Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Оленькова Ольга Михайловна

КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МЕНИНГЕАЛЬНОЙ ФОРМЫ ЭНТЕРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ (ЕСНО - И КОКСАКИ В - ВИРУСНОЙ ЭТИОЛОГИИ) У ДЕТЕЙ

14.01.08 – педиатрия

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук
профессор О. П. Ковтун
Научный консультант:
доктор медицинских наук
профессор Я. Б. Бейкин

Екатеринбург
2015

ОГЛАВЛЕНИЕ

Стр.

ОГЛАВЛЕНИЕ……..2

ВВЕДЕНИЕ……5

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ…….…….15

1.1. Энтеровирусные инфекции: актуальность, эпидемиология и клинические проявления……....15

1.2. Клинико-эпидемиологические особенности энтеровирусных менингитов на современном этапе……....22

1.3. Особенности иммунного ответа при энтеровирусных менингитах……...26

1.3.1. Общие закономерности иммунологических изменений при вирусных инфекциях……..……26

1.3.2. Иммунный ответ при энтеровирусных менингитах……..38

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ….……...41

2.1. Общая характеристика наблюдений……...41

2.2. Методы исследования……..42

2.2.1. Вирусологические методы исследования……...42

2.2.2. Серологические методы исследования……...……43

2.2.3. Иммунологические методы исследования……..….....44

2.2.4. Молекулярно-биологические методы исследования……..48

2.3. Статистическая обработка данных……..…….....49

Глава 3.ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА И КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕНИНГЕАЛЬНОЙ ФОРМЫ ЭНТЕРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ …….....50

3.1. Этиологическая характеристика энтеровирусных менингитов у детей 3-14 лет в период 2003-2014 гг…….....50

3.2. Клиническая характеристика энтеровирусных менингитов у детей…….....64

3.2.1. Клиническая характеристика ЕСНО-вирусных менингитов у детей …….71

3.2.2. Клиническая характеристика Коксаки В-вирусных менингитов у детей ……..…….....79

3.2.3. Сравнительная характеристика серозных менингитов у детей, вызванных вирусами ЕСНО и вирусами Коксаки группы В…….....87

3.2.4. Сравнительный анализ течения энтеровирусных менингитов в различные периоды наблюдения…….....93

Глава 4.ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭНТЕРОВИРСУНЫХ МЕНИНГИТОВ У ДЕТЕЙ…….....100

4.1. Иммунологическая характеристика ЕСНО-вирусных менингитов у детей 3-7 лет……...100

4.2. Иммунологическая характеристика ЕСНО-вирусных менингитов у детей 8-14 лет…….105

4.3. Сравнительная иммунологическая характеристика ЕСНО-вирусных менингитов у детей 3-7 и 8-14 лет……..110

4.4. Иммунологическая характеристика Коксаки В-вирусных менингитов у детей 3-7 лет……...111

4.5. Иммунологическая характеристика Коксаки В-вирусных менингитов у детей 8-14 лет…….....115

4.6. Сравнительная иммунологическая характеристика Коксаки В-вирусных менингитов у детей 3-7 и 8-14 лет……..119

4.7. Общие и частные закономерности развития иммунологических изменений при ЕСНО-и Коксаки В-вирусных менингитах…….....119

4.7.1. Сравнительная характеристика иммунологических изменений при ЕСНО- и Коксаки В-вирусных менингитах у детей 3-7 лет…….....120

4.7.2. Сравнительная характеристика иммунологических изменений при ЕСНО- и Коксаки В-вирусных менингитах у детей 8-14 лет……...124

4.8. Оценка специфического иммунитета у детей 3-14 лет с энтеровирусными менингитами……...126

Глава 5. СОПОСТАВЛЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ И КЛИНИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРИ ЕСНО- И КОКСАКИ В-ВИРУСНЫХ МЕНИНГИТАХ…..…….……...129

5.1. Оценка корреляционных связей при ЕСНО-вирусных менингитах..……...129

5.2. Оценка корреляционных связей при Коксаки В-вирусных менингитах……...……..137

5.3. Сравнительный анализ корреляционных матриц при ЕСНО- и Коксаки В-вирусных менингитах……146

5.4. Способ определения типа энтеровируса, вызвавшего развитие серозного менингита у детей.....150

5.5. Клинические примеры…….....152

5.6. Применение способа определения типа энтеровируса…….…….157

ЗАКЛЮЧЕНИЕ…….……159

ВЫВОДЫ……...172

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ...…...……..174

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ…...…….175

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ……...…….……...176

ВВЕДЕНИЕ

В структуре инфекционных заболеваний нервной системы вирусные менингиты и менингоэнцефалиты составляют 60% и более (Н. П. Шевцова, 2004). При этом, значительный удельный вес среди нейроинфекций занимают энтеровирусные инфекции (ЭВИ), вызванные вирусами Коксаки А, Коксаки В и ЕСНО (Н. А. Бацкалевич, 2009, И. К. Бессергенева, 2012, О. Е. Иванова, 2014).

Динамика заболеваемости ЭВИ имеет волнообразный характер с отсутствием четко выраженной периодичности – периоды между подъемами составляют 1, 2, 4, 5, и 8 лет (Г. Г. Онищенко, 2009). По данным Роспотребнадзора РФ в 2009 году отмечался рост заболеваемости ЭВИ на 12,4%, в том числе энтеровирусным менингитом – на 20,8%, в то время как в 2010 году наблюдали снижение заболеваемости ЭВИ на 38,9%, в том числе энтеровирусными менингитами в 2,1 раза.

Различные формы энтеровирусной инфекции регистрируются на многих территориях нашей страны и во всем мире. Ежегодно насчитывается до 10 тысяч случаев заболевания ЭВИ в более чем 60 субъектах Российской Федерации (С. Н. Ешмолов, 2013, О. Е. Иванова, Т. П. Еремеева, 2014). Свердловская область не является исключением: ЭВИ регистрируются ежегодно, в межэпидемический период заболеваемость держится на уровне 3-4 случая на 100 тыс.населения (Б. И. Никонов, В. В. Романенко, 2006).

Наиболее частым проявлением ЭВИ является серозный менингит, на долю которого приходится до 70% всех нейроинфекций у детей (Е. П. Кишкурно, 2007; Н. В. Скрипченко, 2004, О. А. Панина, 2011, М. А. Бичурина, Н. И. Романенкова, 2014).

Результаты многолетнего изучения энтеровирусных менингитов доказывают, что клиническая картина болезни, по мнению многих

исследователей, остается классической, типичной и, как правило, складывается из общеинфекционного синдрома и синдрома поражения ЦНС (Ю. Н. Громыко, 2000, Miyazawa I., 2008, А. В. Демина, 2009, А. В. Денисюк, 2011). Однако, наличие циркуляции множества разных типов энтеровирусов, их эволюционное развитие может оказывать влияние на начальные проявления заболевания, течение серозных менингитов и характер иммунного ответа (Н. П. Куприна, С. С. Афанасьев, 2004, Т. В. Сологуб, М. Ю. Ледванов, 2012,).

Поскольку в большинстве случаев энтеровирусными менингитами болеют дети (Khetsuriani Nino, 2006, А. В. Демина, 2008, Н. Б. Денисюк, 2011, Г. М. Дмитриева, Н. Д. Орешкина, 2012, Po Ying Chia, 2013), то необходимо учитывать возрастные особенности развития иммунной системы ребенка, а соответственно, и разный вариант индивидуальной резистентности.

В настоящее время существует возможность диагностики ЭВИ с помощью комплекса лабораторных методов, среди которых ведущими были и остаются вирусологические и серологические методы, позволяющие выделить и идентифицировать вирус-возбудитель. Однако данные способы диагностики являются достаточно длительными и трудоемкими, хотя оспаривать их достоверность безосновательно, так как данные методы являются «золотым» стандартом. В настоящее время для подтверждения энтеровирусной инфекции широко используется молекулярно-биологический метод исследования (полимеразная цепная реакция, ПЦР).

Современные методы лабораторной диагностики дают возможность достаточно полно оценить и состояние иммунной системы заболевших. Для этого проводят серологические исследования (реакция биологической нейтрализации вируса) для определения вируснейтрализующих специфических антител, а также комплекс иммунологических тестов, определяющих ряд показателей, таких как уровень Т - лимфоцитов и их

субпопуляций, количество В-лимфоцитов, цитокины разных групп, содержание иммуноглобулинов, неспецифических факторов защиты. Сведения об иммунологической перестройке, динамике ответных иммунных реакций при энтеровирусных менингитах в литературе представлены недостаточно полно, чаще фрагментарно. Немногочисленны и работы, посвященные описанию клинико-иммунологических особенностей течения энтеровирусных менингитов у детей в зависимости от возраста и периода болезни. Более того, публикации, характеризующие различия клинических проявлений и иммунологических данных в зависимости от этиологической природы заболевания в доступной литературе единичны [37, 64, 70, 145, 150].

Таким образом, спектр циркулирующих энтеровирусов, факт смены одних этиологических агентов другими, а вследствие этого возможные изменения клинических и иммунологических характеристик течения заболевания - все это остается актуальной проблемой для педиатров, иммунологов, вирусологов и эпидемиологов, занимающихся изучением энтеровирусных менингитов.

Цель исследования -

- определить клинико-иммунологические особенности Коксаки В - и ЕСНО - вирусных менингитов у детей разного возраста и разработать способ определения группы возбудителя.

Задачи исследования

1. Определить спектр энтеровирусов, выделенных от больных серозными менингитами, в период 2003-2014 гг.

2.Показать периодичность циркуляции и смену ведущих типов энтеровирусов.

3. Установить клинико-иммунологические особенности ЕСНО – и Коксаки В - вирусных менингитов у детей в зависимости от этиологии возбудителя, возраста пациентов и периода болезни.

4. Разработать способ определения группы возбудителя (вирус ЕСНО или Коксаки В), вызвавшего развитие серозного менингита у детей, на начальном этапе заболевания.

Научная новизна

В результате выполненного исследования установлено, что периодическая смена ведущих типов вирусов, влечет за собой изменения клинической картины заболевания и характера иммунного ответа у детей в различных возрастных группах.

Выявлены различия в частоте и проявлениях общеинфекционных симптомов, а именно, при ЕСНО-вирусных менингитах преобладали гипертрофия миндалин, гиперемия зева, светобоязнь. При Коксаки В - вирусных менингитах достоверно чаще наблюдали симптомы со стороны желудочно-кишечного тракта и катаральные явления. Признаки поражения центральной нервной системы при менингеальной форме ЕСНО - и Коксаки В - инфекции оказались однотипными.

Впервые, в отличие от ранее выполненных работ (Н. А. Бацкалевич, 2009, И. И. Протясеня, 2010, Т. В. Комарова, 2012, Н. О. Мишакина, 2012, С. Н. Ешмолов, 2013), проведен сравнительный анализ течения энтеровирусных менингитов в разные временные периоды. Показано, что при современном течении серозных менингитов изменился характер ведущих клинических

синдромов - церебральной гипертензии и менингеального комплекса. В СМЖ в настоящее время плеоцитоз чаще имел смешанный характер (в предыдущие годы - лимфоцитарный).

Установлены иммунологические признаки, характеризующие энтеровирусные менингиты, вне зависимости от типа возбудителя и возраста пациентов. Общей реакцией является увеличение содержания NK-клеток, повышенное содержание Т-лимфоцитов, содержащих эндоплазматические цитокины IFN-γ и IL-4, а так же циркулирующих иммунных комплексов.

Доказано, что для иммунного ответа в начальном периоде Коксаки В - менингитов характерна активация компонентов врожденного иммунитета (повышение уровня NK-клеток и НСТ-положительных нейтрофилов). Менингеальная форма Коксаки В - инфекции отличалась от ЕСНО - вирусных менингитов более значимым увеличением содержания IgM и IgG. Важно отметить, что в период реконвалесценции наблюдалась нормализация практически всех иммунологических показателей.

Установлено, что при Коксаки В-вирусных менингитах у детей выработка специфических вируснейтрализующих антител значимо выше, чем при ЕСНО-менингитах, что подтверждено наличием высоких титров антител к вирусам Коксаки группы В.

В остром периоде ЕСНО - вирусных менингитов наблюдали снижение абсолютного количества моноцитов в крови и их фагоцитарной активности, увеличение количества естественных киллеров. Выявлено, что увеличение содержания компонентов адаптивного иммунитета (эффекторных субпопуляций Т-клеток, В-лимфоцитов и уровня антител) при ЕСНО - менингитах выражены в меньшей степени, чем при Коксаки В - менингитах.

Показано, что в период реконвалесценции при ЕСНО - вирусных менингитах восстанавливаются не все иммунологические показатели, а

именно: уровень Т-активированных лимфоцитов, Т-лимфоцитов-продуцентов TNF-α и TNK-клеток был снижен.

Возраст детей определяет характер иммунного ответа. При ЕСНО - вирусных менингитах у больных 3-7 лет в острый период болезни выявлено снижение уровня Т-хелперных лимфоцитов, при этом содержание Т-активированных клеток было увеличено, что в свою очередь может быть показателем активности иммунного процесса. Кроме того, в данной возрастной группе выявлено снижение фагоцитарной активности моноцитов. Для детей 8-14 лет с менингеальной формой ЕСНО - вирусной инфекции характерно наличие низкого содержания TNK-клеток и высокий уровень В-лимфоцитов. Данные показатели свидетельствуют об активности в острый период болезни гуморальной составляющей иммунного ответа.

При Коксаки В - вирусных менингитах в острый период болезни у детей младшей возрастной группы (3-7 лет) регистрировали нарастание количества В-лимфоцитов, повышение синтеза иммуноглобулинов классов М и G. Период реконвалесценции сопровождался снижением факторов неспецифической резистентности организма (бактерицидной активности и фагоцитарной активности нейтрофилов). У детей старшей возрастной группы с Коксаки В - вирусными менингитами таких закономерностей установлено не было.

Создан способ определения групповой принадлежности энтеровируса, вызвавшего развитие серозного менингита, на основании иммунологического показателя (уровень Т-лимфоцитов, спонтанно синтезирующих IL-4), что на ранних сроках болезни позволяет провести этиологическую расшифровку заболевания.

Практическая значимость

Получены данные, характеризующие закономерности иммунологических изменений при серозных менингитах, вызванных ЕСНО - и Коксаки В-вирусами у детей 3-7 лет и 8-14 лет. В острый период болезни отмечена активность механизмов врожденного иммунитета с одновременным нарастанием роли реакций адаптивного иммунного ответа. Период реконвалесценции энтеровирусных менингитов характеризовался нарастанием показателей гуморального звена. Дети с ЕСНО-вирусными менингитами могут быть отнесены к группе риска по развитию вторичной иммунной недостаточности, о чем свидетельствует наличие иммунологических показателей, которые не восстанавливались в период регресса клинических проявлений и санации ликвора.

Предложенный способ определения типа возбудителя серозного менингита по одному показателю (CD3+IL4 сп) на 3-й день от начала болезни дает основания врачу до получения результатов вирусологических исследований предположить, какой энтеровирус вызвал развитие заболевания и прогнозировать течение заболевания.

Положения, выносимые на защиту

1. Развитие клинической картины и иммунного ответа при менингеальной форме энтеровирусной инфекции зависят от типа вируса.

2. Увеличение уровня натуральных киллеров (CD3-CD16+CD56+), В-лимфоцитов (CD19+), Т-лимфоцитов, содержащих эндоплазматические цитокины IFN-γ и IL-4 (CD3+IFN-γ, CD3+IL-4+) и высокое содержание циркулирующих иммунных комплексов является общей закономерностью развития острого периода энтеровирусных менингитов.

3. При ЕСНО - вирусных менингитах отмечены достоверные отклонения преимущественно показателей, характеризующих Т-клеточное звено иммунитета. При Коксаки В - вирусных менингитах, напротив, в большей степени изменения касались факторов неспецифической защиты, фагоцитарного и гуморального звеньев иммунитета.

4. Период клинического выздоровления и санации спинно-мозговой жидкости при Коксаки В - вирусных менингитах сопровождается восстановлением иммунологических показателей. При ЕСНО - вирусных менингитах в период реконвалесценции сохраняются низкий уровень Т-активированных лимфоцитов (HLA-DR+CD3+), TNK - лимфоцитов (CD3+CD16+CD56+) и TNF-α положительных Т - лимфоцитов (CD3+TNF-α), что позволяет отнести таких детей в группу риска по формированию транзиторной иммунной недостаточности по клеточным факторам защиты.

5. Установлено, что группу энтеровируса (ЕСНО/Коксаки В), вызвавшего развитие серозного менингита у детей, можно определить, зная уровень содержания CD3+-лимфоцитов, спонтанно синтезирующих IL-4 в первые 3 дня болезни.

Апробация работы

Материалы и результаты исследования были представлены на областной научно-практической конференции «Полиомиелит вчера и сегодня» (Екатеринбург, 2010 г.); Третьем конгрессе Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням (Екатеринбург, 2014 г.); Российском научном форуме на Урале с международным участием «Актуальные вопросы фундаментальной медицины» (Екатеринбург, 2014 г.), а также на заседании проблемной комиссии ГБОУ ВПО УГМУ Минздрава России (Екатеринбург, 2015 г.).

По теме диссертации опубликовано 10 печатных работ, в том числе 7 в журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации, 3 - в материалах научно-практических конференций.

Внедрение результатов исследования

Полученные результаты внедрены в клиническую практику детских инфекционных отделений МАУ ГКБ № 40. Основные положения и выводы включены в тематику занятий студентов, интернов, ординаторов, циклов усовершенствования для врачей-педиатров на кафедре педиатрии и неонатологии ФПК и ПП ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ. Подана заявка на патент «Способ определения типа энтеровируса по содержанию CD3+IL-4+-лимфоцитов» (уведомление о поступлении заявки № 071011 от 30.10.2014, регистрационный № 2014144013).

Личный вклад автора

Автором проведен обзор литературы по теме диссертационного исследования. Сформированы группы пациентов. Проведен анализ клинической картины заболевания у детей. Составлен алгоритм лабораторного обследования с последующей статистической обработкой полученных данных. Автор принимал непосредственное участие в проведении вирусологической и серологической диагностики. Результаты исследования внедрены в практику, подготовлены основные публикации по выполненной работе.

Объем и структура диссертации

Диссертация содержит 203 страницы машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, трех глав собственных исследований, заключения, выводов и практических рекомендаций, списка использованной литературы, содержащего 164 отечественных и 50 иностранных источников. Работа иллюстрирована 39 таблицами и 43 рисунками.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Энтеровирусные инфекции: актуальность, эпидемиология и клинические проявления

Многие инфекционные болезни относятся к неуправляемым или плохо контролируемым заболеваниям. Проблема энтеровирусных инфекций (ЭВИ) при этом вызывает определенный интерес, так как до настоящего времени ЭВИ не утратили лидирующих позиций в инфекционной патологии человека, особенно в структуре детских инфекционных заболеваний [14, 26, 83, 100, 115, 120, 132].

Несмотря на длительную историю изучения энтеровирусных инфекций, многие ключевые вопросы эпидемиологии и биологии ЭВИ остаются невыясненными [125]. Внедрение в широкую практику в конце 50-х годов XX века оральной полиомиелитной вакцины А. Сэбина позволило в короткие сроки прекратить эпидемию полиомиелита. Это оказало существенное влияние на распространение возбудителей ЭВИ, благодаря чему сократилось число эпидемий. Однако в последние годы наметилась четкая тенденция активизации энтеровирусов (ЭВ) в мире, о чем свидетельствуют постоянно регистрируемые в разных странах эпидемиологические подъемы заболеваемости и вспышки, а заболевания, связанные с ЭВ, представляют серьезную проблему здравоохранения [3, 10, 89, 100, 101, 111]. В научной литературе описаны вспышки энтеровирусного менингита во Франции (2002 г.), Испании (2000 г.), Германии (2001 г.), Турции, Корее [172, 188, 198, 210].

В России и странах СНГ вопрос распространенности ЭВИ так же остается актуальным. За последние годы заболевания, связанные с ЭВ, возникали во многих городах и регионах. Вспышки ЭВИ регистрировали в Хабаровском и Приморском крае, Иркутской области, в Северо-Западном

регионе России, в Ростовской, Липецкой, Московской, Тульской областях, на Урале [24, 33, 46, 56, 70, 81, 97, 98, 100, 105, 123, 129, 143].

Снижение-увеличение показателя заболеваемости ЭВИ имеет волнообразный характер, что связано с изменением активности и циркуляции ЭВ в природе. Так, например, по данным Роспотребнадзора РФ отмечено, что в 2007-2010 г.г. было снижение показателя заболеваемости ЭВИ. В 2011г. количество заболевших энтеровирусными инфекциями увеличилось, что привело к росту показателя заболеваемости на 25,1%. Аналогичную ситуацию наблюдали в 2012 году, когда уровень заболеваемости ЭВИ вырос на 8,8% в сравнении с 2011 годом [4, 84, 101, 116, 148, 191].

На сегодняшний день существует множество данных, по которым можно проследить динамику циркуляции энтеровирусов и их географическое распространение. Исследования, проведенные в 1980-1983 г.г. говорят о том, что в этот период времени в Молдавии ведущими были вирусы Коксаки В1 [135]. В Сибири за период 1980-1989 г.г. было зарегистрировано 5 вспышек энтеровирусного увеита, возбудителем которого являлись вирусы ЕСНО-16 и ЕСНО-11 [25, 88]. На территории Тульской области обследование здоровых детей на вирусоносительство показало, что в 90-е годы наблюдали циркуляцию всех типов ЭВ (полиовирусы, ЕСНО, Коксаки А и Коксаки В). Статистически было установлено снижение удельного веса вирусов группы Коксаки А (с 55,0% в 1985 г. до 7,6% в 1994 г.) и увеличение удельного веса вирусов Коксаки В (в 1994 г. до 85,0% от общего количества выделенных штаммов) [122]. Серозные менингиты в Витебске в 2001 году были вызваны преимущественно вирусами Коксаки В4. Исследования, проводимые в Северо-Западных регионах России в период с 1973 по 2004 г.г. показали наличие цикличности вирусов, относящихся к группе ЕСНО: с 1972 по 1982 г.г.- преобладали вирусы ЕСНО 4, 6, 14; в 1983-1989 г.г.- вирусы ЕСНО - 30; с конца 90-х годов до 1997 года наблюдали выделение разных серотипов ЭВ;

период 1997- 2002 г.г. отмечен увеличением роли энтеровирусов 71 типа; с 2003 года наблюдали циркуляцию вирусов ЕСНО, в частности - ЕСНО-30 [98].

Ретроспективный анализ лабораторных исследований, проведенный специалистами Тайваня, показал, что в период 2001-2005 г.г. на территории данной страны были выделены вирусы Коксаки В (КВ 5, КВ 4), Коксаки А, ЕСНО - 16, ЕСНО - 30, ЕСНО - 11. Основную долю изолированных штаммов составили вирусы группы Коксаки В [192].

В Екатеринбурге за период 1992-2002 г.г. от заболевших детей был выделен большой спектр ЭВ. Установлено, что в 1992,1996 и 1998 г.г. лидирующими были вирусы ЕСНО (ЕСНО - 30). Вирусы Коксаки В занимали ведущее положение в 1993, 1994, 1995 годах. Впервые в г.Екатеринбурге в 2000 году преимущественно выделяли вирусы Коксаки В4. В период 2001-2002 г.г. доминирующими были вирусы Коксаки В3[110].

Таким образом, эпидемические подъемы энтеровирусной инфекции связаны с разными серотипами вирусов, а спектр возбудителей очень широк и разнообразен. В России от инфицированных лиц выделяли вирусы ЕСНО (4, 5, 6, 14, 11, 30 и др.), Коксаки В (1, 3, 4, 5), ЭВ-71. В других странах мира наиболее частыми возбудителями инфекций были вирусы ЕСНО - 13, ЕСНО - 20, ЕСНО - 30,Энтеровирус 71 типа, Коксаки В5 [38, 57, 81, 98, 115, 169, 175, 178, 181, 186, 194, 197].

Возбудители ЭВИ являются представителями семейства Picornoviridae, род Enterovirus, включающий полиовирусы (I, II и III типы) и неполиомиелитные вирусы. Все неполиомиелитные вирусы разделены на 4 основных группы (A, B, C и D) в состав которых входит множество серотипов. В отдельную группу отнесено около 20 неклассифицированных вирусов. Из 93 известных серотипов 70 вызывают заболевания человека:

Коксаки А (23 серотипа), Коксаки В (6 серотипов), ЕСНО (28 серотипов) и энтеровирусы (13 серотипов) [54, 74, 94, 166, 191, 200, 206, 209, 211, 215].

Резервуаром и источником ЭВИ является больной человек или инфекционный бессимптомный носитель вируса, при этом роль здоровых носителей как источников инфекции очень велика. Вирусоносительство у здоровых лиц составляет от 17 до 46%.

Механизм передачи - фекально-оральный, аэрозольный. Пути передачи - водный, пищевой, контактно-бытовой, воздушно-капельный; возможен траснплацентарный путь [22].

