

МИКРОБИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 616-2-002-022:578.825.11]-078:577.21.08

Алимбарова Л.М., Лазаренко А.А., Львов Н.Д., Баринский И.Ф.

СПЕКТР МАРКЕРОВ ГЕРПЕСВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ И АЛГОРИТМ ИХ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ У ДЕТЕЙ С ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ПРОЦЕССАМИ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ И ЛОР-ОРГАНОВ

ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного акад.
Н.Ф. Гамалеи» Минздрава РФ, 123098, Москва

Цель исследования — провести изучение маркеров персистирующих герпесвирусных инфекций у детей с воспалительными процессами верхних дыхательных путей (ВДП) и ЛОР-органов. Обследовано 118 пациентов в возрасте от 1 мес до 17 лет. Использован комплекс стандартизированных вирусологических, иммунологических, молекулярно-генетических методов для выявления (исключения) герпетической инфекции (ГИ): цитомегаловирусной инфекции (ЦМВИ), инфекции, вызываемой вирусом Эпштейна—Барр (ВЭБИ), вирусом простого герпеса (ВПГ). Представлен диагностический алгоритм обследования детей с заболеваниями ВДП на ГИ. Отмечено доминирующее значение ВПГ и ВЭБ, а также Staphylococcus aureus и Streptococcus haemolyticus-β группы А при анализе микробного пейзажа. У 83,9% детей с заболеваниями ВДП выявлена хроническая ВПГИ, ВЭБИ, ЦМВИ, у 39,39% детей — микст-инфекция: у 41,03% — сочетание ВПГ—/ВЭБ-инфекции; у 33,33% детей — ВПГ—/ЦМВИ-инфекции; у 7,69% детей — ВПГ—/ВЭБ—/ЦМВИ-инфекции; у 17,94% детей — ВЭБ—/ЦМВИ-инфекции. Особенностью течения персистирующих ГИ у детей было отсутствие специфических симптомов нозологической формы в 59,2% случаев. По результатам исследования мазков со слизистой носоглотки детей, инфицированных вирусами герпеса: Staphylococcus aureus выявлен у 36,36%; Streptococcus haemolyticus-β — у 32,32%, Streptococcus haemolyticus-α — у 11,11, Candida albicans слизистых оболочек — у 4,04% детей. Вирусно-бактериальная микст-инфекция установлена у 44,44%. Обнаружены лабораторные признаки активности иммунного воспаления: увеличение содержания TNFα и снижение уровня IFNγ. Результаты исследования обосновывают необходимость индивидуального подхода к терапии детей с заболеваниями ВДП и ЛОР-органов, ассоциированными с персистирующими ГИ, с проведением комплекса лечебно-реабилитационных мероприятий.

Ключевые слова: заболевания респираторного тракта; герпесвирусная инфекция; условно-патогенная микрофлора; дети.

Для цитирования: Алимбарова Л.М., Лазаренко А.А., Львов Н.Д., Баринский И.Ф. Спектр маркеров герпесвирусных инфекций и алгоритм их лабораторной диагностики у детей с воспалительными процессами верхних дыхательных путей. Клиническая лабораторная диагностика. 2017; 62 (3): 182-188

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-3-182-188>

Alimbarova L.M., Lazarenko A.A., Lvov N.D., Barinsky I.F.

THE SPECTRUM OF MARKERS OF HERPES VIRAL INFECTIONS AND ALGORITHM OF THEIR LABORATORY DIAGNOSTIC IN CHILDREN WITH INFLAMMATORY PROCESSES OF UPPER RESPIRATORY WAYS AND ENT-ORGANS

The purpose of study is to explore markers of persistent herpes viral infections in children with inflammatory processes of upper respiratory ways and ENT-organs. The sampling included 118 examined patients aged from 1 month to 17 years. The complex of standardized viral, immunological, molecular genetic methods was applied to detect (to exclude) herpes infection: cytomegalovirus infection, Epstein-Barre virus infection, simplex herpes virus infection. The diagnostic algorithm of examination of children with diseases of upper respiratory ways for herpes infection is presented. The dominating significance of simplex herpes virus and Epstein-Barre virus and also Staphylococcus aureus and Streptococcus haemolyticus-β group A at the analysis of microbial landscape. In 83.9% of children with diseases of upper respiratory ways chronic infections of simplex herpes virus, Epstein-Barre virus, cytomegalovirus; in 39.39% - mixed-infection; in 41.03% - combination of simplex herpes virus and Epstein-Barre virus infections; in 33.33% - combination of simplex herpes virus and cytomegalovirus infections; in 7.69% - combination of simplex herpes virus and Epstein-Barre virus and cytomegalovirus infections; in 17.94% - combination of Epstein-Barre virus and cytomegalovirus infections; The particularity of course of persistent herpes infection in children had to do with absence of specific symptoms of nosologic form in 59.2% of cases. The results of analysis of smears from nasopharynx of children infected with herpes viruses permitted to detect: Staphylococcus aureus in 36.36%; Streptococcus haemolyticus-β in 32.32%; Streptococcus haemolyticus-α in 11.11%; Candida albicans of mucous membranes in 4.04% of children. The viral bacterial mixed-infection was detected in 44.44%. The laboratory signs of activity of immune inflammation were detected: increasing of content of TNFα and decreasing of level of IFNγ. The results of study substantiate necessity of individual approach to therapy of children with diseases of upper respiratory ways and ENT-organs and with implementation of complex of curative rehabilitating activities.

Key words: diseases of respiratory tract; herpes viral infection; opportunistic microflora; children.

For citation: Alimbarova L.M., Lazarenko A.A., Lvov N.D., Barinskiy I.F. The spectrum of markers of herpes viral infections and algorithm of their laboratory diagnostic in children with inflammatory processes of upper respiratory ways and ENT-organs. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics) 2017; 62 (3): 182-188. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-3-182-188>*

For correspondence: Alimbarova L.M., candidate of medical sciences, associate professor, leading researcher. e-mail: virology@mail.ru

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 11.07.2016

Accepted 01.08.2016

Введение. Проблема заболеваний верхних дыхательных путей (ЗВДП) и ЛОР-органов в детском и подростковом возрасте по-прежнему остается актуальной [1—3]. Это связано не только с ростом распространенности, но и с вариативностью течения, частотой осложнений, наличием нарушений иммунитета. Особенность иммунного реагирования у детей при ЗВДП — наличие переходящей функциональной нестабильности иммунитета (в том числе в фагоцитарном звене иммунитета, в системе интерферонотенеза), способствующей дисбиозу полости носа и ротоглотки, повышению восприимчивости к инфицированию, в случае повторяющихся ЗВДП — формированию хронической патологии респираторного тракта и развитию функциональных расстройств.

