

*На правах рукописи*

**ТЯН Наталья Сергеевна**

**КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЗАБОЛЕВАНИЙ,  
АССОЦИИРОВАННЫХ С БЕТАГЕРПЕСВИРУСАМИ ЧЕЛОВЕКА 6А/В, У ДЕТЕЙ**

3.1.22. Инфекционные болезни

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2024

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства».

**Научный руководитель:**

**Бабаченко Ирина Владимировна** – доктор медицинских наук, профессор.

**Официальные оппоненты:**

**Мелехина Елена Валериевна** – доктор медицинских наук, доцент, ведущий научный сотрудник клинического отдела инфекционной патологии Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

**Савенкова Марина Сергеевна** – доктор медицинских наук, профессор кафедры клинической функциональной диагностики факультета дополнительного профессионального образования Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2024 г. в 13:15 часов на заседании диссертационного Совета 21.2.050.02 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197022, Санкт-Петербург, ул. Рентгена, 12, корпус 44, зал заседаний Ученого Совета, аудитория 12, 6 этаж).

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России по адресу: 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6-8 и на официальном сайте <https://www.lspbgmu.ru>.

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2024 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
доктор медицинских наук, профессор

**Александров Альберт Леонидович**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

Актуальность проблемы обусловлена широкой повсеместной распространенностью и высокой социальной значимостью герпесвирусных инфекций, в частности вызванных бетагерпесвирусами человека 6А/В (ВГЧ-6А/В), сопровождающихся полиорганностью поражений и полиморфизмом проявлений, затрудняющих клиническую диагностику [Е.В. Новосад, 2008, А.С. Левина, 2014, Н.В. Скрипченко, 2015, Э.Н. Симованьян, 2016, С.Л. Баннова, В.Н. Тимченко, 2017, J.D. Cherry, 2019, С.П. Кокорева 2021, М.С. Савенкова, 2023]. Более 90% детей инфицируются ВГЧ-6А/В в течение первых двух лет жизни [О. King, 2021]. Подтверждена роль ВГЧ-6А/В в развитии внезапной экзантемы (ВЭ), инфекционного мононуклеоза (ИМ), гепатита и других инфекционных заболеваний [В.А. Анохин, А.М. Сабитова, 2016, О.В. Шамшева, 2017, Y. Kharchenko, 2019, О.И. Демина, Т.А. Чеботарева, Л.Н. Мазанкова, 2020, S.J. You, 2020, Л.А. Иккес, Г.П. Мартынова, 2022, Пермьякова А.В., 2022]. Изучается вклад ВГЧ-6А/В в патологию нервной системы [Г.П. Иванова, Е.Ю. Скрипченко, 2016, В. Readhead, 2018, S-H. Mozhgani, 2022], аутоиммунные и лимфопролиферативные заболевания, бесплодие [J.P. Balakrishna, 2018, D. Bortolotti, 2020], формирование рекуррентных респираторных инфекций [В.А. Исаков, 2018]. Нередко отмечается течение заболеваний, вызванных ВГЧ-6А/В в сочетании с другими герпесвирусами, среди которых преобладает вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ) [Е.В. Мелехина, 2019].

ВГЧ-6А и ВГЧ-6В являются самостоятельными видами, геном которых гомологичен более чем на 95%. Вирусы различаются фенотипически, тропны к различным клеточным рецепторам и в большинстве случаев имеют разные клинические проявления [Е. Eliassen, 2020, М.И. Попкова, О.В. Уткин, Д.А. Брызгалова, 2021]. Описано преобладание ВГЧ-6В в США, Великобритании, Японии, ВГЧ-6А – в Африке. Данные по РФ различаются: в Москве описано превалирование ВГЧ-6А среди пациентов с инфекционной патологией, ВГЧ-6В – у клинически здоровых детей [Е.В. Мелехина, 2016, М.Ю. Лысенкова, А.В. Горелов, 2019]. В Санкт-Петербурге выявление ВГЧ-6В составило 99 – 100% [М.А. Никольский, 2018, О.В. Голева, И.В. Бабаченко, 2022].

В настоящее время в клинической практике существуют проблемы гиподиагностики и гипердиагностики заболеваний, вызванных бетагерпесвирусами человека 6А/В. Гиподиагностика ВГЧ-6А/В инфекции при ИМ обусловлена отсутствием регламентирующих документов и недостаточной осведомленностью врачей об этиологической роли бетагерпесвирусов человека 6А/В наравне с ВЭБ и цитомегаловирусом (ЦМВ). Гипердиагностика возникает по причине ошибочной оценки активности процесса на основании обнаружения ДНК вируса в цельной крови (без учета возможности латенции возбудителя в мононуклеарных клетках периферической крови), слюне, отделяемом из ротоглотки (несмотря на длительное вирусовыделение после перенесенного острого заболевания и пожизненную персистенцию вируса в слюнных железах) или обнаружении специфических антител класса IgG к ВГЧ-6А/В. Зарегистрированная в 2020 году тест-система для верификации IgM к ВГЧ-6А/В применяется редко.

Таким образом, учитывая повсеместную распространенность бетагерпесвирусов человека 6A/B с доминированием различных видов и частое выявление вирусов при разных нозологических формах, а также отсутствие клинических и методических рекомендаций, единых клинико-лабораторных критериев активности ВГЧ-6A/B и показаний для проведения противовирусной терапии, актуальны и обоснованы дальнейшие исследования.

### **Степень разработанности темы исследования**

Исследования, направленные на изучение бетагерпесвирусов человека 6A/B и ассоциированных с ними заболеваний, проводились такими авторами, как Е.В. Новосад, 2008, М.Ю. Калугина, 2009, Н. Miura, 2015, А.Д. Музыка, 2017, М.А. Никольский, 2018, Е.В. Мелехина, 2018, А.Л. Greninger 2018, В.В. Краснов, 2019, О.И. Демина, Т.А. Чеботарева, 2020, Е. Eliassen, 2020, О. King, 2021, О.В. Голева, И.В. Бабаченко, 2022, А.В. Пермякова 2022, А. Sultanova, 2022, L. Gabrielli 2023, М.С. Савенкова, 2023, однако до настоящего момента не определены четкие клинические и лабораторные критерии диагностики ВГЧ-6A/B инфекции у детей.

Проводилась оценка видового разнообразия ВГЧ-6A/B в Москве, Санкт-Петербурге [М.А. Никольский, 2018, М.Ю. Лысенкова, А.В. Горелов, 2019]. Распространенность бетагерпесвирусов человека 6A/B в остальных городах России остается неизученной. Оценка этиологической роли вирусов без разделения на виды затрудняет выявление клинико-лабораторных особенностей заболеваний.

На основе клинико-лабораторных показателей предлагались различные алгоритмы, использующие полученные путем математического моделирования диагностические значения вирусной нагрузки ДНК ВГЧ-6A/B [А.Д. Музыка, 2017, А.В. Пермякова, 2022]. Однако учитывая более высокие финансовые затраты на проведение количественного исследования биоматериалов методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в сравнении с качественным, выполнение их на первом этапе лабораторной диагностики возможно преимущественно в крупных городах России.

### **Цель работы**

Усовершенствовать дифференциальную диагностику различных форм заболеваний, вызванных бетагерпесвирусами человека 6A/B, основанную на клинико-лабораторных показателях с оценкой степени активности вирусов, для оптимизации тактики ведения пациентов.

### **Задачи исследования**

1. Изучить видовое разнообразие бетагерпесвирусов человека 6A/B у детей с респираторным синдромом в зависимости от нозологической формы заболеваний.
2. Предложить способ дифференциальной диагностики активной и латентной форм ВГЧ-6A/B инфекции у детей с лимфопролиферативным и респираторным синдромами.
3. Провести сравнительное исследование клинико-лабораторных показателей при инфекционном мононуклеозе, вызванном бетагерпесвирусами человека 6A/B, вирусом Эпштейна-Барр в моно- и сочетанных вариантах.
4. Охарактеризовать уровень вирусной нагрузки бетагерпесвирусов человека 6A/B у больных различными нозологическими формами заболеваний.
5. Разработать алгоритм клинико-лабораторной диагностики заболеваний, ассоциированных с бетагерпесвирусами человека 6A/B, у детей.

### **Научная новизна**

Определены клинико-лабораторные особенности бетагерпесвирусной инфекции 6А/В у детей разных возрастных групп. Дана сравнительная характеристика инфекционного мононуклеоза ВГЧ-6А/В и ВЭБ этиологии в моно- и сочетанных вариантах, в том числе при обследовании в динамике.

Впервые выполнено сопоставление видового разнообразия бетагерпесвирусов человека 6А/В у детей с различными нозологическими формами заболеваний.

Разработан способ дифференциальной диагностики активной и латентной форм бетагерпесвирусной инфекции 6А/В у детей с лимфопролиферативным и респираторным синдромами, в том числе рекуррентными инфекциями, основанный на комплексной оценке клинико-лабораторных показателей с использованием дискриминантного анализа, для обоснования необходимости противовирусной терапии.

Проведен сравнительный анализ результатов качественной и количественной ПЦР у детей в разных биологических средах и определена взаимосвязь вирусной нагрузки с нозологической формой ВГЧ-6А/В инфекции в моно- и сочетанных вариантах.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Представлена клинико-лабораторная характеристика бетагерпесвирусной инфекции 6А/В у детей с разными нозологическими формами заболеваний.

