

УДК 616.92/.93

DOI 10.17816/pmj36191-96

РЕЗУЛЬТАТЫ КАТАМНЕСТИЧЕСКОГО НАБЛЮДЕНИЯ ОСТРОЙ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ

А.В. Пермякова, Н.С. Поспелова, А.Ю. Дерюшева**Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера, Россия*

RESULTS OF CATAMNESTIC OBSERVATION OF CYTOMEGALOVIRUS INFECTION IN CHILDREN

A.V. Permyakova, N.S. Pospelova, A.Yu. Deryusheva**E.A. Vagner Perm State Medical University, Russian Federation*

Цель. Изучить особенности выделения цитомегаловируса (ЦМВ) в кровь, слюну и мочу у детей 1–3 лет при различных формах инфекционного процесса.

Материалы и методы. Проанализированы результаты наблюдения 65 детей в возрасте от 1 года до 3 лет с острой цитомегаловирусной инфекцией, получавших амбулаторное лечение и наблюдавшихся в катаннезе 6 месяцев. Маркеры цитомегаловирусной инфекции определяли серологически (IgM, IgG) и методом количественной полимеразной цепной реакции в крови, слюне и моче.

Результаты. Установлено, что максимальное количество вируса определяется при острой форме цитомегаловирусной инфекции в слюне, превышая значения 6,0lg копий ДНК ЦМВ/мл (медиана – 4,9 lg копий ДНК ЦМВ/мл). В крови и моче больных острой формой инфекции количество вируса находится в области низких и средних значений вирусной нагрузки (3,4lg и 3,85lg копий ДНК ЦМВ/мл). Через 6 месяцев после перенесенной острой формы инфекции в крови ДНК цитомегаловируса не определялась, в слюне и моче достоверно снизилась до 2,8lg копий ДНК ЦМВ/мл в слюне и 3,0lg в моче.

Выводы. Таким образом, количество ДНК цитомегаловируса в биологических средах организма, таких как кровь, слюна и моча, максимально при острой форме заболевания, что может быть использовано в качестве диагностического приема.

Ключевые слова. Цитомегаловирус, дети, вирусывыделение, полимеразная цепная реакция, вирусная нагрузка.

Aim. To study the characteristic features of cytomegalovirus excretion into the blood, saliva and urine of children aged 1-3 years with different forms of infectious process.

Materials and methods. There were analyzed the results of observation of 65 children aged 1-3 years with acute cytomegalovirus infection, who received ambulatory treatment and were observed in catamnesis of 6 months. Cytomegalovirus infection markers were determined in blood, saliva and urine serologically (IgM, IgG) and using the method of quantitative PCR.

Results. The maximum quantity of virus was found to be determined during the acute form of cytomegalovirus infection in the saliva, exceeding the value of 6.0 lg of CMV DNA copies/ml (median 4.9 lg of CMV DNA

© Пермякова А.В., Поспелова Н.С., Дерюшева А.Ю., 2019

тел. +7 902 474 04 80

e-mail: derucheva@mail.ru

[Пермякова А.В. (*контактное лицо) – кандидат медицинских наук, доцент кафедры детских инфекционных болезней; Поспелова Н.С. – ассистент кафедры детских инфекционных болезней; Дерюшева А.Ю. – студентка педиатрического факультета].

copies/ml). In the blood and urine of patients with the acute form of infection, the quantity of virus is within low and mean values of viral load (3.4 lg of CMV DNA copies/ml and 3.85 lg of CMV DNA copies/ml). Six month after the acute form of infection, no CMV DNA was determined in the blood, it decreased to 2.8 lg of CMV DNA copies/ml in the saliva and to 3.0 lg of CMV DNA copies/ml in the urine.

Conclusions. Thus, the amount of cytomegalovirus DNA in the biological media of the body such as blood, saliva and urine is maximal during the acute form of disease that can be used as a diagnostic method.

Key words. Cytomegalovirus, children, virus excretion, polymerase chain reaction, viral load.

