

УДК 616.98:578.825.12]-053.1-053.2-07

## ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ, РОДИВШИХСЯ В РЕЗУЛЬТАТЕ ПРИМЕНЕНИЯ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

*А.В. Пермякова\*, И.И. Львова, С.Э. Махмудова*

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

## CYTOMEGALOVIRUS DETECTION FREQUENCY IN INFANTS BORN OWING TO USE OF AUXILIARY REPRODUCTIVE TECHNOLOGIES

*A.V. Permyakova\*, I.I. Lvova, S.E. Makhmudova*

*Academician Ye.A. Vagner Perm State Medical University, Russian Federation*

**Цель.** Определить частоту выявления цитомегаловирусной инфекции (ЦМВ) у детей, родившихся в результате экстракорпорального оплодотворения (ЭКО).

**Материалы и методы.** Проведен анализ медицинской документации и осмотр 46 детей в возрасте до 1 года, родившихся с помощью ЭКО. Для выявления ДНК ЦМВ с определением его количественного содержания использовали полимеразно-цепную реакцию (ПЦР) в режиме реального времени (тест-система «АмплиСенс® CMV-скрин/монитор-FL», Россия). В качестве материала для исследования служили слюна и моча.

**Результаты.** Определение ДНК ЦМВ в слюне и моче показало: у 78,3 % (36/46) детей ни в одной из сред ДНК вируса не определялась. У 21,7 % (10/46) детей ДНК ЦМВ была обнаружена в слюне, у 17,4 % (8/46) – также в моче. Медиана вирусной нагрузки ДНК ЦМВ в слюне составила 5,5 lg копий ДНК/мл (доверительный интервал (ДИ) – 4,9; 6,1), в моче – 4,6 lg копий ДНК/мл (ДИ – 4,0; 5,2) без достоверной разницы для сред исследования. Таким образом, доля ЦМВ-положительных детей, рожденных с помощью ЭКО, на 1-м году жизни составила 21,7 %.

**Выводы.** Дети, родившиеся с помощью ЭКО, в 65,2 % случаев являются недоношенными, частота ЦМВИ, верифицированная ПЦР-положительными пробами слюны и мочи, у них составляет 21,0 %.

**Ключевые слова.** Вспомогательные репродуктивные технологии, цитомегаловирусная инфекция, дети, скрининг.

**Aim.** To determine the frequency of detecting cytomegaloviral infection (CMVI) in infants born as a result of extracorporal fertilization (ECF).

**Materials and methods.** Medical documentation and examination of 46 infants under 1 year, who were born by means of ECF, were analyzed. To detect CMV DNA and determine its quantitative content, PCR in a real-time mode (test-system “AmpliSens® SMV-screen/monitor-FL” (Russia)) was used. Saliva and urine served as the study material.

**Results.** CMV DNA, determined in the saliva and urine, indicated the following: in 78,3 % (36/46) of infants, no viral DNA was revealed in any of media. In 21,7 % (10/46) of infants, salivary CMV DNA was detected, in

© Пермякова А.В., Львова И.И., Махмудова С.Э., 2017

тел. +7 902 474 04 80

e-mail: derucheva@mail.ru

[Пермякова А.В. (\*контактное лицо) – кандидат медицинских наук, доцент кафедры детских инфекционных болезней; Львова И.И. – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой детских инфекционных болезней; Махмудова С.Э. – студентка V курса лечебного факультета].

17,4 % (8/46) – urinary. Viral load median of CMV DNA in the saliva was 5,51 g copies of DNA/ml (confidence interval, CI – 4,9; 6,1), in the urine – 4,6 lg copies of DNA/ml (CI – 4,0; 5,2) with no reliable difference for the studied media. Finally, the share of CMV-positive infants, born by means of ECF within the first year of life was 21,7 %.

**Conclusions.** Infants, born owing to ECF, in 65,2 % of cases are premature; CMVI frequency, verified by PCR-positive salivary and urinary tests among them is 21,0 %.