ЗВДП — мультифакторные заболевания, при которых наряду с генетической предрасположенностью важная роль принадлежит инфекционным «триггерам»: РНК- и ДНК-содержащим вирусам, бактериям (стрептококку, стафилококку и др.), простейшим (хламидии, микоплазмы и др.) [1—5]. Особый интерес представляют герпесвирусы (вирус простого герпеса (ВПГ), цитомегаловирус (ЦМВ), вирус Эпштейна—Барр (ВЭБ)), для которых характерны не только высокая частота распространения, но и способность вызывать заболевания, склонные к рецидивированию, хроническому течению, персистенции, способствующие развитию иммунодефицита [5—7]. Длительная персистенция герпесвирусов способствует развитию хронического воспаления, которое свидетельствует о несостоятельности иммунного ответа, повреждении собственных тканей, нарушении функций поврежденных органов и выступает триггерным и поддерживающим фактором в патогенезе соматических заболеваний [5]. На фоне персистенции герпесвирусов и при наличии нарушений иммунореактивности и микробиоценоза респираторного тракта ЗВДП могут принимать рецидивирующее течение — протекать с рецидивами гайморита, аденоидита, фронтита, тонзиллита, фарингита, тонзиллофарингита [1, 6, 8].

Цель исследования — изучить маркеры персистирующих герпесвирусных инфекций у детей с воспалительными процессами верхних дыхательных путей и ЛОР-органов.

Материал и методы. В исследование вошли 118 детей с заболеваниями верхних дыхательных путей и ЛОР-органов, отобранных сплошным методом, в возрасте от 1 мес до 17 лет, из них 68 мальчиков (57,6%) и 50 девочек (42,4%). Дети в возрасте до 5 лет составили 20,6% (n = 24), от 5 до 12 лет — 23,0% (n = 27), от 12 до 17 лет — 56,4% (n = 67). Контрольную группу составили 30 соматически здоровых детей (контроль). Исследование проводили на базе консультативно-диагностического центра по вирусным инфекциям при ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи.

Критериями включения в исследование служило наличие у пациентов в анамнезе клинических проявлений заболеваний верхних дыхательных путей и ЛОР-органов (гаймориты, фронтиты, аденоидиты, тонзиллиты, фарингиты, тонзиллофарингиты), ОРВИ (4 и более раз в год), лимфаденопатии (первичный признак проявления инфекции и основной признак формирования группы), общинфекционного синдрома

(длительный субфебрилитет). Дети с тяжелой сопутствующей патологией (сахарный диабет, пороки сердца и др.) в исследование включены не были.

Методы исследования предварительно обсуждали с родителями пациентов, затем при наличии добровольного информированного согласия назначали лечебные мероприятия. Пациенты обследованы в соответствии с принятым протоколом.

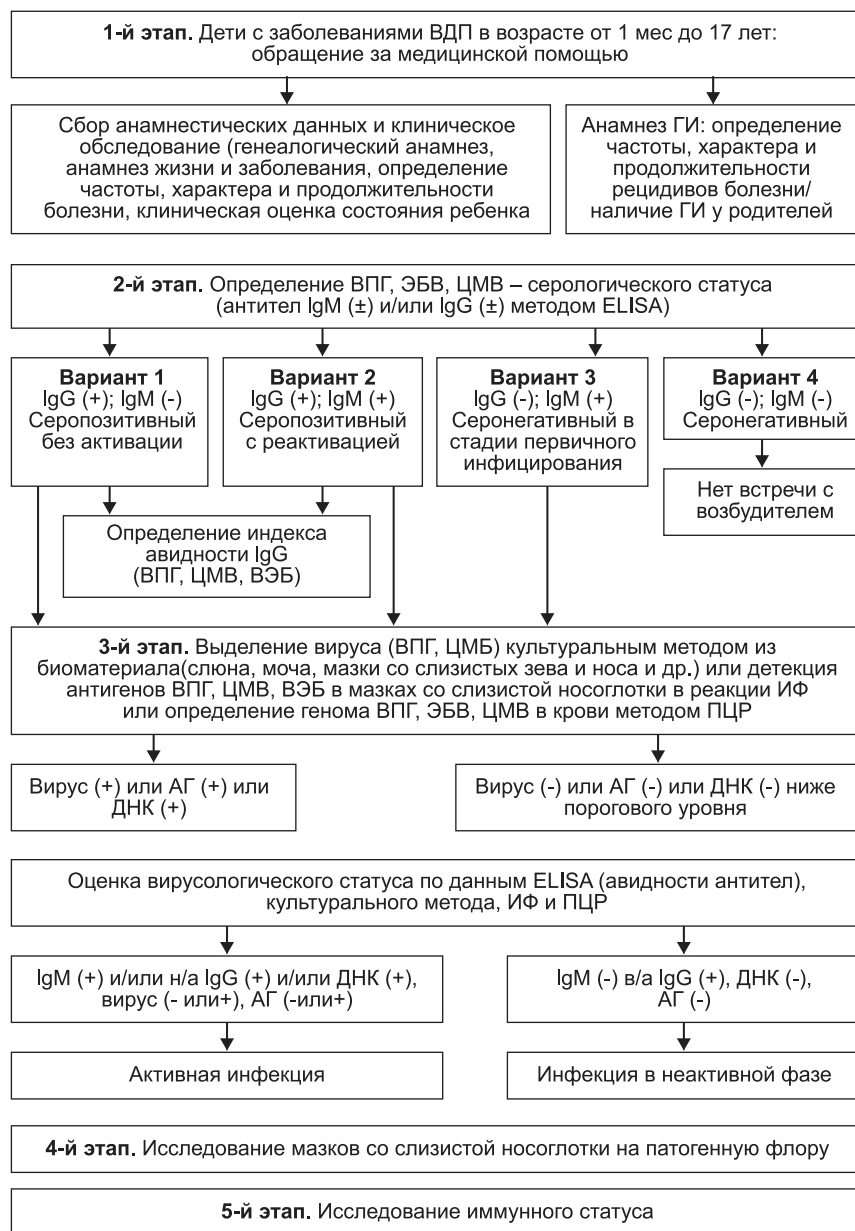
Всем детям для верификации диагноза наряду со сбором анамнестических данных и клиническим обследованием (генеалогический анамнез, анамнез жизни и заболевания, клиническая оценка состояния ребенка, определение частоты, характера, продолжительности рецидивов болезни) проведен комплекс лабораторных исследований с использованием стандартизированных методов для выявления (исключения) герпетической инфекции: ВПГ-инфекции (ВПГИ), ЦМВ-инфекции (ЦМВИ), инфекции, вызываемой вирусом Эпштейна—Барр (ВЭБИ). Алгоритм обследования детей с ЗВДП представлен на рисунке.