ВВЕДЕНИЕ

Широкая распространенность инфекций, вызванных герпес-вирусами, характерна для современной детской патологии. Инфицирование цитомегаловирусом (ЦМВ) происходит в раннем детском возрасте и имеет ряд особенностей: первичный инфекционный процесс может протекать как бессимптомно, в виде инapparантной инфекции, так и в виде острой формы, сопровождаясь клиникой инфекционного мононуклеоза. После первичного инфицирования цитомегаловирус персистирует в организме пожизненно, причем характерной чертой персистенции является ограниченная вирусная репликация. По степени репликативной активности цитомегаловируса выделяют персистирующую, латентную и реактивированную инфекцию. Персистирующая форма характеризуется сочетанием специфических антител класса IgG, обозначающих предшествующий контакт с инфекционным агентом, отсутствием в крови специфических антител класса IgM, с наличием ДНК вируса в биологических жидкостях организма, так называемый «virus shedding», или вирусовыделение [11]. Персистенция протекает в две стадии: продуктивной репликации (имеется вирусовыделение и IgG) и латенции [6]. При латентной инфекции цитомегаловирус присутствует только в форме генома, репродукции инфекционного вируса не происходит. Состояние латенции может сменяться периодом реактивации, экспрес-

сии генома ЦМВ [5]. Единственным лабораторным указанием на латентную форму инфекции является обнаружение IgG анти-ЦМВ при отрицательных результатах исследования на другие маркеры ЦМВ [2].

Известно, что манифестное цитомегаловирусное заболевание всегда сопровождается выделением вируса в кровь [8]. В работе Р.Р. Климовой и соавт. (2013) приводятся результаты детекции ДНК цитомегаловируса в крови детей (средний возраст $1,7 \pm 1,1$ г.), поступивших в острый период лихорадочного заболевания в инфекционную больницу: ДНК цитомегаловируса, свидетельствующая об активной стадии инфекции, верифицирована в крови у 10–17 % детей, определено среднее количество ДНК ЦМВ (вирусная нагрузка, ВН), которое составило $3,9 \log_{10}$ копий ДНК ЦМВ/мл. Авторы данного исследования отмечают возможную корреляцию величин вирусной нагрузки с тяжестью заболевания и предлагают проведение контроля в динамике [3]. После перенесенной первичной цитомегаловирусной инфекции ДНК цитомегаловируса в крови обнаруживают в среднем у 80,0 % детей с тенденцией к полному исчезновению в течение 12 месяцев после заболевания [7]. Помимо крови, цитомегаловирус может быть обнаружен и в других биологических жидкостях организма – слюне, моче, грудном молоке и т.п., известно, что частота вирусовыделения в слюне и моче у клинически здоровых лиц составляет от 10,0 до 50,0 % в зависимости от возраста [5].

Выбор слюны как биологического объекта исследования обоснован прежде всего неинвазивностью методики. Кроме того, слюна идеально подходит для диагностики, так как содержит специфические растворимые биологические маркеры (биомаркеры), имеет осмотическое давление и гидратацию. В исследовании В.Т. Мауер (2017) изучали закономерности ЦМВ-вирусовыделения со слюной при первичном инфицировании у детей раннего возраста. Авторами установлено, что большинство эпизодов инфицирования прекращаются до развития первичной инфекции и не приводят к латентной инфекции [10]. Для описания этих эпизодов авторы использовали термин «*переходная инфекция*», которую определяли в случае отсутствия сероконверсии. При переходной инфекции период репликации вирусной ДНК в слизистой оболочке полости рта и период полувыведения ограничен и измеряется в масштабе часов (37–52). В исследовании определены три фазы вирусывыделения в слюне после первичного инфицирования, длящиеся от нескольких месяцев до года: фаза роста вирусной нагрузки, переходная фаза, фаза элиминации. Диапазон фазы элиминации от момента пикового уровня вирусной нагрузки в слюне до полного выведения определен от 15 до 92 недель, что объясняется медленной репликацией и неэффективным иммунологическим ответом у детей раннего возраста.