Предложены подходы к решению проблемы гипердиагностики активной формы ВГЧ-6А/В инфекции, основанной на обнаружении ДНК вируса в цельной крови методом полимеразной цепной реакции, у детей с респираторным и лимфопролиферативным синдромами.

Установлен показатель диагностически значимой концентрации вируса в цельной крови методом качественной ПЦР, позволяющий косвенно оценить вирусную нагрузку без финансовых затрат на выполнение более дорогостоящего метода – количественного исследования.

Усовершенствована дифференциальная диагностика активной и латентной форм ВГЧ-6А/В инфекции у детей с лимфопролиферативным и респираторным синдромами для обоснования необходимости дальнейшего диагностического поиска в случае латентной формы ВГЧ-6А/В инфекции или оптимизации терапии у больных активной формой ВГЧ-6А/В инфекции.

Разработан алгоритм клинико-лабораторной диагностики различных форм бетагерпесвирусной инфекции 6А/В у детей, позволяющий определить этиологическую роль ВГЧ-6А/В в развитии заболевания и исключить хромосомно-интегрированную форму вируса (хиВГЧ-6А/В).

### **Методология и методы исследования**

Представленная на защиту диссертационная работа выполнена в дизайне одноцентрового наблюдательного ретроспективно-проспективного исследования, одобренного Локальным этическим комитетом ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства» (протокол №160 от 27.09.2022), с применением клинико-anamnestических, лабораторных, инструментальных, аналитических и статистических методов в соответствии с поставленной целью.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. У детей с бетагерпесвирусной инфекцией 6А/В вне зависимости от нозологической формы заболевания доминирует вид ВГЧ-6В, этиологическая роль которого определяется с учетом уровня пороговых циклов амплификации в качественной полимеразной цепной реакции или вирусной нагрузки в количественной реакции.
2. Дифференциальная диагностика активной и латентной форм ВГЧ-6А/В инфекции у детей с лимфопролиферативным и респираторным синдромами проводится с учетом выраженности лихорадки, наличия кашля, абсолютного значения нейтрофилов и уровня порогового цикла амплификации ДНК ВГЧ-6А/В в цельной крови методом качественной ПЦР.
3. Для выявления хВГЧ-6А/В у детей с подозрением на активную форму ВГЧ-6А/В инфекции используется диагностический алгоритм, включающий последовательное выполнение качественной и количественной ПЦР крови. При вирусной нагрузке выше 5,5 lg копий ДНК/мл и последующем обнаружении вируса в таких биосредах, как волосяные фолликулы, ногтевые пластины, диагностируют хромосомно-интегрированную форму ВГЧ-6А/В, не требующую назначения противовирусной терапии.

### **Степень достоверности результатов**

Степень достоверности полученных результатов обусловлена достаточным числом наблюдений в выборках с формированием различных нозологических групп, использованием современных методов исследований, а также применением статистических методов, соответствующих поставленным задачам. Статистическая обработка результатов осуществлялась с использованием модулей Microsoft Excel, пакета программ по статистической обработке данных IBM SPSS Statistics 20 и StatSoft Statistica 7.0. Полученные результаты исследования позволили сформулировать положения, выводы и практические рекомендации.

### **Апробация результатов исследования**

Основные положения и результаты исследования доложены и обсуждены на конгрессах и научно-практических конференциях: XV Всероссийская научно-практическая конференция «Воронцовские чтения. Санкт-Петербург – 2022» (Санкт-Петербург, 25-26.02.2022), XXXXIV Итоговая научно-практическая конференция, посвященная 95-летию Детского научно-клинического центра инфекционных болезней «Актуальные вопросы инфекционных заболеваний у детей – 2022» (Санкт-Петербург, 03.03.2022), VIII Конгресс Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням (Санкт-Петербург, 17-19.05.2022), XIII Всероссийский ежегодный конгресс «Инфекционные болезни у детей: диагностика, лечение и профилактика» (Санкт-Петербург, 10-11.10.2022), Российская научно-практическая конференция «Управляемые и другие социально значимые инфекции: диагностика, лечение и профилактика» (Санкт-Петербург, 07-08.02.2023), XXXXV Итоговая научно-практическая конференция «Актуальные вопросы инфекционных заболеваний у детей – 2023» (Санкт-Петербург, 01.03.2023), IV Всероссийская конференция молодых ученых «Вирусные инфекции – от диагностики к клинике» (Санкт-Петербург, 13-14.04.2023), IX Конгресс Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням (Санкт-

Петербург, 23-25.05.2023), XIV Всероссийский ежегодный конгресс «Инфекционные болезни у детей: диагностика, лечение и профилактика» (Санкт-Петербург, 10-11.10.2023).

### **Личный вклад автора**

Автором совместно с научным руководителем были определены основные аспекты диссертационной работы (цель и задачи, методология, положения, выносимые на защиту). Диссертантом лично проведен аналитический обзор современной отечественной и зарубежной литературы, выполнен патентный поиск и предложен принципиально новый способ дифференциальной диагностики активной и латентной форм ВГЧ-6А/В инфекции у детей с лимфопролиферативным и респираторным синдромами (подана заявка на изобретение, приоритетная справка №2023111087 от 27.04.2023), проведен анализ клинико-anamnestических и лабораторных данных 209 пациентов с выявленным ВГЧ-6А/В и 40 – с ВЭБ, осуществлялась курация детей и катамнестическое наблюдение, проведен статистический анализ полученных результатов, сформулированы научные положения работы, выводы и практические рекомендации.

### **Внедрение результатов исследования**

Результаты исследования внедрены в практику работы клиники ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России, СПб ГБУЗ «Городская поликлиника №106» Детские поликлинические отделения №37 и №78, ООО «ПитерКлиника» (Санкт-Петербург). Основные положения диссертации используются в учебном процессе на циклах «Инфекционные болезни» на кафедре инфекционных заболеваний у детей ФП и ДПО ФГБОУ ВО СПбГПМУ МЗ РФ.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 129 страницах машинописного текста, включает введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, 4 главы собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации, список сокращений и условных обозначений, список литературы. Работа проиллюстрирована 25 рисунками, 3 клиническими примерами, 14 таблицами. Список литературы включает 184 библиографических источника, из них 65 отечественных и 119 зарубежных.

### **Публикации**

По материалам диссертации опубликовано 13 печатных работ, из них 5 статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации для опубликования результатов диссертационных работ на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Подана заявка на изобретение «Способ дифференциальной диагностики латентной и активной форм ВГЧ-6 инфекции у детей», приоритетная справка №2023111087 от 27.04.2023.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материалы и методы исследования**

#### **Дизайн и объекты исследования**

Диссертационное исследование выполнено в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России) с 2019

по 2023 гг. Объектом исследования были 249 пациентов в возрасте от 1 месяца до 17 лет включительно. Дизайн исследования: одноцентровое наблюдательное ретроспективно-проспективное. Критерии включения в исследование: письменное информированное согласие законных представителей; возраст пациентов от 1 месяца до 17 лет 11 месяцев 29 дней; обнаружение ДНК ВГЧ-6А/В в цельной крови методом качественной ПЦР. Критерии невключения: несогласие законных представителей пациентов на участие в исследовании; сопутствующие тяжелые соматические заболевания в стадии декомпенсации; выделение РНК SARS-CoV-2 методом ПЦР из отделяемого верхних дыхательных путей.

В зависимости от клинического диагноза и результатов качественного исследования цельной крови на ДНК ВГЧ-6А/В методом ПЦР были выделены следующие группы детей:

- группа 1 – с острыми респираторными инфекциями (ОРИ) на фоне инфицирования ВГЧ-6А/В (n=50);
- группа 2 – с ВЭ, вызванной ВГЧ-6А/В (n=27);
- группа 3 – с ИМ ВГЧ-6А/В этиологии (моно- и сочетанные варианты; n=44).
- группа 4 – с рекуррентными респираторными инфекциями (РРИ) на фоне инфицирования ВГЧ-6А/В (n=88);

Группу сравнения составили пациенты с ИМ ВЭБ-этиологии (моно- и сочетанные варианты; n=40).

Обнаружение одного вируса при этиологическом обследовании расценивалось, как моноинфекция (моновариант), а нескольких – сочетанная инфекция (сочетанные варианты).

Выделяли активную и латентную формы ВГЧ-6А/В инфекции. Активная форма ВГЧ-6А/В инфекции характеризовалась наличием у пациентов клинических симптомов и обнаружением ДНК ВГЧ-6А/В в биологических средах, а латентная – отсутствием клинических проявлений с возможным обнаружением генетического материала вирусов в образцах (бессимптомная персистенция возбудителя). Однако, в ряде случаев у детей с латентной формой ВГЧ-6А/В инфекции отмечали клиническую картину, характеризующуюся лимфопролиферативным и респираторным синдромами, обусловленную иными возбудителями или другим патогенезом заболевания.

Для проведения сравнительной клинико-лабораторной характеристики ИМ в исследование были включены дети с ИМ ВГЧ-6А/В (n=44) как в моноварианте (n=10), так и в сочетании с ВЭБ (n=14) и с ВЭБ+ЦМВ (n=20). Параллельно анализировалась группа пациентов с ИМ ВЭБ (n=40), в которой моноинфекция ВЭБ отмечалась в 14 случаях, сочетание ВЭБ+ЦМВ – в 26. Согласно протоколу клинических рекомендаций оказания помощи детям больным ИМ (2013 год), катamnестическое наблюдение за реконвалесцентами планировали выполнять в течение 1 года, временными точками для контрольного обследования были приняты 1 месяц, 3 месяца, 6 месяцев, 9 месяцев и 1 год (12 месяцев) после перенесенного заболевания. Однако ввиду пандемии новой коронавирусной инфекции и проводимых ограничительных мероприятий в динамике обратились только 38,1% детей (Таблица 1).