Материалом для исследования служили кровь (сыворотка, лейкоцитарная взвесь), слюна, моча, мазки со слизистых оболочек зева и носа, при наличии высыпаний — соскобы из очага поражения (с кожи, со слизистой оболочки полости рта).

Диагностика ГИ основывалась на выделении вируса (ВПГ, ЦМВ) культуральным методом, детекции ДНК (ВПГ, ЦМВ, ВЭБ) методом ПЦР (наборы фирмы «Литех», Москва) или антигенов ВПГ, ЦМВ, ВЭБ в мазках со слизистой оболочки носоглотки в реакции иммунофлюоресценции (РИФ), на выявлении методом иммуноферментного анализа (ИФА) специфических антител (IgG, IgM) к ВПГ, ЦМВ, ВЭБ с использованием коммерческих наборов для ИФА (ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск). Авидность IgG-антител (ВПГ, ЦМВ, ВЭБ) определяли с помощью тест-систем («НПО Диагностические системы», Россия). ИФА выполняли в соответствии с прилагаемыми инструкциями. Результаты регистрировали с помощью спектрофотометра Stat Fax 3200 (Awareness Technology, Inc, USA) при 4450 нм.

Проводили исследование мазков со слизистой оболочки носоглотки на патогенную микрофлору, общий анализ периферической крови, анализ биохимических показателей, иммунологические исследования (определение субпопуляций лимфоцитов с помощью моноклональных антител, изучение состояния моноцитарно-макрофагального звена иммунитета, наличие циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), содержание в сыворотке крови провоспалительного цитокина — фактора некроза опухоли — α (TNF α) и интерферона — IFN γ) с помощью иммуноферментных тест-систем для количественного определения цитокинов («Протеиновый контур», Санкт-Петербург). Бактериологический анализ мазков со слизистой оболочки ротоглотки проводили по стандартной методике.

Вариант хронического течения ГИ (ВПГИ, ЭБВИ, ЦМВИ) устанавливали на основании сопоставления результатов общеклинического и функционального обследования,



Алгоритм амбулаторного обследования детей с заболеваниями верхних дыхательных путей и ЛОР-органов при подозрении на герпесвирусную инфекцию (ВПГИ, ВЭБИ, ЦМВИ).

выявления только антител класса IgG в динамике процесса и их avidности.

Диагноз активной ВПГИ или ЦМВИ устанавливали на основании одного из трех вариантов: 1) сочетанного обнаружения вируса в биоматериалах и/или антигена в мазках со слизистой оболочки носоглотки и/или ДНК вируса, и/или диагностических титров антител класса IgM к ВПГ, или ЦМВ в сыворотке крови; 2) определения специфических антител класса IgM в сыворотке крови в диагностических титрах; 3) нарастания титра антител класса IgG к ЦМВ в динамике заболевания.

Диагноз острой ЭБВИ основывался на обнаружении антигена вируса в мазках со слизистой оболочки носоглотки и антител класса IgM к капсидному антигену и/или антител класса IgG — к раннему антигену в диагностических титрах, или выявлении антител к ВЭБ в классе IgM к капсидному, и/или класса IgG — к раннему антигенам.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием компьютерных программ Excel 4.0 и Statistica-6.0 Windows XP. При статистической обработке результатов использован метод описательной статистики с определением среднего арифметического, дисперсии, вычисления 95% доверительного интервала. Достоверность разницы между двумя средними показателями оценивали по критерию *t*-Стьюдента. Значения считали статистически достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты. Специфические антитела класса IgG (к ВПГ, ВЭБ, ЦМВ) выявлены у 99 (83,9%) детей. У 19 детей серологические маркеры герпесвирусов не обнаружены (диагноз ГИ исключен); они в дальнейшем обследованы на наличие патогенной микрофлоры и изменений в иммунитете.

В структуре герпесвирусного инфицирования преобладал ВПГ. ВПГИ установлена у 81/99 ребенка (82%), в том числе у 46/68 (67,6%) мальчиков и у 35/50 девочек (70,0%). Острая форма инфекции выявлена у 10 (12,3%) детей, стадия реактивации — у 27 (33,3%), латентная форма — у 44 (54,3%) детей.

У мальчиков и девочек выявление ВПГИ оказалось примерно одинаковым, что указывает на высокую частоту инфицирования ВПГ детей и подростков, которое не зависит от гендерных особенностей. Распространенность инфицирования ВПГ в развитых странах составляет 60—85% у взрослых и 65% — у детей школьного возраста [5].

Первичную манифестацию заболевания наблюдали в любом возрасте, но наиболее часто у детей дошкольного возраста (до 5 лет) — у 45,8% (37/81) детей, она соответствовала началу возрастного физиологического снижения неспецифической резистентности организма [9, 10]. У 22,2% детей (18/81) дебют заболевания приходился на период от 5 до 12 лет, у 32,0% (26/81) — от 12 до 17 лет. До момента обследования у 24 пациентов (29,6%) заболевание длилось более двух лет.

ВЭБИ установлена у 61/99 (61,6%) детей. Острая форма инфекции выявлена у 16/61 (26,23%), латентная форма — у 45/61 (73,77%) детей.

ЦМВИ установлена у 37/99 (37,37%) детей. Стадия реактивации выявлена у 8/37 (21,62%), латентная форма — у 29/37 (78,38%) детей.