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 может рассматриваться как признак активной инфекции. Известны также работы зарубежных авторов,

указывающие на то, что в моче ДНК ЦМВ обнаруживается в количествах в 180 раз больших, чем в крови [9]. Присутствие внутриклеточной ДНК ЦМВ в слюне и моче является маркером инфицированности и может свидетельствовать об определенной вирусной активности.

Цель исследования – изучить особенности выделения цитомегаловируса в кровь, слюну и мочу у детей 1–3 лет при различных формах инфекционного процесса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Под наблюдением находились 65 детей в возрасте от 1 года до 3 лет включительно с острой цитомегаловирусной инфекцией, получавших амбулаторное лечение. Не включались в исследование дети с тяжелой врожденной патологией, иммунодефицитными состояниями, острыми формами инфекции, вызванными другими герпес-вирусами, бактериальными возбудителями. Инфицирование цитомегаловирусом определяли по обнаружению следующих маркеров: прямых – ДНК вируса в крови, слюне и моче методом количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР), косвенных – анти-IgM-, -IgG-антител, серологически. Согласно классификации отечественных авторов, *маркером острой формы* ЦМВ считали обнаружение ДНК ЦМВ в крови, наличие анти-ЦМВ-IgM, причем при отсутствии анти-ЦМВ-IgG определяли первичную инфекцию, при наличии анти-ЦМВ IgG – реактивацию [1]. Наличие ДНК ЦМВ в слюне/моче без ДНК-емии расценивалось как проявление латентной формы инфекции.

Клиническое обследование проводилось по общепринятым методикам: сбор жалоб,

изучение анамнеза жизни и заболевания, объективный осмотр. Лабораторное обследование выполнялось по стандартному плану: клинический анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови. Маркеры герпес-вирусных инфекций определяли серологически (антитела классов IgM к ЦМВ, вирусу Эпштейна-Барр (ВЭП), IgG к ЦМВ) и методом количественной ПЦР в крови (ЦМВ, ВЭБ, вирус герпеса человека 6 (ВГЧ-6). ДНК ЦМВ кроме крови определяли в слюне и моче. ПЦР в режиме реального времени проводили на анализаторе IQ-5 Cycler (BioRad, США) с использованием набора реагентов «Ампли-Сенс[®] CMV-скрин/монитор-FL». Количество ДНК цитомегаловируса в исследуемых образцах (вирусную нагрузку) измеряли числом копий на миллилитр, результат выражали в виде десятичного логарифма $N \log_{10}$, где N – это степень, в которую возводится 10. Значения вирусной нагрузки ЦМВ ранжировали по следующей схеме: $VH \geq 6,0 \lg$ – высокая вирусная нагрузка, $4,0 \lg \leq VH < 6,0 \lg$ – средняя вирусная нагрузка, $VH < 4,0 \lg$ – низкая вирусная нагрузка [4].

Количественные данные, полученные в результате исследования, описывали при помощи следующих характеристик: среднее значение (M), ошибка среднего (m). Связи между номинальными и порядковыми переменными рассчитывали с использованием критериев хи-квадрат (χ^2). Обработку полученных результатов исследования проводили на персональном компьютере с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel 2010, Statistica 10, Biostat.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Острую цитомегаловирусную инфекцию в виде типичного инфекционного мо-

нонуклеоза переносили 49,2 % (32/65) детей группы исследования. У всех заболевание сопровождалось длительной лихорадкой, интоксикацией, лимфаденопатией, тонзиллофарингитом, затруднением носового дыхания. Умеренная гепатомегалия отмечена у 28,1 % (9/32) детей, увеличения селезенки выявлено не было. У остальных детей (50,8 %, 33/65) клиническая картина мононуклеоза была стертой на фоне локализованной лимфаденопатии (75,7 %, 25/33) и лихорадки более 5 дней (65,0 %, 21/33), преобладала симптоматика острого трахеобронхита и двустороннего отита. Фаринготонзиллит отмечен у 30,0 % (10/33) детей, случаев гепатомегалии в этой группе не было.