**Key words.** Auxiliary reproductive technologies, cytomegaloviral infection, infants, screening.

---

### ВВЕДЕНИЕ

Широкая распространенность бесплодия, выявляющаяся сегодня у одной из шести супружеских пар, формирует большой спрос во всем мире на вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ), включая метод экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). Уже более пяти миллионов детей родились в результате вспомогательных репродуктивных технологий, и несомненный интерес вызывает их здоровье, так как бесплодие может определять повышенный риск появления болезней потомства [6].

Исследования проводятся во многих странах с начала 90-х гг. XX в. Перинатальная смертность у родившихся после ЭКО в два раза превышает таковую в популяции и в группе после самопроизвольно наступившей беременности. R. Klemetti (2010) установлен высокий риск таких осложнений, как преждевременные роды (менее 37 недель беременности, OR = 1,72) и низкая масса при рождении (менее 2500 г, OR = 1,6). Течение неонатального периода осложняется церебральными нарушениями (30,1–32,4 %) и инфекционно-воспалительными заболеваниями (27–35,1 %) [5]. E. Turkgeldia (2016) описывает риск обнаружения врожденных аномалий в 30–40 % случаев [9].

Особого внимания заслуживает работа L. Kettner (2015), представляющая собой обзор исследований баз данных Medline/PubMed, EMBASE, библиотеки Cochrane, bibliotek.dk,

SveMed+ и CINAHL с 1996 по 2013 г. (874 исследования). Результаты показывают, что дети, зачатые с помощью вспомогательных репродуктивных технологий, подвергаются повышенному риску возникновения инфекционных заболеваний (OR = 0,37–5,7), по сравнению с родившимися после самопроизвольно наступившей беременности [6]. Одной из основных инфекций у этих детей в раннем возрасте является цитомегаловирусная (ЦМВИ). Согласно литературным данным, частота ЦМВ-инфицирования, определенная по ПЦР-положительным пробам слюны и мочи, у новорожденных составляет 0,2–2,0 % [8], у недоношенных детей эта доля значительно выше – 16,0–18,0 % [4].

Лабораторная диагностика ЦМВИ основана на выявлении в исследуемых пробах клеток, пораженных цитомегаловирусом, самого вируса или его ДНК, его антигенов, а также специфических антител к вирусу [1]. Обнаружить вирусную ДНК непосредственно в исследуемых образцах позволяет метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), сочетающий в себе высокую чувствительность и специфичность. Достоинством метода является возможность раннего обнаружения возбудителя в организме пациента, еще до начала формирования иммунного ответа. В исследованиях современных зарубежных авторов сообщается о возможности использования метода ПЦР в качестве скринингового для выявления ЦМВИ у новорожденных; в качестве сред исследования предлагаются слюна и моча [3, 10].

*Цель исследования* – определить частоту выявления цитомегаловирусной инфекции у детей, родившихся в результате экстракорпорального оплодотворения.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Исследование выполнено в 2016 г. на базе кафедры детских инфекционных болезней ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава РФ. Проведен анализ медицинской документации и осмотр 46 детей (25 мальчиков и 21 девочка) в возрасте до 1 года, родившихся с помощью ЭКО. Возрастной состав исследуемой когорты был следующим: 3–6 мес. – 26,0 % (12/46), 6–9 мес. – 52,2 % (24/46), 9–12 мес. – 21,8 % (10/46). Выявление ДНК ЦМВ и определение его количественного содержания проводили методом ПЦР в режиме реального времени с использованием тест-систем «АмплиСенс® CMV-скрин/монитор-FL» (Россия), валидированным относительно международного стандарта ВОЗ – 1st WHO International Standard for human cytomegalovirus for nucleic acid amplification techniques NIBSC code 09/162, version 3.0, 30/11/2010 (Великобритания). Коэффициент пересчета определяемой концентрации ДНК ЦМВ из копии/мл в МЕ/мл для данного набора реагентов равен 0,6:1,67 копии ДНК ЦМВ/мл = МЕ ДНК ЦМВ/мл. Диагностический порог чувствительности метода составляет 400 коп/мл. В качестве материала для исследования служили слюна и моча. Тестом на вирусную нагрузку (ВН) служила концентрация вирусной ДНК, в точности соответствующая концентрации самого вируса. За единицу измерения принято число копий вирусной ДНК в 1 мл биологической жидкости (слюны, мочи).