У 39/99 (39,39%) детей зарегистрирована микст-инфекция: у 16/39 (41,03%) — сочетание ВПГИ с ВЭБИ; у

Частота выявления герпесвирусов у детей с заболеваниями ВДП и ЛОР-органов

Группы детей, <i>n</i>	Частота выявления герпесвирусов, %		
	ВПГ	ВЭБ	ЦМВ
Заболевания ВДП и ЛОР-органов, <i>n</i> = 118	82,0	61,6	37,37
Здоровые дети, <i>n</i> = 30	20,0	40,0	23,3

13/39 (33,33%) — ВПГИ с ЦМВИ; у 3/39 (7,69%) — ВПГИ с ВЭБ- и ЦМВ-инфекцией; у 7/39 (17,94%) детей — сочетание ВЭБИ и ЦМВИ.

Особый интерес представляли данные о выявлении маркеров герпесвирусных инфекций в клиническом материале. По данным культурального метода, ВПГ наиболее часто выделяли из образцов слюны — в 77,6% (59), мочи — в 53,9% случаев (41). У 32,8% (25) пациентов ВПГ выделяли одновременно из 2 биологических материалов — из образцов слюны и мочи; у 5,2% (4) детей — из слюны и крови. ЦМВ наиболее часто выделяли из образцов слюны у 5/8 (62,5%), из образцов мочи — у 4/8 (50%) и из образцов крови — у 2/8 (25%). По данным ПЦР, ДНК ВЭБ наиболее часто определяли в образцах слюны и крови — у 10/16 (62,5%) детей и у 7/16 (43,75%) детей соответственно. Ни у одного ребенка не выявлено ДНК ВЭБ в образцах мочи. Репликативные формы вируса (ВПГ, ЦМВ, ВЭБ) наиболее часто регистрировали у детей с низкими и средними значениями титров специфических IgG.

У детей с заболеваниями ВДП и ЛОР-органов маркеры GI детектировали достоверно чаще ($p < 0,05$), чем у соматически здоровых детей (см. таблицу).

Известно, что грамположительная микрофлора (преимущественно стафилококки) играет ведущую роль при дисбиозах полости носа и ротоглотки, становится одной из основных причин бактерионосительства на слизистой оболочке ВДП и развития воспалительных заболеваний ВДП. Инфицированность вирусами герпеса способствует активизации условно-патогенной микрофлоры. В связи с этим представляло интерес изучить микробный пейзаж слизистых оболочек ВДП у детей. Выявлена вирус-бактериальная микст-инфекция у 44,44% (44/99) детей с заболеваниями ВДП, инфицированных герпесвирусами.

В мазках со слизистой оболочки носоглотки детей, инфицированных вирусами герпеса, *Staphylococcus aureus* выявлен у 36 (36,36%) детей; β -гемолитический *Streptococcus pyogenes* — у 32 детей (32,32%), α -гемолитический стрептококк — у 11 детей (11,11%), *Candida albicans* — у 4-х детей (4,04%).

Инфицирование герпесвирусами способствовало развитию дисбиоза носо- и ротоглотки с достоверным преобладанием *S. aureus* (36,36%) и β -гемолитического *S. pyogenes* (32,32%) по сравнению с детьми контрольной группы (23,33% (7/30) и 20% (6/30) соответственно), ($p < 0,05$).

При оценке иммунного статуса детей у 56,6% выявлены достоверно низкие уровни IFN γ — 0,1—1,1 пг/мл (норма 1,5—2,6 пг/мл), повышение уровня TNF α — 62,4—68,1 пг/мл (норма 0—3 пг/мл); изменения в моноцитарно-макрофагальной системе (снижение показателей клеточного иммунитета — снижение средних значений содержания лимфоцитов и моноцитов в периферической крови, относительного содержания CD $_{4+}$ лимфоцитов 15—24% (контроль 28,8—33,6%), инверсия иммунорегуляторного индекса CD $_{4+}$ /CD $_{8+}$ — 0,75—1,2 (контроль 1,43)), снижение функциональной активности фагоцитирующих клеток, увеличение уровня ЦИК (в сравнении с контрольной группой детей). У 1/3 детей выявлены специфические иммуноглобулины IgM, специфические иммунные комплексы, вирусные антигены или ДНК герпесвирусов, свидетельствующие об активной фазе инфекционного процесса.

Особенностью течения персистирующих GI у детей с заболеваниями ВДП стало отсутствие специфических симптомов нозологической формы у 58,6% детей. Основными клиническими проявлениями у них были признаки иммунной недостаточности (в том числе инфекционный синдром, аллергический, иммунопролиферативный синдром), которые встречались независимо от вида и сочетания персистирующих GI. Лимфаденопатию достоверно чаще отмечали у 57,6% детей, инфицированных ВЭБ, ЦМВ, ВПГ, у здоровых

детей — у 6,7% ($p < 0,05$). У 40,4% детей с герпесвирусным инфицированием (по сравнению с группой контроля) установлены изменения со стороны зева — наличие увеличенных фолликулов (18,2% и 3,3% соответственно, ($p < 0,05$)), тонзиллит (28,3 и 9,9%, ($p < 0,05$)), аденоидит (15,2 и 10%). Увеличенные фолликулы на задней стенке глотки чаще выявлялись у детей с ВЭБИ. На фоне инфицирования герпесвирусами увеличивается активность бактерий и как следствие отмечают достоверное преобладание в 2,6 раза воспалительных заболеваний ротоглотки (тонзиллиты, аденоидиты — 43,5%) и ОРВИ, в то время как их частота у детей в группе сравнения не превышает 19,9%.

Моноинфицирование преобладало у детей до 3 лет в связи с отсутствием специфического иммунитета, а микст-инфицирование — у детей предпубертатного и пубертатного возрастов. Частота микст-инфицирования составляет 28,5—88,9% [5—7, 11, 12].

Анализ анамнеза у детей с ВДП, инфицированных вирусами герпеса, показал, что у родителей обследуемых детей в большинстве случаев на первом месте по частоте выявления также был ВПГ (83,9%): 35,6% матерей и 48,3% отцов указывали на активное проявление GI с обострением не реже одного раза в месяц. На втором месте по частоте выявления у родителей был ВЭБ (14,9%); реже регистрировали ЦМВ (5,7%). Диагноз GI у родителей подтверждали лабораторно. У матерей детей с заболеваниями ВДП патологическое течение беременности (30 и 9%) и течение беременности на фоне реактивации ВПГ или ЦМВ (15,7 и 3%) отмечали значительно чаще, чем в группе контроля. Внутрисемейное инфицирование (как фактор риска развития GI) установлено у 67,7% детей.

