами (52,3% — 36,6%), а также частым выявлением в общих анализах крови в анамнестическом периоде атипичных мононуклеаров (57,1% — 40,7%). Подобные данные были обнаружены и в группе детей, перенесших вирусные инфекции, вызванные герпесвирусом 6-го типа: субфебрилитет в анамнезе у 42,8% больных, частые ОРВИ — 57,2%; лимфадениты — 51,8%, тонзиллиты, фарингиты — 57,1%; атипичные мононуклеары — 21,5%. Значение увеличения частоты всех выше приведенных анамнестических факторов у наблюдавшихся больных, перенесших различные герпесвирусные инфекции, подтверждается сравнением этих показателей с аналогичными, выявленными у 42 детей, находившихся в нашем стационаре с ОРВИ при отсутствии у них текущих герпесвирусных инфекций, что было показано клинически и лабораторно (табл. 1).

Все больные этой группы (42 ребенка в возрасте от 2-х до 13 лет, перенесшие грипп А, грипп В, парагрипп, аденовирусные и энтеровирусные инфекции) были обследованы на наличие герпесвирусов 1-го, 4-го, 5-го и 6-го типов в крови, слюне и моче методом ПЦР; методом ИФА в крови определяли наличие антител IgM и IgG количественным методом — все результаты исследований отрицательны (у 11 детей выявлены IgG-антитела к ВГЧ-5 в титрах от 0,1 до 1,1 УЕ при норме < 11; у 5 — IgG антитела к ЭБВ в титрах < 0,1 УЕ). В крови этих детей атипичные мононуклеары не выявлялись.

Данные, представленные в таблице 1, свидетельствуют о достоверном различии частоты анамнестических факторов у детей, перенесших ОРВИ с доказанным отсутствием у них герпесвирусных инфекций и частоты этих же факторов у детей с различными клиническими формами инфекций, вызванных герпесами 4-го, 5-го и 6-го типов, или их сочетаниями. Показано, что частота сочетаний этих факторов у детей, перенесших ГВИ, достоверно превышает таковую у детей, перенесших ОРВИ ($p < 0,05$).

Набор клинических симптомов и синдромов ГВИ у детей довольно разнообразен и не всегда связан только с определенными этиологическими факторами заболеваний. Такие клинические формы ГВИ, как инфекционный мононуклеоз, ветряная оспа, герпес зостер, кожно-слизистые формы инфекции, вызванные вирусом герпеса 1-го типа (ВГЧ-1) в разгаре заболевания, как правило, не представляют диагностических затруднений. Так, при инфекцион-

Таблица 1. Сравнительная частота анамнестических факторов у детей, перенесших ОРВИ и различные герпесвирусные инфекции

Анамнестические факторы Клинические формы болезней	Частые ОРВИ	Тонзиллиты, фарингиты	Стоматиты, синдром обструкции	Субфебрилитет, лимфадениты	Средняя частота сочетаний анамнестич. факторов
ОРВИ	21,4%	16,7%	11,9%	23,8%	18,45 ± 2,07% S-, 15 ($p < 0,05$)
ИМ+ЭБВИ	54,5%	41,8%	35,5%	30,4%	40,55 ± 3,8% S-7,6 ($p < 0,05$)
Сочетанные формы ГВИ	64,6%	52,3%	31,3%	41,5%	47,42 ± 5,51% S-1,0 ($p < 0,05$)
ГВИ — ВГЧ-6	56,5%	57,1%	25,0%	42,8%	45,35 ± 5,72% S-, 4 ($p < 0,05$)

Таблица 2. Выявление геномов ВГЧ-5 и ВГЧ-6 в зависимости от титров G-антител

ВГЧ	Число детей	Титры G-АТ	Титры М-АТ	Кровь ПЦР	Моча ПЦР	Слюна ПЦР
ВГЧ-5	16	0	0	0	0	0
	25	44,0 ± 12,8	0,2—0,8	0	0	0
	9	364 ± 20,0	0,2—0,5	0	0	0
	70	439 ± 36,2	0,2—6,0	+	+	+
ВГЧ-6	12	54,9 ± 2,2	—	0	0	0
	17	212,3 ± 27,5	0	+	+	+

— исследования не проводились; 0 — результат отрицательный; + — результат положительный

ном мононуклеозе (ИМ) частота таких симптомов и синдромов как повышение температуры тела, интоксикация, шейный лимфаденит, тонзиллит с наложениями на миндалины, заложенность носовых ходов и гепатоспленомегалия колебалась в пределах от 100,0 до 65,8%, значительно превышая аналогичные показатели в группе больных ОРВИ (95,2% — 23,8%).