Первичная репликация вируса происходит в эпителиальных клетках и лимфоидных образованиях верхних дыхательных путей. Однако при попадании вируса в кишечник аналогичный процесс происходит в пейровых бляшках и брызжеечных лимфатических узлах. Именно этим можно объяснить выявляемые в начальном периоде заболевания соответствующие клинические изменения: гиперемия слизистой оболочки ротоглотки, катар верхних дыхательных путей, иногда энантема, увеличение регионарных лимфатических узлов, а так же желудочно-кишечные расстройства. Если на этом этапе организм окажется не в состоянии противостоять инфекционному процессу, то наступает следующий этап - проникновение вируса в кровь с последующей его генерализацией. Это в свою очередь приводит к обсеменению внутренних органов и скелетных мышц и развитию в них вируса. Не исключаются так же невральный и лимфогенный пути распространения энтеровирусов (Ю. В. Лобзин, В. В. Пилипенко, 2006).

После проникновения возбудителя в организм происходит его размножение в лимфоидной ткани, эпителиальных клетках, регионарных лимфатических узлах. Попадая в кровь, вирус вызывает первичную вирусемию, что соответствует, как правило, 3-м суткам болезни. Энтеровирусы обладают высокой нейротропностью, они способны попадать

в мозг и проникать через гематоэнцефалический барьер. Помимо нервной системы к органам - мишеням при энтеровирусной инфекции относятся сердце, эндотелий сосудов, печень, поджелудочная железа, селезенка, легкие, скелетные мышцы и др. [87].

Пантропность энтеровирусов и большое разнообразие патогенных для человека серотипов обуславливает наличие множества клинических форм и вариантов течения ЭВИ, затрагивая практически все органы и ткани организма человека: нервную, сердечно-сосудистую, желудочно-кишечный тракт, почки, глаза, мышцы кожи, слизистую полости рта, печень, эндокринные органы. Энтеровирусные инфекции могут протекать в виде моноинфекции либо в виде смешанной инфекции [132]. Известно, что ЭВ могут быть причиной соматических заболеваний [22, 31, 45, 142, 171, 201, 203]. Особую опасность ЭВИ представляет у иммунодефицитных лиц [45, 57].

Ещё в 1964 году М. К. Ворошилова с соавт. обобщила накопившийся опыт наблюдений над энтеровирусными заболеваниями и представила перечень 12 клинических синдромов, встречающихся при них. Kibrick (1964) при описании Коксаки и ЕСНО - вирусных заболеваний перечисляет уже более 20 клинических синдромов. Особенность ЭВ состоит в том, что один и тот же тип вируса может вызывать различные по симптоматике заболевания. И, наоборот, при вспышке ЭВИ выделяют штаммы разных типов. Многообразие клинических проявлений ЭВИ во многом зависит от видового состава энтеровирусов, циркулирующих на конкретной территории, а также может иметь региональную компоненту [66, 83, 114, 124, 171, 201, 203].

Для ЭВИ характерно персистирование вируса в организме с длительным сохранением в кишечнике, мышцах, паренхиматозных органах, коже, ЦНС, что обуславливает хроническое течение некоторых форм. Описаны хронические формы Коксаки В инфекции с явлениями длительно

текущего энцефалита, миокардита, полидерматомиозита. В возникновении хронических форм большое значение имеет развитие аутоиммунного процесса [152]. Имеются данные о значимости хронической Коксаки-вирусной инфекции в патогенезе привычного невынашивания (Л. С. Лозовская, Т. Н. Коноплева, А. В. Ледина, 1996), в развитии аллергических заболеваний у детей (Л. С. Лозовская, М. К. Ермолова, Г. И. Менемчидзе, 1999), в формировании ювенильного ревматоидного артрита, указывается на значение вертикальной передачи ЭВ группы Коксаки в этиологии врожденных иммуннодефицитных состояний [16, 206, 208].

Восприимчивость к ЭВИ высокая. Максимальная заболеваемость отмечается у детей в возрасте от 3до 10 лет.

Самая частая форма энтеровирусной инфекции - энтеровирусная лихорадка («малая болезнь», трехдневная лихорадка, летний грипп). Заболевание вызывают все серотипы вирусов Коксаки А и В, реже ЕСНО. Характерно острое начало, возможна умеренная интоксикация, температура тела повышается до 38-40^{0}С, температурная кривая нередко имеет двухволновый характер. Возможны боли в животе, миалгии, конъюнктивит, увеличение размеров шейных лимфатических узлов [29, 72, 108, 155, 176, 208].

Герпангина чаще вызывается вирусами Коксаки А и В, реже вирусами ЕСНО. Данная форма ЭВИ встречается у детей различного возраста, преимущественно раннего. Возникает как в виде спорадических случаев, так и в виде эпидемических вспышек. Начало острое. Синдром интоксикации выражен умеренно, характеризуется снижением аппетита, головной болью, слабостью, вялостью. Температура тела повышается до 38^{0}С и сохраняется в течение 1-3 суток. Локальные изменения проявляются гиперемией слизистой оболочки мягкого неба, нёбных душек и миндалин, язычка и появлением мелких папул размером 1-2 мм с красным венчиком, превращающихся в

везикулы. Они сохраняются в течение 24-48 ч, затем вскрываются и образуют эрозии с серо-белым налетом. Наблюдается увеличение тонзиллярных и подчелюстных лимфатических узлов.

Острым началом, выраженным болевым синдромом и синдромом интоксикации характеризуется другая форма ЭВИ - эпидемическая миалгия (плевродения, болезнь Борнхольма, «дьявольская болезнь»). Повышение температуры тела до 39-40^{0}С, головная боль, вялость, тошнота, приступообразные боли, усиливающиеся при перемене положения тела и вдохе - это клинические симптомы, которые наблюдают при данной форме ЭВИ.

Энтеровирусная экзантема (эпидемическая экзантема, бостонская экзантема, берлинская экзантема) наиболее часто встречается у детей первых лет жизни. Основными симптомами заболевания являются экзантема, умеренно выраженная интоксикация, повышение температуры тела. Сыпь появляется одномоментно, по морфологии разнообразна (пятнистая, пятнисто-папулезная, мелкоточечная, геморрагическая), сохраняется в течение 1-2 суток и исчезает бесследно. Одним из вариантов энтеровирусной экзантемы является заболевание, протекающее с поражением кожи кистей и стоп, слизистой оболочки полости рта (Hand-Futt-Muns-Disease, сокращенно-HFMD) [4, 29, 57, 94, 159, 177, 182, 200, 211].

Среди других возможных вариантов ЭВИ можно назвать кишечную форму (энтеровирусная диарея, гастроэнтерит), респираторную форму (катаральная), энтеровирусное поражение сердца (миокардит и энцефаломиокардит новорожденных), энтеровирусные поражения глаз (увеит) [65, 72, 108, 133, 155].

Высокая тропность ЭВ к нервной ткани характеризуется многоликостью клинических форм наиболее часто встречающихся

поражений нервной системы: серозных менингитов, энцефалитов, полирадикулоневритов, невритов лицевого нерва [84, 148, 153].

Таким образом, энтеровирусные инфекции характеризуются повсеместным распространением, наличием широкого спектра этиологических агентов (энтеровирусов разных типов и серотипов) и разнообразием клинических вариантов течения.

1.2. Клинико-эпидемиологические особенности энтеровирусных менингитов на современном этапе

Вирусная этиология менингитов подтверждается в 60,0% случаев, а около половины из них – приходится на энтеровирусные менингиты [120]. Первое сообщение о роли вирусов Коксаки в этиологии серозных менингитов принадлежит Curnen (1950). Затем из года в год появлялась информация об этиологической роли разных серотипов Коксаки В (О. В. Балоян с соавт., 1961; А. Я. Муцениек с соавт., 1964; Kirby, Evans, 1955 и др.), Коксаки А (Е. Ф. Давиденкова с соавт., 1962; Kraus, Adam, 1957 и др.) и вирусов ЕСНО

(Karson с соавт., 1956,1962; Elvin-Lewis с соавт., 1959; Miller с соавт., 1968 и др.) [23, 63, 177, 205].

На сегодняшний день известно, что серозные менингиты могут быть вызваны вирусами Коксаки А (2, 3, 4, 6, 7, 9, 10 типы), Коксаки В (1-6 типы), ЕСНО (за исключением 12, 24, 26, 29, 33, 34 типов) и энтеровирусами 68-71, 73 типов. Серозные менингиты являются наиболее распространенной формой энтеровирусного поражения ЦНС [72, 83, 95, 96, 101]. Оно часто не ограничивается воспалением менингеальных оболочек. Процесс может параллельно (или преимущественно) затрагивать и собственно вещество

(паренхиму) головного и спинного мозга. В этом случае, в зависимости от преобладания тех или иных симптомов, поражение ЦНС классифицируют как менингоэнцефалит, энцефалит, ромбэнцефалит, энцефаломиелит, полиомиелит, радикуломиелит [37, 87].

Инкубационный период энтеровирусных менингитов в среднем составляет от 3 до 12 дней. Продромальный период выражен слабо или вовсе отсутствует. Манифестная стадия заболевания, как правило, наступает остро или даже внезапно и уже в течение короткого периода времени достигает своего предельного развития. Поэтому больные нередко называют даже час заболевания (Л. И. Дроздова, А. В. Плесецкая, 1960; Э. Р. Бухтеева, 1962; В. Б. Сейбиль, 1964; М. Б. Цукер, 1975; О. А. Чеснакова, 1988; В. В. Фомин, 1991; Ю. В. Лобзин, 2006; Н. А. Бацкалевич, 2009; С. Н. Ешмолов, 2013).

Энтеровирусные менингиты отличаются многообразием клинических проявлений, среди которых ведущими являются лихорадка, головная боль, рвота. Кроме того, при серозных менингитах развиваются менингеальные симптомы, возможны очаговые симптомы и полиорганные нарушения [37, 54].

Лихорадка является наиболее постоянным симптомом, наблюдается у 80-100% больных. Температура повышается до 38-40^{0}С; длительность лихорадочного периода составляет 2-10 дней, в среднем 3-5 дней. Как правило, температура снижается резко, реже в течение 2-3 дней. Для энтеровирусных менингитов свойственно несколько лихорадочных волн (от 2 до 4) со значительными суточными колебаниями [13, 57, 66, 69, 87, 114, 162].

Типичным симптомом серозных менингитов является рвота, которой предшествует тошнота. В большинстве случаев она бывает однократной, но может быть и повторная, многократная рвота, не связанная с приемом пищи. Рвота прекращается после нормализации температуры. Однако, возможны и

повторные акты при перемене положения тела и возникновении новых лихорадочных волн [87].

Среди жалоб особое место занимает головная боль различной интенсивности, которая носит разлитой характер, иногда может быть локализована в лобной и затылочной области. Данный симптом сохраняется 1-2 дня, но может наблюдаться в течение 5 дней и более. Как правило, продолжительность головной боли совпадает с длительностью лихорадки.

Помимо рвоты, головной боли, лихорадки у пациентов с ЭВ менингитами могут быть светобоязнь, боль в глазных яблоках, головокружение.

Циркуляторные нарушения и отек нервной ткани обуславливают развитие очаговых симптомов, которые чаще носят нестойкий и временный характер (Н. М. Златковская, 1976; В. Н. Тимченко, 2012). Чаще это повышение сухожильных рефлексов, нистагм, легкие центральные парезы черепных нервов, атаксия, патологические рефлексы [64, 79, 89, 133].

Менингеальный синдром развивается с первых дней болезни, либо на 3-4 день и является важным диагностическим критерием диагностики серозных менингитов. Однако в некоторых случаях менингеальные симптомы могут быть слабо выраженными и нестойкими, либо отсутствовать («асимптомный ликвороположительный менингит»). Наибольшее значение имеют симптомы Брудзинского и Кернига, ригидность затылочных мышц. У большинства больных выявляют отдельные симптомы или их сочетание. Удельный вес лиц с наличием полного менингеального комплекса колеблется от 28,5 до 80%. Длительность менингеальных симптомов широко варьирует – от 3 до 24 дней [62, 65, 73, 85, 87, 133].

Первые признаки болезни, как правило, сопровождаются изменениями общего состояния. У пациентов отмечают слабость, вялость, сонливость,

возбудимость. В более тяжелых случаях могут быть помрачнение сознания, бредовое состояние (преимущественно в ночное время) [87]. При осмотре больных наблюдают гиперемию лица с бледным носогубным треугольником, наличие катаральных явлений (кашель, насморк), конъюнктивит. На теле может быть сыпь. Отмечают гиперемию и /или зернистость слизистой зева, обложенность языка, полиаденит, лимфаденопатию. У детей могут быть нарушения со стороны желудочно-кишечного тракта, такие как, диспепсические расстройства, схваткообразные боли в околопупочной области (у 20-40% больных), вздутие и болезненность живота и /или его урчание, нарушение аппетита. В 10-30% случаев в более поздние сроки определяют увеличение печени и /или селезенки. Могут быть мышечные боли. Клинические симптомы болезни регрессируют к 5-7 дню [14, 18, 29, 97, 150]. Прогноз у детей и взрослых, перенесших энтеровирусный менингит, как правило, благоприятный. Тем не менее, есть указания, что отдельные дети, переболевшие серозным менингитом, страдают нарушениями речи и имеют трудности в школьном обучении [87]. У взрослых лиц в течение нескольких недель после перенесенной инфекции могут сохраняться головные боли. Кроме того, примерно у 10% больных возможны более тяжелые поражения различных отделов ЦНС. Об этом свидетельствуют появление глубоких расстройств сознания с бредом и клонико-тоническими судорогами, а также очаговый симптомокомплекс в виде нистагма, центральных параличей мимической мускулатуры, подъязычного нерва, атаксии, резко повышенных сухожильных рефлексов и угасания брюшных, появление пирамидных знаков и др. [87].

При исследовании ликвора больных серозным менингитом он прозрачный, вытекает струей или частыми каплями и содержит увеличенное количество лейкоцитов - от 6 до 200 и более клеток в 1 мкл. В первые 1-2 дня болезни ликвор может быть нормальным, т.к. признаки воспалительных изменений в нем отстают от клинических проявлений менингита [64]. В

дальнейшем число клеток в ликворе быстро нарастает, причем, изначально могут обнаруживаться нейтрофильнные лейкоциты, а позднее преобладают лимфоциты. Уровень белка в ликворе неизменен или повышен. Нормализация показателей ликвора происходит через 2-3 недели от начала болезни [2, 6, 37, 63, 67, 73, 85, 92].

Таким образом, серозные менингиты являются наиболее распространенной формой энтеровирусной инфекции. Основными синдромами являются общеинфекционный и синдром поражения ЦНС.

1.3. Особенности иммунного ответа при энтеровирусных менингитах

1.3.1. Общие закономерности иммунологических изменений при вирусных инфекциях

Защита от инфекции - основное предназначение иммунитета. В зависимости от локализации патогена адекватными (т.е. эффективными) являются различные механизмы иммунной защиты. Различают иммунитет неспецифический (естественный, врожденный) и иммунитет специфический (адаптивный, приобретенный). Защита организма является результатом совместного действия многих звеньев неспецифического и специфического иммунитета [93]. Внеклеточные патогены могут быть нейтрализованы антителами, с помощью которых к ним привлекаются эффекторные факторы врожденного иммунитета. Патогены, локализованные в гранулах, могут быть уничтожены факторами врожденного иммунитета (бактерицидные компоненты фагоцитов), стимулированные Т-лимфоцитами и их цитокинами. Патогены, локализованные в цитозоле, уничтожаются вместе с инфицированной клеткой цитотоксическими лимфоцитами - естественными (NK) или адаптивными (Т).

То, что вирусы могут влиять на показатели иммунитета, было обнаружено von Pirquet еще в 1908 году, когда он отметил, что коревая инфекция задерживает развитие гиперчувствительности замедленного типа у пациентов, имевших нормальный ответ на введение антигенов микобактерии туберкулеза. Он был первым, кто внес иммунологические аспекты в объяснение развития повышенной чувствительности к суперинфекциям у пациентов с вирусной инфекцией [113].

Основным процессом при вирусной инфекции является взаимодействие вирусного и клеточного геномов, которые могут быть явным (интеграция) или неявным (острая инфекция или персистенция). Репродукция вируса в клетках сопровождается развитием цитопатических процессов. Повреждение клеток вирусами, их отмирание и распад переносят вирусную инфекцию с клеточного уровня на уровень организма в целом. Это зависит от количества погибших клеток, токсичности вирусов, их компонентов и продуктов распада клеток, от ответных реакций организма, начиная от рефлекторных, включая развитие воспалительных и иммунных реакций клеточного и гуморального типа.

Уничтожение инфекционных агентов происходит с помощью разных механизмов иммунной защиты хозяина. С патогенетической точки зрения важно разделение патогенов по месту их роста и размножения. С этих позиций выделяют интрацеллюлярные (внутриклеточные) и экстрацеллюлярные (внеклеточные) микроорганизмы. Вирусы относят к группе возбудителей, которые могут находиться как внутри (в цитоплазме), так и вне клетки (интерстициальное пространство, кровь, лимфа и др.). На этапе внеклеточного существования вирусов антигенпрезентирующую роль играют макрофаги, В-клетки и дендритные клетки. При этом происходит развитие Th2- лимфоцитов, активность которых усиливает IL-4. В элиминации внутриклеточных возбудителей главная роль принадлежит Т-

лимфоцитам, NK-клеткам и макрофагам, причем все эти группы клеток обладают способностью синтезировать цитокины (IFN-γ, IL-2, TNF-α, и др.), которые резко усиливают их функциональные свойства (Р. М. Хаитов, Б. В. Пинегин, 1997).

Макрофаги (а также моноциты, полиморфноядерные лейкоциты-гранулоциты) играют ключевую роль во всех фазах противовирусной защиты: они имеют определенное значение в фагоцитозе вирусов и, особенно, комплексов вирусных антигенов со специфическими антителами. Кроме того, макрофаги вовлечены в кооперацию с Т-клетками, обеспечивающими специфический адаптивный иммунитет. Макрофаги, активированные возбудителем, способны продуцировать цитокины и другие биологически активные медиаторы (IL-1, IL-6, IL-12, TNF-α). Монокины, выделенные макрофагами в ответ на инфицирование, вызывают следующие эффекты: усиливают адаптивный иммунный ответ; повышают температуру тела человека; индуцируют продукцию белков острой фазы воспаления при котором изменяется проницаемость сосудистой стенки, рекрутируются фагоциты, иммунные клетки и молекулы в зону воспаления. Макрофаги вместе с дендритными клетками образуют группу антигенпрезентирующих клеток (Ethan Shevach, 1987, А. К. Адамов, 2011).

Ещё одним звеном неспецифического иммунитета являются естественные киллеры (NK-клетки). Это особая популяция лимфоидных клеток, у которых отсутствуют антигенспецифические поверхностные рецепторы и нет узкой специализации, характерной для CD4+ и CD8+-Т-лимфоцитов. NK-клетки служат в качестве самой ранней зашиты против интрацеллюлярных микроорганизмов. Активность естественных киллеров увеличивается во много раз при воздействии на них цитокинов, таких как IFN-α, IFN-β, IL-2. При вирусных инфекциях роль NK-клеток особенно значима. Натуральные киллеры реагируют на чужеродные структурные

компоненты вирусов и эффективно лизируют инфицированные вирусом клетки. Главным преимуществом этих клеток является их способность действовать быстро в качестве эффекторных клеток и ограничивать распространение вирусной инфекции на ранних этапах. Кроме киллингового эффекта, NK-клетки обладают регуляторной функцией, выделяя такие вещества, как IFN-γ, IFN-α, IL-1, IL-2. Благодаря наличию у NK-лимфоцитов рецептора к Fc-фрагменту иммуноглобулинов, естественные киллеры могут осуществлять антителозависимый клеточно-опосредованный киллинг (Г. Н. Дранник, C. A. Juhewy).

Помимо макрофагов и NK-клеток в реализации механизмов врожденного иммунитета большую роль играют нейтрофилы. Наряду с моноцитами /макрофагами нейтрофилы рассматриваются как основные фагоцитирующие клетки. При этом нейтрофилы мигрируют в очаг воспаления значительно быстрее моноцитов. Скорость мобилизации нейтрофилов дополняется их способностью развивать метаболические процессы («кислородный взрыв») в течение секунд. Все это делает нейтрофилы оптимально приспособленными для осуществления ранних этапов иммунной защиты в рамках острой воспалительной реакции (А. А. Ярилин, 2009).

В первые часы после заражения вступает в силу система интерферона [7, 48, 93]. По структуре интерфероны - белки, по эффектам действия - универсальные вирусные индукторы и цитокины, вырабатывающиеся при вирусных инфекциях и регулирующих иммунные реакции при них (С. А. Павлович, 2001). Интерферон - система является первой линией защиты при внедрении вируса и активируется в считанные минуты и часы. Интерфероны являются так же частью цитокиновой сети и выделение их в отдельную систему обусловлено их ролью в защите от вирусов. Различают два основных типа интерфоронов (I и II типы), каждый из которых включает в себя разные

серологические подгруппы. К I типу интерферонов относят IFN-α и IFN-β. Интерферон γ относится к II типу. IFN-α продуцируется лейкоцитами, главным образом мононуклеарными фагоцитами, IFN-β – фибробластами, обработанными вирусами и их антигенами. В месте входных ворот вирусов концентрация их возрастает в считанные часы. Источником IFN-γ служат цитотоксические CD8+ Т-клетки и NK-клетки. Под влиянием IFN-γ Т-хелперы приобретают способность синтезировать IL-2, IL-12 и ряд других цитокинов, потенциирующих клеточный иммунитет. Кроме того, все виды интерферонов (IFN-γ, IFN-α, IFN-β) повышают уровень экспрессии антигенов главного комплекса гистосовместимости I класса (MHC I), принимающего участие в презентации захваченного вирусного пептида на поверхности инфицированной клетки, тем самым делая её узнаваемой для цитотоксических CD8+ Т-лимфоцитов [30, 130].

Особое значение при вирусных инфекциях придается цитокинам. Цитокины представляют собой группу полипептидных медиаторов, участвующих в формировании и регуляции защитных реакций организма (А. С. Симбирцев, 2002). Профиль цитокинов определяется в известной мере двумя функциональными типами Т-лимфоцитов, или Т-хелперами – Th1 и Th2, образование которых происходит из так называемых Th0-лимфоцитов. Цитокины, продуцируемые Th1-лимфоцитами (Th1-цитокины) – IFN-γ, IL-2- усиливают клеточный иммунитет, при котором клетки с CD8-рецепторами играют важную роль в борьбе с инфекцией: ингибируют гуморальный иммунитет и дают защитный эффект на инфекционный агент, которые инактивируются в основном благодаря реакциям клеточного иммунитета [30, 113, 121, 163, 164, 173]. Th2 – цитокины (IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 и IL-13) усиливают гуморальный иммунитет и ингибируют клеточный иммунитет в результате чего дают защитный эффект от патогенных агентов, подавляемых с помощью реакций гуморального иммунитета [207].

По функциональному назначению выделяют 5 основных групп цитокинов. Первая группа - гемопоэтические цитокины. Они регулируют пролиферацию и дифференцировку всех клеток кроветворной системы. К ним относятся колониестимулирующие факторы – CSF (Colony Stimulating Factors): GM-CSF, M-CSF, G-CSF, эритропоэтин, тромбопоэтин, IL-3, IL-5, IL-7, фактор стволовых клеток - SCF. Вторая группа цитокинов - провоспалительные цитокины (цитокины врожденного иммунитета)- IL-1a, IL-1b, TNF-α и IL-6. Они чрезвычайно плейотропны и действуют на клетки близлежащих тканей. Их продуцируют главным образом макрофаги и дендритные клетки (ДК) покровных структур в очаге внедрения патогена. Третью группу составляют иммунорегуляторные цитокины. Они регулируют пролиферацию и дифференцировку Т- и В-лимфоицтов и NK-клеток в периферических лимфоидных органах и тканях. В первую очередь их продуцируют активированные профессиональные антигенпрезентирующие клетки (макрофаги и ДК) и сами лимфоциты. К этой группе относят IL-2, IL-4, IL-12, IL-15 и IFN-γ. Цитокины - медиаторы воспаления - составляют четвертую группу. Они являются продуктами активированных Т-лимфоцитов и вызывают активацию лейкоцитов «общевоспалительного назначения»: IFN-γ (активатор макрофагов и NK-клеток), IL-5 (стимулирует пролифепацию В-лимфоцитов, а также индуцирует и активирует эозинофилы), лимфотоксины (активаторы нейтрофилов). Пятую группу цитокинов составляют противовоспалительные (иммуносупрессорные) цитокины. К ним относят IL-10 (продуцируемый макрофагами и ингибурующий макрофаги), IL-4 и IL-13- цитокины, ингибирующие макрофаги, а так же в некоторых случаях выступающие в качестве противовоспалительных. Определение иммуномодуляторных пептидов-цитокинов в клинике инфекции особенно информативно, так как уровень локальной и системной продукции этих медиаторов отражает эффективность иммунной защиты в целом и может

быть использовано в дифференциальной диагностике инфекции или определении дальнейшего течения заболевания [43].