Обсуждение. В последнее десятилетие воспалительные заболевания ВДП представляют серьезную проблему и оказываются одной из частых причин обращений к врачам [1, 8]. Заболевания ВДП — мультифакторные, вызываемые бактериями, вирусами, особый интерес из которых вызывают представители эндогенной микрофлоры ротоглотки (*Streptococcus spp.*, *S. aureus*, *Candida spp.* и др.), вирусы-оппортунисты, в том числе вирусы герпеса (ВПГ, ЭБВ, ЦМВ) [6, 8, 13].

Нами представлены данные о частоте выделения вирусов герпеса и их ассоциациях с бактериями у детей с заболеваниями ВДП и ЛОР-органов с разной степенью тяжести и выраженности симптоматики. Изучение распространенности инфицирования вирусами герпеса на основании обследования 118 детей с заболеваниями ВДП позволило констатировать их наличие у 99 (83,9%). У большинства детей с респираторной патологией выявлена ВПГИ (82%), в том числе у 67,6% мальчиков и у 70,0% девочек. Чаще всего у детей диагностировали латентную форму инфекции (54,3%). У мальчиков и девочек выявление ВПГИ оказалось примерно одинаковым, что указывало на высокую частоту инфицирования вирусами простого герпеса детей и подростков и не зависело от гендерных особенностей. Первичную манифестацию заболевания наблюдали в любом возрасте, но наиболее часто у 45,8% детей до 5 лет. Она соответствовала началу возрастного физиологического снижения неспецифической резистентности организма [9, 10].

ВЭБИ установлена у 61,6% детей, в том числе острая форма инфекции — у 26,23% и латентная форма — у 73,77% детей. ЦМВИ установлена у 37,37% детей: стадия реактивации выявлена у 21,62% и латентная форма — у 78,38% детей. Особенностью течения персистирующих GI у детей с заболеваниями ВДП стало отсутствие специфических симптомов нозологической формы GI в 59,2% случаев.

У обследованных детей (39,39%) выявлена высокая частота вирусной микст-инфекции: ВПГ—/ВЭБ-инфекции (41,03%), ВПГ—/ЦМВ-инфекции (33,33%), ВЭБ—/ЦМВ-

инфекции (17,94%). Наиболее часто встречалась смешанная ВПГ—/ВЭБ инфекция, в то время как, по данным других авторов [14], для детей характерно смешанное инфицирование ВЭБ—/ЦМВ (43%). Микст-инфицирование может встречаться у детей любого возраста с частотой 28,5—88,9% и протекать без типичного синдрома в виде заболеваний ВДП [5—7, 12, 14]. Имеет место и вирус-бактериальное инфицирование, которое встречается у 23—51,4% детей [6, 12].

Результаты, полученные нами, служат отражением общей тенденции к повышению инфицированности вирусами герпеса детей с заболеваниями ВДП. Подтверждением наших данных стали работы других исследователей, показавших наличие персистирующей ГИ у 75,6—80,4% детей с заболеваниями ВДП [6, 7, 11, 12, 14—16]. ЦМВИ встречалась у 46—73,1%, ВЭБИ — у 55,8—79%, их сочетание — у 27—40,1%; ВПГИ — у 19,8—64% детей.

Обсуждается необходимость комплексного обследования детей с использованием различных методик [5, 14, 15]. Мы использовали вирусологический метод и молекулярно-генетические методы детекции вирусов герпеса, которые позволили наиболее часто выявить ВПГ из образцов: слюны — в 77,6%, мочи — в 53,9% случаев; ЦМВ из образцов: слюны в 62,5% случаев, мочи — в 50%, крови — в 25% случаев. Два или три патогена выделены у 32,8% детей. ДНК ВЭБ наиболее часто определяли в образцах слюны и крови — в 62,5 и в 43,75% случаев соответственно. Репликативные формы вирусов герпеса (ВПГ, ЦМВ, ВЭБ) наиболее часто регистрировали у детей с низкими и средними значениями титров специфических IgG.

Высокую частоту выявления ВПГ и ВЭБ можно объяснить свойствами герпесвирусов (их преимущественной тропностью к эпителиальной и лимфоидной ткани лимфоаденоидного кольца Пирогова—Валдейера, асимптоматической персистенцией или длительным назофарингеальным выделением, способностью угнетать иммунный ответ на любой инфекционный патоген), высоким уровнем внутрисемейного инфицирования (67,7%), повышением социализации детей. Анализ анамнеза у детей с ВДП показал, что у их родителей в большинстве случаев на первом месте по частоте выявления был ВПГ (83,9%): 35,6% матерей и 48,3% отцов указывали на активное проявление ГИ с обострением не реже одного раза в месяц. На втором месте по частоте выявления у родителей был ВЭБ (14,9%); реже регистрировался ЦМВ (5,7%). У матерей детей с заболеваниями ВДП достоверно чаще регистрировали патологическое течение беременности (30%) и течение беременности на фоне реактивации ВПГ или ЦМВ (15,7%), чем в группе контроля.

Отмечают способность вирусов герпеса (в особенности ВЭБ, ВПГ) к персистенции в лимфоидной ткани лимфоаденоидного кольца Пирогова—Валдейера, осуществляющего местную противои инфекционную защиту респираторного тракта [8, 17—19]. Длительная персистенция герпесвирусов в тканях небной и носоглоточной миндалин способствует их выраженной гипертрофии, развитию хронического воспаления, приводящего к стойкой обструкции ВДП, к затяжному течению и хронизации воспалительного процесса в носо- и ротоглотке, свидетельствует о несостоятельности иммунного ответа, повреждении собственных тканей, нарушении функций поврежденных органов и выступает триггерным и поддерживающим фактором в патогенезе заболеваний ВДП [8, 17—21]. Бактерии могут быть причиной длительной гиперплазии лимфоидной ткани лимфоаденоидного кольца, формируя биопленку, которая защищает их от факторов иммунной системы [6, 22, 23]. Обсуждают важность вирус-индуцированной иммуносупрессии, ведущей к изменению функционирования естественных барьеров организма (слизистых оболочек) и атипичному, затяжному течению бактериальных инфекций, в особенности характерному для ви-

русных и вирус-бактериальных ассоциаций, и особенности микробиоценоза ВДП у детей (нестабильность и полиморфность микробного пейзажа) [6, 23].