Таблица 1. Количество пациентов с инфекционным мононуклеозом различной этиологии, наблюдавшихся в динамике

Сравнительная характеристика	Этиология инфекционного мононуклеоза				
	ВГЧ-6А/В	ВГЧ-6А/В + ВЭБ	ВГЧ-6А/В + ВЭБ + ЦМВ	ВЭБ	ВЭБ + ЦМВ
Количество пациентов, наблюдаемых в острый период болезни	10	14	20	14	26
Доля пациентов, наблюдавшихся в течение 1 года (абс. / %)	0 / 0	5 / 35,7	6 / 30	8 / 57,1	13 / 50

Учитывая малые выборки пациентов – реконвалесцентов ИМ, для анализа катамнеза выделены следующие группы: с ИМ ВГЧ-6А/В (включая только сочетанные варианты ИМ ВГЧ-6А/В+ВЭБ, ИМ ВГЧ-6А/В+ВЭБ+ЦМВ; n=11); с ИМ ВЭБ (ИМ ВЭБ, ИМ ВЭБ+ЦМВ; n=21).

### Методы исследования

При поступлении проводили сбор анамнестических данных, объективный осмотр врачом-инфекционистом, а также врачом-оториноларингологом при наличии проявлений ОРИ. Особое внимание уделяли характеристике лимфопролиферативного синдрома. Для оценки выраженности воспалительных маркеров в первые сутки госпитализации выполняли клинический и биохимический анализы крови с оценкой уровня СРБ. При подозрении на ИМ определяли значения аланин-, аспартатаминотрансфераз (АЛТ, АСТ) и общего билирубина. При интерпретации полученных результатов применяли референсные значения производителей тест-систем с учетом возрастных особенностей. У детей с проявлениями ОРИ для верификации респираторных вирусов в мазках из ротоглотки выполняли мультиплексную ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации.

Всем пациентам проводили исследование цельной крови методом качественной ПЦР для выявления ДНК ВЭБ, ЦМВ, ВГЧ-6А/В в режиме реального времени с последующим анализом уровней пороговых циклов (Ct), которые отражают количество циклов амплификации до момента начала детекции ДНК вируса в образце: низкое значение Ct свидетельствует о большом количестве вируса и, соответственно, выделенной вирусной ДНК в образце биопробы, а, следовательно, высокой вирусной нагрузке; высокие показатели Ct, напротив, ассоциированы с низкой вирусной нагрузкой. Вирусную нагрузку ВГЧ-6А/В и ВЭБ определяли в отделяемом из ротоглотки, цельной крови, плазме при выполнении количественного исследования методом ПЦР и оценивали в копиях ДНК/мл с последующим преобразованием значения, используя десятичный логарифм (lg). Качественная и количественная ПЦР выполнены с использованием наборов «АмплиСенс EBV/CMV/HHV6-скрин-FL» (ФГУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия). Для установления семейного наследования хиВГЧ-6А/В проводилось исследование спермы. Выявление специфических антител IgM и IgG класса к ВЭБ, ЦМВ, ВГЧ-6А/В выполняли методом иммуноферментного анализа (ИФА) («Вектор-Бест», Россия).

С целью дифференциального определения видов ВГЧ-6А и ВГЧ-6В использовали праймеры, описанные в работе Gravel A., Sinnett D., Flamand L. (2013), и коммерческие наборы «Интифика ННУ6А / ННУ6В» производства ООО «Алкор Био», Россия. В рамках диссертационного исследования использовали определение «видовое разнообразие» для оценки частоты выявления видов ВГЧ-6А и ВГЧ-6В.

Полногеномное секвенирование выполняли на приборе MGISEQ 2000. Связанные с ВГЧ-6А/В прочтения извлечены с помощью программы Cookiecutter. В анализ включены все доступные последовательности ВГЧ-6А/В, имеющиеся в базе данных GenBank.

Количественное исследование различных биосред методом ПЦР, дифференциация на виды ВГЧ-6А и ВГЧ-6В, полногеномное секвенирование проводили в научно-исследовательском отделе экспериментальной медицинской вирусологии, молекулярной генетики и биобанкинга ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России (заведующий, д.б.н Глотов О.С.).

При наличии гепатоспленомегалии проводили ультразвуковое исследование органов брюшной полости. У пациентов с проявлениями ОРВИ и поражением нижних дыхательных путей для исключения пневмонии выполняли рентгенограмму органов грудной клетки.

#### **Методы статистической обработки результатов исследования**

Статистическую обработку результатов осуществляли с использованием пакетов программ Microsoft Excel, IBM SPSS Statistics (версия 20.0) и Statistica 7 для Windows. Данные представлены в виде средних значений со стандартной ошибкой, медианы (Me) с интерквартильным размахом (IQR). Достоверность различий между количественными признаками оценивали с помощью критериев Стьюдента, Манна-Уитни и Краскела-Уоллиса, между качественными – точного критерия Фишера,  $\chi^2$ -Пирсона. Различия считали статистически достоверными при  $p < 0,05$ . Поправки по методу Бонферрони применяли при множественных сравнениях. Взаимосвязь признаков определяли с использованием коэффициента корреляции Пирсона или Спирмена. Значение коэффициента корреляции (r) оценивали по шкале Чеддока. Для построения прогностической модели использовали дискриминантный анализ с использованием F-критерия Фишера. Качество бинарного классификатора оценивали посредством ROC-анализа.

### **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

#### **Клинико-лабораторная характеристика бетагерпесвирусной инфекции 6А/В у детей с определением видового разнообразия**

Благодаря изучению клинико-anamnestических показателей ВГЧ-6А/В инфекции у пациентов различных групп (группы 1 – 4, n=209), определены различия в возрастной структуре: дети с ВЭ были достоверно младше (Me 12 месяцев, IQR 9 – 17 месяцев), чем с ОРВИ (Me 3 года, IQR 1,0 – 4,0 года), ИМ (Me 3 года, IQR 2,0 – 7,0 лет), РПИ (Me 3 года, IQR 2,0 – 6,0 лет),  $p < 0,001$ . Остальные группы были сопоставимы по возрасту.

Пациенты с ВЭ поступали в стационар на более ранних сроках заболевания (Me 4 дня, IQR 2 – 5 дней), чем с ОРВИ (Me 5 дней, IQR 3 – 8 дня;  $p = 0,031$ ) и ИМ (Me 6 дней, IQR 5 – 9 дней;  $p < 0,001$ ), что связано с возрастными особенностями и острым началом болезни. Поздние сроки госпитализации при ИМ обусловлены подострым началом заболевания с постепенным нарастанием клинических проявлений и отсутствием значимой динамики на фоне проводимой иммуномодулирующей (n=9; 20,5%) и антибактериальной (n=29; 65,9%) терапии.

При ВЭ лихорадка была достоверно выше (Ме 39,3°C, IQR 39,0 – 40,0°C), чем при ОРИ (Ме 38,4°C, IQR 36,6 – 39,5°C;  $p < 0,001$ ) и ИМ (Ме 38,8°C, IQR 38,4 – 39,5°C;  $p = 0,007$ ). У детей с ИМ длительность лихорадки была достоверно больше (Ме 6 дней, IQR 3 – 8 дней), чем в группе 1 (Ме 3 дня, IQR 0 – 4 дня,  $p < 0,001$ ) и 2 (Ме 4 дня, IQR 3 – 5 дней,  $p = 0,017$ ).

На основании сравнительного анализа клинических проявлений установлено, что кашель развивался достоверно чаще при ОРИ, чем в остальных группах ( $p < 0,001$ ), а ринит и тонзиллит – при ИМ ( $p < 0,001$ ). В группе детей с ВЭ в 40,7% случаев при объективном осмотре выявляли пятна Нагаямы ( $n = 11$ ). Достоверных различий в частоте развития острого среднего отита в 1 – 3 группах не обнаружено ( $p > 0,05$ ). Лимфопролиферативный синдром (шейная лимфаденопатия, гепато-, спленомегалия) был более характерен для пациентов с ИМ ( $p < 0,001$ ), что обусловлено синдромокомплексом заболевания. В 3 группе синдром экзантемы отмечался в 34,1% ( $n = 15$ ), в половине случаев в анамнезе было указание на применение пенициллинового ряда антибиотиков ( $n = 7$ ; 15,9%). Среди пациентов с РРИ практически с одинаковой частотой диагностировали периферическую шейную лимфаденопатию ( $n = 20$ ; 22,7%) и гепатомегалию ( $n = 16$ ; 18,2%).

При ВЭ уровень тромбоцитов был ниже, чем при ОРИ ( $p < 0,001$ ) (Таблица 2). Для пациентов с ИМ установлены достоверно более высокие уровни лейкоцитов и абсолютного значения лимфоцитов, чем в 1 и 2 группах ( $p < 0,001$ ). Наиболее низкие показатели абсолютного числа нейтрофилов были зафиксированы среди детей с ВЭ при сопоставлении с ОРИ и ИМ ( $p < 0,001$ ), что, вероятно, обусловлено возрастными особенностями гемограммы и гладким течением вирусной инфекции. Высокие значения сегментоядерных нейтрофилов более характерны для ОРИ в сравнении с ВЭ ( $p = 0,001$ ) и ИМ ( $p = 0,006$ ). Уровень СОЭ был достоверно выше у пациентов 3 группы, чем с ОРИ ( $p = 0,007$ ) и ВЭ ( $p = 0,004$ ).