Продукция и секреция цитокинов IFN-α/β, IL-1, TNF-α, IL-6, IL-8 относится к самым ранним событиям, сопутствующим взаимодействию микроорганизмов с макрофагами (И. С. Фрейдлин, 1995,1997). Интерферон активирует макрофаги и NK-клетки, которые затем синтезируют IFN-γ, IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, TNF-α, в результате макрофаги и NK-лимфоциты приобретают способность лизировать вирус-инфицированные клетки (Lorenzen J. et al., 1991). Для полного функционирования цитокиновой системы необходимо повышение уровня цитокинов в ответ на инфект и экспрессия нормального количества рецепторов к ним на клетках. На поверхности клеток рецепторы появляются постепенно синтезируясь в течение 24-36 часов (время появления рецепторов IFN-α). Пик продукции цитокинов после стимуляции макрофагов наблюдается через 1-2, 6, 18-48 часов, а пик продукции IFN-γ наступает через 20 часов после первого выхода цитокинов из клетки. Максимум продукции IL-4 выражен через 24-48 часов с момента активации клеток, при этом IL-4 рассматривается как цитокин, ограничивающий иммунновоспалительные реакции и снижающий ответ организма на инфекцию, угнетая при этом экспрессию IFN-γ (Hughis P. et al., 1992; Lee J.D. et al., 1995).

Специфический (адаптивный) иммунитет определяется уникальным свойством иммунных Т- и В-лимфоцитов избирательно отвечать на чужеродные, в т.ч. вирусные, антигены и формировать специфическую иммунологическую память, которая выражается в усиленной и ускоренной реакции на повторную встречу с этим же инфекционным агентом (Е. А. Репина, 2010). Существует два основных механизма адаптивного иммунитета: гуморальный ответ, который приводят к образованию плазматических клеток-продуцентов разных классов иммуноглобулинов (IgA,

IgM, IgG, IgE, IgD) и клеточный - который заканчивается формированием двух субпопуляций эффекторных Т-клеток (цитотоксические Т-лимфоциты или Т-киллеры и эффекторные Т-лимфоциты воспаления). Кроме того, необходимо отметить, что любой иммунный ответ включает в себя две основные фазы - индуктивную и эффекторную. Содержанием индуктивной фазы являются восприятие антигенного стимула лимфоцитами и дифференцировка эффекторных клеток. На осуществление этих процессов требуется примерно 1 неделя. Содержание эффекторной фазы состоит в реализации защитных реакций эффекторными клетками; в случае гуморального иммунитета она включает также выработку антител и поэтому называется продуктивной фазой ответа. Продолжительность эффекторной фазы 1-2 недели.

В зависимости от локализации патогенов различают два варианта клеточного иммунного ответа – цитотоксический и воспалительный.

Цитотоксический иммунный ответ осуществляется Т-лимфоцитами, экспрессирующие корецептор CD8. CD8-лимфоциты (цитотоксические Т-лимфоциты) распознают антигены возбудителей, локализующихся внутри клетки (интрацеллюлярно) и представляемые на клеточную поверхность с помощью молекул МНС I класса. CD8 - уничтожают инфицированную клетку, но сами при этом выживают (Р. Я. Мешкова, 1988).

CD4- клетки распознают пептиды, связанные с молекулами МНС II класса, и в свою очередь разделяются на 2 функциональных типа: CD4 (Th1) - воспалительные Т-лимфоциты и CD4 (Th2) - Т-хелперные лимфоциты. Воспалительные Т-лимфоциты вызывают активацию инфицированных макрофагов, что приводит к разрушению внутриклеточных микроорганизмов; синтезируют IFN-γ, IL-2, TNF-α; стимулируют размножение и дифференцировку CD8-лимфоцитов; стимулируют размножение и усиливают активность NK-клеток. Т-хелперные лимфоциты активируют специфические

В-лимфоциты, вызывая их дифференцировку в антителопродуцирующие клетки. Кроме того, они секретируют ростовые факторы - IL-4, IL-5, IL-6, играющие роль в активации В-лимфоцитов, а также IL-10. Таким образом, Т-хелперные лимфоциты вызывают процессы, которые лежат в основе гуморального иммунного ответа.

Однако не все клоны Т-хелперов можно разделить на Th1и Th2. Существуют клетки, которые секретируют все типы цитокинов. Эти клетки обозначают как Т-хелперы тип 0 (Th0). Они могут быть общими прекурсорами Th1и Th2 клеток или могут быть третьей эффекторной популяцией Т-хелперов.

Для элиминации возбудителя необходим специфический клеточно-опосредованный ответ. Специфичность его определяется антиген-распознающими CD8+ лимфоцитами, которые пролиферируют, активируются и формируют клон эффекторных цитотоксических лимфоцитов. Решающий момент специфического иммунного ответа – это ответ CD4+ лимфоцитов с хелперной направленностью на распознавание антигена. На этом этапе определяется форма иммунного ответа: с преобладанием антител (гуморального) или с преобладанием клеточных реакций. Направление дифференцировки CD4+ контролируется цитокинами, которые образуются в ходе воспалительной реакции. В присутствии IL-12 и IFN-γ CD4+ лимфоциты дифференцируются в воспалительные Th-1клетки, начинают продуцировать и секретировать IL-2, IFN-γ, TNF-α и определяют клеточный характер специфического иммунного ответа. Присутствие IL-12 обеспечивается его продукцией макрофагами, а IFN-γ – естественными киллерами, которые были активированы на ранней стадии ответа на вирусную инфекцию. В присутствии интерлейкина -4 CD4+-лимфоциты начинают дифференцироваться в хелперы Th-2, которые начинают

синтезировать IL-4, IL-5, IL-6, TNF-α и запускают гуморальный иммунный ответ, т.е. синтез специфических антител – иммуноглобулинов.

Известно, что роль гуморального звена иммунитета в иммунном ответе велика. Гуморальный иммунный ответ опосредован молекулами антител, которые синтезируются плазматическими клетками, и ведет к разрушению внеклеточных микроорганизмов и предотвращает распространение внутриклеточных патогенов. Гуморальные антитела представляют собой иммуноглобулиновые АГ-связывающие рецепторы В-лимфоцитов. В основе их специфического действия лежит соответствие активного центра антител пространственной конфигурации антигенной детерминанты. Антитела выполняют две основные функции: специфически связываются с молекулами патогенов, вызывающих иммунный ответ и рекрутируют другие клетки и молекулы для разрушения патогена. Свои функции антитела реализуют с помощью процессов нейтрализации, опсонизации и активации комплимента. В зависимости от структурной организации иммуноглобулины разделены на 5 основных классов (изотипов): IgA, IgM, IgG, IgE и IgD. Каждый изотип Ig имеет свои специализированные функции.. Значение их в противовирусном иммунитете неодинаково. Наибольшую роль играют IgG, IgM и IgA.

Иммуноглобулины класса М возникают в результате первичной реакции организма на антиген. Они появляются первыми на ранних стадиях инфекции. Они являются эффективными в виролизисе и агглютинации вируса. IgM синтезируются без помощи CD4+-Т-клеток, но секретируемые этими клетками цитокины необходимы для переключения с IgM на синтез IgG.

Иммуноглобулины класса G образуются в более поздние сроки. Они составляют 70-80% иммуноглобулинов сыворотки крови. Эти антитела играют важную роль в формировании протективного иммунитета, участвуют в элиминации вируса и защите от реинфекции, контролируют репликацию

вирусов. Особенно эффективны IgG в нейтрализации вируса. Антитела IgG способны проникать через плаценту и передаваться от матери к плоду, обеспечивая трансплацентарный иммунитет.

Секреторные IgA наряду с IgG обеспечивают локальный иммунитет. Они важны для формирования местного иммунитета при вирусных инфекциях.

Учитывая происходящие иммунные реакции при вирусных инфекциях, направленные на элиминацию возбудителя и восстановление организма после инфицирования, нельзя все же забывать о том, что фактически все вирусы подавляют иммунную систему. Основной и очевидный путь подавления иммунной защиты вирусами - это репликация вируса в клетках, обеспечивающих иммунитет. Инфицирование лимфоидных или моноцитарных клеток может приводить к направленному их разрушению. Уменьшение количества иммунокомпетентных клеток однозначно провоцирует снижение иммунной функции в целом. Даже если одна субпопуляция клеток инфицирована, возникают патологические изменения во всей иммунной системе [113]. Высокоцитотоксические вирусы (например, аденовирусы, энтеровирусы) способны персистировать в лимфоцитах и макрофагах, устанавливая, таким образом, культуральное равновесие с клеточной популяцией. В присутствии этих персистирующих вирусов инфицированные клетки могут нормально функционировать, прекращать или изменять свои функции. Одной из таких функций считается повышение активности клеток-супрессоров. Большинство супрессорных клеток, описанных при вирусных инфекциях, являются CD3+/CD8+-клетками, или макрофагами, хотя B-, NK и NK-T-клетки также обладают супрессорной активностью.

Цитокины, продуцируемые лимфоцитами, макрофагами или инфицированными клетками, так же могут выполнять функцию

супрессорных факторов. Эти цитокины либо специфически подавляют иммунный ответ к вирусам (IL-4, IL-12), либо обладают неспецифической активностью. Другим примером физиологического фактора, который может сдерживать иммунные реакции в процессе инфекции, является интерферон-γ (IFN-γ). Несмотря на то, что IFN-γ обладает прямым антивирусным и иммуностимулирующим действием, при определенных обстоятельствах он может быть иммуносупрессором и у больных с вирусассоциированной инфекцией может быть обнаружено значительное подавление синтеза интерферона, играющего важную роль в поддержании гомеостаза на уровне нейроэндокринных взаимодействий [1, 8, 48, 113].

Особый интерес представляют собой класс Т-клеток, которые имеют фенотип CD3+CD4+CD25+. Помимо хелперной этот тип клеток способен выполнять супрессорную функцию, блокировать активацию Т-клеток in vitro, ограничивать пролиферацию CD4+- и CD8+-лимфоцитов in vivo. CD4+CD25+-Т-лимфоциты известны как регуляторные Т-лимфоцититы или Т-регуляторные клетки (T_{reg}) [42, 168]. Для супрессии иммунного ответа T_{reg} выделяют цитокины TGF-β, IL-10, IFN-γ, IL-4. Мишенями действия Т-регуляторных клеток являются как эффекторные, так и дендритные клетки и макрофаги, ответственные за презентацию антигена и активацию Т-клеток [41, 193]. Влияние T_{reg} заключается в подавлении продукции провоспалительных цитокинов, в индукции апоптоза, снижении генерации Th1 и Th2, а также продукции ими цитокинов, подавлении цитотоксической активности и продукции IFN-γ естественными киллерами и CD8+ - цитотоксическими лимфоцитами. Весь этот арсенал иммуносупрессии направлен на снижение повреждающего воздействия локальных и системных воспалительных реакций, сопровождающих иммунный ответ, но он же в ряде случаев снижает эффективность последнего, способствуя длительной персистенции возбудителя и развитию хронической инфекции.

Все выше сказанное говорит о том, что успешная элиминация возбудителя инфекции осуществляется в результате необходимого баланса между эффекторными и регуляторными механизмами защиты, а его нарушение лежит в основе неблагоприятного её течения или исхода.

1.3.2. Иммунный ответ при энтеровирусных менингитах

Энтеровирусы, как антигенный раздражитель стимулируют развитие иммунной реактивности, а как внутриклеточный паразит подавляют функциональную активность иммунокомпетентных клеток и превращают их в мишень для действия цитотоксических клеток. Рассматривая вопрос об иммунном ответе при ЭВИ, необходимо учитывать, что энтеровирусы являются остро цитопатическими вирусами. Инфекция, вызываемая такими вирусами, приводит к чрезмерному повреждению инфицированных тканей и быстрому их распространению [7, 8, 121].

Вопрос динамики иммунологических реакций при энтеровирусных менингитах в литературе неоднозначен, хотя существуют работы, в которых описаны клинико-иммунологические особенности течения серозных менингитов у детей в зависимости от возраста, преморбидного состояния, описаны изменения и особенности острого и постинфекционного периодов болезни [8, 38, 66, 69, 72, 108, 112, 150, 155].

Установлено, что у подростков в острый период заболевания низкий уровень NK-клеток и цитотоксических лимфоцитов при сохраненной или повышенной продукции провоспалительных цитокинов, которые могут свидетельствовать о потреблении этих клеток в ходе иммунных реакций или супрессии клеточно-опосредованных механизмов иммунного ответа, вызванного воздействием вируса на иммунокомпетентные клетки или на

фоне гормонального дисбаланса в пубертатном периоде. Особенностью иммунологической перестройки при энтеровирусном менингите у подростков и взрослых больных, в отличие от детей, является снижение показателей клеточного звена иммунитета: CD3+, CD8+ и CD16+ лимфоцитов на протяжении длительного времени. В острый период заболевания у подростков определяется нормальный уровень CD3+-лимфоцитов, содержащих IFN-γ и IL-2, повышенный уровень CD3+TNF-α и CD3+IL-4, но при этом наблюдается снижение функциональной активности всех популяций CD3+- лимфоцитов [7, 8]. Имеются данные (С. Н. Ешмолов, Н. Г. Ситникова, И. М. Мельникова, 2012г), что у обследованных лиц в возрасте от 7 до 14 лет присутствуют изменения со стороны иммунной системы, которые свидетельствуют о нарушении баланса цитокиновго профиля за счет усиления продукции и выброса провоспалительных и уменьшения роли противовоспалительных цитокинов на фоне угнетения выработки IFN-γ. Отмечают снижение показателей местного гуморального иммунитета: IgA и IgG и В-клеточного звена иммунитета, снижение резервных возможностей нейтрофилов [38, 120]. В 2012 г Мишакина Н. О. в своей работе показала, что на первой неделе заболевания для детей 3-6 и 13-17 лет характерен Th2 иммунный ответ, для пациентов 7-12 лет - Th2/Th1. Критериями тяжести энтеровирусного менингита были высокий уровень CD4+ -лимфоцитов, депрессия CD3+, CD8+, CD23+ и CD11b - лимфоцитов, низкий уровень IgA и IgM, высокие показатели циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК). Уровень провоспалительных цитокинов при этом положительно коррелировал с неврологической симптоматикой [96]. В работе Хамановой Ю. Б. (2013 г) указано, что в остром периоде менингеальной формы ЭВИ у детей дошкольного возраста противовирусная защита осуществляется за счет клеток врожденного иммунитета (фагоцитарно активные моноциты и нейтрофилы) и спонтанной субпопуляции CD3+-лимфоцитов, содержащих IFN-γ , TNF-α, IL-2 и IL-4; у детей школьного возраста – за счет раннего

формирования первичного иммунного ответа и увеличения числа стимулированных CD3+-лимфоцитов, содержащих цитокины [150]. Было показано, что на ранних стадиях заболевания при энтеровирусном менингите первичной защитной реакцией является кооперация фагоцитарного звена иммунитета и клеточно-опосредованных механизмов [66]. Известно о наличии зависимости основных клинических симптомов острого периода от стартового уровня CD3+лимфоцитов, содержащих провоспалительные цитокины; описана зависимость длительности санации ликвора от уровня исходных иммуннологических показателей [7, 8, 37, 66, 96, 106, 120, 121].

Таким образом, в анализируемой литературе достаточно информации о том, что на территории нашей страны и не только циркулирует множество серотипов энтеровирусов, которые вызывают многочисленные вспышки заболеваемости серозными менингитами. Выделены и названы наиболее часто встречаемые серотипы ЭВ. Описаны клинические признаки заболевания, изменения иммунологических показателей, особенности течения инфекции в зависимости от возраста пациентов, преморбидного состояния. Однако, по нашему мнению, вопросы о значимости типа возбудителя в развитии заболевания (тип энтеровируса) и особенностях иммунного ответа при этом недостаточно полно изучены и требуют дальнейшего анализа. Кроме того, в большинстве работ фрагментарно описаны корреляционные связи между иммунологическими показателями и клиническими симптомами серозных менингитов, длительностью заболевания и временем санации ликвора, неврологическими симптомами. Недостаточно сведений о том, как взаимосвязаны показатели клеточного, гуморального и фагоцитарного звеньев иммунитета, зависит ли кооперация иммунокомпетентных клеток от типа энтеровирусов, возраста больных. Выше сказанное и послужило основанием для выполнения данной работы.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Общая характеристика наблюдений

В работе представлены материалы обследования 3733 детей с диагнозом энтеровирусная инфекция (ЭВИ), менингеальная форма в 2003-2014 гг. Исследование проведено в 2 этапа. Первый этап – ретроспективное исследование с целью изучения спектра возбудителей ЭВИ у детей г.Екатеринбурга в период 2003-2014 гг. и выделения ведущих типов энтеровирусов (таблица 1).

Таблица 1 - Этапы, методы и объем исследований

Содержание этапа исследования	Методы	Объем информации	
		Количество обследован-ных лиц	Количество единиц информации
I этап : исследование спектра возбудителей ЭВИ у детей г.Екатеринбурга в период 2003-2014 гг. и выделение ведущих типов энтеровирусов	Вирусологические	3733	12436
	Серологические	3733	26372
	Молекулярно-биологические	1704	1704
II этап: оценка клинических и иммунологических изменений у детей при ЕСНО- и Коксаки В-вирусных менингитах	Вирусологические	141	543
	Серологические	141	864
	Молекулярно-биологические	100	100
	Иммунологические	141 (группа наблюдения) 60 (группа здоровых детей)	5448 1620
Итого:		3733	49087

Второй этап работы включал в себя ретроспективное и проспективное исследование. Для оценки клинико-иммунологических изменений у детей с ЕСНО- и Коксаки В-вирусными менингитами из всего числа обследованных (n=373З) методом случайной выборки были набраны дети в количестве 141 человека двух возрастных групп (3-7 и 8-14 лет).

В соответствии с целями и задачами, поставленными в работе, пациентам (n=141) были проведены комплексные иммунологические, вирусологические, серологические и молекулярно-биологические исследования (таблица 1) на базе МАУ «Клинико-диагностический центр» (главный врач - д. м. н., профессор Я. Б. Бейкин). После установления этиологического диагноза (этиологического агента ЕСНО/Коксаки В) ретроспективно было выделено две группы: в первую группу вошли дети, у которых возбудителем ЭВИ явились вирусы ЕСНО (86 человек); вторую группу составили дети, у которых возбудителем заболевания явились вирусы Коксаки В (55 человек). Анализ полученных результатов иммунологических исследований проводили в сравнении с данными обследования практически здоровых детей 3-14 лет (n=60), проживающих в г.Екатеринбурге. Анамнез заболевания и течение энтеровирусной инфекции были проанализированы по историям болезни детей (n=141), проходивших лечение в МАУ ГКБ №40 г.Екатеринбурга (главный врач А. И. Прудков).

2.2. Методы исследования

2.2.1. Вирусологические методы исследования

Лабораторное обследование и интерпретацию результатов вирусологических исследований осуществляли в соответствии с методическими указаниями «Эпидемиологический надзор и профилактика

энтеровирусных (неполио) инфекций» [95]. Инфекционным материалом служили носоглоточные смывы и трехкратные пробы фекалий.

Энтеровирусы (ЭВ) выделяли методом заражения перевиваемых клеточных линий, при котором присутствие вируса в пробе инфекционного материала вызывает дегенерацию клеток или цитопатогенное действие (ЦПД). Для увеличения вероятности выделения ЭВ из исследуемого материала рекомендуется применение не менее двух видов культур клеток, одной их которых должна быть клеточная линия RD [127]. Нами использовано три вида ткани: RD (культура клеток, полученная из рабдомиосаркомы человека), Hep-2 (культура клеток, полученная из эпидермоидной карциномы человека) и L20B (культура клеток, созданная на основе мышиной линии L-клеток). Все ткани были получены из Регионального центра эпидемиологического надзора за ПОЛИО/ОВП (ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Свердловской области, Роспотребнадзора). Идентификацию ЭВ проводили в реакции нейтрализации инфекционности в микротитровальных панелях (микрометод) с помощью стандартных типоспецифических иммунных сывороток производства ИПВЭ РАМН им.М. П. Чумакова [22, 127].

2.2.2. Серологические методы исследования

Для диагностических целей были исследованы парные пробы сыворотки крови. Первые образцы были взяты в первые дни заболевания, вторые не ранее, чем через 14-21 день от начала заболевания. Вируснейтрализующие антитела к ЭВ определяли в реакции нейтрализации (микрометод) с аутоштаммами (штаммы ЭВ, выделенные от обследованных

пациентов) и эталонными штаммами вирусов Коксаки В1, Коксаки В3 и Коксаки В5.

В целом, алгоритм обследования больных ЭВИ предусматривал: индикацию, идентификацию вируса и определение сероконверсии титра антител к аутоштамму; при отрицательном результате вирусологического исследования - определение диагностического нарастания титров антител к «местным» штаммам (определенные типы энтеровирусов, выделенные в период подъемов заболеваемости от значительного числа больных); определение антител к эталонным штаммам энтеровирусов.

В ходе работы были рассчитаны и определены отрицательные логарифмы (log_2) и средние геометрические титров антител к энтеровирусам [22].

2.2.3. Иммунологические методы исследования

Любые изменения иммунограммы человека «как повышение, так и снижение ее показателей» в подавляющем большинстве случаев свидетельствует о степени и характере активации полноценной иммунной системы в процессе борьбы с чужеродными агентами [47]. Для выявления и определения степени выраженности специфических изменений в клеточном и гуморальном звене иммунитета, а также в системе факторов неспецифической защиты использовали комплекс иммунологических тестов.

Параметры общего анализа крови регистрировали с помощью гематологического анализатора «Cobas Micros 60» («ABX»). Иммунофенотипирование субпопуляций лимфоцитов проводили с использованием моноклональных антител CD3-FITC/CD19-PE, CD3-

FITC/CD4-PE, CD3-FITC/CD8-PE, CD3-FITC/CD16+56-PE («IO Test», США) методом лазерной проточной цитофлюориметрии на цитометре «Epics XL» («Beckman Coulter»). Для оценки поглотительной активности нейтрофилов и моноцитов периферической крови, а также внутриклеточного киллинга (бактерицидной активности лейкоцитов) использовали методы, разработанные в лаборатории клинической иммунологии Института иммунологии Минздрава РФ. Функционирование НАДФ-оксидазной системы нейтрофилов оценивали при помощи спонтанного и стимулированного НСТ-теста (Демин А.А., 1981). Концентрации сывороточных иммуноглобулинов IgA, IgM, IgG в сыворотке крови определяли методом радиальной иммунодиффузии в агаре по Mancini (1965). Содержание ЦИК оценивали методом преципитации в растворе ПЭГ-6000 (Ю. Л. Гриневич, 1981). Оценку внутриклеточного синтеза цитокинов (IL-2, IL-4, IFN-γ и TNF-α) Т-лимфоцитами проводили в условиях 4-часовой инкубации в присутствии брефельдина А, без стимуляции (спонтанная экспрессия) и при стимуляции Phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) («Sigma», 25 ng/ml) и иономицином («Sigma», 1 μg/ml) при 37 °C (стимулированная экспрессия). Окрашивание проводили с использованием моноклональных антител: фикоэритрин (PE)-коньюгированные анти-IFN-γ, анти-IL-4, анти-IL-2, анти- TNF-α («IO Test» и фикоэритринцианин 5.1 (PC-5)-коньюгированные CD3 («IO Test»).

Был оценен иммунный статус и показатели общего анализа крови у 60 практически здоровых детей, которые составили группу сравнения (дети 3-7 лет в количестве 33 человек и 8-14 лет - 27 человек). Результаты обследования представлены в таблице 2, 3.