Известно, что микробный пейзаж может быть представлен разными патогенами и их ассоциациями. Установлено, что у детей с 7 лет преобладают: *Klebsiella pneumoniae* (70%), *Candida albicans* (66,6%), *Haemophilus influenzae* (57,14%), *Streptococcus haemolyticus-β* (30,23%), *Staphylococcus haemolyticus* (23,26%), что связано с увеличением контактов [16]. Персистирующая инфекция в ротоглотке может быть представлена *S. aureus* (88%), *S. pneumoniae* (75%), *Neisseria spp.* (33%) [6]. В ряде других работ наиболее часто у детей высевались *S. aureus* (35%), *Candida albicans* (10—19,7%), *Streptococcus haemolyticus-β* группы А (9%), *S. pneumoniae* (6%), *Haemophilus influenzae* (6—10,6%), *S. viridans* (3%), *B. catarrhalis* (3%), *Klebsiella pneumoniae* (3—15,5%). Ассоциации двух или трех патогенов выявлены в 18—19,7 и 12% случаев соответственно. Повышенную обсемененность слизистых оболочек бактериями (*Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*) и грибами (*Candida albicans*) отмечали после перенесенной ОРВИ [7, 12, 16].

Результаты нашего исследования свидетельствуют о высокой частоте носительства *S. aureus* (36,36 vs 23,33%) и β-гемолитического стрептококка (32,32 vs 20%) у детей, инфицированных вирусами герпеса, с заболеваниями ВДП (по сравнению с детьми контрольной группы). Высказано предположение, что длительное носительство и персистенция патогенов способствуют хроническому иммунному воспалению, активации эндогенной микрофлоры или инфицированию другими возбудителями, что имеет большое значение в патогенезе дисфункции ВДП. Вирус-бактериальная ассоциация установлена у 44,44% детей.

У детей с заболеваниями ВДП показана функциональная нестабильность иммунитета, повышающая восприимчивость к инфекциям, в отсутствие выраженного иммунодефицита, что характерно и для персистирующих герпесвирусных инфекций [4, 6]. Подтверждением этому служат данные, что изменения в фагоцитарном и клеточном звеньях иммунитета (снижение уровня CD_{4+} лимфоцитов, дисбаланс числа иммунорегуляторных клеток, угнетение интерфероногенеза, повышение активности ИЛ-2, дисиммуноглобулинемия) оказываются определяющими факторами риска развития рекуррентных и осложненных заболеваний ВДП у детей разного возраста [12, 24]. Возможным объяснением повышенной заболеваемости у детей, инфицированных вирусами герпеса, может быть дефицит НК-клеток, обусловленный способностью вирусов герпеса блокировать рецепторы моноцитов, экспрессирующих молекулы активации киллерной фракции лимфоцитов, повышение уровня супрессорноцитотоксической фракции лимфоцитов, наблюдаемое при активной репликации вирусов. Поскольку вирусы герпеса могут реплицироваться в лимфоцитах, не исключается их роль в инициации иммунного дисбаланса.

Выявлены особенности ответной реакции организма детей с заболеваниями ВДП на воздействие различных вирусов герпеса. У 56,6% детей с заболеваниями ВДП и инфицированных вирусами герпеса выявлены достоверно низкие уровни $IFN\gamma$ — 0,1—1,1 пг/мл, повышение уровня $TNF\alpha$ — 62,4—68,1 пг/мл; изменения моноцитарно-макрофагальной системы (снижение показателей клеточного иммунитета — снижение средних значений содержания лимфоцитов и моноцитов в периферической крови, относительного содержания CD_{4+} лимфоцитов 15—24%, инверсия иммунорегуляторного индекса CD_{4+}/CD_{8+} — 0,75—1,2), снижение функциональной активности фагоцитирующих клеток, увеличение уровня ЦИК. Полученные результаты согласуются с данными других авторов, выявивших выраженные признаки снижения противои инфекционной

защиты у данной группы детей, в том числе изменения цитокинового статуса: снижение уровня ИФН γ до $8,20 \pm 1,26$ пг/мл vs $13,20 \pm 3,21$ пг/мл у неинфицированных детей [6, 12].

Выводы

1. У 83,9% детей с заболеваниями ВДП выявлена высокая частота инфицирования герпесвирусами. У большинства детей отмечено наличие хронического носительства ВПГ, ВЭБ, ЦМВ.

2. Установлено наличие хронической инфекции носоглотки с преобладанием в структуре микрофлоры зева *S. aureus* (36,36%) и β -гемолитического *Streptococcus pyogenes* группы А (32,32%).

3. Вирусные микст-инфекции выявлены у 39,39% детей, вирус-бактериальные микст-инфекции — у 44,44% детей. Моноинфицирование преобладало у детей до трех лет, смешанное инфицирование — у детей предпубертатного и пубертатного возрастов (73,4%). В структуре микст-инфекций установлена этиологическая роль 2—5 патогенов.

4. У большинства детей установлены лабораторные признаки активности иммунного воспаления: увеличение содержания TNF α и снижение уровня ИФН γ .