У этих же больных ИМ также наблюдались конъюнктивит и симптомы поражения респираторного тракта (кашель, ринит, хрипы в легких — от 8,9 до 19,9%), однако со значительно меньшей частотой, чем при ОРВИ (от 71,4 до 95,2%), что, тем не менее, затрудняло диагност.

В группе детей с ГВИ, вызванными герпесвирусами 6-го типа наряду с симптоматикой, характерной для ГВИ в целом (повышение температуры тела, интоксикация, лимфаденит, тонзиллит, заложенность носовых ходов и гепатоспленомегалия — от 89,3 до 44,6%) с несколько меньшей частотой выявлялись симптомы, характерные для ОРВИ, — конъюнктивит, ринит, хрипы в легких, кашель (8,9% — 44,6%).

А в группах детей с микст-инфекциями: ЦМВИ + ОРВИ и сочетанные ГВИ + ОРВИ естественное присутствие симптомов поражения респираторного тракта (тонзиллит, обструктивный синдром, заложенность носа, конъюнктивит, ринит, кашель, хрипы в легких — от 59,4 до 29,0%) уже составляло практически половину частоты аналогичных показателей у детей в группе ОРВИ (95,2% — 71,4%). Однако, в этой же группе ОРВИ, такие симптомы, как шейный лимфаденит, тонзиллит с наложениями на миндалины, заложенность носовых ходов и гепатоспленомегалия наблюдались с частотой от 23,8 до 47,6%

С учетом выраженного разнообразия и частоты сочетаний различных клинических симптомов представленных заболеваний, в работе был использован набор дополнительных методов лабораторной диагностики герпесвирусных инфекций не только для уточнения диагноза, но и для определения активности герпесвирусного процесса, что имело большое практическое значение для проведения адекватной комплексной терапии.

Из числа детей, перенесших герпесвирусные инфекции (инфекционный мононуклеоз ЭБВ-, или сочетанной герпесвирусной этиологии, респираторные формы цитомегаловирусной инфекции у детей преимущественно раннего возраста, лихорадки, обусловленные ВГЧ-6, микстинфекции ОРВИ + ГВИ), 120 больных были обследованы с применением полного набора специфических для ГВИ лабораторных тестов: определение в крови атипичных мононуклеаров, М- и G-антител к герпесвирусам, монотест (гетерофильные антитела), выявление геномов герпесвирусов 4, 5, 6 типов в крови, слюне и моче. 16 детей были в возрасте до 3-х лет, 50 — до 7 и 54 ребенка старше 7 лет. Частота положительных результатов этих исследований представлены в таблице 2.

Данные, представленные в таблице 3 в трех средах (94,9% положительных результатов) и определение в сыворотке крови М- и G-антител (80% положительных результатов) являются ценными лабораторными показателями, имеющими большую клиническую ценность в диагностике ГВИ у детей. При этом, как очевидно, проведение ПЦР не только в крови, но в моче и слюне на 38,3% увеличивает возможность выявления геномов герпесвирусов у больного.

Таблица 3. Частота положительных результатов специальных лабораторных тестов

Показатели Число больных	ПЦР		Антитела		Монотест
	Кровь	Моча, слюна	М-АТ	G-АТ	
120	68	46	19	77	47
%	56,6	38,3	15,8	64,2	39,2
% суммарно	94,9		80,0		39,2

С учетом того обстоятельства, что начальные проявления большинства герпесвирусных инфекций не фиксируются врачами, так как часто протекают латентно или в стертой форме, а М-антитела в более позднем периоде (после 2—3-го месяца от начала заболевания) уже исчезают из сыворотки крови, определенное диагностическое значение имеет выявление титров G-антител к ВГЧ-4, ВГЧ-5 и ВГЧ-6.

Для выяснения роли ВГЧ-5 в этиологии сочетанных герпесвирусных инфекций + ОРВИ различной этиологии в этой же группе больных (120 детей) было проведено исследование величин титров G-антител к данному герпесвирусу и в той же порции крови — выявление методом ПЦР его генома.

У 16 детей в возрасте от 2-х до 13 лет, находившихся в стационаре (с диагнозами парагрипп, аденовирусная инфекция, грипп В, норовирусная инфекция, инфекционный мононуклеоз, ОРВИ, отит, цитомегаловирусная инфекция) титры G-антител к ВГЧ5 были равны нулю а геномы этих вирусов в крови методом ПЦР не выявлялись.