Таблица 2 - Показатели иммунограммы здоровых детей (группа сравнения), (M±m)

Показатели	Здоровые дети	
	3-7 лет (n=33)	8-14 лет (n=27)
Лимфоциты,x10^9/л	3,25±0,2	2,25±0,4
Моноциты, x10^9/л	0,52±0,05	0,46±0,04
Гранулоциты, x10^9/л	3,64±0,28	3,6±0,27
Т-лимф. (CD3+),x10^9/л	2,34±0,7	1,61±0,11
В-лимф. (CD19+), x10^9/л	0,5±0,04	0,33±0,03
Т-хелперы (CD3+CD4+), x10^9/л	1,32±0,11	0,92±0,07
Т-цитотокс. (CD3+CD8+), x10^9/л	0,81±0,07	0,54±0,04
Т-активир. (HLA-DR+ CD3+), x10^9/л	0,05±0,02	0,02±0,01
NK- лимфоциты (CD3-CD16+CD56+),x10^9/л	0,31±0,03	0,23±0,03
TNK (CD3+CD16+CD56+),x10^9/л	0,026±0,004	0,2±0,001
IgA,мг/мл	0,96±0,07	1,39±0,15
IgM,мг/мл	1,36±0,07	1,54±0,13
IgG, мг/мл	8,96±0,42	11,56±0,42
ЦИК,ед.опт.пл.	26,65±2,77	30,53±3,85
НСТ спонт,%	9,0±1,78	11,74±2,47
НСТ стим,%	13,5±2,24	11,33±2,55
Бактер.активность,%	42,33±2,27	39,96±2,41
Активн.фаг-за (моноциты),x10^9/л	0,41±0,04	0,37±0,03
Активн.фаг-за (нейтрофилы),x10^9/л	3,40±0,17	3,24±0,22
CD3+IFN-γ (ст),x10^9/л	0,18±0,02	0,23±0,02
CD3+IFN-γ (сп),x10^9/л	0,006±0,001	0,006±0,001
CD3+TNF-α (ст),x10^9/л	0,57±0,06	0,68±0,06
CD3+TNF-α (сп),x10^9/л	0,02±0,002	0,015±0,001
CD3+IL-2+ (ст),x10^9/л	0,37±0,04	0,48±0,06
CD3+IL-2+(сп),x10^9/л	0,01±0,002	0,01±0,001
CD3+IL-4+ (ст),x10^9/л	0,01±0,002	0,009±0,001
CD3+IL-4+ (сп),x10^9/л	0,001±0,001	0,001±0,001

Таблица 3 - Показатели гемограммы здоровых детей (группа сравнения), (M±m)

Показатели	Здоровые дети	
	3-7 лет (n=33)	8-14 лет (n=27)
Лейкоциты, 10^9/л	7,7±0,34	6,32±0,33
Лимфоциты, 10^9/л	3,25±0,22	2,25±0,14
Моноцииты, 10^9/л	0,5±0,05	0,46±0,04
Граунлоциты, 10^9/л	3,64±0,28	3,6±0,27
Гемоглобин, г/л	121,12±1,41	131,89±2,52
Гематокрит, %	36,31±0,45	39,07±0,77
Тромбоциты, 10^9/л	273,4±12,59	268,72±14,38
Эритроциты, 10^9/л	4,55±0,06	4,73±0,09
Средний объем эритроцита (MCV)	79,85±0,62	82,7±0,80
Среднее содержание Hb в эритроциты (MCH)	26,64±0,26	27,96±0,32
Средняя концентрация Hb в эритроците (MCHC)	333,7±1,53	337,63±1,29
Распределение эритроцитов по объему (RDW)	13,03±0,15	12,74±0,13
Средний объем тромбоцитов (MPV)	8,04±0,10	8,27±0,14
Тромбокрит (PCT)	0,2±0,01	0,2±0,01
Распределние тромбоцитов по объему (PDV)	13,68±0,25	14,21±0,28

2.2.4. Молекулярно-биологические методы исследования

С помощью метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) было обследовано 1704 ребенка, поступивших в инфекционное отделение ГКБ №40 г.Екатеринбурга. Образцы спинномозговой жидкости (СМЖ) забирали у больных менингитом в первые дни болезни. Ликвор отбирали в рамках обычной диагностической спинномозговой пункции с использованием одноразовых пункционных игл и стерильных одноразовых пробирок типа «Эппендорф». Выявление РНК энтеровирусов выполняли в соответствии с инструкцией по применению наборов реагентов «АмплиСенс Enterovirus – EPh» и «АмплиСенс Enterovirus – FL», производства ФГУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (г. Москва) в четыре этапа:

1) экстракция (выделение) РНК энтеровирусов из проб СМЖ методом аффинной сорбции на частицах селикагеля с использованием наборов «АмплиСенс РИБО-сорб» и «АмплиСенс РИБО-преп» с присутствием внутреннего контрольного образца (ВКО STI-87-rec) для контроля выполнения процедуры исследования в каждой пробе;

2) получение комплементарной ДНК (кДНК) ЭВ с помощью реакции обратной транскрипции с применением набора «АмплиСенс Реверта-L»;

3) реакция амплификации участка кДНК ЭВ с использованием специфических к этому участку ДНК праймеров, фермента Tag – полимеразы и флюоресцентно-меченых олигонуклеотидных зондов на термоциклерах: «Терцик» («ДНК-Технология», Москва), «GeneAmp-2400» («Applied Biosystems») и Rotor Gene 6000 (Corbett Research);

4) детекция продуктов амплификации различными методами (методом гель-электрофореза с применением реагентов «АмплиСенс - ЭФ» и учетом результатов посредством трансиллюминатора и видеосистемы;

гибридизационно-флуоресцентной детекцией, проводимой после завершения ПЦР («по конечной точке»); гибридизационно-флуоресцентной детекцией, проводимой непосредственно в ходе ПЦР («в режиме реального времени»).

Аналитическая чувствительность метода ПЦР с применением набора реагентов «АмплиСенс Enterovirus – FL» составила 5х10*3 ГЭ/мл.

2.3. Статистическая обработка данных

Статистическая обработка полученных данных произведена методом вариационной статистики с вычислением средних величин (M), ошибки средней величины (m), среднего квадратического отклонения (σ) и соответствия распределения нормальному закону. Для установления корреляционных взаимосвязей ряда показателей использовался линейный коэффициент корреляции Пирсона (r). Показатель достоверности различий (p) определяли по таблицам Стьюдента, Фишера. Различия считали достоверными при $p<0,05$. Непараметрические данные оценивали с использование критерия χ^2 (Хи-квадрат). Методы дисперсионного и регрессионного анализа использованы для создания математической формулы определения типа вируса. Средние величины, ошибку средней, среднее квадратическое отклонение и значение коэффициента корреляции вычисляли с помощью пакета прикладных программ «Microsoft Excel» (версия 7.0).

Глава 3. ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА И КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕНИНГЕАЛЬНОЙ ФОРМЫ ЭНТЕРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

3.1. Этиологическая характеристика энтеровирусных менингитов у детей 3-14 лет в период 2003-2014 гг.

За период 2003-2014 гг. методами лабораторной диагностики было обследовано 3733 ребенка. В сопроводительных направлениях были указаны предварительные диагнозы, среди которых доминирующими были: энтеровирусная инфекция (ЭВИ) - 15,35%; ЭВИ, менингеальная форма - 56,47%; менингит - 19,2%;серозный менингит - 2,62%. Для исследования был получен материал от больных, а именно: смывы, пробы фекалий, спинномозговая жидкость (СМЖ) и пробы сыворотки крови (таблица 4).

Таблица 4 - Поступление материала на исследования, M±m

Материал	n	Дни поступления материла		
		M	σ	m
Смыв	3041	3,87	3,17	0,06
Фекалии, 1 проба	3115	5,04	3,74	0,07
Фекалии, 2 проба	3115	5,67	7,49	0,15
Фекалии, 3 проба	2419	5,23	3,25	0,07
Сыворотка крови, 1 проба	3508	3,49	2,49	0,05
Сыворотка крови, 2 проба	2716	16,07	16,32	0,35
СМЖ	1704	3,0	2,53	0,14

Полноценный материал (смыв, 3 пробы фекалий, 2 пробы сыворотки) был получен в 78,3% случаев, пробы СМЖ – в 45,6%. Смывы были взяты в среднем на 3,87±0,06 день от начала болезни, пробы фекалий с 5,04±0,07 по 5,67±0,15 день, первая пробы сыворотки крови - 3,49±0,05 день, вторая проба - 16,07±0,35 день от начала болезни, образцы СМЖ - 3,0±0,14.

При анализе количества обследованных в разрезе ежегодного поступления материала и выделения энтеровирусов (ЭВ) были установлены некоторые закономерности (рисунок 1).

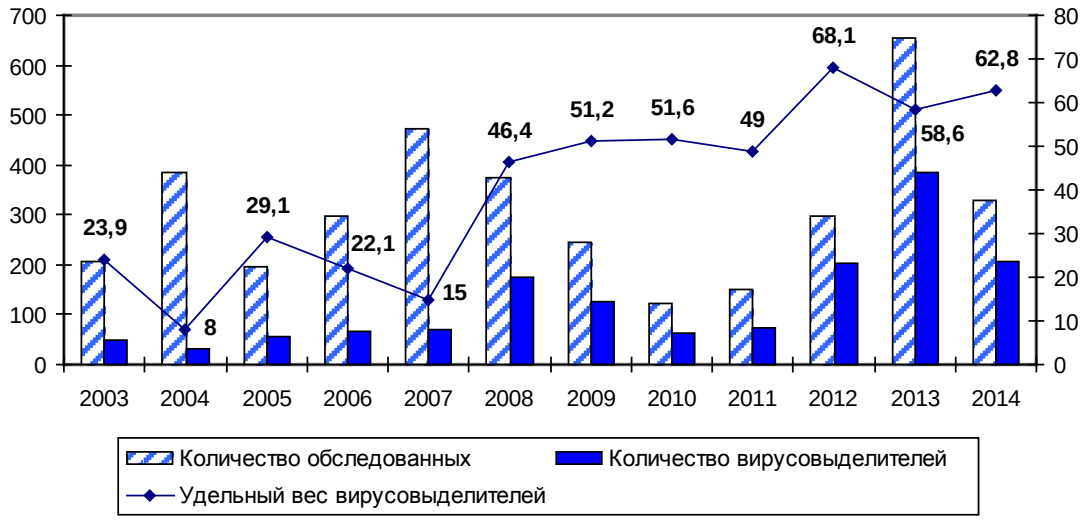


Рисунок 1 - Количество обследованных и вирусовыделителей

в 2003-2014гг.

Наибольшее число обследованных детей в возрасте от 3 до 14 лет отмечали в 2004 году – 10,2%, 2007 - 12,5%, 2008 – 10,0%, 2013 – 17,5%. Однако, большое количество обследованных лиц в эти годы не всегда сопровождалось высоким уровнем выделения ЭВ из материалов.

Так, если количество детей в 2004 году составило 386 человек, то лишь у 31 из них были выделены ЭВ (8,0%); в 2007 году - обследовано 472 человека, вирусовыделителей - 71 (15,0%). Тем не менее, в большинстве случаев увеличение количества заболевших детей сопровождалось и

достаточно высоким уровнем выделения ЭВ. В 2008 году поступил материал от 375 пациентов, у которых в 46,4% были выделены ЭВ разных типов, в 2012 году из 298 обследованных детей ЭВ обнаружены в 68,1%, в 2013 году в 58,6% случаев. Годы, когда количество заболевших было близко к средним значениям ежегодного поступления материала, уровень выделения ЭВ колебался от 22,1% до 62,8%.

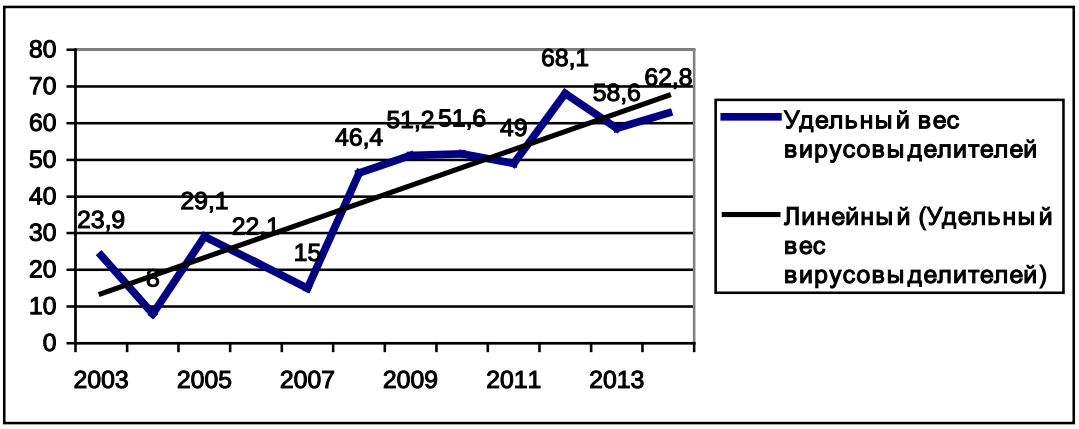


Рисунок 2- Динамика выделения энтеровирусов в период 2003-2014гг.

Оценивая количество выделенных вирусов в целом за период 2003-2014гг. можно отметить тенденцию к увеличению удельного веса вирусовыделителей среди заболевших лиц (рисунок 2).

В 2003-2014гг. были выделены разные типы ЭВ (рисунок 3). Абсолютные и относительные показатели обнаружения ЭВ указывают на лидирующее положение вирусов ЕСНО (31,3%) и Коксаки В (34,3%). Среди вирусовыделителей установлено значительное количество лиц, у которых заболевание вызвано микстами вирусов ЕСНО и Коксаки В (21,8%). Нетипирующийся цитопатогенный агент (н/т ЦПА) в 7,9% случаев не исключает возможность инфицирования энтеровирусами других серотипов.

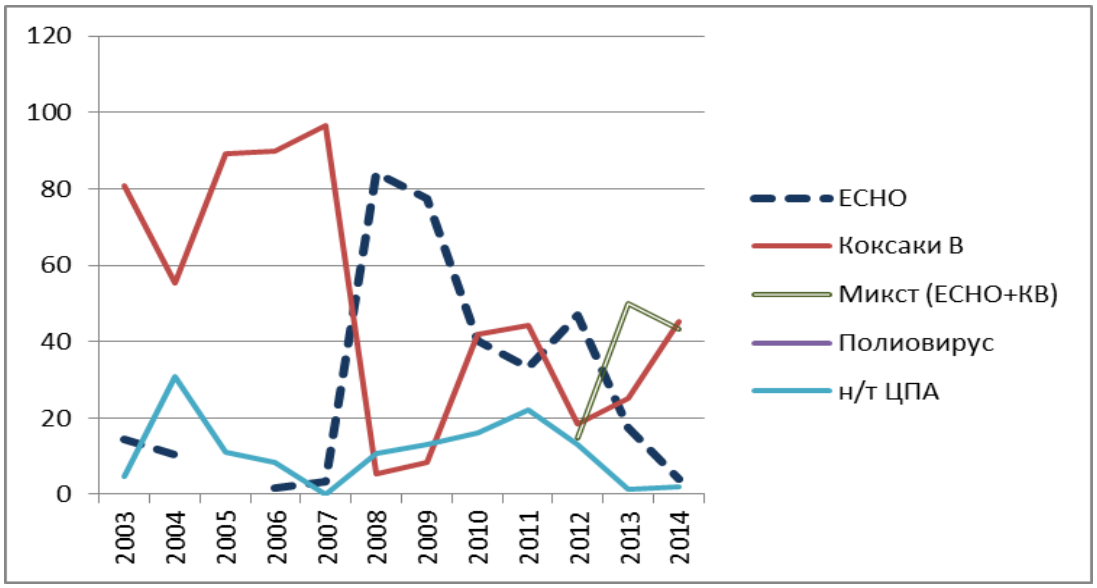


Рисунок 3 - Выделение энтеровирусов разных типов в 2003-2014 гг.

В динамике выделения ЕСНО и Коксаки В (КВ) вирусов наблюдали волнообразный характер и смену одного ведущего этиологического агента другим (рисунок 4).

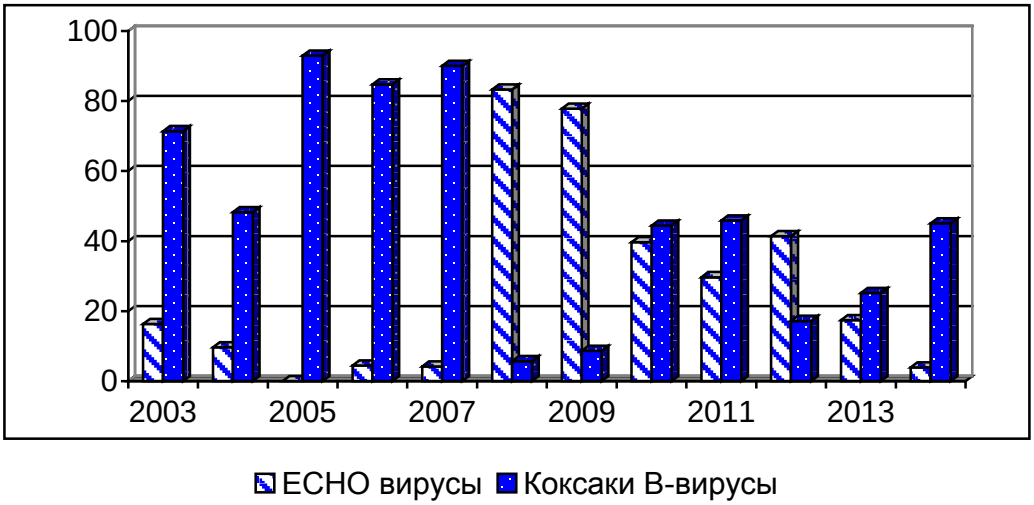


Рисунок 4 - Динамика выделения энтеровирусов ЕСНО и Коксаки В в 2003-2014 гг.

В период 2003-2007гг. от больных менингеальной формой энтеровирусной инфекцией (ЭВИ) были преимущественно выделены вирусы КВ, причем максимальный удельный вес вирусовыделителей - в 2005г (93,0%), 2006г (84,8%) и 2007г (90,1%). В 2008-2009 гг. наблюдали резкий спад обнаружения КВ (5,7 и 8,7% соответственно), а в 2010-2011гг.- нарастание количества лиц, инфицированных вирусами КВ (44,4 и 45,9% соответственно). В 2013 и 2014 году установлено значительное число вирус-вирусных ассоциаций (ЕСНО+КВ) – 50,0 и 43,2% соответственно.

Вирусы ЕСНО разных серотипов наиболее активно проявляли себя в 2008г (41,6%г), в 2009г (33,8%) и в 2013 году (18,1%).

Рассматривая спектр выделенных ЭВ среди ЕСНО и КВ типов, установлены наиболее часто встречаемые серотипы (рисунок 5).

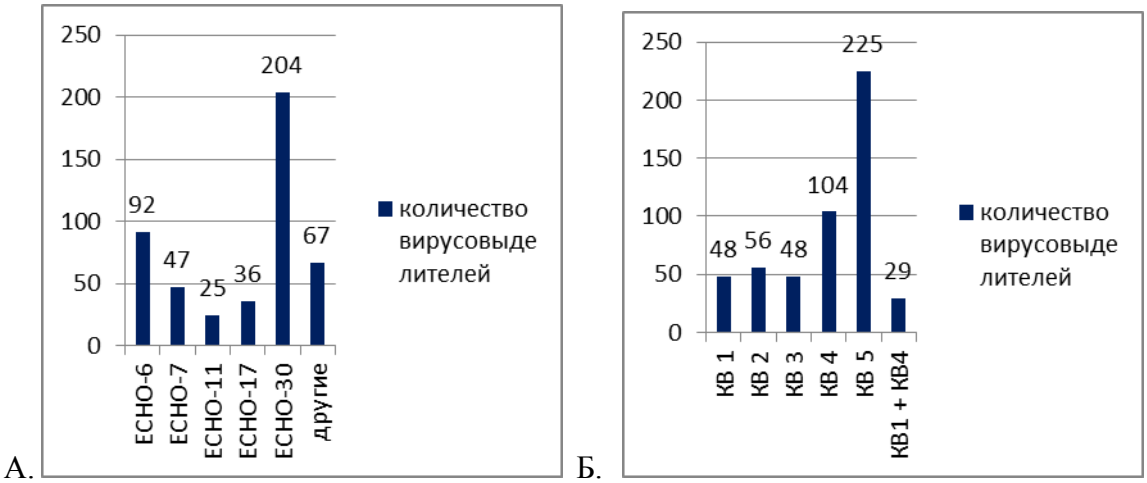


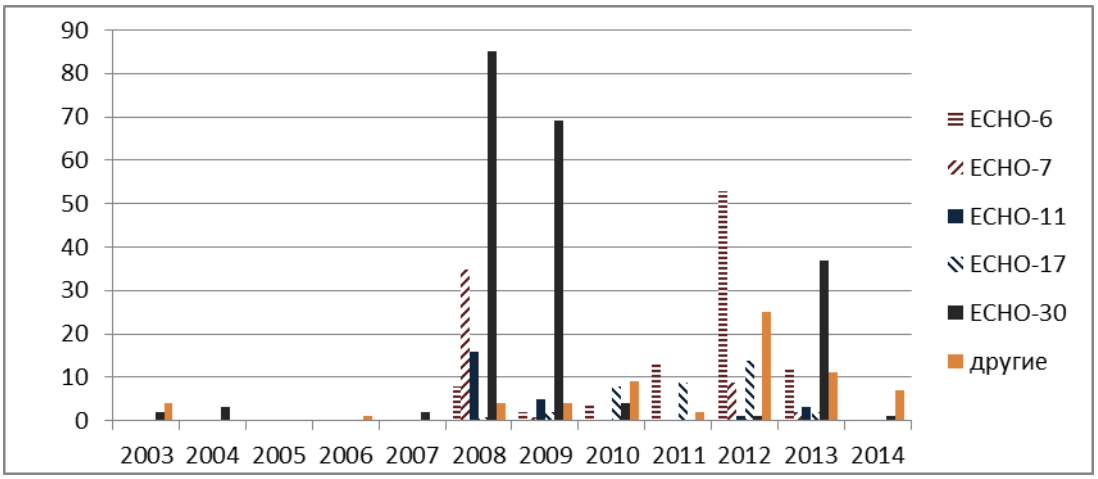
Рисунок 5 - Спектр ЕСНО и Коксаки В вирусов.

А - спектр ЕСНО вирусов, Б - спектр вирусов Коксаки В.

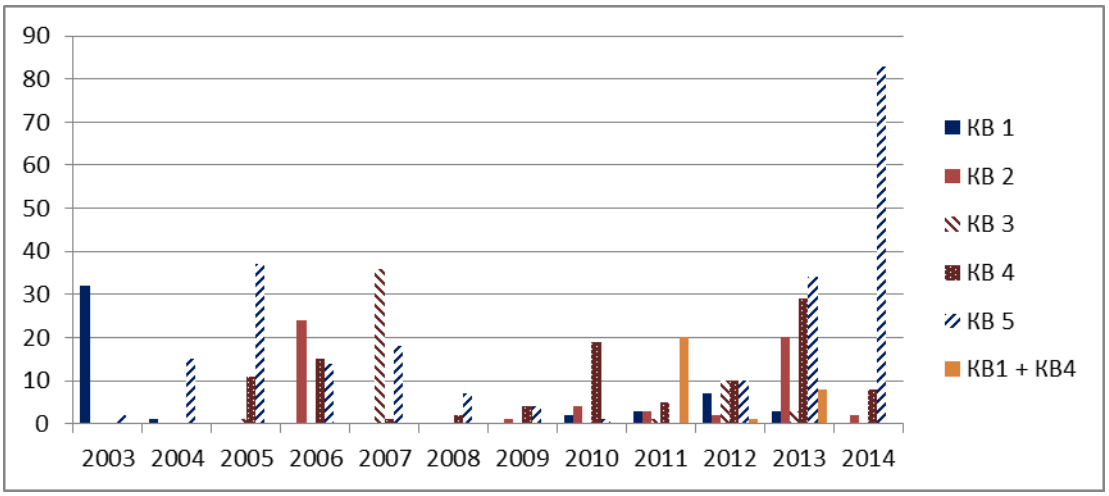
Среди вирусов ЕСНО лидирующее место занимали вирусы ЕСНО - 30 (204 вирусовыделителя), ЕСНО - 6 (92 чел.), ЕСНО - 7 (47 чел.). Помимо вышеназванных серотипов были выделены ЕСНО - 11 (25чел.), ЕСНО - 17 (36 чел.). Установлены лица, у которых обнаружено сочетание вирусов ЕСНО разных серотипов (ЕСНО 17+18, ЕСНО 19+24, ЕСНО 2+17 и др.). Вирусы КВ

разных типов выделяли на протяжении всего наблюдаемого периода. Ведущее значение в развитии ЭВИ занимали вирусы Коксаки В5 (225 вирусовыделителей) и Коксаки В4 (104 чел.). Достаточно часто выделяли вирусы КВ1 (48чел.), КВ2 (56 чел.), КВ3 (48 чел.). В 2011 году в 29 случаях установлено сочетание вирусов КВ1 и КВ4.

Для ЭВ разных серотипов отмечены периоды, когда их выделение было наибольшим (рисунок 6).



А



Б

Рисунок 6 - Спектр вирусов ЕСНО и Коксаки В в 2003-2014гг.

А - спектр ЕСНО вирусов, Б - спектр вирусов Коксаки В.

Вирусы ЕСНО - 30 со значительным преимуществом выделяли в 2008, 2009 и 2013 гг. (41,6% , 33,8% и 18,1% соответственно). В единичных

случаях ЕСНО - 30 обнаруживали в 2003, 2004, 2007, 2010 и 2012гг. Серотип ЕСНО - 7 был выделен в 2008г (74,4%), ЕСНО - 11 в 2008 (64,0%) и 2009 (20,0%) годах. В 2010-2012гг. к группе ведущих ЕСНО - вирусов присоединились серотипы ЕСНО - 18 и ЕСНО - 17.