Заключение. Получены данные о характере и направленности воздействия герпесвирусов на организм детей, об их влиянии на развитие патологических процессов в ВДП. Определены варианты смешанных ассоциаций различных герпесвирусов и бактерий. Хотя мультифакторные заболевания, к которым относятся заболевания ВДП, вызывает взаимодействие нескольких факторов среды и полигенных комплексов, результаты нашего исследования обосновывают необходимость индивидуального подхода к терапии детей с заболеваниями ВДП (независимо от нозологической формы), ассоциированными с персистирующими герпесвирусными инфекциями с включением курсов специфической противовирусной, антибактериальной, иммунореабилитационной терапии. Данная тактика позволит повысить эффективность терапии и качество жизни данной категории детей и улучшить прогноз заболевания.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1, 8, 17—23
см. REFERENCES)

- Баранов А.А., ред. *Руководство по амбулаторно-поликлинической педиатрии*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2007.
- Чеботарева Т.А., Мазанкова Л.Н., Хоперскова А.П., Малиновская В.В., Кольцов В.Д., Брагина Г.С. Рекуррентные инфекции органов дыхания у детей и программы иммунореабилитации. *Детские инфекции*. 2014; 13(3): 61—5.
- Зубков М.Н. Алгоритм терапии острых и хронических инфекций верхних и нижних дыхательных путей. *Русский медицинский журнал*. 2009; (2): 123—31.
- Исаков В.А., Архипова Е.И., Исаков Д.В., ред. *Герпесвирусные инфекции человека*. Руководство для врачей. СПб.: СпецЛит; 2013.
- Савенкова М.С. Многоликая острая респираторная инфекция: от основных возбудителей к выбору препарата. *Лечащий врач*. 2011; (3): 58—64.
- Галкина Л.А., Целипанова Е.Е. Маркеры герпесвирусных инфекций у детей с острыми респираторными заболеваниями и персонала инфекционного отделения. *Лечение и профилактика*. 2015; (4): 77—80.
- Вельтишев Ю.Е. Онтогенез иммунной системы и факторы, влияющие на иммунобиологическую реактивность детского организма. Вопросы охраны материнства и детства. 1989; (10): 3—12.
- Кравченко Л.В. Состояние иммунной системы у детей первых месяцев жизни с герпесвирусной инфекцией. *Педиатрия. Журнал имени Г.Н. Сперанского*. 2008; 87(1): 52—8.

- Канкасова М.Н., Мохова О.Г., Поздеева О.С. Часто болеющие дети: взгляд инфекциониста. *Практическая медицина*. 2014; (9): 67—71.
- Юлиш Е.И., Галецкая С.Г., Баличенцева И.В., Ярошенко С.Я. *Этиопатогенетическая терапия рекуррентных респираторных заболеваний у детей раннего возраста при различном течении герпесвирусных инфекций*. Донецк; 2010.
- Карпова К.П., Тулупов Д.А. О роли различных этиологических факторов в развитии хронической патологии носоглотки у детей. *Лечащий врач*. 2013; (1): 26—30.
- Бабаченко И.В., Левина А.С., Седенко О.В., Шарипова Е.В., Власюк В.В., Мурина Е.А. и др. Эффективность различных методов этиологической диагностики у часто болеющих детей с хронической Эпштейна-Барр и цитомегаловирусной инфекциями. *Здоровье. Медицинская экология*. Наука. 2009; 37(2): 13—5.
- Бруснигина Н.Ф., Сперанская Е.В., Черневская О.М., Махова М.А., Орлова К.А., Кленина Н.Н. Анализ распространенности вирусов семейства Herpesviridae среди детей Нижнего Новгорода. *Медицинский альманах*. 2013; (2): 99—103.
- Маложинская Н.В., Полякова О.В. Клинические особенности часто болеющих детей с хроническими заболеваниями дыхательных путей Волгограда. *Волгоградский научно-медицинский журнал*. 2014; (1): 39—42.
- Котлуков В.К., Кузьменко Л.Г., Блохин Б.М., Антипова Н.В., Кодолова Т.С. Особенности иммунного статуса у часто и длительно болеющих детей раннего возраста с бронхиальной астмой. *Педиатрия. Журнал имени Г.Н. Сперанского*. 2007; 86(4): 25—8.

REFERENCES

- Palange P., Simonds A., eds. *Respiratory Medicine (ERS/Handbook)*. UK: Latimer Trend and Co, LTD; 2010.
- Baranov A.A., ed. *Guide Outpatient Pediatrics* [Руководство по амбулаторно-поликлинической педиатрии]. Moscow: GEOTAR-Media; 2007. (in Russian)
- Chebotareva T.A., Mazankova L.N., Khoperskova A.P., Malinovskaya V.V., Kol'tsov V.D., Bragina G.S. Recurrent respiratory infections in children and immunorehabilitation program. *Detskie infektsii*. 2014; 13(3): 61—5. (in Russian)
- Zubkov M.N. Algorithm for the treatment of acute and chronic infections of the upper and lower respiratory tract. *Russkiy meditsinskiy zhurnal*. 2009; (2): 123—31. (in Russian)
- Isakov V.A., Arkhipova E.I., Isakov D.V., eds. *Human Herpesvirus Infection. Guidelines for Doctors* [Герпесвирусные инфекции человека. Руководство для врачей]. St. Petersburg: SpetsLit; 2013. (in Russian)
- Savenkova M.S. The Many Faces of acute respiratory infection: from the main agents to the choice of the drug. *Lechashchiy vrach*. 2011; (3): 58—64. (in Russian)
- Galkina L.A., Tselipanova E.E. Markers of herpesvirus infections in children with acute respiratory infections and infectious department personnel. *Lechenie i profilaktika*. 2015; (4): 77—80. (in Russian)
- Borhan W.M., Dababo M.A., Thompson L.D., Saleem M., Pashley N. Acute necrotizing herpetic tonsillitis: a report of two cases. *Head Neck Pathol*. 2015; 9(1): 119—22.
- Vel'tishchev Yu.E. The ontogeny of the immune system and the factors influencing the immunobiological reactivity of the child's body. *Voprosy okhrany materinstva i detstva*. 1989; (10): 3—12. (in Russian)
- Kravchenko L.V. Status of the immune system in children during the first months of life with herpes infection. *Pediatriya. Zhurnal imeni G.N. Speranskogo*. 2008; 87(1): 52—8. (in Russian)
- Kankasova M.N., Mokhova O.G., Pozdeeva O.S. Often ill children: look of infectionist. *Prakticheskaya meditsina*. 2014; (9): 67—71. (in Russian)
- Yulish E.I., Galetskaya S.G., Balichentseva I.V., Yaroshenko S.Ya. *Etiopathogenetic Therapy of Recurrent Respiratory Infections in Infants at Different Current Herpesvirus Infection* [Etiopatogенетическая терапия рекуррентных респираторных заболеваний у детей раннего возраста при различном течении герпесвирусных инфекций]. Donetsk; 2010. (in Russian)
- Karpova K.P., Tulupov D.A. On the role of the various etiological