Таблица 2. Сравнительная характеристика достоверно различающихся лабораторных показателей у детей различных групп (критерий Краскела – Уоллиса)

Показатель	Единицы измерения	Ме (IQR)			p
		Группа 1	Группа 2	Группа 3	
Тромбоциты	10 <sup>9</sup> /л	322 (243–357)	212 (171–254)	253 (209–315)	0,001 ●
Лейкоциты	10 <sup>9</sup> /л	10,2 (7,2–15,0)	6,3 (4,5–8,8)	14,8 (10,1–19,1)	<0,001 ■▲
Лимфоциты абс.	10 <sup>9</sup> /л	3,4 (2,2–4,7)	2,7 (2,0–4,1)	5,8 (3,8–10,5)	<0,001 ■▲
Нейтрофилы абс.	10 <sup>9</sup> /л	5,3 (3,7–8,2)	1,8 (1,2–3,3)	5,0 (3,0–7,6)	<0,001 ●▲
Сегментоядерные нейтрофилы	%	50 (36–61)	31 (22–44)	34 (20–55)	<0,001 ●■
Лимфоциты	%	34 (24–50)	60 (38–68)	45 (26–55)	0,017 ●▲
СОЭ	мм/ч	12 (5–20)	9 (6–19)	20 (14–25)	0,009 ■▲
СРБ	мг/л	11 (1–57)	2 (0,8–4,1)	9 (3–20)	0,002 ▲

Примечание: условные обозначения достоверных различий между группами детей с ОРИ и ВЭ – ●, ВЭ и ИМ – ▲, ОРИ и ИМ – ■.

Среди пациентов 1, 2, 4 групп ДНК ВГЧ-6А/В в цельной крови методом ПЦР чаще обнаруживали в моноварианте (n=47, 94%; n=27, 100%; n=74, 84,1% соответственно). У детей с ОРИ и РРИ редко отмечалось сочетанное инфицирование ВГЧ-6А/В+ВЭБ (n=2, 4%; n=13, 14,8%) и ВГЧ-6А/В+ЦМВ (по одному случаю).

При анализе видового разнообразия ВГЧ-6А/В у детей установлено превалирование ВГЧ-6В (84%), который был обнаружен во всех группах исследования (Рисунок 1).

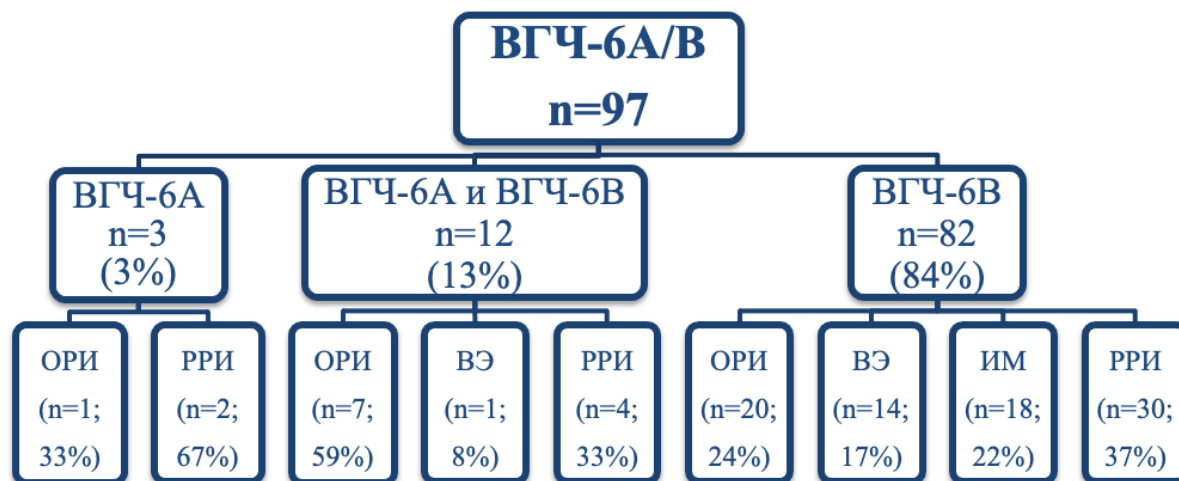


Рисунок 1. Характеристика видового разнообразия ВГЧ-6А/В у детей различных групп (n=97)

У всех пациентов с ИМ выделен ВГЧ-6В. ВГЧ-6А верифицирован у двоих сестер (3 года и 4 года) с РРИ, у одного мальчика 4 лет с ОРИ. Сочетанное инфицирование ВГЧ-6А и ВГЧ-6В отмечали у 12 пациентов: доминировали дети с острым респираторным синдромом.

#### **Дифференциальная диагностика активной и латентной форм бетагерпесвирусной инфекции 6А/В у детей**

С целью дифференциальной диагностики активной и латентной форм ВГЧ-6А/В инфекции у детей с лимфопролиферативным, катаральным синдромами, а также рекуррентными инфекциями, была разработана прогностическая модель с использованием метода дискриминантного анализа. В исследование включили 112 пациентов в возрасте от 1 месяца до 17 лет 11 месяцев 29 дней, у которых были обнаружены ДНК ВГЧ-6А/В в цельной крови методом качественной ПЦР с последующей оценкой уровней пороговых циклов амплификации. Переменной отклика являлась дихотомическая переменная: 1 – латентная форма ВГЧ-6А/В инфекции (n=89), 2 – активная форма ВГЧ-6А/В инфекции (n=23). В качестве потенциальных предикторов верификации активной и латентной форм ВГЧ-6А/В инфекции в исходной обучающей модели рассматривалось 27 признаков. Построение дискриминантной модели осуществлялось методом пошагового включения предикторов с использованием F-критерия Фишера; величина критерия F принималась равной 4,0, нижняя граница толерантности – 0,01. Из анализируемых признаков было выбрано 4 параметра, имеющих наибольшие достоверные различия в сравниваемых группах –  $p < 0,001$ . Получена статистически значимая ( $p < 0,001$ ) и классификационно способная на

93,75% модель дифференциальной диагностики активной и латентной форм ВГЧ-6А/В инфекции у детей. Чувствительность метода составила 91,3%, специфичность – 94,4%.

Способ применяют следующим образом. Полученные значения предикторных признаков вносят в формулы расчета (1, 2) линейной дискриминантной функции (ЛДФ):

ЛДФ1 (латентная форма ВГЧ-6А/В инфекции): (1)

$$42,7 \times X_1 - 49,2 \times X_2 - 6,2 \times X_3 + 5,2 \times X_4 - 865,$$

ЛДФ2 (активная форма ВГЧ-6А/В инфекции): (2)

$$45,1 \times X_1 - 53 \times X_2 - 6,7 \times X_3 + 4,7 \times X_4 - 940,$$

где  $X_1$  – максимальная выраженность лихорадки, измеряемая в градусах Цельсия;

$X_2$  – наличие кашля: нет – 0, есть – 1;

$X_3$  – абсолютное количество нейтрофилов,  $\times 10^9/\text{л}$ ;

$X_4$  – пороговые циклы амплификации ДНК ВГЧ-6А/В.

Сравнивают значения показателей ЛДФ1 и ЛДФ2: при ЛДФ1 > ЛДФ2 диагностируют латентную форму ВГЧ-6А/В инфекции, а при ЛДФ2 > ЛДФ1 – активную.

Проведена классификация тестовой выборки. Суммарный процент верных диагнозов составил 92,5%, что сопоставимо с результатами на обучающей выборке. Таким образом, прогностическая модель успешно прошла кросс-проверку и может использоваться для дифференциальной диагностики активной и латентной форм ВГЧ-6А/В инфекции у детей. Подана заявка на изобретение, приоритетная справка №2023111087 от 27.04.2023.

### **Сравнительная клиничко-лабораторная характеристика инфекционного мононуклеоза различной этиологии у детей**

В ходе проведенного исследования установлено, что в этиологической структуре ИМ доминировал ВЭБ (46,1%). ИМ ВЭБ+ЦМВ отмечался в 31,3% случаев, в то время как ИМ ВГЧ-6А/В – только в 5,1%, 17,5% приходилось на сочетания ВГЧ-6А/В с другими герпесвирусами (ИМ ВГЧ-6А/В+ВЭБ – 7,2%, ИМ ВГЧ-6А/В+ВЭБ+ЦМВ – 10,3%). В дальнейший сравнительный анализ были включены пациенты с ИМ ВГЧ-6А/В (n=44) и ИМ ВЭБ (n=40), как в моно-, так и сочетанных вариантах.

Дети с ИМ ВГЧ-6А/В были достоверно младше, чем с ИМ ВЭБ (Рисунок 2). Статистически достоверные различия получены при сравнении пациентов в группе ИМ ВГЧ-6А/В и ИМ ВГЧ-6А/В+ВЭБ+ЦМВ с ИМ ВЭБ ( $p=0,019$ ,  $p<0,001$ ) и с ИМ ВЭБ+ЦМВ ( $p=0,013$  и  $p<0,001$  соответственно). Мальчики госпитализировались чаще девочек (n=50; 59,5% против n=34; 40,4%).