В разные годы (2003-2014гг.) установлены доминирующие серотипы вирусов КВ. В 2003 году этиологическим агентом ЭВИ преимущественно выступали вирусы КВ1 (66,6%), в 2005 и 2014 г.г. - КВ5 (16,4% и 36,8% соответственно), 2007 - КВ3 (75,0%), 2013 год - КВ4 (27,8%).

Для периода 2011-2014гг. характерно выделение вирус-вирусных ассоциаций ЭВ, а именно: в 2011г. – сочетание КВ 1 и КВ 4 (95,2% от всех выделителей КВ 1+КВ 4), в 2013 и 2014 гг. - КВ и ЕСНО (60,9% и 28,25% от всех выделителей ЕСНО+КВ соответственно).

В реакции нейтрализации с аутоштаммами был исследован материал (парные пробы сыворотки крови) от 1273 вирусовыделителей (84,7%). Отрицательный логарифм среднего геометрического титра антител с основанием 2 (log_2) в первой пробе составил 1,78, что соответствует титру 1:3,5. Значение log_2 во второй пробе сыворотки крови было равно 4,0, титр - 1:16,0 (рисунок 7).

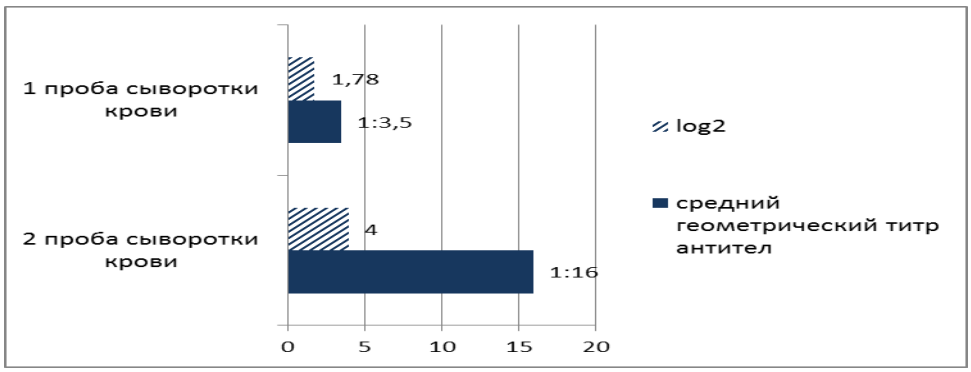


Рисунок 7 - Средние геометрические титры антител в реакции нейтрализации с аутоштаммами.

Диагностическое нарастание титра антител (в 4 и более раз) к аутоштаммам было выявлено у 520 вирусовыделителей (34,5%). Кроме того, у 405 детей (26,9%) титры были определены, но не наблюдалось диагностического прироста. Таким образом, выделение вирусов из патологического материала в 61,5% случаев сопровождалось либо нарастанием, либо наличием титра антител к аутоштаммам, что подтверждает этиологическую значимость выделенных вирусов.

В период 2003-2012гг. наблюдается тенденция к снижению выделения вирусов Коксаки В (рисунок 8). При определении титров антител (а/т) к эталонным штаммам вирусов Коксаки В1, Коксаки В3 и Коксаки В5, напротив, заметно незначительное увеличение уровня антител, кроме того отмечен рост количества лиц с диагностическим нарастанием этих титров.

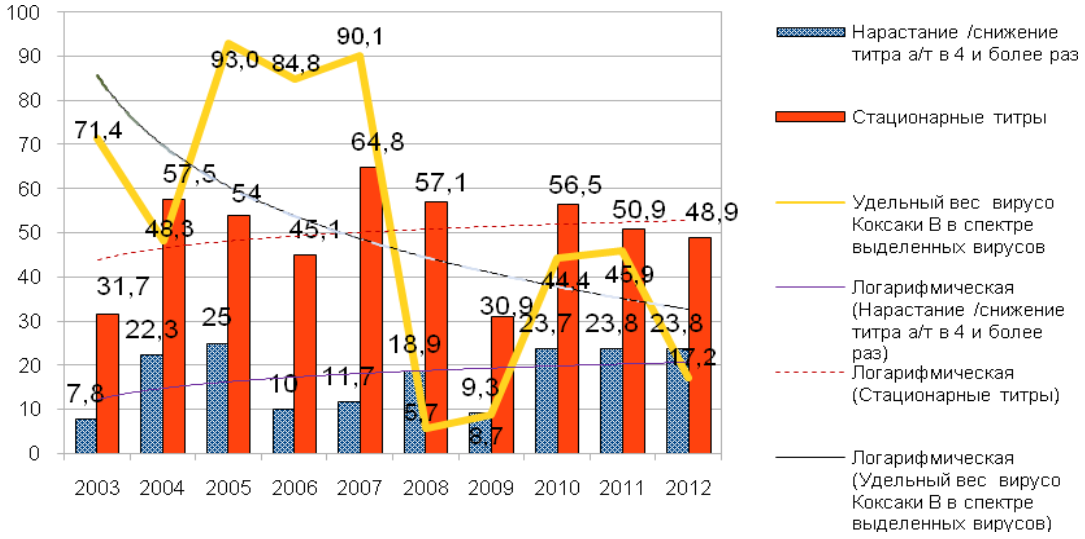


Рисунок 8 - Титры антител и удельный все выделения вирусов Коксаки группы В в 2003-2012гг.

Среди всего числа обследованных (n=3733) выявлен диагностический прирост а/т к эталонным штаммам Коксаки В у 452 человек (12,1%), снижение титра а/т наблюдали у 113 человек (3,03%), определены титры без

нарастания у 1629 детей (43,6%). Наибольшее количество лиц имели а/т к вирусу Коксаки В3 (884 человека, 23,68%).

У вирусовыделителей (n=1503) увеличение/снижение титра а/т в 4 и более раз отмечено у 258 человек (17,2%), без диагностического нарастания титры определены у 555 пациентов (36,9%). Наибольшее число детей имели а/т к вирусам Коксаки В1 и Коксаки В3.

Дети, у которых были выделены вирусы ЕСНО разных серотипов (n=466), так же имели а/т к эталонным штаммам КВ 1, КВ 3 и КВ 5. Причем, диагностическое нарастание/снижение титра наблюдали у 76 человек (16,3%), «стационарные» титры определены у 207 (44,4%) (таблица 5).

Таблица 5 - Определение титров антител к эталонным штаммам вирусов Коксаки В1, Коксаки В3 и Коксаки В5 в 2003-2014гг.

Эталонные штаммы	Нарастание титра а/т в 4 и более раз	Нет нарастания титра	Снижение титра а/т в 4 и более раз	Итого
	Среди всего числа обследованных детей (n=3733)			
КВ 1	190	556	47	793
КВ 3	149	695	40	884
КВ 5	113	378	26	517
Всего	452	1629	113	2194
	Среди вирусовыделителей (n=1503)			
КВ 1	92	177	19	288
КВ 3	50	238	15	303
КВ 5	70	140	12	222
Всего	212	555	46	813
	Выделители ЕСНО-вирусов (n=466)			
КВ 1	29	61	12	102
КВ 3	11	112	5	128
КВ 5	14	34	5	53
Всего:	54	207	22	283

Отрицательный логарифм средней геометрической титра антител (log_2) к КВ 1 в первой пробе сыворотки крови составил 1,47, во второй пробе - 1,56; к КВ 3 в первой пробе - 1,68, во второй - 1,85; к КВ 5 в первой пробе - 0,93, во второй - 1,03. При сопоставлении результатов ежегодного выделения ЭВ и результаты определения титров а/т к эталонным штаммам КВ видны некоторые закономерности. Так, если в 2003-2007гг. было преимущественное выделение вирусов Коксаки В, то и значения отрицательного log_2 среднего геометрического титра а/т к штаммам КВ были выше, чем в период 2008-2009гг., когда от пациентов преобладало выделение вирусов ЕСНО. В 2010-2012гг. с одновременным выделением вирусов КВ и ЕСНО увеличивались и показатели отрицательного log_2 титров к эталонным штаммам КВ 1, КВ 3, КВ 5. Среди вирусов КВ 1, КВ 3 и КВ 5 лидирующее место занимали вирусы Коксаки В 3 - значения отрицательного log_2 средней геометрической титра а/т значительно превышали аналогичные показатели к Коксаки В 1 и Коксаки В 5.

Из общего числа обследованных (n=3733) у 1704 человек СМЖ была исследована методом ПЦР на выявление наличия/отсутствия РНК энтеровирусов (таблица 6). Положительные результаты выявлены у 1345 детей (78,9%), отрицательные - у 359 (21,1%).

Таблица 6 - Обследование детей методом ПЦР

Категории	Всего в исследовании	Обследовано в ПЦР		
		n	Положительные	Отрицательные
Вирусовыделители	1503	750	652	98
Нет выделения вируса	2230	954	693	261
Всего	3733	1704	1345	359

Среди вирусовыделителей (n=1503) методом ПЦР было обследовано 750 человек. Их них выделение энтеровирусов разных типов было подтверждено обнаружением вирусной РНК у 652 человек (86,9%). Отрицательные результаты ПЦР получены в 98 случаях (13,1%). Детей, у которых вирусологическими методами ЭВ выделены не были (2230 чел.), методом ПЦР обследовано 954 человека. Положительные результаты из числа этих детей установлены в 693 случаях, отрицательные - у 261 человека.

В реакции нейтрализации с аутоштаммами и эталонными штаммами вирусов Коксаки В1, Коксаки В3 и Коксаки В5 были исследованы парные пробы сывороток крови детей основной группы наблюдения (n=141).

Таблица 7 - Дни получения сывороток крови для серологических исследований, M±m

Проба сыворотки крови	Дети с ЕСНО-менингитами (n=85)				Дети с Коксаки В-менингитами (n=49)			
	n	M	σ	m	n	M	σ	m
1	85	4,24	1,85	0,20	49	4,89	2,29	0,32
2	78	16,16	2,59	0,29	46	18,26	2,74	0,40

Сыворотки крови поступили от 85 детей, у которых были выделены вирусы ЕСНО и 49 человек - вирусы Коксаки В (таблица 7). В среднем, первая проба крови была взята на 4,24±0,20 день от начала заболевания при ЕСНО инфекции, на 4,89±0,32 - при Коксаки В-инфекции. Вторые пробы образцов крови взяты на 16,16±0,29 и 18,26±0,40 дни (при ЕСНО и Коксаки В инфекции, соответственно).

Диагностический прирост титра антител (а/т) к аутоштаммам у вирусовыделителей ЕСНО вирусов наблюдали у 58,8% детей, «стационарные» титры были выявлены в 18,8% случаев (рисунок 9). У этих

же детей в реакции нейтрализации (РН) с эталонными штаммами вирусов Коксаки В определены антитела к КВ1, КВ3 и/или КВ5, причем, у некоторых пациентов отмечен диагностический прирост/снижение количества а/т к названным вирусам.

Увеличение титра а/т к аутоштаммам в 4 и более раз наблюдали у детей с Коксаки В инфекцией в 57,1%; а/т без диагностического нарастания уровня антител были выявлены у 16,3% пациентов (рисунок 9). У выделителей вирусов Коксаки В 4-х-кратное нарастание титров к эталонным штаммам и количество лиц со «стационарными» титрами было практически одинаковыми с группой выделителей ЕСНО вирусов.

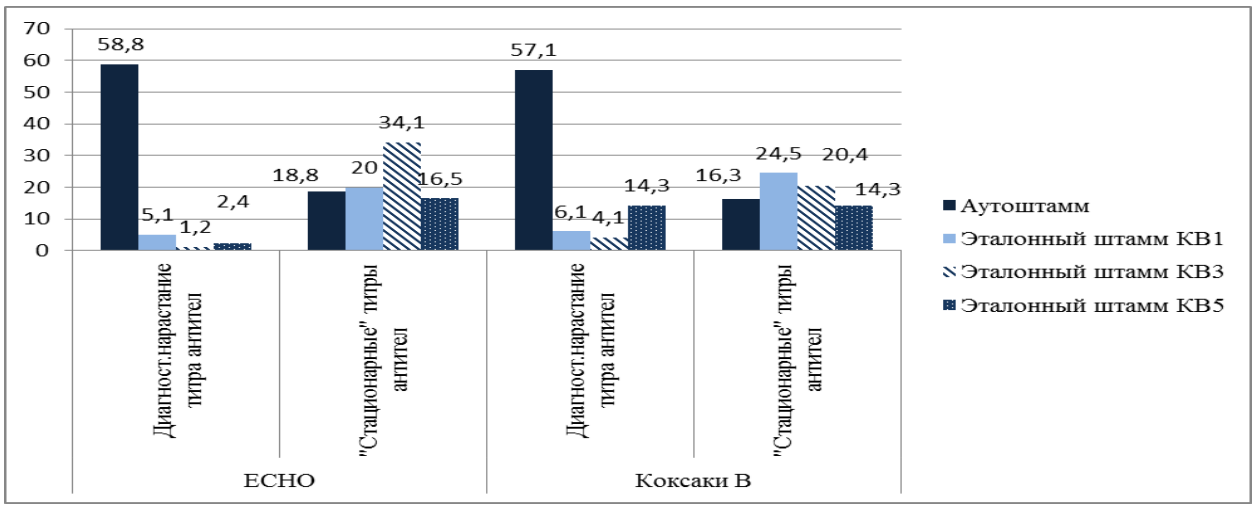
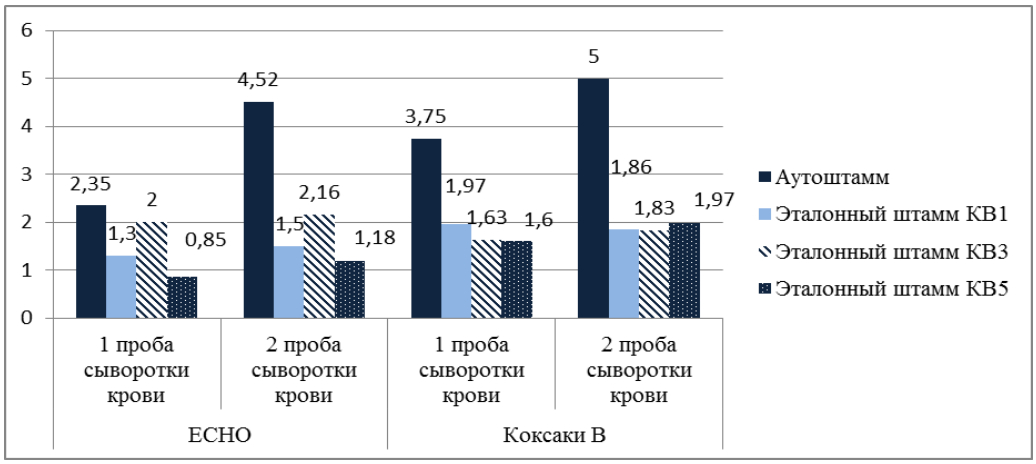


Рисунок 9 - Удельный вес лиц с наличием антител к аутоштаммам и эталонным штаммам вирусов Коксаки В

Отрицательный логарифм $\log_2$ средней геометрической титра антител к аутоштаммам в первой пробе сыворотки крови при ЕСНО - инфекции составил 2,35,что соответствует титру 1:4,9; во второй пробе крови - 4,52, титр - 1: 22,6. Для Коксаки В-вирусной инфекции аналогичные показатели были: $\log_2$ - 3,75, титр 1:13 в первой пробе крови, $\log_2$- 5,0, титр 1:32 во втором образце сыворотки крови (рисунок 10).

Среди ЕСНО - выделителей наибольший уровень титра антител выявлен к вирусу Коксаки В3 (в первой пробе крови 1:4,0, во второй - 1:4,13). При Коксаки В инфекции в равной степени были определены а/т ко всем трем эталонным штаммам (КВ1, КВ3, КВ5).

А.



Б.

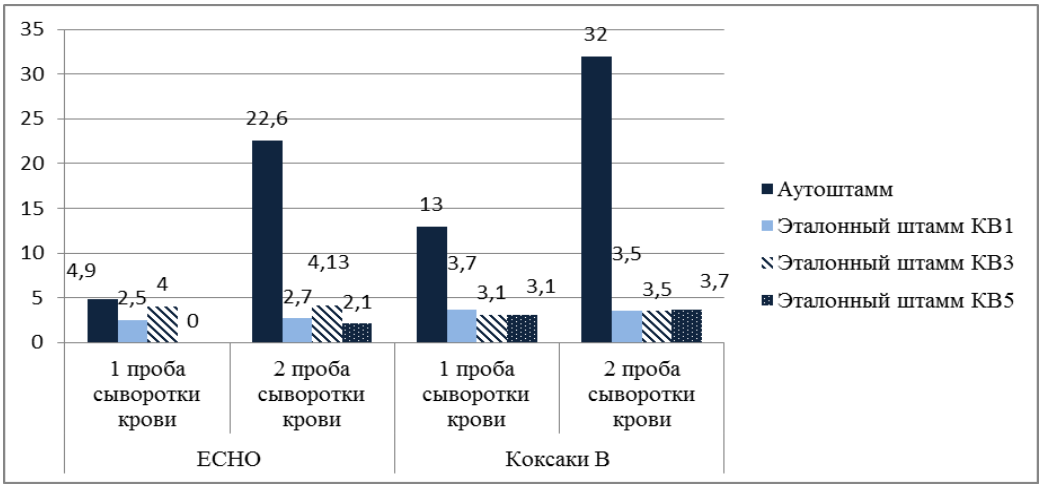


Рисунок 10 - Значения отрицательных логарифмов $\log_2$ и средних геометрических титров антител

А- отрицательные логарифмы средних геометрических титров антител; Б- средние геометрические титров антител

Итак, этиологический агент ЭВИ у детей был подтвержден 4-х кратным увеличением титра антител к аутоштаммам в 58,8% при менингеальной форме ЕСНО-инфекции и в 57,1% при Коксаки В-инфекции; средний геометрический титр антител к аутоштаммам в первой пробе при ЕСНО-

инфекции составил 1:4,9, при Коксаки В - 1:13; во второй пробе 1:22,6 и 1:32 (при ЕСНО и Коксаки В - инфекциях соответственно); выделители ЕСНО - вирусов имели антитела к эталонным штаммам вирусов Коксаки В, причем у некоторых детей отмечали диагностическое нарастание/снижение уровня антител к КВ 1, КВ 3 и КВ 5.

Нами проведен анализ спектра выделенных энтеровирусов на современном этапе (2003-2014гг.) в сравнении с периодом 1980-1984гг. Ведущим этиологическим агентом серозных менингитов на раннем этапе являлись вирусы Коксаки В (20,0% при спорадической и 50,0% при вспышечной заболеваемости). Среди серотипов Коксаки В превалирующим штаммом был Коксаки В 4. Вирусы ЕСНО в этот период времени выделяли в меньшей степени - в 20,9%. Из группы ЕСНО-вирусов основными были ЕСНО - 11 и ЕСНО - 3. В единичных случаях обнаружены вирусы ЕСНО-13, 7, 9 и 4.

В период 2003-2014гг. вирусы ЕСНО составили 31,3%, а вирусы Коксаки В - 34,3% случаев от всех выделенных энтеровирусов. Кроме того, в этот период наблюдали вирус-вирусные ассоциации ЕСНО - Коксаки В (21,8%). Среди вирусов ЕСНО лидирующие позиции занимали ЕСНО - 30 (43,3%), ЕСНО - 6 (19,5%), ЕСНО - 7 (9,97%). Помимо названных серотипов выявлены ЕСНО - 11, 17 и 18. Из числа выделенных Коксаки В - вирусов «лидерами» были вирусы КВ 5 (44,1%) и КВ 4 (20,4%). Достаточно часто выделяли КВ 1, КВ 2 и КВ 3.

Таким образом:

- в динамике выделения ЭВ прослеживается волнообразный характер и смена одного доминирующего этиологического агента другим;

- установлена тенденция к увеличению числа выделенных энтеровирусов в период с 2003 по 2014гг.; ведущее значение в этиологии

энтеровирусной инфекции имели вирусы Коксаки В (34,3%) и ЕСНО (31,3%); вирусы ЕСНО наиболее активно выделяли с 2008 года; максимальный удельный вес вирусовыделителей наблюдали в 2008г. (41,6%), в 2009г. (33,8%) и в 2013г.(18,1%). Наиболее частыми возбудителями ЕСНО-инфекции были вирусы ЕСНО-30 (43,3%), ЕСНО-6 (19,5%), ЕСНО-7 (9,97%); вирусы Коксаки В выделяли на протяжении всего наблюдаемого периода; максимальное количество вирусовыделителей отмечено в 2003-2007гг.; среди выделенных вирусов Коксаки В, лидирующее место занимали КВ 5 и КВ 4;

- в 2011-2014гг. увеличилась значимость в этиологии ЭВИ вирус-вирусных ассоциаций (КВ 1+КВ 4; КВ+ЕСНО) - 21,8% от всех вирусовыделителей;

- выделение ЭВ в 86,9% случаев сопровождалось обнаружением вирусной РНК в СМЖ; энтеровирусная природа инфекции не исключена еще у 31,1% детей (нет выделения вируса из патологического материала при наличии положительного результата исследования СМЖ на присутствие вирусной РНК).

3.2. Клиническая характеристика энтеровирусных менингитов у детей

Под наблюдением находился 141 ребенок. Было выделено две возрастные группы: младшая - возраст детей от 3 до 7 лет и старшая - возраст от 8 до 14 лет. При анализе половой структуры выявлено, что энтеровирусный менингит чаще встречался у мальчиков (61,7%) в обеих группах.

Анализируя характер начала заболевания и сроки поступления в стационар установлено, что для ЭВ менингитов характерно острое начало с поступлением большинства пациентов в инфекционное отделение на 1 - 2-й

день болезни (61,7%). Состояние детей при первичном осмотре оценивалось как средней тяжести у 139 человек (98,6%). В тяжелом состоянии поступило всего двое детей - девочки 7 и 13 лет (1,4%).

В клинической картине ЭВ менингитов наблюдали общеинфекционный синдром (таблица 8) и синдром поражения центральной нервной системы (таблица 9).

Заболевание практически у всех детей начиналось с повышения температуры (91,5% случаев). Температура тела чаще всего поднималась до уровня 37,6-38,5^{0}С (48,2%). Детей с фебрильной температурой (38,0-39,0^{0}С) было 24 человека, что составило 17,0%.

Длительность лихорадки составила в среднем 4,1±0,22 дня. Максимальное количество дней повышенной температуры - 16. До 3-х дней температура держалась выше 37^{0}С у 67 больных (51,9%), от 4 до 7 дней - у 46 детей (35,7%), от 8 до 11 дней - у 15 человек (11,6%), у 1 ребенка лихорадка продолжалась до 16 дней. Волнообразный характер температурной кривой имели 18 пациентов (13,9%). На 4-6 день болезни повторный подъем температуры был отмечен в 9 случаях. Температура при этом повышалась от 37,2^{0}С до 38,2^{0}С. Были дети, у которых наблюдали второй повторный подъем температуры на 16-19-й день болезни. Температурная кривая при этом достигала уровня от 37,0^{0}С до 38,8^{0}С. Двое детей имели и третий пик повышения температуры.

Из общих инфекционных признаков наибольшее значение у детей в исследовании имели гиперемия зева (85,1%), увеличение миндалин (63,1%) и полиаденит (58,2%). Гиперемия зева у детей была разной степени - от умеренной гиперемии до яркой. У 68 детей данный симптом наблюдали в течение 2-5 дней (56,7%), в течение 6-10 дней – у 29 пациентов (4,2%), в течение более 10 дней - у 6 человек (5,0%). Гипертрофию миндалин наблюдали чаще I степени. Среди наиболее часто поражаемых групп

лимфатических узлов регистрировали подчелюстные, передние и задние шейные лимфатические узлы.

Таблица 8 - Клинические проявления общеинфекционного синдрома (n=141)

Клинические симптомы	абс	%	Клинические симптомы	абс	%
Температура ^{0}С	129	91,5	Боль в животе	11	7,8
-37,0-37,5	37	26,2	Диспепсия	10	7,1
-37,6-38,5	68	48,2	Нарушение саливации	3	2,1
-38,6 и выше	24	17,0	Снижение аппетита	20	14,2
Катаральные явления:	25	17,7	Обложенность языка	42	29,8
-насморк	9	6,3	Бледность	6	4,3
-кашель	8	5,7	Сонливость	6	4,3
-заложенность носа	8	5,7	Вялость	15	10,6
Гиперемия зева	120	85,1	Нарушение сна	1	0,7
Гипертрофия миндалин	89	63,1	Слабость и недомогание	12	8,5
Слизь на миндалинах, зернистость слизистой зева	5	3,5	Беспокойство, возбудимость	1	0,7
Полиаденит	82	58,2	Увеличение печени и/или селезенки	16	11,3
Коньюнктивит и/или склерит	2	1,4	Положительные координационные пробы	1	0,7
Сыпь	10	7,1	Миалгия	1	0,7
Светобоязнь	8	5,7	Запрокидывание головы	1	0,7

При поступлении в стационар у детей наблюдали катаральные явления (17,7%), которые проявлялись в виде кашля (5,7%), насморка (6,3%) и заложенности носа (5,7%).