- factors in chronic diseases of the nasopharynx of children development. *Lechashchiy vrach*. 2013; (1): 26—30. (in Russian)
14. Babachenko I.V., Levina A.S., Sedenko O.V., Sharipova E.V., Vlasyuk V.V., Murina E.A. et al. The effectiveness of different methods of etiologic diagnosis in sickly children with chronic Epstein-Barr virus and cytomegalovirus infections. *Zdorov'e. Meditsinskaya ekologiya*. Nauka. 2009; 37(2): 13—5. (in Russian)
 15. Brusnigina N.F., Speranskaya E.V., Chernevskaya O.M., Makhova M.A., Orlova K.A., Klenina N.N. Analysis Nerpesviridae family of viruses spread sredi Nizhny Novgorod children. *Meditsinskiy al'manakh*. 2013; (2): 99—103. (in Russian)
 16. Malyuzhinskaya N.V., Polyakova O.V. Clinical features frequently ill children with chronic diseases of the respiratory tract of Volgograd. *Volgogradskiy nauchno-meditsinskiy zhurnal*. 2014; (1): 39—42. (in Russian)
 17. Chen T., Hudnall S.D. Anatomical mapping of human herpesvirus reservoirs of infection. *Mod. Pathol*. 2006; 19(5): 726—37.
 18. Karlidag T., Bulut Y., Keles E., Alpay H.C., Seyrek A., Orhan I. et al. Presence of herpesviruses in adenoid tissues of children with adenoid hypertrophy and chronic adenoiditis. *Kulak Burun Bogaz Ihtis. Derg.* 2012; 22(1): 32—7.
 19. Brandtzaeg P. Immune functions of nasopharyngeal lymphoid tissue. *Adv. Otorhinolaryngol*. 2011; 72: 20—4.
 20. Al-Salam S., Dhaheri S.A., Awwad A., Daoud S., Shams A., Ashari M.A. Prevalence of Epstein-Barr virus in tonsils and adenoids of United Arab Emirates nationals. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol*. 2011; 75(9): 1160—6.
 21. Sahin F., Gerceker D., Karasartova D., Ozsan T.M. Detection of herpes simplex virus type 1 in addition to Epstein-Bar virus in tonsils using a new multiplex polymerase chain reaction assay. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis*. 2007; 57: 47—51.
 22. Ren T., Glatt D.U., Nguyen T.N., Allen E.K., Early S.V., Sale M. et al. 16S rRNA survey revealed complex bacterial communities and evidence of bacterial interference on human adenoids. *Environ. Microbiol*. 2013; 15(2): 535—47.
 23. Calo L., Passali G.C., Galli J., Fadda G., Paludetti G. Role of biofilms in chronic inflammatory diseases of the upper airways. *Adv. Otorhinolaryngol*. 2011; 72: 93—6.
 24. Kotlukov V.K., Kuz'menko L.G., Blokhin B.M., Antipova N.V., Kodolova T.S. Pediatrya. Features of the immune status and often chronically ill young children with asthma. *Zhurnal imeni G.N. Speranskogo*. 2007; 86(4): 25—8. (in Russian)

Поступила 11.07.16

Принята к печати 01.08.16

© ШИПИЦЫНА И.В., ОСИПОВА Е.В., 2017

УДК 579.842.21: 579.253.083.1

Шипицына И.В., Осипова Е.В.

БИОПЛЕНКООБРАЗОВАЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ ШТАММОВ *SERRATIA SPP.*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РАН БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ОСТЕОМИЕЛИТОМ В МОНОКУЛЬТУРАХ И В СОСТАВЕ АССОЦИАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ, ПОЛУЧЕННЫХ *IN VITRO*

ФГБУ «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова Минздрава России», 640014, Курган

Изучены адгезивные свойства 7 клинических штаммов Serratia marcescens, выделенных из свищей в дооперационном периоде и из очага воспаления во время операций в 2013–2015 гг. у 7 пациентов с хроническим остеомиелитом длинных трубчатых костей.

Бактерии S. marcescens выделены у одного пациента в монокультуре и у 6 в составе ассоциаций: S. marcescens + S. warneri + P. aeruginosa (n = 1); S. marcescens + S. aureus (n = 4); S. marcescens + M. morgani (n = 1).

По данным фотометрического анализа, штаммы S. marcescens характеризовались средней способностью к биопленкообразованию на поверхностях полистироловых планшетов и покровного стекла, что подтверждается значениями оптической плотности и согласуется с данными их адгезивной активности.

Биопленкообразующая способность ассоциаций микроорганизмов (S. marcescens + P. aeruginosa, S. marcescens + M. morgani) уже через 24 ч эксперимента в 1,4 и 1,2 раза соответственно была выше уровней биопленкообразования монокультур. Активность биопленкообразования ассоциации (S. marcescens + S. aureus) на 1-е сутки эксперимента была низкой, однако через 48 ч наблюдали значительный рост биопленки, что подтверждается значениями оптической плотности.

Результаты нашего исследования показали способность всех клинических штаммов S. marcescens, выделенных из остеомиелитического очага, к адгезии на поверхности эритроцитов и к биопленкообразованию на абиотических поверхностях (полистирол и стекло) как в монокультуре, так и в ассоциациях с другими микроорганизмами.

Учитывая, что микробные биопленки играют ведущую роль в хронизации инфекционных заболеваний, необходимо осознавать серьезность этиологической роли S. marcescens в развитии остеомиелита как патогена.

Ключевые слова: хронический остеомиелит; биопленкообразующая способность; адгезия.

Для цитирования: Шипицына И.В., Осипова Е.В. Биопленкообразующая способность штаммов *Serratia spp.*, выделенных из ран больных хроническим остеомиелитом в монокультурах и в составе ассоциации микроорганизмов, полученных *in vitro*. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2017; 62 (3): 188–192. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-3-188-192>

Shipitsyna I.V., Osipova E.V.

THE BIOFILM FORMATION ABILITY OF STRAINS *SERRATIA SPP.*, SEPARATED FROM WOUNDS OF PATIENTS WITH CHRONIC OSTEOMYELITIS IN MONO-CULTURES AND IN COMPOSITION OF ASSOCIATION OF MICROORGANISMS HARVESTED IN VITRO

The academician G.A. Ilizarov Russian research center «Restorative traumatology and orthopedics» of Minzdrav of Russia, 640014 Kurgan, Russia