Медиана сроков заболевания при ИМ на момент госпитализации составила 7 дней (IQR 5 – 9 дней) без значимых различий в этиологических группах ( $p>0,05$ ). Дети с ИМ ВГЧ-6А/В находились на стационарном лечении достоверно меньше (Me 7 суток, IQR 7 – 8 суток), чем с ИМ ВЭБ (Me 10 суток, IQR 8 – 11 суток),  $p=0,006$ . В группе пациентов с ИМ ВГЧ-6А/В, несмотря на симптомокомплекс заболевания, выявление ДНК ВГЧ-6А/В методом ПЦР в цельной крови, в 45% случаев (n=5) заключительный клинический диагноз трактовался как ОРИ, а не ИМ и, следовательно, не проводилось дальнейшее диспансерное наблюдение.

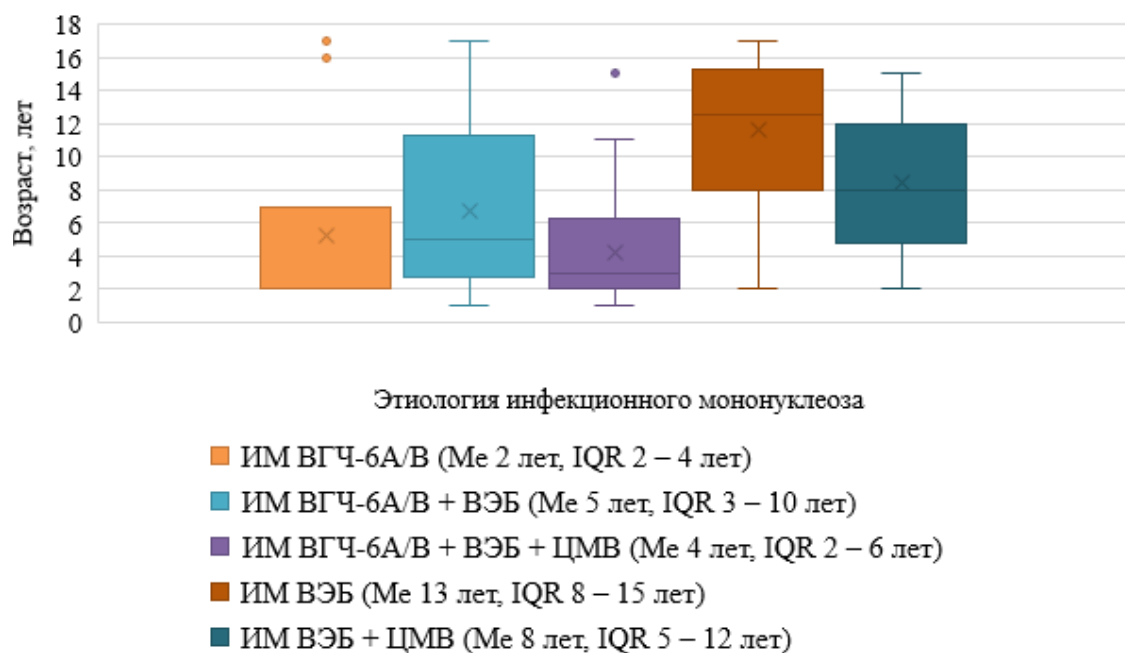


Рисунок 2. Сравнительная характеристика возрастной структуры пациентов в зависимости от этиологии инфекционного мононуклеоза ( $p < 0,001$ )

Выраженность лихорадки достигала  $39,0^{\circ}\text{C}$  (IQR  $38,5 - 39,3^{\circ}\text{C}$ ), длительность –  $7 \pm 4$  суток. Достоверных различий показателей среди групп получено не было ( $p > 0,05$ ). В большинстве случаев отмечалось наличие интоксикационного, катарального, лимфопролиферативного синдромов, что характерно для ИМ, без достоверных различий в зависимости от этиологии заболевания. У пациентов с ИМ ВГЧ-6А/В лимфопролиферативный синдром был менее выражен. В группе ИМ ВЭБ достоверно чаще отмечали выраженную шейную лимфаденопатию (конгломераты лимфоузлов диаметром  $2,5-5,0$  см) по сравнению с остальными этиологическими группами ( $p = 0,007$ ), что сопровождалось лимфостазом и проявлялось пастозностью лица ( $n = 3$ ,  $21,4\%$ ). Ринит достоверно реже отмечался у пациентов с ИМ ВЭБ+ЦМВ в сравнении с остальными группами ( $p = 0,003$ ). Острый средний отит при ИМ выявляли в 3 раза чаще, чем синусит ( $n = 23$ ,  $27,4\%$  против  $n = 7$ ,  $8,3\%$ ).

При ИМ различной этиологии не выявлено достоверных различий уровня тромбоцитов, абсолютного числа нейтрофилов, содержания палочкоядерных нейтрофилов и моноцитов, СОЭ во всех группах пациентов ( $p > 0,05$ ). Уровень лейкоцитов у детей при ИМ ВЭБ+ЦМВ был выше, чем при ИМ ВГЧ-6А/В+ВЭБ ( $p = 0,005$ ) (Таблица 3). Абсолютные значения лимфоцитов были достоверно ниже в группе ИМ ВГЧ-6А/В и ИМ ВГЧ-6А/В+ВЭБ по сравнению с ИМ ВГЧ-6А/В+ВЭБ+ЦМВ ( $p < 0,001$ ), ИМ ВЭБ ( $p < 0,001$  и  $p = 0,002$  соответственно) и ИМ ВЭБ+ЦМВ ( $p < 0,001$ ). Относительные значения сегментоядерных нейтрофилов, напротив, были более высокими у детей с ИМ ВГЧ-6А/В и ИМ ВГЧ-6А/В+ВЭБ в сопоставлении с ИМ ВГЧ-6А/В+ВЭБ+ЦМВ ( $p < 0,001$  и  $p = 0,003$ ) и ИМ ВЭБ+ЦМВ ( $p < 0,001$ ). Уровень СРБ был достоверно выше при ИМ ВГЧ-6А/В, чем при ИМ ВЭБ+ЦМВ ( $p < 0,0001$ ). В группе ИМ ВГЧ-6А/В атипичные мононуклеары (содержание  $1\%$ ) обнаружены только у 1 пациента, что достоверно меньше, чем при ИМ другой этиологии (ИМ ВГЧ-6А/В+ВЭБ,  $p = 0,004$ ; ИМ ВГЧ-6А/В+ВЭБ+ЦМВ, ИМ ВЭБ, ИМ ВЭБ+ЦМВ,

$p < 0,001$ ). Уровень АЛТ у детей с ИМ ВГЧ-6А/В был достоверно ниже, чем при ИМ, вызванном ВЭБ (ИМ ВГЧ-6А/В+ВЭБ+ЦМВ, ИМ ВЭБ, ИМ ВЭБ+ЦМВ;  $p < 0,001$ ), а уровень АСТ – чем при ИМ ВЭБ+ЦМВ ( $p = 0,002$ ).

Таблица 3. Характеристика достоверно различающихся лабораторных показателей при инфекционном мононуклеозе различной этиологии (критерий Краскела – Уоллиса)

Показатель, единицы измерения	Me (IQR)					p
	ИМ ВГЧ- 6А/В (n=10)	ИМ ВГЧ- 6А/В + ВЭБ (n=14)	ИМ ВГЧ- 6А/В + ВЭБ + ЦМВ (n=20)	ИМ ВЭБ (n=14)	ИМ ВЭБ + ЦМВ (n=26)	
Лейкоциты $10^9/л$	14,6 (9,1–17,8)	12,0 (9,7–14,9)	18,2 (13,7–22,6)	17,1 (13–21,5)	17,3 (13,2–20,8)	0,037
Лимфоциты $10^9/л$	3,7 (1,7–5,1)	5,5 (3,6–7,6)	11,1 (6,8–15,3)	8,8 (7,1–13,3)	11,8 (7,9–14,8)	<0,001
Сегментоядерные нейтрофилы %	61 (53–71)	40 (29–52)	24 (14–33)	26 (15–39)	20 (14–29)	<0,001
Лимфоциты %	25 (15–35)	32 (22–51)	54 (46–65)	44 (38–57)	56 (51–64)	<0,001
Атипичные мононуклеары %	0 (0–1)	5 (3–23)	11 (3–11)	12 (9–28)	19 (7–24)	0,004
СРБ мг/л	23 (7–61)	6 (3–16)	6 (2–18)	8 (4–42)	3 (2–8)	0,011
АЛТ ЕД/л	13 (10–18)	33 (14–157)	60 (27–151)	205 (55–361)	125 (68–321)	0,001
АСТ ЕД/л	39 (21–53)	67 (44–90)	62 (43–111)	98 (50–152)	103 (66–208)	0,02

На основании сравнительной оценки лабораторных показателей при ИМ в зависимости от возраста пациентов без учета этиологии установлено, что для детей с ИМ до 6 лет включительно были характерны нейтрофилез абсолютный ( $p = 0,016$ ) и относительный (за счет палочкоядерных клеток,  $p = 0,021$ ). У детей старше 7 лет достоверно чаще отмечали абсолютный и относительный лимфоцитоз ( $p < 0,001$ ), высокое содержание атипичных мононуклеаров в периферической крови ( $p < 0,001$ ), а также синдром цитолиза ( $p < 0,001$ ).