Заболевание сопровождалось нарушениями со стороны желудочно-кишечного тракта: боль в животе (7,8%), снижение аппетита (14,2%),

расстройство стула (7,1%). При пальпации или ультразвуковом исследовании было отмечено увеличение печени и /или селезенки (11,3%).

Изменение общего состояния детей характеризовалось слабостью и недомоганием (8,5%), вялостью (10,6%), нарушением сна, в единичных случаях возбудимостью и беспокойством. Некоторые дети предъявляли жалобы на светобоязнь (n=8). Среди других симптомов инфекционного характера можно назвать конъюнктивит, склерит, гиперемия щек, сухость кожи, боль в шее, боль в горле, миалгия.

Наиболее частыми симптомами поражения центральной нервной системы были рвота и головная боль (таблица 10).

Рвота была названа в числе основных жалоб при поступлении в стационар у 88,6% детей. Из данных анамнеза установлено, что в большинстве случаев рвота была однократной (53,9%). У некоторых детей рвота повторялась от 2 до 3 раз (повторная рвота, 15,6%), а в 27 случаях (19,1%) - рвота была многократной (4-5 и более раз). Рвота в период пребывания в клинике наблюдали у 19 детей (13,5%) в разные дни. На 2-3 й день болезни данный симптом был отмечен у 7 детей, на 4-6 день и 7-8 дни болезни – по 4 человека. В более отдаленные от начала болезни дни (12-й, 18-й, 20-й день) рвота была у 4 детей.

Головная боль при поступлении в отделение больницы отмечена у 137 детей (97,2%). У большего числа пациентов (n=104) она оценивалась как умеренная. Интенсивную головную боль наблюдали в 17,7%. На протяжении 1-3 дней на головную боль указывало 29 детей (34,5%), 4-5 дней- 32 ребенка (38,1%), 6-7 дней - 9 человек (10,7%), 8-9 дней - 9 человек (10,7%), 10-13 дней - 4 (4,8%), у 1 ребенка (1,2%) головная боль отмечалась на протяжении 21 дня. У 7 детей головная боль повторялась на 5-й, 9-10-й и 18-19- й дни болезни (дети в возрасте от 3 до 7 лет). Средняя продолжительность головной боли составила 5,0±0,25 дней.

Таблица 9 - Клинические симптомы поражения центральной нервной системы (n=141)

Клинические симптомы	абс	%
Рвота:	125	88,6
-однократная	76	53,9
-повторная	22	15,6
-многократная (3 и более раз)	27	19,1
Головная боль:	137	97,2
- интенсивная	25	17,7
- постоянная	8	5,7
- умеренная	104	73,8
Боль в глазах	3	2,1
Головокружение	7	5,0
Менингеальные симптомы:	138	97,9
- симптом Кернига	122	86,5
- симптом Брудзинского	109	77,3
- ригидность затылочных мышц	134	95,0
Полный менингеальный комплекс	99	70,2
Диссоциированный менингеальный комплекс	29	20,6

Боль или рябь в глазах отмечали в единичных случаях; незначительным было количество детей, предъявляющих жалобы на головокружение.

Менингеальные симптомы наблюдали у 138 детей, что составило 97,9%. Наиболее часто встречаемым был симптом - ригидность затылочных мышц (95,0%). Симптомы Кернига и Брудзинского установлены в 86,5% и 77,3% случаев соответственно. Удельный вес детей, у которых был полный менингеалный комплекс (сочетание трех симптомов) составил 70,2%. Диссоциированный менингеальный комплекс (отсутствие одного симптома) отмечен у 20,6% больных. Менингеальные симптомы определялись на протяжении болезни у большего числа пациентов. Продолжительность симптомов колебалась от 1 дня до 12-14 дней.

При поступлении в стационар с диагностической и лечебной целью 139 детям была проведена люмбальная пункция (таблица 10). В среднем

спинномозговую пункцию проводили на 3,04±0,15 день от начала заболевания (I) и на 17,71±0,25 день (II). Как правило, при первой пункции ликвор вытекал под давлением, частыми каплями.

Таблица 10 - Результаты исследования спинномозговой жидкости у детей с энтеровирусными менингитами, M±m

Показатели спинномозговой жидкости	Исследование ликвора								P
	I				II				
	n	M	m	σ	n	M	m	σ	
Плеоцитоз (10^6/л)	139	206,02	22,42	265,31	123	17,16	3,20	35,31	<0,05
Белок (г/л)	134	0,405	0,013	0,149	123	0,321	0,013	0,140	<0,05
Сахар (г/л)	6	2,99	0,20	0,48	1	2,7	-	-	-
Нейтрофилы (%)	136	57,20	2,25	26,19	66	22,91	1,91	15,48	<0,05
Лимфоциты (%)	138	44,42	2,27	26,65	121	86,20	1,56	17,16	<0,05
Макрофаги (%)	13	5,23	1,28	4,62	14	10,51	1,78	6,67	<0,05

При анализе спинномозговой жидкости (СМЖ), полученной в начале заболевания, наблюдали увеличение цитоза со средним показателем 206,02±22,42*10^6/л. Максимальное количество клеток составило 1706*10^6/л, минимальное- 10*10^6/л. Плеоцитоз носил смешанный характер (нейтрофилы -57,20±2,25%, лимфоциты- 44,42±2,27%). Гиперпротеинархия составила в среднем 0,405±0,013 г/л. В ликворе в 13 случаях (9,3%) были обнаружены макрофаги.

При анализе СМЖ, взятой при повторной пункции (II), плеоциотоз значительно уменьшился (в среднем 17,16±3,20*10^6/л), характер его в большей степени был лимфоцитарным (нейтрофилы-22,91±1,91%, лимфоциты-86,20±1,56%). Количество белка так же снизилось, по сравнению

с первой пробой СМЖ (до 0,321±0,013 г/л). В 14 случаях вновь были обнаружены макрофаги (10,7%). Изменения показателей ликвора I и ликвора II носили существенные различия ($p<0,05$).

Таким образом, течение энтеровирусных менингитов было благоприятным. Лихорадочный период продолжался 4,1±0,22 дня, головная боль наблюдалась в течение 5,0±0,25 дней, менингеальные симптомы - на протяжении 4,9±0,24 дней. Состояние детей оценивалось как удовлетворительное к 14,24±0,35 дню от начала заболевания (таблица 11).

Таблица 11 - Длительность клинических симптомов при энтеровирусных менингитах у детей, M±m

Клинические симптомы	n	Длительность (дни)		
		M	m	σ
Количество дней в стационаре	141	18,4	0,30	3,62
Удовлетв.состояние	125	14,2	0,35	3,96
Лихорадка	129	4,1	0,22	2,54
Головная боль	137	5,0	0,25	3,0
Симпт.Брудзинского	109	4,5	0,25	2,66
Симпт.Кернига	122	5,0	0,23	2,63
Ригидность затылочных мышц	134	5,4	0,24	2,82
Гиперемия зева	120	4,9	0,31	3,46

Наиболее значимыми симптомами в клинической картине ЭВИ менингитов у детей были признаки общеинфекционного синдрома, такие как лихорадка, гиперемия зева, гипертрофия миндалин и полиаденит, и симптомы поражения ЦНС - рвота и головная боль. В спинномозговой жидкости в начальный период наблюдали плеоцитоз смешанного характера. Значительное снижение уровня цитоза отмечено к 17-18 дню от начала заболевания.

3.2.1. Клиническая характеристика ЕСНО - вирусных менингитов у детей

Количество детей, у которых был выделен вирус ЕСНО, составило 86 человек. Возраст пациентов в группе был в пределах от 3 до 14 лет. В младшую возрастную группу вошло 39 человек (21 мальчик и 18 девочек) от 3 до 7 лет. В старшую возрастную группу - 47 человек (34 мальчика и 13 девочек) от 8 до 14 лет.

Дети поступили в стационар в среднем на 2,58±0,17 день болезни. Время нахождения в стационаре в среднем составило 17,8±0,31 дня. Все дети поступили в состоянии средней тяжести. Состояние детей оценивалось как удовлетворительное к 13,6±0,46 дню болезни.

Из симптомов, которые составили общеинфекционный синдром, основными при ЕСНО-вирусной инфекции были повышение температуры, гипертрофия миндалин, полиаденит (таблица 12).

Повышение температуры отмечено практически у всех детей (94,2%). Количество детей в младшей возрастной группе, у которых отмечалась лихорадка, было больше (97,4%), чем старших детей (91,5%).Температура тела у всех детей значительно чаще поднималась до 37,6-38,5^{0}С (48,8%), причем количество детей до 7 лет превышало количество детей в возрасте от 8 до 14 лет (61,5% против 38,3%).

Уровень температурной кривой выше 38,6^{0}С был отмечен у 14 человек, из них 12 дети в возрасте от 8 до 14 лет ($p<0,05$). Длительность лихорадки в среднем составила 3,4±0,19 дня, минимальное количество дней - 1, максимальное - 11.

Таблица 12 - Клинические проявления общеинфекционного синдрома у детей при ЕСНО - вирусных менингитах

Клинические симптомы	Дети 3-7 лет (n=39)		Дети 8-14лет (n=47)		Всего детей (n=86)	
	абс	%	абс	%	абс	%
Температура :	38	97,4	43	91,5	81	94,2
- 37,0-37,5	12	30,8	13	27,7	25	29,1
- 37,6-38,5	24	61,5	18	38,3	42	48,8
- 38,6 и выше	2	5,1*	12	25,5*	14	16,3
Катаральные явления:	3	7,7*	7	14,9*	10	11,6
- насморк	-	-	4	8,5*	4	4,7
- кашель	3	7,7	1	2,1	4	4,7
- заложенность носа	-	-	2	4,3	2	2,3
Гипертрофия миндалин	29	74,4	33	70,2	62	72,1
Полиаденит	25	64,1	26	55,3	51	59,3
Гиперемия зева	34	87,2	42	89,4	76	88,4
Светобоязнь	1	2,6	6	12,8*	7	8,1
Боль в глазах	-	-	1	2,1	1	1,2
Конъюнктивит и/или склерит	1	2,6	-	-	1	1,2
Нарушение саливации	-	-	3	6,4	3	3,5
Снижение аппетита	5	12,8*	3	6,4*	8	9,3
Боль в животе	2	5,1	2	4,3	4	4,7
Диспепсия	2	5,	1	2,1	3	3,5
Обложенность языка	7	17,9	13	27,7	20	23,3
Увеличение печени и/или селезенки	-	-	1	2,1	1	1,2
Бледность кожи	1	2,6	1	2,1	2	2,3
Вялость	5	12,8*	3	6,4*	8	9,3
Сонливость	3	7,7	-	-	3	3,5
Слабость и недомогание	7	17,9	4	8,5	11	12,8
Сыпь	3	7,7	2	4,3	5	5,8

*- достоверно значимые различия, $p<0,05$

В группе детей с ЕСНО - вирусной инфекцией число лиц с повторным повышением температурной кривой (вторая волна подъема температуры) составило 10 человек (11,6%). Повышение наблюдалось на 4-5-й день (у

двоих детей), на 6-7-й день (2 человека), на 9-й,11-й и 13-й дни (по 1 человеку), на 18-й день (3 человека).

Повторное повышение температуры наблюдали у детей в обеих возрастных группах (4 чел.- до 7 лет, 5 чел.- от 8 до 14 лет).

Гиперемия зева была выявлена у 76 детей (88,4%). Данный симптом наблюдали в течение 1-24 дней. Заболевание в 59,3% случаев сопровождалось увеличением лимфатических узлов (подчелюстные, передние и задние шейные группы). У детей в возрасте до 7 лет полиаденит наблюдался чаще (64,1%), чем у детей от 8 лет и старше (55,3%).

Из других симптомов общей интоксикации можно выделить светобоязнь (группа детей от 3 до 7 лет - 2,6%, дети от 8 до 14 лет - 12,8%, $p<0,05$), снижение аппетита (младшая группа - 12,8%, старшая группа - 6,4%, $p<0,05$) , вялость (младшая группа - 12,8%, старшая группа - 6,4%), слабость и недомогание (младшая группа - 17,9%, старшая группа - 8,5%).

Со стороны желудочно-кишечного тракта у детей наблюдали расстройство стула (3,5%), боль в животе (4,7%), нарушение слюноотделения (3,5%), обложенность языка (17,9% и 27,7% детей младшей и старшей возрастных групп соответственно). У 5 человек (5,8%) наблюдали сыпь разной локализации.

Наиболее частыми симптомами поражения центральной нервной системы традиционно для ЭВИ были рвота и головная боль (таблица 13).

Рвота при поступлении отмечалась у 91,8% детей. У детей младшей возрастной группы она наблюдалась несколько чаще (в 97,4%) , чем у старших детей (87,2%). Удельный вес пациентов с многократной рвотой (4 и более раз) составил 20,9% (n=18). У 16 детей (18,6%) рвота повторялась в течение болезни: на 2-3-й день - у 7 человек, на 6-9-й день - у 6, в более отдаленные дни (на 12-й, 18-й и 20-й дни) - у троих детей.

Таблица 13 - Клинические симптомы поражения центральной нервной системы у детей при ЕСНО - вирусных менингитах

Клинические симптомы	Дети 3-7 лет (n=39)		Дети 8-14 лет (n=47)		Всего детей (n=86)	
	абс	%	абс	%	абс	%
Рвота:	38	97,4	41	87,2	79	91,8
- однократная	17	43,6	28	59,6	45	52,3
- повторная	10	25,6*	6	12,8*	16	18,6
- многократная (3 и более раз)	11	28,2*	7	14,8*	18	20,9
Головная боль:	38	97,4	47	100,0	85	98,8
- интенсивная	8	20,5	11	23,4	19	22,1
- постоянная	2	5,1	3	6,4	5	5,8
- умеренная	28	71,8	33	70,2	61	70,9
Боль в глазах	1	2,6	1	2,1	2	2,3
Головокружение	-	-	4	8,5*	4	4,7
Менингеальные симптомы:	38	97,4	47	100,0	85	98,8
- симптом Кернига	32	82,1	41	87,2	73	84,9
- симптом Брудзинского	30	76,9	33	70,2	63	73,3
- ригидность затылочных мыщц	38	97,4	46	97,9	84	97,7
Полный менингеальный комплекс	28	71,8	30	63,8	58	67,4

*- достоверно значимые различия, $p<0,05$

Количество детей младшей возрастной группы у которых наблюдали повторную и многократную рвоту превышало аналогичных детей старшей возрастной группы (28,2% и 25,6% соответственно против 14,8% и 12,8%, $p<0,05$).

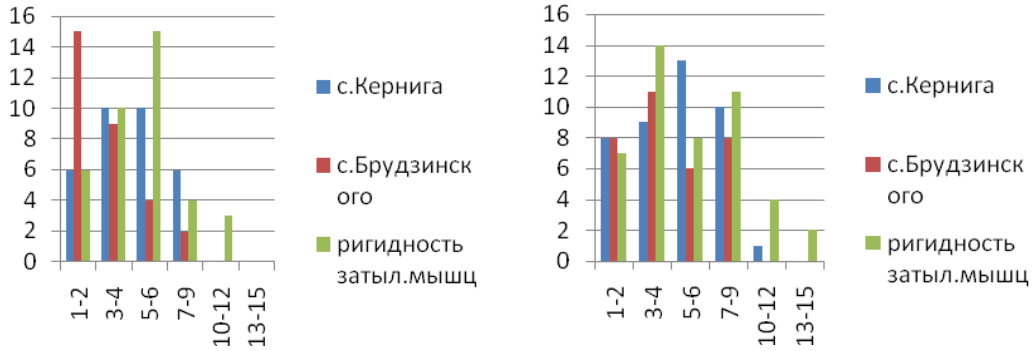
Головная боль была одной из ведущих жалоб практически у всех детей (n=85). Как правило, она носила умеренный характер в обеих возрастных группах (71,8% и 70,2%). Однако в 22,1% случаев головная боль была интенсивной у пациентов разного возраста (8 человек в возрасте до 7 лет, 11 человек - в возрасте от 8 до 14 лет). У 28 детей головная боль наблюдалась

только при поступлении. В 67,4% случаев она была в среднем в течение 4,8±0,45 дней.

Боль в глазах и головокружение были в единичных случаях (2,3% и 4,7% соответственно), причем, жалобы на головокружение предъявляли дети в возрасте от 8 до 14 лет.

Менингеальные симптомы наблюдались у 85 пациентов (98,8%). Симптомы сохранялись в течение от 1 до 15 дней (рисунок 11).

В группе детей до 7 лет в большей степени проявлялся симптом Брудзинского (на 1-2-й день болезни особенно) и ригидность затылочных мышц (на протяжении с 1 по 12-й день; у максимального количества детей (n=15 ригидность затылочных мышц сохранялась в течение 5-6 дней).



А Б

Рисунок 11 - Длительность менингеальных симптомов у детей с ЕСНО - вирусным менингитом

А- дети 3-7 лет, Б- дети 8-14 лет

В старшей возрастной группе на протяжении болезни симптомы проявлялись относительно равномерно. Тем не менее, наиболее значимым вс был симптом - ригидность затылочных мышц (на протяжении от 1 до 15 дней).

Полный менингеальный комплекс наблюдали всего у 58 детей (67,4%). В младшей возрастной группе детей с проявлением всех трех симптомов (симптом Кернига, симптом Брудзинского и ригидность затылочных мышц) было в 1,1 раза больше, чем в старшей группе. Диссоциированный менингеальный комплекс был отмечен преимущественно у детей от 8 до 14 лет; всего таких детей в обеих группах - 19 человек.

В первые дни болезни (2,8±0,17день) пациентам была проведена люмбальная пункция (n=86). Плеоцитоз наблюдали у детей обеих возрастных групп. Среднее количество клеток в СМЖ у пациентов 3-7 лет составило 165,16±26,88 х10^6/л, у детей 8-14 лет - 199,62±32,42*10^6/л (таблица 14). Плеоцитоз носил смешанный характер. При исследовании ликвора у 7 пациентов в нем были обнаружены макрофаги. Концентрация белка в ливкоре I в среднем составила 0,358±0,021 и 0,432±0,023 г/л у детей младшего и старшего возраста соответственно (p<0,05).

Таблица 14 - Результаты исследования спинномозговой жидкости у больных ЕСНО - вирусными менингитами, M±m*10^6/л

Показатели спинномозговой жидкости (I и II пункции)		Возрастные группы							
		Дети 3-7 лет				Дети 8-14 лет			
		n	M	m	σ	n	M	m	σ
Плеоцитоз (10^6/л)	I	38	165,16	26,88	165,68	47	199,62	32,42	222,28
	II	33	10,55*	1,11	6,35	44	17,18*	2,31	15,31
Белок (г/л)	I	39	0,358*	0,021	0,128	45	0,432*	0,023	0,152
	II	34	0,272*	0,019	0,114	43	0,347*	0,025	0,162
Нейтрофилы %	I	39	63,23	3,8	23,74	46	56,89	3,59	24,38
	II	15	25,40	3,67	14,2	24	18,58	2,64	12,92
Лимфоциты %	I	39	36,62	3,82	23,88	46	45,74	3,76	25,47
	II	35	87,69	2,88	17,04	44	89,23	2,07	13,76
Макрофаги %	I	2	2,5	1,5	2,12	5	7,0	2,39	5,34
	II	1	20,0			4	9,03	3,75	7,49

Примечание: *- статистически значимые различия, p<0,05.

При анализе повторной пункции, проведенной на 17,3±0,24 день (ликвор II), было установлено значительное снижение уровня цитоза ($p<0,05$) у всех детей. Выявлены значимые различия в количестве клеток в СМЖ у детей разных возрастов, а именно, при повторной пункции цитоз у малышей был меньше, чем у старших детей.

Отличалось и количество содержания белка в СМЖ детей разных возрастных групп. В спинномозговой жидкости преобладали лимфоциты. Содержание белка в ликворе II снизилось по сравнению с ликвором I незначительно ($p>0,05$).

При анализе показателей гемограммы у детей двух возрастных групп с ЕСНО-менингитами (таблица 15) было установлено, что уровень лейкоцитов и лимфоцитов на первой неделе болезни практически не отличался от показателей группы сравнения. На третьей неделе заболевания количество лимфоцитов у детей 8-14 лет было выше контрольных значений ($p<0,05$) и уровня лимфоцитов в начале болезни ($p<0,05$).

На начальном этапе заболевания в гемограмме детей обеих возрастных групп было отмечено снижение содержание моноцитов ($p<0,05$).

Одновременно с моноцитопенией в крови детей наблюдался тромбоцитоз ($p<0,05$), который сохранялся при повторном исследовании на 17,1±0,44 день болезни ($p<0,05$). У детей младшей возрастной группы наблюдали увеличение количества эритроцитов ($p<0,05$), которое сопровождалось микроцитозом (снижение среднего объема эритроцитов, MCV);$p<0,05$.

Таким образом, при ЕСНО-вирусных менингитах в клинической картине наблюдали общеинфекционный синдром и синдром поражения ЦНС. Основными симптомами общеинфекционного синдрома были лихорадка (94,2%), гипертрофия миндалин (72,1%), увеличение лимфатических узлов

(59,3%), гиперемия зева (88,4%). У детей в возрасте 3-7 лет достаточно часто отмечали снижение аппетита и вялость.

Таблица 15 - Гемограмма детей с ЕСНО-вирусными менингитами

Показатели	Группы 3-7лет (n=39) 8-14 (n=47)	1 неделя болезни	3 неделя болезни
Лейкоциты, 10^9/л	3-7 лет	8,02±0,52	8,3±0,79
	8-14 лет	6,59±0,27	11,2±3,41
Лимфоциты, 10^9/л	3-7 лет	3,15±0,19	3,77±0,33
	8-14 лет	2,42±0,13	2,98±0,19↑*
Моноциты, 10^9/л	3-7 лет	0,38±0,02 ↓	0,41±0,04
	8-14 лет	0,36±0,02 ↓	0,41±0,03
Гранулоциты, 10^9/л	3-7 лет	4,49±0,44	4,12±0,68
	8-14 лет	3,75±0,22	4,40±0,35
Гемоглобин, г/л	3-7 лет	125,44±1,87	126,64±2,96
	8-14 лет	135,89±2,27	134,08±1,84
Гематокрит, %	3-7 лет	36,61±0,5	35,83±0,70
	8-14 лет	39,53±0,67	38,08±0,54
Тромбоциты, 10^9/л	3-7 лет	341,33±14,2 ↑	359,82±29,62 ↑
	8-14 лет	319,86±12,45↑	314,62±12,88 ↑
Эритроциты, 10^9/л	3-7 лет	4,73±0,06↑	4,66±0,10
	8-14 лет	4,92±0,08	4,89±0,08
Средний объем эритроцита (MCV)	3-7 лет	77,36±0,51↓	77,10±1,31
	8-14 лет	80,36±0,63↓	78,25±1,25↓
Среднее содержание Hb в эритроците (MCH)	3-7 лет	26,65±0,28	27,35±0,62
	8-14 лет	27,7±0,23	27,49±0,47
Средняя концентрация Hb в эритроците (MCHC)	3-7 лет	325,31±12,23	321,82±31,85
	8-14 лет	336,83±8,07	326,50±26,72
Распределение эритроцитов по объему (RDW)	3-7 лет	13,16±0,15	13,22±0,22
	8-14 лет	13,11±0,1 ↑	13,58±0,18↑*
Средний объем тромбоцитов (MPV)	3-7 лет	7,08±0,13↓	6,95±0,33↓
	8-14 лет	7,41±0,14↓	7,42±0,27↓
Тромбокрит (PCT)	3-7 лет	0,24±0,01↑	0,24±0,02
	8-14 лет	0,24±0,01↑	0,24±0,01
Распределение тромбоцитов по объему (PDV)	3-7 лет	14,43±0,7	13,55±1,68
	8-14 лет	15,48±0,48	16,14±1,61

Примечание: ↓ или ↑- статистически значимые различия $p<0,05$ в сравнении с контрольной группой; * - статистически значимые различия $p<0,05$ в сравниваемых группах в зависимости от сроков взятия материала.

У пациентов старшей возрастной группы (8-14 лет) наблюдали светобоязнь, катаральные явления, высокий уровень лихорадки (выше 38,6^{0}С в 25,5% случаев). Анализ проявлений со стороны ЦНС показал, что в младшей возрастной группе значительно чаще у детей наблюдали повторную рвоту. Таким образом, у детей в возрасте 3-7 лет в большей степени проявляются признаки локальных изменений при попадания вируса в организм (в месте входных ворот) и дальнейшего его распространения по лимфатическим путям. Дети старшей группы отличаются наличием более активных неспецифических защитных реакций организма (лихорадка, катаральные явления).