По результатам серодиагностики анти-ЦМВ IgG выявлены у 57,0 % (37/65) детей, причем анти-ЦМВ IgM определялись только у каждого второго больного, 55,4 % (36/65). Лабораторно *первичная ЦМВИ* (ПЦР + кровь, IgM±, IgG-) определена у 49,2 % (32/65) больных детей, в основном именно у них клиника инфекционного мононуклеоза была типичной. Цитомегаловирусная инфекция *в стадии реактивации* (ПЦР + кровь, IgM±, IgG+) определена у 50,8 % (33/65) детей. По результатам ПЦР-диагностики в *крови* всех пациентов определялась ДНК цитомегаловируса. Значения вирусной нагрузки соответствовали диапазону от 2,6 до 4,8 lg копий ДНК/мл, медиана – $3,4 \pm 0,1 \lg$ копий ДНК/мл, доля низких значений составила 83,0 % (54/65), доля средних – 17,0 % (11/65), высоких значений не было. В *слюне* ДНК вируса была обнаружена в 99,0 % (64/65) случаев: диапазон значений от 3,9 до 7,3 lg копий ДНК/мл, медиана – $4,9 \pm 0,1 \lg$ копий ДНК/мл, доля низких значений составила 6,0 % (4/65), средних – 72,0 % (60/65), высоких – 20,05 % (13/65). В *моче* ДНК цитомега-

ловируса обнаружена у 80,0 % (52/65) детей: диапазон значений от 2,6 до 7,1 lg копий ДНК/мл, медиана – $3,85 \pm 0,1$ lg копий ДНК/мл, доля низких значений составила 41,0 % (27/65), средних – 34,0 % (22/65), высоких – 5,0 % (3/65).

С целью оценки динамики вирусывыделения из сред исследования через 6 месяцев после первого этапа наблюдения была сформирована группа катамнеза, в которую вошли 36 детей, перенесших ЦМВ-моноклеоз как в типичной, так и в атипичной формах. Критерии включения: участие в первом этапе исследования, отсутствие на момент исследования признаков острого заболевания в течение 1 мес. Проводились рутинный осмотр ребенка, сбор анамнеза и жалоб. Определялось наличие анти-ЦМВ IgM, IgG, методом количественной ПЦР определялась вирусная нагрузка ЦМВ в трех средах: крови, слюне и моче. За период катамнестического наблюдения перенесли острые респираторные заболевания 41,0 % (15/36) детей, госпитализированы 5 человек: в двух случаях по поводу неосложненной острой кишечной инфекции вирусной этиологии в легкой форме и в трех случаях по поводу ОРВИ, осложненной острым средним отитом. В результате серологического исследования установлено, что анти-ЦМВ IgM в группе катамнеза не определялись ни у одного ребенка. В целом IgG к ЦМВ выявлены у 77 % детей (28/36).

Сравнительный анализ показал, что через 6 месяцев наблюдения произошли достоверные изменения вирусывыделения в биологических средах. Так, в крови ДНК ЦМВ не определялась ни у одного ребенка, достоверно увеличилась доля детей с отрицательным значением ПЦР в моче (50,0 против 22,2 %, $p = 0,001$). Вирусная нагрузка в моче соответствовала диапазону низких

значений, медиана изменилась с 3,4 lg копий ДНК/мл (доверительный интервал (ДИ) 3,1; 7,9) до 3,0 lg копий ДНК/мл (ДИ 3,6; 4,1). Наиболее ярко динамика вирусывыделения проявилась в слюне – почти в 10 раз увеличилась доля детей с низкой вирусной нагрузкой (5,6 против 50,0 %, $p = 0,001$), также достоверно уменьшились доли детей со средней и высокой вирусной нагрузкой. У 50,0% детей ПЦР слюны была отрицательна (против 1,0 % в первом исследовании, $p = 0,001$). Медиана вирусной нагрузки в слюне изменилась с 5,3 lg копий ДНК/мл (ДИ 2,8; 6,3) до 2,8 lg копий ДНК/мл.