Полученные выводы подтверждались результатами корреляционного анализа: выявлены прямая слабая связь между возрастом пациентов и уровнем АЛТ ( $r = 0,486$ ,  $p < 0,05$ ), АСТ ( $r = 0,327$ ,  $p < 0,05$ ) и прямая средняя с уровнем общего билирубина ( $r = 0,582$ ,  $p < 0,05$ ). Также обнаружена прямая слабая связь между уровнем атипичных мононуклеаров и трансаминазами (АЛТ:  $r = 0,464$ ,  $p < 0,05$ ; АСТ:  $r = 0,441$ ,  $p < 0,05$ ) и обратная прямая со значением СРБ ( $r = -0,414$ ,  $p < 0,05$ ).

При дифференциации 18 образцов ДНК ВГЧ-6А/В по видам во всех случаях выявлен ВГЧ-6В (ИМ ВГЧ-6А/В,  $n = 6$ ; ИМ ВГЧ-6А/В+ВЭБ,  $n = 3$ ; ИМ ВГЧ-6А/В+ВЭБ+ЦМВ,  $n = 9$ ).

В динамике дети-реконвалесценты ИМ ВГЧ-6А/В в сочетанном варианте обращались в четверти случаев ( $n = 11$ ; 25%), что в два раза реже, чем после ИМ ВЭБ или ИМ ВЭБ+ЦМВ

(n=21; 52,5%). Пациенты с ИМ ВГЧ-6А/В в моноварианте вовсе не поступали в течение 1 года. Данные особенности были обусловлены различной выраженностью клинико-лабораторных проявлений в острый период: дети с ИМ ВЭБ и ИМ ВЭБ+ЦМВ имели более яркую клиническую картину, выраженные изменения лабораторных показателей вследствие высокой вирусной нагрузки ВЭБ, что приводило к их обращению для диспансеризации.

У всех пациентов, обследованных в динамике, размер шейных лимфоузлов не превышал 1,0 см в диаметре. Гепатомегалию чаще отмечали спустя 1 месяц после перенесенного ИМ у пациентов с ВЭБ, чем с ВГЧ-6А/В (33% против 9%). Выявлять ДНК герпесвирусов в отделяемом из зева удавалось дольше, чем в цельной крови (12 месяцев и 9 месяцев соответственно), что, вероятно, свидетельствовало о длительной циркуляции вирусов в слюнных железах и возможности передачи их со слюной, что поддерживает эпидемический процесс в популяции.

### Уровень вирусной нагрузки бетагерпесвирусов человека 6А/В у больных различными нозологическими формами заболеваний

Обнаружены достоверно меньшие значения уровня  $C_t$  у детей с ВЭ по сравнению с пациентами с ОРИ, ИМ, РРИ ( $p < 0,001$ ), что отражало высокую вирусную нагрузку при первичном инфицировании (Рисунок 3). В группах исследования 1, 3, 4 значения  $C_t$  и, следовательно, вирусная нагрузка были сопоставимыми ( $p > 0,05$ ).

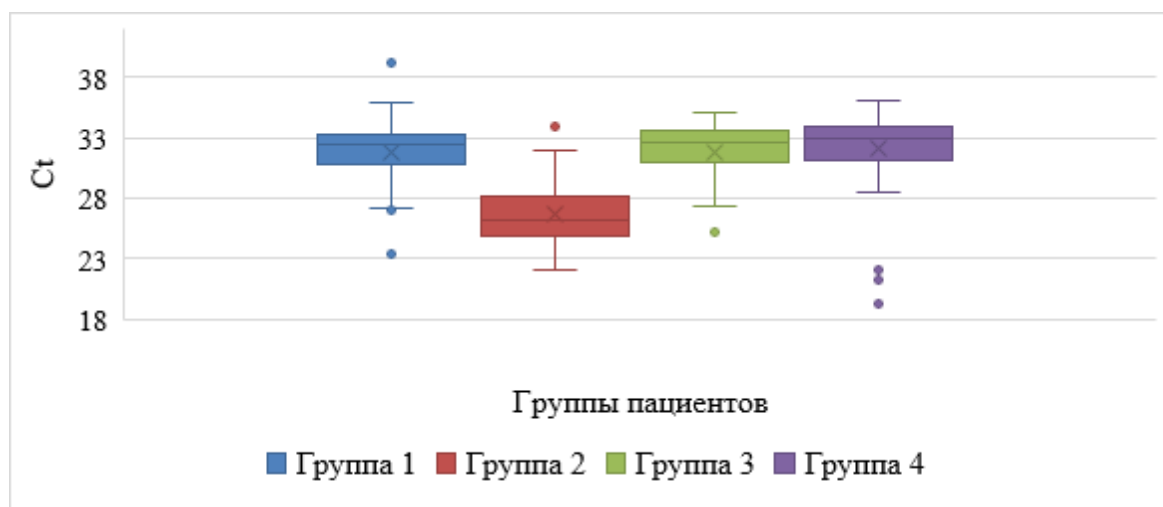


Рисунок 3. Сравнительная характеристика значений порогового цикла ДНК ВГЧ-6А/В у детей различных групп ( $p < 0,001$ )

В результате построения ROC-кривой получено диагностическое значение  $C_t$  ДНК ВГЧ-6А/В в цельной крови методом ПЦР – 30,5 (чувствительность показателя – 81,5%, специфичность – 84%), которое может использоваться в дальнейшем для определения диагностически значимой концентрации вируса.

На основе количественного ПЦР-анализа установлено, что медиана вирусной нагрузки ВГЧ-6А/В в цельной крови и плазме у детей с ВЭ была высокая (Me 5,37 lg копий ДНК/мл (IQR 4,88 lg – 6,39 lg копий ДНК/мл) и Me 5,28 lg копий/мл (IQR 4,79 lg – 5,59 lg копий ДНК/мл), корреляционная связь – прямая сильная ( $r=0,767$ ,  $p < 0,05$ ). Вирусная нагрузка ВГЧ-6А/В в отделяемом из ротоглотки составила 5,43 lg – 7,11 lg копий ДНК/мл.



Корреляционная зависимость между уровнем вирусной нагрузки и клинико-лабораторными показателями (возраст, сроки болезни на момент госпитализации, выраженность и длительность лихорадки, уровень лейкоцитов, тромбоцитов, показатели лейкоцитарной формулы) не выявлена ( $p>0,05$ ).

Среди пациентов с РРИ ( $n=88$ ) у 14 детей (15,9%) показатель  $St$  был ниже точки отсечения ( $<30,5$ ). Назначение иммунотропной терапии по результатам качественной ПЦР цельной крови без учета уровня  $St$  выполнялось у 69% детей ( $n=61$ ), препарат выбора – интерферон  $\alpha-2b$  ( $n=34$ , 39%). В 17% случаев ( $n=15$ ) применялось 2 и более иммуномодуляторов одновременно или последовательно. Полученные результаты свидетельствуют о гипердиагностике активной формы ВГЧ-6А/В инфекции, основанной на факте выявления ДНК вируса в качественном анализе, без учета вирусной нагрузкой прямым (количественная ПЦР) или косвенным ( $St$ ) методами и возможности детекции возбудителя, находящегося в крови в стадии латенции, что явилось причиной необоснованного назначения иммунотропной терапии.

Достоверных различий в уровне  $St$  ДНК ВГЧ-6А/В и ВЭБ в цельной крови методом качественной ПЦР у пациентов разных этиологических групп ИМ получено не было ( $p>0,05$ ). Показатели вирусной нагрузки ВГЧ-6А/В в различных биосредах составили:

- 1) Отделяемое из ротоглотки ( $n=10$ ) – Ме 2,66 lg копий ДНК/мл (IQR 2,23 lg – 4,15 lg копий ДНК/мл);
- 2) Плазма ( $n=3$ ) – Ме 2,92 lg копий ДНК/мл (IQR 1,26 lg – 6,26 lg копий ДНК/мл);
- 3) Цельная кровь ( $n=10$ ) – Ме 2,42 lg копий ДНК/мл (IQR 1,04 lg – 5,36 lg копий ДНК/мл).

Достоверных различий вирусной нагрузки ВГЧ-6А/В в различных биосредах в зависимости от этиологической группы ИМ не выявлено ( $p>0,05$ ).

По результатам сравнительного анализа вирусной нагрузки ВЭБ в различных биосредах достоверные различия показателя в отделяемом из ротоглотки и плазме крови в зависимости от этиологической группы ИМ не выявлены ( $p>0,05$ ) (Таблица 4).

Таблица 4. Характеристика вирусной нагрузки ВЭБ (lg копий ДНК/мл) в различных биосредах у пациентов с инфекционным мононуклеозом (критерий Краскела – Уоллиса)

Биологическая среда	Ме (IQR)				p
	ИМ ВГЧ-6А/В + ВЭБ	ИМ ВГЧ-6А/В+ВЭБ + ЦМВ	ИМ ВЭБ	ИМ ВЭБ + ЦМВ	
Отделяемое из ротоглотки ( $n=23$ )	4,88 (3,52–5,04)	3,53 (2,32–3,84)	–	4,04 (3,34–7,70)	$>0,05$
Плазма ( $n=24$ )	0,48 (0,26–1,34)	–	5,83 (0,48–5,86)	4,42 (1,38–6,59)	$>0,05$
Цельная кровь ( $n=45$ )	3,62 (1,92–5,26)	1,73 (0,95–2,49)	7,3 (6,3–7,75)	6,23 (3,65–7,11)	0,003

Самые высокие показатели вирусной нагрузки ВЭБ в цельной крови зафиксированы при ИМ ВЭБ, что достоверно выше, чем при ИМ ВГЧ-6А/В+ВЭБ ( $p=0,016$ ) и ИМ ВГЧ-

6A/B+ВЭБ+ЦМВ ( $p=0,003$ ), и, вероятно, обусловлено интерференцией ВЭБ с другими герпесвирусами, в частности с ВГЧ-6A/B, что приводит к снижению вирусной нагрузки.