У 25 детей такого же возраста, госпитализированных с диагнозами парагрипп, ОРВИ, обострение пиелонефрита, ангина, ОРВИ, бронхообструктивный синдром, ОРВИ + реактивация ЦМВИ, инфекционный мононуклеоз, ОРВИ, гайморит, были обнаружены низкие титры G-антител к ВГЧ5 ($44,0 \pm 12,8$ уе.) и отсутствие геномов ВГЧ5 в крови у всех больных.

У 79 детей в возрасте от 5 месяцев до 13 лет, также находившихся в стационаре с вирусно-вирусными и вирусно-бактериальными микстинфекциями (ОРВИ с бактериальными осложнениями + ГВИ) в крови были выявлены высокие титры G-антител. Из них у 70 (88,6%) средняя величина титров составила $439,0 \pm 36,18$ уе., и у всех этих детей в крови, слюне и моче в различных сочетаниях обнаружены геномы ВГЧ5. У остальных 9 детей выявлены также повышенные, но достоверно более низкие титры G-антител ($364,0 \pm 20,0$ уе.) и у них геномы ВГЧ5 в крови, моче и слюне не были обнаружены.

Для выяснения роли ВГЧ-6 в этиологии сочетанных герпесвирусных инфекций + ОРВИ были также обследованы 29 детей, находившихся в отделении с диагнозами: ОРВИ + ВГЧ6-инфекция, ИМ смешанной этиологии, колебались в незначительных пределах — от 49 до 60 уе. (при норме до 6,0 уе.), составляя в среднем $54,9 \pm 2,2$ уе., а проведение ПЦР в крови, моче и слюне не выявило у них геномов этих герпесвирусов. У 17 детей титры G-антител к ВГЧ-6 колебались от 65 до 332 уе., составляя в среднем $212,3 \pm 27,5$ уе., а в ПЦР в крови, моче и слюне в различных сочетаниях у всех детей были выявлены геномы ВГЧ-6.

Заключение

Длительные комплексные клиничко-лабораторные исследования, проведенные в стационаре в течение 10 лет, свидетельствуют о том, что за исключением некоторых более четко представленных нозологических форм герпесвирусных инфекций (ветряная оспа, герпес зостер, инфекционный мононуклеоз, кожно-слизистые формы инфекций, вызванных вирусом простого герпеса), основная масса клинических проявлений герпетических инфекций сопряжена с клинической картиной ОРВИ или в виде микстинфекций с различными респираторными вирусами (грипп А и В, аденовирусы, парагрипп, энтеровирусы), или с имитацией симптомов ОРВИ некоторыми герпесвирусами (ВГЧ-5, ВГЧ-6). Поэтому в диагностике ГВИ особенно важно соблюдение определенного алгоритма, в котором должны сочетаться анамнестические, клинические и лабораторные данные, представленные в настоящей работе. Высокая клиническая значимость обнаружения в трех средах организма (кровь, слюна, моча) геномов герпесвирусов в ПЦР должна также соотноситься с серологическими исследованиями, в которых обнаружение высоких титров G-антител на 3—4 порядка превышающих норму не только подтверждает диагноз текущей инфекции, но и указывает на высокую репликативность вируса.

У 88,6% детей такие титры сочетаются с выявлением в различных сочетаниях в трех средах организма (кровь, моча, слюна) геномов герпесвирусов, что свидетельствует о реактивации инфекционного процесса и необходимости более активной терапии этих больных.

Литература:

1. Асратян А.А., Казарян С.М., Марданлы С.Г. Простой герпес и цитомегаловирусная инфекция: Методическое пособие для врачей. — Электрогорск, 2005. — 48 с.
2. Боковой А.Г., Таратина М.Э. Современные проблемы клиники, диагностики и лечения герпесвирусных инфекций у детей: Методические указания. — Москва: МАКС Пресс, 2006. — 26 с.
3. Whitley R. Herpes simplex virus infection // Semin.Pediatr. Infect.Diseases. — 2002. — V. 13, № 1. — P. 6—11.
4. Гранитов В.М. Герпесвирусная инфекция. — Н. Новгород. Издат. НГМА, 2001. — 82 с.
5. Исаков В.А., Архипова Е.И., Исаков Д.В. Герпесвирусные инфекции человека: руководство для врачей. — СПб.; Спец. лит., 2006. — 300 с.
6. Red Book. Report of the Committee on Infectious Diseases American Academy of Pediatrics. — 2000. — 855 p.
7. Stagno S., Whitley R. Herpes infection in the neonate and children // Sexually transmitted diseases / Ed. K. Holmse. — N. Y., 1990. — P. 863 — 888.
8. Вартамян Р.В. Цитомегаловирусная инфекция у детей: клинические проявления и терапия // Врач. — 2002. — № 3. — С. 26 — 27.