3.2.2. Клиническая характеристика Коксаки В - вирусных менингитов у детей

Количество детей с вирусными менингитами, этиологическим агентом которых были энтеровирусы Коксаки В составило 55 человек в возрасте от 3 до 14 лет. В младшую группу (от 3 до 7 лет) вошло 34 человека (20 мальчиков и 14 девочек), в старшую группу (от 8 до 14 лет) - 21 ребенок (12 мальчиков и 9 девочек).

Дети поступили в стационар в среднем на 2,58±0,17 день болезни. Время нахождения в стационаре составило 19,2±0,6 дня. Практически все дети (n=53) поступили в состоянии средней тяжести, двое детей - в тяжелом состоянии. Состояние детей оценивалось как удовлетворительное к 15,1±0,54 дню болезни.

В клинике энтеровирусных менингитов два синдрома являлись ведущими - общеинфекционный синдром и синдром поражения центральной нервной системы.

Таблица 16 - Клинические симптомы общеинфекционного синдрома при Коксаки В - вирусных менингитах у детей

Клинические симптомы	Дети 3-7 лет (n=34)		Дети 8-14 лет (n=21)		Всего детей (n=55)	
	абс	%	абс	%	абс	%
Температура:	28	82,3	20	95,2	48	87,3
- 37,0-37,5	7	20,6	5	29,8	12	21,8
- 37,6-38,5	17	50,0	9	42,8	26	47,3
-38,6 и выше	4	11,7*	6	28,6*	10	18,2
Катаральные явления:	9	26,5	6	28,6	15	27,3
- насморк	4	11,8	1	4,8	5	9,1
- кашель	3	8,8	1	4,8	4	7,3
- заложенность носа	2	5,9	4	19,0	6	10,9
Гипертрофия миндалин	18	52,9	9	42,9	27	49,1
Полиаденит	19	55,9	12	57,1	31	56,4
Гиперемия зева	28	82,3	16	76,2	44	80,0
Светобоязнь	1	2,9	-	-	1	1,8
Боль /рябь в глазах	-	-	1	4,8	1	1,8
Конъюнктивит и/или склерит	1	2,9	-	-	1	1,8
Снижение аппетита	9	26,5*	3	14,3*	12	21,8
Боль в животе	4	11,8	3	14,3	7	12,7
Диспепсия	7	20,6*	-	-	7	12,7
Обложенность языка	12	35,3	10	47,6	22	40,0
Увеличение печени и/или селезенка	14	41,2*	1	4,8*	15	27,3
Бледность кожи	3	8,8	1	4,8	4	7,3
Вялость	5	14,7	2	9,5	7	12,7
Сонливость	2	5,9	1	4,8	3	5,5
Слабость и недомогание	1	2,9	-	-	1	1,8
Сыпь	5	14,7*	-	-	5	9,1
Слизь на миндалинах, зернистость зева	4	11,8*	1	4,8*	5	9,1
Миалгия	1	2,9	-	-	1	1,8
Запрокидывание головы	1	2,9	-	-	1	1,8
Нарушение сна	1	2,9	-	-	1	1,8
Возбудимость	1	2,9	-	-	1	1,8
Координационные пробы (положительные)	-	-	1	4,8	1	1,8

*- достоверно значимые различия, $p<0,05$

Общеинфекционный синдром включал в себя следующие симптомы: лихорадка, гипертрофия миндалин и лимфатических узлов, гиперемия зева и катаральные явления, нарушение общего состояния детей (вялость, слабость, недомогание, нарушение сна) (таблица 16).

Начало заболевания у 48 детей (87,3%) начиналось с повышения температуры. В группе детей от 8 до 14 лет лихорадка отмечалась чаще (95,2%), чем у детей в возрасте от 3 до 7 лет (82,3%). Повышение температуры преимущественно было до уровня 37,6-38,5^{0}С (47,3%). Более высокий уровень температурной кривой (выше 38,6^{0}С) наблюдали в основном у детей в возрасте от 8 до 14 лет ($p<0,05$). Длительность лихорадки в среднем составила 5,3±0,43 дня, минимальное количество дней - 1, максимальное - 16 дней.

Повторный подъем температуры у детей данной группы наблюдалась у 8 пациентов (14,5%). Повторный подъем отмечался в разные дни: на 8-й день - 1 ребенок, 10-13- й день - 1, 16-й - 3 человека, 17-й - 1, 19-й - 2 ребенка. Дети, у которых был второй подъем температуры в течение болезни, в 5 случаях были в возрасте до 7 лет.

Гиперемия зева разной степени интенсивности наблюдалась у 44 детей (80,0%), большую часть которых (n=28) составили дети младшей возрастной группы. Данный симптом наблюдали в течение длительного периода (до 12 дней). В среднем гиперемия зева проходила к 5,8±0,62 дня от начала заболевания.

При осмотре детей у 5 человек были выявлены слизь на миндалинах, зернистость зева (4 человека в возрасте от 3 до 7 лет, 1 ребенок - от 8 до 14 лет, $p<0,05$). Заболевание сопровождалось увеличением миндалин (49,1%), степень увеличения в большинстве была оценена как увеличение I степени. Гипертрофия миндалин у детей младшей возрастной группы наблюдалась чаще (52,9%), чем у детей старшей группы (42,9%).

Увеличение лимфатических узлов отмечалось в 56,4% случаев у детей разного возраста. Среди наиболее часто вовлекаемых, были подчелюстные, передние и задние шейные лимфатические узлы.

Энтеровирусная инфекция сопровождалась изменениями со стороны желудочно-кишечного тракта. Среди частых симптомов были: снижение аппетита (n=12), причем малыши отказывались от приема пищи чаще (26,5%), чем старшие дети (14,3%), $p<0,05$; боль в животе (12,7%); диспепсия (7 человек в возрасте от 3 до 7 лет, $p<0,05$); обложенность языка (35,3% и 47,6% детей младшей и старшей групп). У детей с Коксаки В - инфекцией было установлено увеличение печени и /или селезенки (27,3%); особенно часто эти изменения наблюдались у детей в возрасте до 7 лет (41,2%); $p<0,05$.

Заболевание Коксаки В - инфекцией сопровождалось вялостью (12,7%), сонливостью (5,5%), у детей была бледность кожных покровов (7,3%), сыпь различной локализации (у 5 детей в возрасте до 7 лет).

Кроме выше названных симптомов, у пациентов в единичных случаях наблюдались миалгия, запрокидывание головы, возбудимость, положительные координационные пробы.

Одними из первых симптомов поражения центральной нервной системы являлись рвота и головная боль (таблица 17).

При поступлении рвота наблюдалась в 83,6% случаев. У детей младшей возрастной группы она встречалась чаще (91,2%), чем у старших детей (71,4%). Многократная рвота (4 и более раз) отмечена у 16,3% пациентов. В течение болезни (на 3-4-й день, 4-5-й день и 19-й день болезни) рвота повторялась у 6 детей в возрасте до 7 лет.

Жалобы на головную боль предъявляли 52 человека с Коксаки В - вирусной инфекцией, причем, 33 из них - дети в возрасте до 7 лет. Характер боли в 78,2% был умеренным; интенсивная боль отмечалась в 10,9% случаев.

Постоянная головная боль наблюдалась у 3 детей. Средняя продолжительность головной боли составила 5,2±0,95 дня.

Таблица 17 - Клинические симптомы поражения центральной нервной системы у детей при Коксаки В - вирусных менингитах

Клинические симптомы	Дети 3-7 лет (n=34)		Дети 8-14 лет (n=21)		Всего детей (n=55)	
	абс	%	абс	%	абс	%
Рвота:	31	91,2	15	71,4	46	83,6
- однократная	18	52,9	13	61,9	31	56,4
- повторная	6	17,7*	-	-	6	10,9
- многократная	7	20,6*	2	9,5*	9	16,3
Головная боль:	33	97,0	19	90,4	52	94,5
- интенсивная	3	8,8	3	14,3	6	10,9
- постоянная	2	5,9	1	4,7	3	5,4
- умеренная	28	82,3	15	71,4	43	78,2
Боль в глазах	-	-	1	4,7*	1	1,8
Головокружение	-	-	3	14,3*	3	5,4
Менингеальные симптомы:	33	97,0	20	95,2	53	96,4
- симптом Кернига	30	88,2	19	90,4	49	89,1
-симптом Брудзинского	30	88,2	16	76,2	46	83,6
- ригидность затылочных мыщц	30	88,2	20	95,2	50	90,9
Полный менингеальный комплекс	25	73,5	16	76,2	41	74,6
Диссоциированный менингеальный комплекс (наличие двух симптомов)	7	20,6	3	14,3	10	18,2

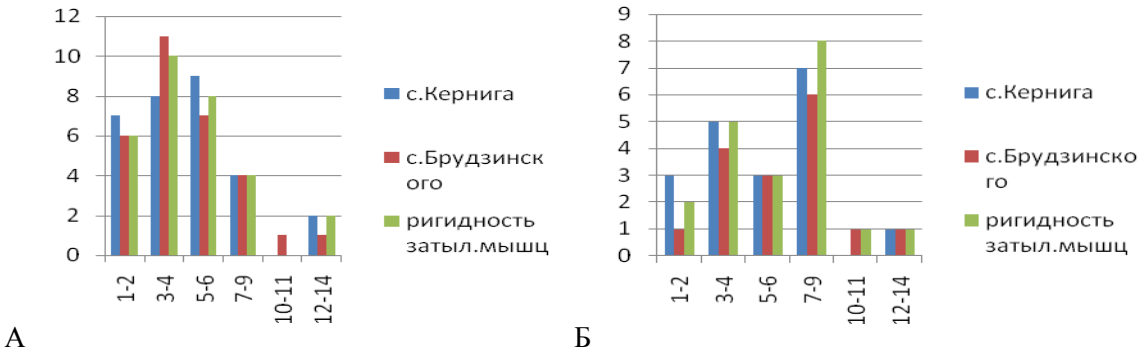
*- достоверно значимые различия, $p<0,05$

Такие симптомы, как головокружение и боль в глазах наблюдали в единичных случаях у детей в возрасте от 8 до 14 лет.

Менингеальные симптомы отмечены в 96,4% случаев в течение от 1 до 15 дней (рисунок 12). В группе детей от 3 до 7 лет симптом Кернига, симптом

Брудзинского и ригидность затылочных мышц проявлялись в равной степени. У детей старшей возрастной группы чаще наблюдали ригидность затылочных мышц.

У детей младшей возрастной группы менингеальные симптомы наблюдали преимущественно с 1 по 6 день болезни, причем в большинстве случаев это были симптом Брудзинского и ригидность затылочных мышц (рисунок 12).



А Б

Рисунок 12 - Длительность менингеальных симптомов у детей с Коксаки В - вирусным менингитом

А.- дети 3-7 лет, Б- дети 8-14 лет

В старшей возрастной группе детей менингеальные симптомы сохранялись у большей части до 7 - 9 дней. Из менингеальных симптомов при этом наиболее значимыми были симптом Кернига и ригидность затылочных мышц. Полный менингеальный комплекс при Коксаки В - вирусной инфекции был у 74,6 % детей. Диссоциированный комплекс отмечен у 10 человек (7 детей младшего возраста, 3 дети старшего возраста), один из симптомов - у 2 детей.

Практически всем пациентам (n=54) с Коксаки В - вирусной инфекцией была проведена люмбальная пункция (таблица 18). Плеоцитоз в ликворе I (3,7±0,31 день) наблюдали у всех детей. Среднее содержание клеток составило у детей младшей возрастной группы 229,45±59,58*10^6/л, у детей

старшей группы - 257,48±77,73*10^6/л. В спинномозговой жидкости, полученной при первой пункции, цитоз был смешанного характера. Макрофаги были выявлены у 6 пациентов (11,1%). Количество белка в СМЖ у детей до 7 лет составило 0,372±0,025 г/л, у детей от 8 до 14 лет – 0,484±0,035 г/л, причем данная разница в концентрации белка у детей разных возрастных групп носила достоверный характер (p<0,05).

Таблица 18 - Результаты исследования спинномозговой жидкости у детей с Коксаки В - вирусными менингитами, M±m

Показатели спинномозговой жидкости (I и II пункции)		Возрастные группы							
		Дети 3- 7 лет				Дети 8-14 лет			
		n	M	m	σ	n	M	m	σ
Плеоцитоз (10^6/л)	I	33	229,45	59,58	342,26	21	257,48	77,73	356,22
	II	28	14,07	4,03	21,33	16	14,25	3,05	12,21
Белок г/л	I	31	0,372*	0,025	0,014	19	0,484*	0,035	0,153
	II	30	0,306*	0,025	0,013	16	0,381*	0,027	0,109
Нейтрофилы %	I	32	54,56	5,35	30,28	19	50,0	6,26	27,3
	II	17	26,65	4,98	20,55	10	23,20	3,92	12,38
Лимфоциты %	I	32	45,81	5,12	28,95	21	53,9	6,19	28,34
	II	27	81,41	4,13	21,46	15	82,47	4,38	16,95
Макрофаги %	I	3	5,0	3,06	5,29	3	4,33	2,85	4,93
	II	6	10,0	2,79	6,84	3	10,33	3,53	6,11

*- статистически значимые различия, p<0,05.

Повторная пункция была проведена 44 детям (на 17,91±4,09 день). При анализе ликвора II было установлено значительное снижение количества клеток. Плеоцитоз при этом был преимущественно лимфоцитарным. Количество детей, у которых в ликворе были обнаружены макрофаги, увеличилось до 9 человек. Концентрация белка в ликворе II снизилась по сравнению с ликвором I (p<0,05) и составила 0,306±0,025 г/л и 0,381±0,027 г/л у детей младшей и старшей групп соответственно. Была определена достоверная разница (p<0,05) между количеством белка в младшей и старшей группах.

Таблица 19 - Гемограмма детей с Коксаки В - вирусными менингитами

Показатели	Группы 3-7лет (n=34) 8-14 (n=21)	1 неделя болезни	3 неделя болезни
Лейкоциты, 10^9/л	3-7 лет	9,21±0,87	7,06±0,41*
	8-14 лет	5,54±0,39	6,22±0,34
Лимфоциты, 10^9/л	3-7 лет	3,31±0,21	3,12±0,22
	8-14 лет	2,09±0,16	2,39±0,13
Моноциты, 10^9/л	3-7 лет	0,63±0,05	0,70±0,08
	8-14 лет	0,41±0,04	0,47±0,05
Гранулоциты, 10^9/л	3-7 лет	5,21±2,05	3,24±0,35
	8-14 лет	3,04±0,27	3,36±0,32
Гемоглобин, г/л	3-7 лет	126,0±2,48	117,5±3,07*
	8-14 лет	129,68±4,21	134,38±4,26
Гематокрит, %	3-7 лет	36,84±0,6	35,81±0,58
	8-14 лет	38,52±0,95	39,44±1,20
Тромбоциты, 10^9/л	3-7 лет	337,44±13,8↑	282,7±12,22*
	8-14 лет	296,79±17,91	262,75±21,02
Эритроциты, 10^9/л	3-7 лет	4,69±0,07	4,61±0,08
	8-14 лет	4,75±0,12	4,85±0,11
Средний объем эритроцита (MCV)	3-7 лет	77,0±1,33	-
	8-14 лет	79,71±1,15↓	80,75±2,06
Среднее содержание Hb в эритроците (MCH)	3-7 лет	26,81±0,62	-
	8-14 лет	28,24±0,47	28,15±0,45
Средняя концентрация Hb в эритроците (MCHC)	3-7 лет	349,0±4,17↑	-
	8-14 лет	353,71±4,06↑	348,5±4,52↑
Распределение эритроцитов по объему (RDW)	3-7 лет	13,56±0,49	-
	8-14 лет	13,3±0,43	13,63±0,74
Средний объем тромбоцитов (MPV)	3-7 лет	7,1±0,38↓	-
	8-14 лет	7,56±0,46	7,23±0,41↓
Тромбокрит (PCT)	3-7 лет	0,24±0,02	-
	8-14 лет	0,27±0,03↑	0,21±0,04
Распределение тромбоцитов по объему (PDV)	3-7 лет	14,3±0,8	-
	8-14 лет	14,76±0,69	15,5±0,68

Примечание: ↓ или ↑- статистически значимые различия $p<0,05$ в сравнении с контрольной группой; * - статистически значимые различия $p<0,05$ в сравниваемых группах в зависимости от сроков взятия материала.

В гемограмме детей (таблица 19) в возрасте 3-7 лет в первые дни болезни с Коксаки В - инфекцией наблюдали тромбоцитоз ($p<0,05$); у детей 8-14 лет отмечено явление микроцитоза. Кроме этого, в крови обследуемых

детей было выявлено увеличение средней концентрации гемоглобина в эритроцитах ($p<0,05$).

Таким образом, для детей с Коксаки В-вирусными менингитами характерно наличие основных ведущих синдромов – общеинфекционного и синдрома поражения ЦНС. Из общеинфекционных симптомов наибольшее значение имели лихорадка (87,3%), причем фебрильная температура достоверно чаще отмечена в старшей возрастной группе. У детей наблюдали обложенность языка (40,0%), увеличение печени и/или селезенки (27,3%), расстройство стула (12,7%). Выше названные симптомы поражения ЖКТ достоверно чаще выявлены у детей в возрасте 3-7 лет.

Симптомы поражения ЦНС у детей отмечены наличием рвоты (83,6%), при этом у детей 3-7 лет она , как правило, была повторной (20,6%), головной боли (94,5%), менингальных симптомов (96,4%). Можно сказать, что для детей старшей группы (8-14 лет) характерны неспецифические защитные реакции организма, а для детей в возрасте 3-7 лет – наиболее выражены локальные изменения, вызванные попаданием и размножением ЭВ в ЖКТ.

3.2.3. Сравнительная характеристика серозных менингитов у детей, вызванных вирусами ЕСНО и вирусами Коксаки группы В

Сравнивая две группы детей с менингитами, вызванными вирусами ЕСНО (n=86) и вирусами Коксаки В (n=55), были выявлены общие и отличительные признаки.

Симптомы поражения центральной нервной системы (ЦНС) проявлялись в равной степени при ЕСНО - и Коксаки В - инфекциях, достоверных

различий между ЕСНО - и Коксаки В - менингитами при этом выявлено не было (рисунок 13).

Удельный вес детей, у которых отмечали рвоту и интенсивную головную боль, был незначительно выше (p>0,05) при ЕСНО - вирусных менингитах. В этой же группе детей чаще был установлен неполный менингеальный комплекс.

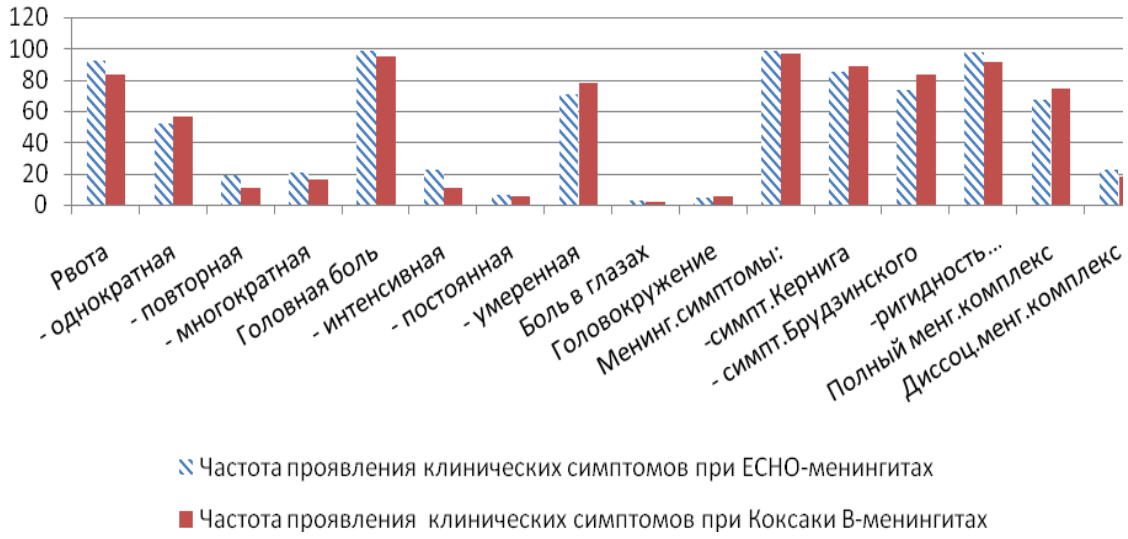


Рисунок 13 - Частота встречаемости симптомов поражения ЦНС у детей.

Если при анализе синдрома поражения ЦНС значимых отличий при ЕСНО - и Коксаки В - вирусных инфекциях установлено не было, то при сопоставлении общеинфекционных симптомов такие различия были (p<0,05).

Проведено комплексное сравнение симптомов с использованием показателя χ^2 (Хи-квадрат) (таблица 20). Так, повышение температуры чаще наблюдали при ЕСНО-вирусных менингитах (94,2%), однако более высокие ее значения (39,0^{0}С и выше) были зафиксированы у детей с Коксаки В-инфекцией.

Таблица 20 - Общеинфекционные симптомы при ЕСНО - и Коксаки В - вирусных менингитах

Клинические симптомы	ЕСНО - вирусные менингиты (n=86)	Коксаки В - вирусные менингиты (n=55)
Температура: - 37,0-37,5	25	12
- 37,6-38,5	42	26
-38,6 -39,0	14	10
Насморк	4	5
Кашель	4	4
Заложенность носа	2	6
Гиперемия зева	76	44
Гипертрофия миндалин	62	27
Полиаденит	51	31
Снижение аппетита	8	12
Обложенность языка	20	22
Вялость	8	7
Увеличение печени и/или селезенки	1	15
Хи-квадрат (расчетное)	39,363	
Хи-квадрат (табличное)	21,026	
p	< 0,05	

При менингитах, вызванных вирусами ЕСНО в отличие от Коксаки В - менингитов у детей чаще были гипертрофия миндалин (72,1% против 49,1%), гиперемия зева (88,4% и 80,0% соответственно), светобоязнь (8,1 % и 1,8%).

Дети с Коксаки В - инфекцией в большей степени предъявляли жалобы на наличие катаральных явлений (насморк, кашель, заложенность носа) и на симптомы поражения желудочно-кишечного тракта, такие как снижение аппетита (21,8%), боль в животе (12,7%), диспепсия (12,7%), обложенность языка (40,0%), увеличение печени и /или селезенки (27,3%).

Таблица 21 - Показатели спинномозговой жидкости у детей с энтеровирусными менингитами, M±m

Показатели СМЖ (1и 2 пункции)		ЕСНО - вирусные менингиты		Коксаки В - вирусные менингиты	
		n	M±m	n	M±m
Цитоз 10^6/л	1	85	184,21±21,54	54	240,35±46,9
	2	77	14,34±1,44	44	14,14±2,77
Белок г/л	1	84	0,399±0,016	50	0,415±0,022
	2	79	0,338±0,024	46	0,332±0,019
Нейтрофилы %	1	85	59,8±2,61	51	52,86±4,06
	2	39	21,20±2,18	27	25,37±3,42
Лимфоциты %	1	85	41,55±2,71	53	49,01±3,94
	2	79	88,54±1,71	42	81,78±3,04
Макрофаги %	1	7	5,71±1,87	6	4,66±1,87
	2	5	11,22±3,63	9	10,11±2,07

Показатели спинномозговой жидкости (СМЖ) в обеих группах детей в целом были идентичны (таблица 21). Однако, при сопоставлении результатов исследований СМЖ внутри сравниваемых групп, при ЕСНО - вирусных менингитах выявлены значимые отличия уровня цитоза между детьми 3-7 лет и 8-14 лет. Количество клеток в ликворе, полученном при повторной пункции, у детей старшей возрастной группы было больше, чем у детей младшей группы (таблица 14).

При сопоставлении результатов общего анализа крови детей с ЕСНО - и Коксаки В - менингитами были установлены достоверные различия.

Количество лейкоцитов у детей 8-14 лет с ЕСНО - инфекцией на начальном этапе заболевания и число лимфоцитов на 3-й неделе болезни были значительно выше, чем у детей с Коксаки В (КВ) - вирусными менингитами ($p<0,05$). При ЕСНО - вирусных менингитах тромбоцитоз был выше, чем при КВ - инфекции ($p<0,05$). В отличие от КВ - менигитов, при ЕСНО - наблюдали снижение количества моноцитов в крови. Достоверных отличий между остальными показателями гемограммы установлено не было (таблица 22).