Выявлена прямая сильная корреляционная связь между уровнем вирусной нагрузки ВЭБ в цельной крови и плазме ( $r=0,832$ ,  $p<0,05$ ), прямая средняя между показателями в цельной крови и отделяемом из ротоглотки ( $r=0,513$ ,  $p<0,05$ ).

Проведена оценка уровней Ct ДНК ВГЧ-6A/B и ВЭБ у пациентов с ИМ при поступлении в стационар и через 1 месяц. Значения порогового цикла ДНК ВЭБ в динамике были достоверно выше, чем при поступлении, как среди пациентов с ИМ ВГЧ-6A/B в сочетании с ВЭБ или ВЭБ+ЦМВ ( $p=0,034$ ), так и с ИМ ВЭБ в моноварианте или в ассоциации с ЦМВ ( $p=0,01$ ), что косвенно отражало снижение вирусной нагрузки. Аналогичных закономерностей в значениях Ct ДНК ВГЧ-6A/B при ИМ ВГЧ-6A/B сочетанной этиологии при поступлении и в динамике через 1 месяц выявить не удалось в связи с тем, что изначальный уровень пороговых циклов был невысоким (Ct при поступлении  $33\pm 2$ , Ct через 1 месяц  $31\pm 2$ ;  $p>0,05$ ). Оценить динамику Ct ДНК ВГЧ-6A/B при ИМ ВГЧ-6A/B в моноварианте не представлялось возможным ввиду отсутствия пациентов, наблюдавшихся в катамнезе.

#### **Алгоритм клинико-лабораторной диагностики заболеваний, ассоциированных с бетагерпесвирусами человека 6A/B, у детей**

С целью усовершенствования диагностических подходов к заболеваниям, ассоциированным с ВГЧ-6A/B, сопровождающихся лимфопролиферативным, респираторным синдромами, в частности у детей с РРИ, разработан алгоритм, включающий верификацию различных форм ВГЧ-6A/B, в том числе хиВГЧ-6A/B, что подчеркивает его ценность для использования в практическом здравоохранении (Рисунок 4).

При подозрении на активную форму ВГЧ-6A/B инфекции у детей с катаральным, лимфопролиферативным синдромами, РРИ проводится качественное исследование цельной крови методом ПЦР с последующей оценкой уровня Ct при положительном результате. При отсутствии ДНК ВГЧ-6A/B в цельной крови или уровне Ct превышающем 30,5 выполняется исследование сыворотки крови на антитела IgM, IgG к ВГЧ-6A/B методом ИФА. Если уровень Ct меньше 30,5, имеет место активная форма ВГЧ-6A/B инфекции. Рекомендовано контрольное обследование через 3 месяца – качественный ПЦР-анализ плазмы крови для оценки репликации вируса. При положительном результате обследование повторяется через 3 месяца. При повторном обнаружении низкого значения Ct (меньше диагностического уровня – 30,5) ДНК ВГЧ-6A/B в цельной крови методом ПЦР и отсутствии клинических проявлений бетагерпесвирусной инфекции 6A/B выполняется также количественная ПЦР цельной крови. Обнаружение высокой вирусной нагрузки ВГЧ-6A/B в цельной крови ( $>5,5$  lg копий ДНК/мл) требует выполнения качественной ПЦР с использованием других биосред (волосяные фолликулы, ногтевые пластины) для исключения хиВГЧ-6A/B и предотвращения необоснованных курсов иммуномодулирующей терапии с противовирусным действием.

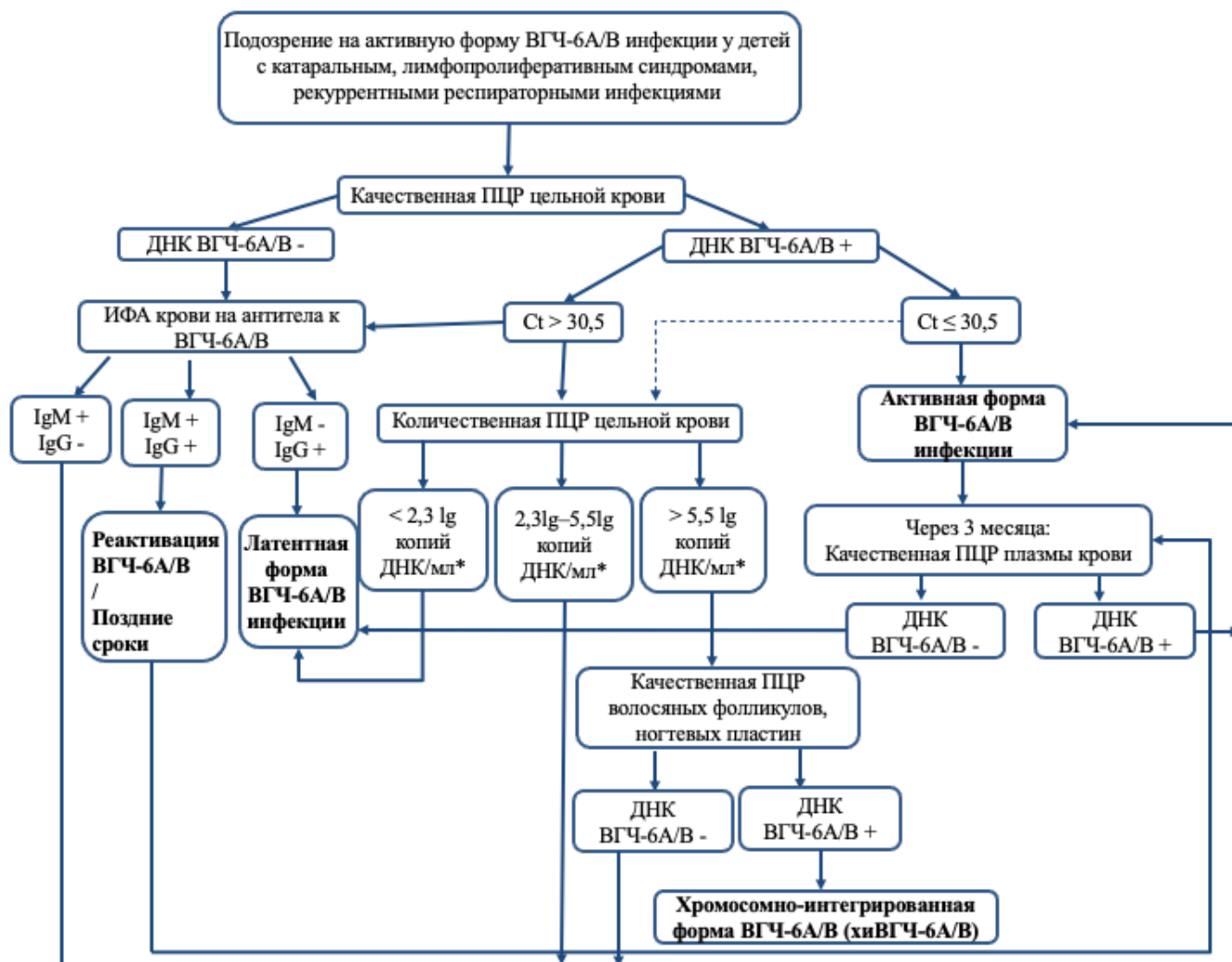


Рисунок 4. Алгоритм клинично-лабораторной диагностики заболеваний, ассоциированных с бетагерпесвирусами человека 6А/В, у детей

Примечание: -----> при определении высокого уровня ДНК ВГЧ-6А/В ( $Ct \leq 30,5$ ) 2 раза и более за один эпизод болезни

\* – The HHV-6 Foundation [Internet]. – URL: <https://hhv-6foundation.org/>

## ВЫВОДЫ

1. У детей с респираторным синдромом преобладал ВГЧ-6В (84%) вне зависимости от нозологической формы. ВГЧ-6А выявляли у 3% пациентов, сочетанное инфицирование ВГЧ-6А и ВГЧ-6В – у 13%. При инфекционном мононуклеозе у детей ВГЧ-6В верифицирован в 100% случаев, при внезапной экзантеме – в 93%, при рекуррентных респираторных инфекциях – в 88%. У пациентов с острой респираторной инфекцией в 26% случаев выявляли сочетание ВГЧ-6А и ВГЧ-6В.
2. Способ дифференциальной диагностики активной и латентной форм ВГЧ-6А/В инфекции у детей с лимфопролиферативным и респираторным синдромами основан на комплексном учете клинично-лабораторных данных, включающих выраженность лихорадки, наличие кашля, абсолютное значение нейтрофилов и уровень порогового цикла амплификации ДНК ВГЧ-6А/В в цельной крови методом качественной ПЦР, и характеризуется чувствительностью 91,3% и специфичностью 94,4%.