Для удобства оценки значений ВН интегральная шкала количественной оценки ПЦР ( $N$ , коп/мл, где  $N$  – число копий вируса) была заменена на логарифмическую ( $N$ , lg коп/мл) с ранжированием по степеням [2]:

1.  $VH \geq 6,0 \lg$  – высокая вирусная нагрузка.
2.  $4,0 \lg \leq VH < 6,0 \lg$  – средняя вирусная нагрузка.
3.  $VH < 4,0 \lg$  – низкая вирусная нагрузка.

Порог чувствительности метода в пересчете на логарифмическую шкалу составляет  $2,6 \lg$  (400 копий ДНК/мл). Статистическую обработку данных осуществляли с помощью программы Microsoft Excel. Вычисление средних показателей проводилось путем определения среднего арифметического и стандартного отклонения от него ( $\delta$ ). Сравнение частот производили с использованием критерия хи-квадрат ( $\chi^2$ ) на основании таблиц сопряженности.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

Среди 46 детей группы исследования 12 человек (26,0 %) были от многоплодной беременности (6 двоен). Средний возраст матерей составил  $34,0 \pm 4,8$  г., с длительным бесплодием (5–10 лет) – 47,5 % (19/40). У 90 % (36/40) роды были первыми; в 75,0 % случаев (30/40) – преждевременными (ранее 37 недель). Глубоко недоношенными родились 17,4 % (8/46) обследованных: в сроке 28–33 недели – 6 детей (1 двойня), менее 28 недель – 2 детей. Доля срочных родов оказалась в 1,9 раза меньше: 34,8 % (16/46) против 65,2 % (30/46),  $p = 0,007$ .

Среднее значение массы тела новорожденных в группе исследования составило  $2820,0 \pm 929,0$  г, роста –  $46,9 \pm 4,8$  см. Низкую

массу тела (менее 2500,0 г) имели 26,5 % (12/46). Частота эмбриофетодисплазий, выявленных при ультразвуковом исследовании (УЗИ) в раннем неонатальном периоде, составила 30,4 % (14/46) за счет малых аномалий развития сердца и мочеполовой системы.

Клинико-эпидемиологический анализ первичной медицинской документации выявил широкую распространенность антенатальных факторов высокого риска возникновения внутриутробной инфекции: угроза прерывания беременности – 53,4 % (23/40), хроническая фетоплацентарная недостаточность – 50,0 % (20/40), однократные и повторные респираторные инфекции во время беременности – 60,0 % (24/40); обострение хронических экстрагенитальных и урогенитальных инфекций – 67,5 % (27/40). Из 40 матерей соматически здоровыми оказались только трое, в остальных случаях была зарегистрирована гематологическая 54,0 % (20/37), эндокринная 48,6,0 % (18/37), нефрологическая 18,9 % (7/37) и сосудистая 13,5 % (5/37) патология и их сочетание.

Определение ДНК ЦМВ в слюне и моче показало: у 78,3 % (36/46) детей ни в одной из сред ДНК вируса не определялась. Эти дети считались здоровыми [7]. У 21,7 % (10/46) детей ДНК ЦМВ была обнаружена в слюне, у 17,4 % (8/46) – также в моче. Медиана вирусной нагрузки ДНК ЦМВ в слюне составила 5,5 lg копий ДНК/мл (доверительный интервал (ДИ) – 4,9; 6,1), в моче – 4,6 lg копий ДНК/мл (ДИ – 4,0; 5,2) что соответствует средней степени вирусной нагрузки.