Таким образом, при острой цитомегаловирусной инфекции происходит выделение вируса в биологические среды организма, такие как кровь, слюна, моча. При этом максимальное количество вируса определяется в слюне, превышая значения 6 lg копий/мл, в крови и моче наблюдаются низкие и средние значения вирусной нагрузки. После перенесенной острой цитомегаловирусной инфекции вирусывыделение в слюну и мочу сохраняется длительное время (до 6 месяцев), свидетельствуя об инфицировании.

Выводы

1. Дети 1–3 лет переносят острую первичную ЦМВИ в виде инфекционного моноклеоза, стадии реактивации соответствует атипичная форма заболевания, сопровождающаяся длительной лихорадкой и лимфаденопатией.

2. Острой стадии цитомегаловирусной инфекции соответствует вирусная нагрузка 3,4 lg копий ДНК ЦМВ/мл в крови. В слюне медиана вирусной нагрузки составляет 4,9 lg копий ДНК ЦМВ/мл, в моче – 3,8 lg копий ДНК ЦМВ/мл.

3. Через 6 месяцев после заболевания в крови цитомегаловирус не определяется, в слюне и моче его количество достоверно снижается до 2,8 lg и 3,0 lg копий ДНК ЦМВ/мл соответственно, что может быть использовано в качестве диагностического приема.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Каражас Н.В., Малышев Н.А., Рыбалкина Т.Н., Калугина М.Ю., Бошьян Р.Е., Кистенева Л.Б., Чешик С.Г., Мозанкова Л.Н.* Герпес-вирусная инфекция (эпидемиология, клиника, диагностика, профилактика и лечение): метод. рекомендации. М. Спецкнига 2007; 28.

2. *Кистенева Л.Б., Чешик С.Г.* Цитомегаловирусная инфекция и беременность: патогенез, диагностика, трактовка результатов обследования, лечение и профилактика. Инфекционные болезни: Новости. Мнения. Обучение 2017; 3 (20).

3. *Климова Р.Р., Околышева Н.В., Чичев Е.В., Тюленев Ю.А., Кистенева Л.Б., Малиновская В.В., Куц А.А.* Частота обнаружения герпес-вирусных инфекций у часто болеющих детей с острой респираторной инфекцией и их влияние на тяжесть заболевания. Педиатрия 2014; 93 (1): 44–49.

4. *Леготина Н.С., Львова И.И., Дерюшева А.В.* Способ оценки эффективности терапии хронической цитомегаловирусной инфекции у детей: пат. Рос. Федерация № 2566074; 20.10.2015.

5. *Пермякова А.В., Львова И.И., Поспелова Н.С.* О возможностях лабораторной верификации цитомегаловирусной инфекции у детей. Российский вестник перинатологии и педиатрии 2017; 62 (6): 45–50. DOI: 10.21508/1027-4065-2017-62-6-45-50

6. Руководство по вирусологии: вирусы и вирусные инфекции человека и животных. Под ред. акад. РАН Д.К. Львова. 2013; 1200.

7. *Cannon M.J., Stowell J.D., Clark R., Dollard P.R., Johnson D., Mask K.* Repeated measures study of weekly and daily cytomegalovirus shedding patterns in saliva and urine of healthy cytomegalovirus-seropositive children. BMC Infect Dis 2014; 14: 569.

8. *Cullis J.* Anaemia of chronic disease. Clin Med 2013; 13 (2): 193–196.

9. *Halwachs-Baumann G., Genser B., Pailer S., Engele H.* Human cytomegalovirus load in various body fluids of congenitally infected newborn. Austria. J Clin Virol 2002; 25(3): 81–87.

10. *Mayer B.T., Krantz E.M., Swan D., Ferrenberg J., Simmons K., Selke S., Huang M-L., Casper C., Corey L., Wald A., Schiffer J.T., Gantt S.* Transient oral human cytomegalovirus infections indicate inefficient viral spread from very few initially infected cells. J Virol 2017; 91(12): e00380–17.

11. *Revello M.G.* Diagnosis and management of human cytomegalovirus infection in the mother, fetus, and newborn infant. Clin Microbiol Rev 2002; 15(4): 680–715.

Материал поступил в редакцию 21.12.2018