3. Клиническая картина инфекционного мононуклеоза ВГЧ-6А/В этиологии характеризовалась менее выраженными интоксикационным, катаральным, лимфопролиферативным синдромами, чем при ВЭБ. В отличие от инфекционного мононуклеоза, вызванного ВЭБ, атипичные мононуклеары и синдром цитолиза отсутствовали. Инфекционный мононуклеоз ВГЧ-6А/В этиологии отмечался у 5,1%. Сочетания ВГЧ-6А/В и ВЭБ выявляли у 7,2%; ВГЧ-6А/В, ВЭБ и ЦМВ – у 10,3% пациентов.
4. Уровень вирусной нагрузки ВГЧ-6А/В взаимосвязан с нозологической формой. Внезапная экзантема характеризовалась высокой вирусной нагрузкой в плазме, цельной крови и отделяемом из ротоглотки, низким значением пороговых циклов амплификации ДНК вируса в крови (Ме 26; IQR 25 – 28). Уровень Сt при других формах ВГЧ-6А/В инфекции был достоверно выше ( $p < 0,001$ ): при инфекционном мононуклеозе – Ме 32 (IQR 32 – 33), при острых и рекуррентных респираторных инфекциях – Ме 33; IQR 32 – 34 и Ме 33; IQR 31 – 34 соответственно, что отражало низкую вирусную нагрузку и подтверждалось количественным методом.
5. Разработанный алгоритм клинико-лабораторной диагностики заболеваний, ассоциированных с бетагерпесвирусами человека 6А/В, у детей с катаральным, лимфопролиферативным синдромами, рекуррентными респираторными инфекциями позволяет на основании сочетания качественного ПЦР-анализа крови с оценкой уровня пороговых циклов амплификации ДНК вируса, количественного метода и серологического исследования (IgM, IgG) определить этиологическую роль ВГЧ-6А/В в развитии заболевания и исключить хромосомно-интегрированную форму вируса.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. При подозрении на инфекционный мононуклеоз в план обследования рекомендуется включать ПЦР и/или ИФА крови с определением антител класса IgM к ВГЧ-6А/В для своевременной регистрации и диспансерного наблюдения.
2. Для дифференциальной диагностики активной и латентной форм ВГЧ-6А/В инфекции у детей с лимфопролиферативным и респираторным синдромами рекомендуется использовать предложенный способ, учитывающий выраженность лихорадки, наличие кашля, абсолютное количество нейтрофилов и пороговые циклы амплификации ДНК ВГЧ-6А/В в цельной крови методом качественной ПЦР, для определения показаний к назначению иммуотропной терапии с противовирусным действием.
3. Повторное выявление ДНК ВГЧ-6А/В в неизменных концентрациях в нескольких биосредах организма методом ПЦР, особенно при отсутствии динамики на фоне проводимой иммуотропной терапии с противовирусным действием, требует исключения хВГЧ-6А/В с использованием предложенного алгоритма.

**СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. **Бабаченко, И.В.** Синдром Маршалла в практике инфекциониста и педиатра (клинический случай) / **И.В. Бабаченко, Н.С. Тянь, М.А. Иванова [и др.]** // Журнал инфектологии. – 2020. – Т. 12, № 4. – С. 114–119.
2. **Тянь, Н.С.** Клинико-этиологические аспекты бета-герпес-вирусной инфекции человека б: обзор литературы / **Н.С. Тянь, О.В. Голева, И.В. Бабаченко** // Журнал инфектологии. – 2022. – Т. 14, № 2. – С. 55–64.
3. Калинин, Р.С. Филогенетический анализ хромосомно-интегрированного бетагерпесвируса бА, выявленного в Санкт-Петербурге / **Р.С. Калинин, О.В. Голева, И.В. Бабаченко, Н.С. Тянь [и др.]** // Журнал инфектологии (Материалы XIII Всероссийского ежегодного конгресса «Инфекционные болезни у детей: диагностика, лечение и профилактика»). – 2022. – Т. 14, № 4. – Приложение №2. – С. 31–32.
4. **Тянь, Н.С.** Клинико-лабораторные особенности инфекционного мононуклеоза ВГЧ-6 этиологии у госпитализированных детей / **Н.С. Тянь, И.В. Бабаченко, О.В. Голева [и др.]** // Журнал инфектологии (Материалы XIII Всероссийского ежегодного конгресса «Инфекционные болезни у детей: диагностика, лечение и профилактика»). – 2022. – Т. 14, № 4. – Приложение №2. – С. 79.
5. Голева, О.В. Выявленный в Санкт-Петербурге случай наследуемой хромосомной интеграции бетагерпесвируса бА и филогенетический анализ / **О.В. Голева, Р.С. Калинин, В.В. Цай, Н.С. Тянь [и др.]** // III Международный форум Дни вирусологии 2022, посвященный 55-летию со дня основания ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России: сборник тезисов. – 2022. – С. 25–26.
6. Kusakin, A.V. The Telomeric Repeats of HHV-6A Do Not Determine the Chromosome into Which the Virus Is Integrated [Internet] / **A.V. Kusakin, O.V. Goleva, L.G. Danilov, N.S. Tian [et al.]** // Genes. – 2023. – Vol. 14, № 2. – URL: <https://www.mdpi.com/2073-4425/14/2/521> (дата обращения 06.11.2023).
7. Голева, О.В. Современные аспекты диагностики инфекционных заболеваний, вызванных вирусами герпеса человека б типа А/В (учебно-методическое пособие) / **О.В. Голева, Н.С. Тянь, И.В. Бабаченко [и др.]** // Современные подходы к диагностике, терапии и профилактике инфекционных заболеваний у детей: Научные труды. – СПб.: ДНКЦИБ. – 2023. – С. 220–234.
8. **Тянь, Н.С.** ВГЧ-6В инфекция как этиологический фактор внезапной экзантемы у детей Санкт-Петербурга / **Н.С. Тянь, И.В. Бабаченко, О.В. Голева [и др.]** // Сборник тезисов международной научно-практической конференции «Современные тенденции развития инфектологии, медицинской паразитологии, эпидемиологии и микробиологии». – Узбекистан, г. Ургенч, 2023. – С. 216.
9. **Тянь, Н.С.** Сравнительная клинико-лабораторная характеристика инфекционного мононуклеоза, вызванного вирусом Эпштейна-Барр и вирусом герпеса человека б, у детей / **Н.С. Тянь, И.В. Бабаченко, О.В. Голева [и др.]** // Вирусные инфекции – от диагностики к клинике: сборник тезисов Всероссийской конференции молодых ученых, СПб, 13–14 апреля 2023 г. – СПб. : ПОЛИТЕХ- ПРЕСС, 2023. – С. 97–98.
10. **Тянь, Н.С.** Результаты проспективного наблюдения детей с инфекционным мононуклеозом ВГЧ-6 этиологии / **Н.С. Тянь, И.В. Бабаченко, О.В. Голева [и др.]** //

Журнал инфектологии (Материалы IX Конгресса Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням). – 2023. – Т. 15, № 2. – Приложение №2. – С. 133.

11. Голева, О.В. Семейный случай наследуемой хромосомной интеграции ВГЧ-6А с проведением филогенетического анализа / О.В. Голева, Л.Г. Данилов, А.В. Кусакин, Ю.А. Эйсмонт, И.В. Бабаченко, Н.С. Тянь [и др.] // Медицина экстремальных ситуаций. – 2023. – №4. – С. 144–151.
12. Тянь, Н.С. Клинико-вирусологические особенности ВГЧ-6 инфекции у детей в Санкт-Петербурге / Н.С. Тянь, И.В. Бабаченко, О.В. Голева [и др.] // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2023. – №3. – С. 78–86.
13. Тянь, Н.С. Клинико-лабораторные и вирусологические особенности инфекционного мононуклеоза ВЭБ- и ВГЧ-6 – этиологии у детей / Н.С. Тянь, И.В. Бабаченко, О.В. Голева [и др.] // Детские инфекции. – 2023. – Т. 22, № 4.–С. 34–38.

### Список сокращений

АЛТ – аланинаминотрансфераза

АСТ – аспартатаминотрансфераза

ВГЧ-6А/В – бетагерпесвирус человека 6А/В

ВЭ – внезапная экзантема

ВЭБ – вирус Эпштейна-Барр

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИМ – инфекционный мононуклеоз

ИМ ВГЧ-6А/В – инфекционный мононуклеоз ВГЧ-6А/В этиологии

ИМ ВГЧ-6А/В+ВЭБ – инфекционный мононуклеоз ВГЧ-6А/В и ВЭБ этиологии

ИМ ВГЧ-6А/В+ВЭБ+ЦМВ – инфекционный мононуклеоз ВГЧ-6А/В, ВЭБ, ЦМВ

этиологии

ИМ ВЭБ – инфекционный мононуклеоз ВЭБ этиологии

ИМ ВЭБ+ЦМВ – инфекционный мононуклеоз ВЭБ и ЦМВ этиологии

ИФА – иммуноферментный анализ

ЛДФ – линейная дискриминантная функция

ОРИ – острая респираторная инфекция

ПЦР – полимеразная цепная реакция

p – уровень статистической значимости

РРИ – рекуррентные респираторные инфекции

СОЭ – скорость оседания эритроцитов

СРБ – С-реактивный белок

хиВГЧ-6А/В – хромосомно-интегрированная форма ВГЧ-6А/В

ЦМВ – цитомегаловирус

St – пороговый цикл амплификации

Ig (M, G) – иммуноглобулины класса M, G

IQR – интерквартильный размах

Ig – десятичный логарифм

Me – медиана

r – коэффициент корреляции