Таким образом, доля ЦМВ-положительных детей, рожденных с помощью ЭКО, на 1-м году жизни составила 21,7 %. Клинически активная ЦМВИ имела место у 60,0 % (6/10) ЦМВИ-положительных детей, у остальных течение заболевания на момент обследования было бес-

симптомным – латентным. Клинические формы активной инфекции у детей первого года жизни были следующими: состояние после генерализованной формы ЦМВИ внутриутробного происхождения с поражением ЦНС и респираторного тракта (1 случай, возраст 3 месяца), первично хронический гепатит с синдромом цитолиза и холестаза – 2 случая; гематологическая форма (анемия, нейтропения, тромбоцитопения) – 3 случая.

По данным литературы известно, что клинические проявления постнатальной ЦМВИ находятся в обратной зависимости от гестационного возраста и массы тела при рождении [4]. И действительно, средний гестационный возраст 10 ЦМВ-положительных детей, рожденных с помощью ЭКО, составил  $34,0 \pm 4,0$  недели; четверо из них родились от многоплодной беременности (две двойни) недоношенными со средней массой тела  $2265,0 \pm 838,0$  г.

### Выводы

1. Дети, родившиеся с помощью ЭКО, в 65,2 % случаев являются недоношенными с низкими массо-ростовыми показателями, соответствующими сроку гестации.

2. Частота ЦМВИ, верифицированная ПЦР-положительными пробами слюны и мочи у детей, родившихся с помощью ЭКО, на первом году жизни составляет 21,0 %, во всех случаях при низком гестационном возрасте.

3. Широкая распространенность и многофакторность перинатального риска активации внутриутробного инфицирования герпес-вирусами у детей, родившихся с помощью ЭКО, требует проведения неинвазивного скринингового ПЦР-исследования слюны и мочи для верификации ДНК ЦМВ и определения высоты вирусной нагрузки.

**БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК**

1. Кочкина С.С., Ситникова Е.П. Цитомегаловирусная инфекция у детей. Детские инфекции 2016; 1: 39–44.
2. Леготина Н.С., Львова И.И., Дерюшева А.В. Способ оценки эффективности терапии хронической цитомегаловирусной инфекции у детей: Пат. № 2566074 Российская Федерация, МПК G01N33/53; опублик. 20.10.2015, БИ № 29.
3. Воррана С.В., Росс С.А., Шимamura М. Saliva polymerase-chain-reaction assay for cytomegalovirus screening in newborns. N Engl J Med 2011; 364 (22): 2111–2118.
4. Gunkel J., Wolfs T.F.W., Nijman J. Urine is superior to saliva when screening for postnatal CMV infections in preterm infants. J Clin Virol 2014; 61 (1): 61–64.
5. Klemetti R. Perinatal health of IVF and ICSI children. Eur J of Obstet Reprod Biol 2010; 150 (2): 222–222.
6. Kettner L., Henriksen T., Bay B. Assisted reproductive technology and somatic morbidity in childhood: a systematic review. Fertil Steril 2015; 103 (3): 707–719.
7. Lazzarotto T. The best practices for screening, monitoring, and diagnosis of cytomegalovirus disease. Clin Microbiol Newsletter 2010; 32 (2): 9–15.
8. Nijman J., van Loon A.M., de Vries L.S. Urine viral load and correlation with disease severity in infants with congenital or postnatal cytomegalovirus infection. J Clin Virol 2012; 54 (2): 121–124.
9. Turkgeldia E., Yagmura H., Seybanb A. Short and long term outcomes of children conceived with assisted reproductive technology. Eur J of Obstet Reprod Biol 2016; 207: 129–136.
10. Yamamoto A.Y., Mussi-Pinbata M.M., Marin L.J. Is saliva as reliable as urine for detection of cytomegalovirus DNA for neonatal screening of congenital CMV infection? J Clin Virol 2006; 36 (3): 228–230.

Материал поступил в редакцию 23.12.2016