Таблица 22 - Показатели гемограммы детей с энтеровирусными менингитами, M±m

Показатели	Группы	ЕСНО - вирусные менингиты		Коксаки В - вирусные менингиты	
		1 неделя	3 неделя	1 неделя	3 неделя
Лейкоциты 10^9/л	3-7 лет	8,02±0,52	8,03±0,79	9,21±0,87	7,06±0,41
	8-14 лет	6,59±0,27	11,2±3,41	5,54±0,39*	6,22±0,34
Лимфоциты, 10^9/л	3-7 лет	3,15±0,19	3,77±0,33	3,31±0,21	3,12±0,22
	8-14 лет	2,42±0,13	**2,98±0,19**	2,09±0,16	**2,39±0,13***
Моноциты, 10^9/л	3-7 лет	0,38±0,02	**0,41±0,04**	0,63±0,05*	**0,70±0,08***
	8-14 лет	0,36±0,02	0,41±0,03	0,41±0,04	0,47±0,05
Гранулоциты, 10^9/л	3-7 лет	4,49±0,44	4,12±0,68	5,21±2,05	3,24±0,35
	8-14 лет	3,75±0,22	4,40±0,35	3,04±0,27*	3,36±0,32
Гемоглобин, г/л	3-7 лет	125,44±1,87	**126,64±2,96**	126,0±2,48	**117,5±3,07***
	8-14 лет	135,89±2,27	**134,08±1,84**	129,68±4,21	**134,38±4,26***
Гематокрит, %	3-7 лет	36,61±0,05	35,83±0,7	36,84±0,6	35,81±0,58
	8-14 лет	39,53±0,67	38,08±0,54	38,52±0,95	39,44±1,2
Тромбоциты 10^9/л	3-7 лет	341,33±14,2	**359,82±29,62**	337,44±13,8	**282,7±12,22***
	8-14 лет	319,86±12,45	**314,62±12,88**	296,79±17,91	**262,75±21,02***
Эритроциты 10^9/л	3-7 лет	4,73±0,06	4,66±0,10	4,69±0,07	4,61±0,08
	8-14 лет	4,92±0,08	4,89±0,08	4,75±0,12	4,85±0,11
Средний объем эритроцита (MCV)	3-7 лет	77,36±0,51	77,10±1,31	77,0±1,33	-
	8-14 лет	80,36±0,63	78,25±1,25	79,71±1,15	80,75±2,06

Продолжение таблицы 22

Среднее содержание Hb в эритроците (MCH)	3-7 лет	26,56±0,28	27,35±0,62	26,81±0,62	-
	8-14 лет	27,7±0,23	27,49±0,47	28,24±0,47	28,15±0,45
Средняя концентрация Hb в эритроците (MCHC)	3-7 лет	325,31±12,23	321,82±31,85	349,0±4,17	-
	8-14 лет	336,83±8,07	326,5±26,72	353,71±4,06	348,5±4,52
Распределение эритроцитов по объему (RDW)	3-7 лет	13,16±0,15	13,22±0,22	13,56±0,49	-
	8-14 лет	13,11±0,1	13,58±0,18	13,3±0,43	13,63±0,74
Средний объем тромбоцитов (MPV)	3-7 лет	7,08±0,13	6,95±0,33	7,1±0,38	-
	8-14 лет	7,41±0,14	7,42±0,27	7,56±0,46	7,23±0,41
Тромбокрит (PCT)	3-7 лет	0,24±0,01	0,24±0,02	0,24±0,02	-
	8-14 лет	0,24±0,01	0,24±0,02	0,27±0,03	0,21±0,04
Распределение тромбоцитов по объему (PDV)	3-7 лет	14,43±0,7	13,55±1,68	14,3±0,8	-
	8-14 лет	15,48±0,48	16,14±1,61	14,76±0,69	15,5±0,68

Примечание: статистически значимые различия * $p<0,05$

14,43±0,7, **14,43±0,7** – сравниваемые группы.

Таким образом, симптомы поражения ЦНС при энтеровирусных менингитах на современном этапе вызванных вирусами ЕСНО и Коксаки В достоверных различий не имели.

При ЕСНО - инфекции из числа общеинфекционных симптомов преобладали гипертрофия миндалин (72,1%), гиперемия зева (88,3%), светобоязнь; при Коксаки В - инфекции - это были катаральные явления (27,3%) и признаки поражения желудочно-кишечного тракта.

Значимых различий в показателях спинномозговой жидкости при ЕСНО -и Коксаки В - вирусных менингитах установлено не было. Однако, у детей в

возрасте от 8 до 14 лет с ЕСНО - инфекцией уровень цитоза при повторной пункции был выше (17,18±2,31), чем у детей с ЕСНО - инфекцией от 3до 7 лет (10,51±1,11; p<0,05).

Количество лейкоцитов, лимфоцитов и тромбоцитов при анализе показателей гемограммы (таблица 22) при ЕСНО - вирусной инфекции было выше (p<0,05),чем у детей с вирусами Коксаки В; кроме того, при ЕСНО - инфекции была отмечена моноцитопения (p<0,05).

3.2.4. Сравнительный анализ течения энтеровирусных менингитов в различные периоды наблюдения

Был проведен сравнительный анализ дебюта течения энтеровирусных менингитов в период 1980-1984 г.г. и 2003-2012 г.г. [О. П. Ковтун, 1984].

Синдром поражения центральной нервной системы был доминирующим как в настоящее время, так и в ранее анализируемый период (таблица 23). Основными симптомами при этом были рвота и головная боль (88,6%, 97,2% и 87,4%, 83,8% соответственно).

Однако, в период 2003-2012 г.г. изменился характер синдрома гипертензии: рвота чаще указывалась как однократная или повторная (в

сравниваемом периоде рвота преимущественно была многократной). Число пациентов с жалобами на головную боль сегодня в 1,1 раз больше (97,2% против 83,8%), чем раньше. Менингеальные симптомы в современных условиях встречали чаще (97,9% против 85,7%) и, как правило, это был полный менингеальный комплекс (70,2% против 26,7%, p<0,05). Если оценивать длительность выше названных симптомов, то можно отметить, что менингеальные симптомы в настоящее время наблюдали в течение 4,97±0,26 дней, в то время как в ранее описанной работе длительность менингеальных

симптомов составляла 7,6±0,38 дня (p<0,05); головная боль отмечалась дольше (5,0±0,25 дней против 2,64±0,13 дней)(p>0,05).

Таблица 23 - Клинические симптомы синдрома поражения ЦНС при энтеровирусных менингитах в различные периоды наблюдения

Симптомы	Удельный вес		p
	1980-1984 г.г. (n=475)	2003-2012 г.г. (n=141)	
Рвота:	87,4	88,6	>0,05
- многократная	51,4	19,1	<0,05
Головная боль	83,8	97,2	>0,05
Менингеальные симптомы:	85,7	97,9	>0,05
- ригидность затылочных мышц	45,7	95,0	<0,05
- симптом Керннига	29,5	86,5	<0,05
- симптомы Брудзинского	22,7	77,3	<0,05
Полный менингеальный комплекс	26,7	70,2	<0,05

Анализируя характер общеинфекционных симптомов современных энтеровирусных менингитов и менингитов, которые наблюдали несколько десятилетий назад, можно так же выделить те или иные отличия (таблица 24).

Таблица 24 - Клинические симптомы общеинфекционного синдрома при энтеровирусных менингитах в различные периоды наблюдения

Симптомы	Удельный вес		p
	1980-1984 гг (n=475)	2003-2012 гг (n=141)	
Температура:	96,0	91,5	>0,05
-37,0-37,5	19,6	26,2	>0,05
- 37,6-38,5	48,6	48,2	>0,05
-38,6 и выше	27,8	17,0	<0,05
Гипертрофия миндалин	10,5	63,1	<0,05
Полиаденит	11,8	58,2	<0,05
Конъюнктивит	24,8	1,4	<0,05
Снижение аппетита	2,9	14,2	<0,05
Диспепсия	2,9	7,1	<0,05
Обложенность языка	12,8	29,8	<0,05
Кашель	10,3	5,7	<0,05
Насморк	15,2	6,3	<0,05
Вялость, слабость	27,6	10,6	<0,05

Повышение температуры тела у детей отмечали во всех случаях, но в прошлые годы, длительность лихорадки была незначительно дольше (5,08±0,02 против 4,1±0,22 дня, p>0,05) и значения её были выше (38,6^{0}С и выше) у большего числа заболевших. Катаральные явления, такие как кашель, насморк чаще наблюдали у детей в предыдущие годы.

Дети в тот период времени чаще страдали конъюнктивитом (24,8% против 1,4%, p<0,05), у них в большей степени проявлялись вялость и

слабость (27,6% против 10,6%, $p<0,05$). Гипертрофию миндалин и полиаденит значительно чаще наблюдали у детей в настоящее время (63,1% и 58,2% против 10,5% и 11,8% соответственно, $p<0,05$).

При оценке расстройств со стороны желудочно-кишечного тракта можно заметить, что при современном течении ЭВ - менингитов наиболее выражены снижение аппетита (14,2% против 2,9%), диспепсия (7,1% против 2,9%), обложенность языка (29,8% против 12,8%).

Были выявлены различия ЭВ - менингитов разных временных периодов в показателях спинномозговой жидкости (СМЖ). Уровень цитоза в пробах СМЖ, полученной в первые дни болезни, был несколько выше при современном течении инфекции ($206,02\pm22,5*10^6$ /л против $172,74\pm12,94*10^6$ /л, $p>0,05$), при этом плеоцитоз носил смешанный характер (в предыдущие годы отмечали преобладание лимфоцитов в ликворе). Количество белка при первичной пункции было выше у пациентов прошлых лет.

Таким образом, смена ведущего этиологического агента в разные временные периоды (1980-1984 г.г. и 2003-2012 г.г.), возможно, повлияла и на течение ЭВ-менингитов. На современном этапе изменился характер синдрома гипертензии: чаще регистрировалась рвота однократная (в раннем периоде она чаще была многократный) и более продолжительной была головная боль. Менингеальный комплекс, как правило, был полным (70,2% против 26,7%) и сохранялся дольше, чем раньше.

В период 1980-1984 г.г. в большей степени проявлялись симптомы общеинфекционного синдрома, такие как, лихорадка, катаральные явления (кашель, насморк), конъюнктивит, у большей части детей наблюдали вялость и слабость.

Со стороны желудочно-кишечного тракта при современном течении ЭВ-менингитов наиболее выражены снижение аппетита, диспепсия, обложенность языка.

При исследовании СМЖ у детей с серозными менингитами разных периодов наблюдения достоверных отличий в уровне цитоза установлено не было. Плеоцитоз в настоящее время носил преимущественно смешанный характер ($p < 0,05$).

Оценивая спектр выделенных вирусов, можно сказать, что в сравниваемый период (1980-1984 г.г.) ведущим этиологическим агентом серозных менингитов были вирусы Коксаки В (20,0% при спорадической и 50,0% при вспышечной заболеваемости). Среди серотипов Коксаки В преволирующим штаммом был КВ4. Вирусы ЕСНО в этот период времени выделяли в меньшей степени - 20,9%. Из группы ЕСНО - вирусов основными были ЕСНО - 11 и ЕСНО - 30. В единичных случаях выявлены ЕСНО - 13, 7, 9 и 4.

В период 2003-2012 г.г. на первый план выступают вирусы ЕСНО (42,7%), среди которых доминирующими были ЕСНО - 30 (44,7%), ЕСНО - 6 (17,3%), ЕСНО - 7 (10,9%). Среди выделенных штаммов встречались ЕСНО - 11, 18 и 32. Коксаки В вирусы вызывали заболевание в 37,3% случаев. Спектр Коксаки В вирусов был шире, чем в сравниваемый период: выделяли Коксаки В2 (12,0%), Коксаки В4 (19,9%), Коксаки В5 (33,7%), Коксаки В3 (14,6%). Можно отметить, что произошла смена ведущего этиологического агента в анализируемые периоды: вирусы Коксаки В уступили место вирусам ЕСНО. Среди ЕСНО - вирусов в настоящее время наиболее значимыми являются ЕСНО - 30, 6 и 7.

Таким образом:

- симптомы поражения ЦНС при энтеровирусных менингитах на современном этапе вызванных вирусами ЕСНО и Коксаки В достоверных различий не имели;

- при ЕСНО - вирусной инфекции из числа общеинфекционных симптомов преобладали гипертрофия миндалин (72.1%), гиперемия зева (88.3%), светобоязнь; при Коксаки В - вирусной инфекции чаще регистрировали катаральные явления (27.2%) и признаки поражения желудочно-кишечного тракта;

- значимых различий в показателях спинномозговой жидкости при ЕСНО -и Коксаки В - вирусных менингитах установлено не было, однако, у детей в возрасте от 8 до 14 лет с ЕСНО - инфекцией уровень плеоцитоза при повторной пункции был выше ($p<0,05$), чем у детей с ЕСНО - инфекцией от 3до 7 лет;

- количество лейкоцитов, лимфоцитов и тромбоцитов при анализе показателей гемограммы при ЕСНО - вирусной инфекции был выше ($p<0,05$),чем у детей с Коксаки В - вирусными менингитами; кроме того, при ЕСНО - инфекции была отмечена моноцитопения ($p<0,05$);

- на современном этапе изменился характер синдрома гипертензии: рвота в настоящее время чаще однократная (в сравниваемом периоде - многократная), головная боль - более продолжительная; менингеальный комплекс, как правило, был полным (70,2% против 26,7%, $p<0,05$) и сохранялся дольше, чем в раннем периоде; в 1980-1984 г.г. в большей степени проявлялись симптомы общеинфекционного синдрома, такие как, лихорадка, катаральные явления (кашель, насморк), конъюнктивит, у большей части детей наблюдались вялость и слабость; со стороны желудочно-кишечного тракта при современном течении ЭВ - менингитов наиболее выражены снижение аппетита, диспепсия, обложенность языка. Смена ведущего типа ЭВ в разные временные периоды, возможно, повлияла на изменение

характера течения серозных менингитов, что может объясняться изменением свойств вирусов, их вирулентности и патогенности и, как следствие, измнение патогенетических механизмов развития заболевания.

Глава 4. ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭНТЕРОВИРУСНЫХ МЕНИНГИТОВ У ДЕТЕЙ

4.1. Иммунологическая характеристика ЕСНО - вирусных менингитов у детей 3-7 лет

Для выявления и определения степени выраженности специфических изменений в клеточном и гуморальном звеньях иммунитета, а также в системе факторов неспецифической защиты был использован комплекс иммунологических тестов. Всего было обследовано 39 детей в возрасте от 3 до 7 лет. Первое обследование проводили в 1-7 день от начала заболевания (I исследование), второе - на 14-21 день (II исследование). Сравнение полученных результатов проводили с данными иммунологического обследования практически здоровых детей в аналогичной возрастной группе (n=33). Результаты представлены в таблице 25.

У детей с ЕСНО - вирусными менингитами на начальном этапе заболевания количество лимфоцитов и гранулоцитов было в пределах контрольных значений (3,15±0,19 и 4,49±0,44 соответственно). Выявлено снижение абсолютного количества моноцитов (0,38±0,02, $p<0,05$), а также их фагоцитарной активности (0,32±0,02, $p<0,05$).

Общее содержание Т - лимфоцитов (CD3+), уровень В - лимфоцитов (CD19+) в периферической крови не отличались от аналогичных показателей в группе сравнения. Число Т - хелперных лимфоцитов (CD3+CD4+) в начале болезни было значительно снижено (1,02±0,07, $p<0,05$), в то время как содержание цитотоксических Т - лимфоцитов значимо не отличалось от контрольных показателей.

Таблица 25 - Показатели иммунограммы при ЕСНО - вирусных менингитах у детей 3-7 лет, (M±m)

Показатели	Здоровые дети 3-7 лет (n=33)	ЕСНО - вирусные менингиты (n=39)	
		I исследование	II исследование
Лимфоциты,х10^9/л	3,25±0,2	3,15±0,19	3,77±0,33
Моноциты, х10^9/л	0,52±0,05	0,38±0,02↓	0,41±0,04
Гранулоциты, х10^9/л	3,64±0,28	4,49±0,44	4,12±0,68
Т-лимф. (CD3+),х10^9/л	2,34±0,7	2,0±0,12	2,69±0,22*↑
В-лимф. (CD19+), х10^9/л	0,5±0,04	0,59±0,05	0,63±0,09
Т-хелперы (CD3+CD4+), х10^9/л	1,32±0,11	1,02±0,07↓	1,44±0,13*↑
Т-цитотокс. (CD3+CD8+), х10^9/л	0,81±0,07	0,78±0,05	0,97±0,08*↑
Т-активир. (HLA-DR+ CD3+), х10^9/л	0,05±0,02	0,3±0,01↑	0,03±0,001*↓
NK- лимфоциты (CD3-CD16+CD56+),х10^9/л	0,31±0,03	0,46±0,06↑	0,38±0,07
TNK (CD3+CD16+CD56+),х10^9/л	0,026±0,004	0,03±0,01	0,02±0,01
IgA,мг/мл	0,96±0,07	0,84±0,06	0,74±0,13
IgM,мг/мл	1,36±0,07	1,49±0,09	1,34±0,12
IgG, мг/мл	8,96±0,42	10,28±0,49↑	9,09±0,67
ЦИК,ед.опт.пл.	26,65±2,77	62,92±5,42↑	37,68±3,49*↓
НСТ спонт,%	9,0±1,78	9,9±1,32	8,75±1,24
НСТ стим,%	13,5±2,24	12,9±1,31	11,6±1,79
Бактер.активность,%	42,33±2,27	34,03±1,27↓	42,08±3,27*↑
Активн.фаг-за (моноциты),х10^9/л	0,41±0,04	0,32±0,02↓	0,35±0,03
Активн.фаг-за (нейтрофилы),х10^9/л	3,40±0,17	3,98±0,37	3,63±0,50
CD3+IFN-γ (ст),х10^9/л	0,18±0,02	0,3±0,04↑	0,31±0,04↑
CD3+IFN-γ (сп),х10^9/л	0,006±0,001	0,01±0,001↑	0,001±0,001↓
CD3+TNF-α (ст),х10^9/л	0,57±0,06	0,62±0,05	0,73±0,05
CD3+TNF-α (сп),х10^9/л	0,02±0,002	0,01±0,001↓	0,01±0,001↓
CD3+IL-2+ (ст),х10^9/л	0,37±0,04	0,22±0,03↓	0,37±0,06*↑
CD3+IL-2+(сп),х10^9/л	0,01±0,002	0,01±0,003	0,001±0,001↓
CD3+IL-4+ (ст),х10^9/л	0,01±0,002	0,02±0,001↑	0,03±0,001↑
CD3+IL-4+ (сп),х10^9/л	0,001±0,001	0,01±0,001↑	0,01±0,001↑

Примечание:↓ или ↑- достоверно значимые различия ($p<0,05$) при сравнении показателей основных групп с группой сравнения; *↓ или *↑- достоверно значимые различия в основных группах в зависимости от сроков обследования при сопоставлении результатов I и II исследований.

Установлено достоверное увеличение уровня NK - лимфоцитов и активированных Т - лимфоцитов в 1-7 день болезни (0,46±0,06, p<0,05) (рисунок 14).

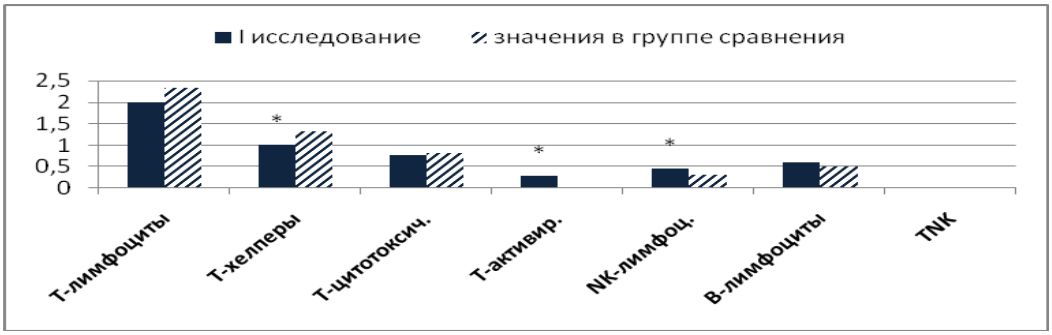
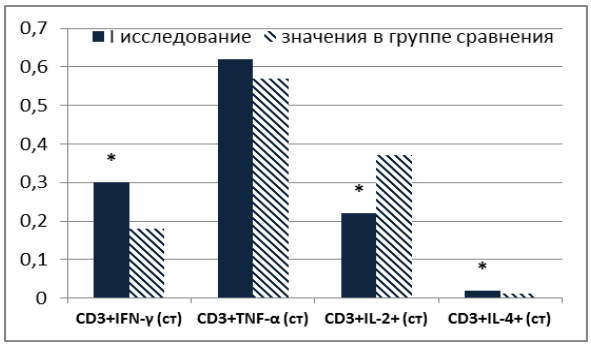


Рисунок 14 - Показатели клеточного иммунитета у детей 3-7 лет с ЕСНО - вирусными менингитами, I исследование.

*-достоверно значимые различия (p<0,05).

Анализ цитокинового профиля Т-лимфоцитов на начальном этапе болезни продемонстрировал увеличение содержания Т-лимфоцитов, синтезирующих IFN-γ. Количество Т- лимфоцитов-продуцентов IL-2 (стимулированный синтез) значимо снижалось (0,22±0,03, p<0,05). Абсолютное содержание IL-4-продуцирующих Т - лимфоцитов превышало содержание данной субпопуляции в группе сравнения (рисунок 15) (стимулированный и спонтанный синтез).



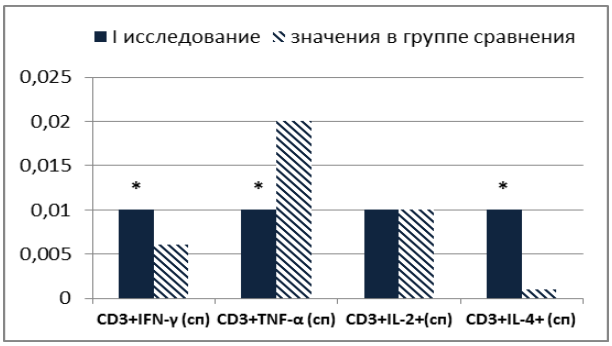


Рисунок 15 - Показатели цитокинового профиля Т - лимфоцитов у детей 3-7 лет с ЕСНО - вирусными менингитами, I исследование.

*-достоверно значимые различия (p<0,05).

При ЕСНО - вирусных менингитах у детей 3-7 лет на первой неделе болезни содержание IgA и IgM было в пределах контрольных значений. Выявлено достоверное увеличение уровня IgG (10,28±0,49, p<0,05). Отмечено значительное увеличение количества циркулирующих иммунных комплексов (62,92±5,42, p<0,05).

На третьей неделе заболевания количество моноцитов в периферической крови детей практически достигло значений данного показателя в группе сравнения с нормализацией фагоцитарной активности моноцитов (0,35±0,03).

Содержание Т - лимфоцитов (CD3+), цитотоксических Т - лимфоцитов (CD3+CD8+) и В - лимфоцитов (CD19+) не превышало контрольных значений, однако, уровень их был выше, чем на начальном этапе заболевания (p<0,05) (рисунок 16).

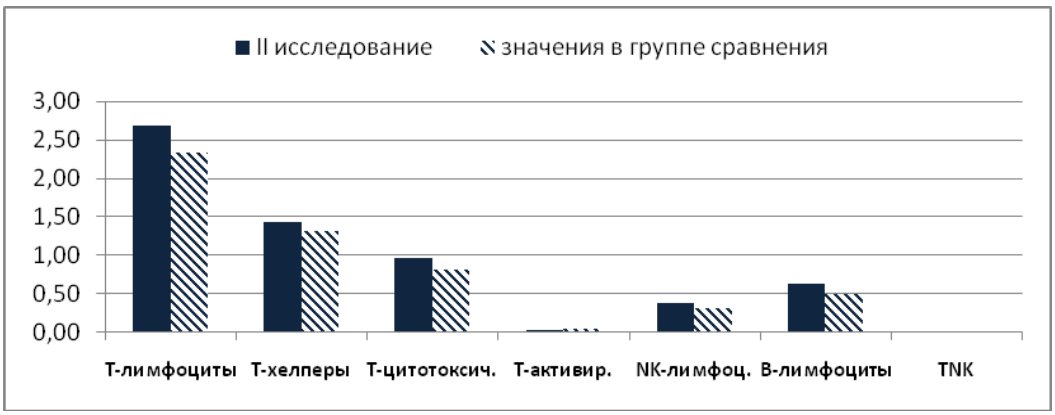


Рисунок 16 - Показатели клеточного иммунитета у детей 3-7 лет с ЕСНО - вирусными менингитами, II исследование.

*-достоверно значимые различия (p<0,05).

В период с 14 по 21 день болезни (II исследование) отмечено нарастание количества Т - хелперных лимфоцитов (CD3+CD4+) по сравнению со стартовыми показателями (I исследование) (p<0,05). К концу заболевания у детей сохранялось увеличенное количество CD3+IFN-γ+

клеток (стимулированный синтез, p<0,05). Спонтанный синтез IFN-γ и TNF-α Т - лимфоцитами к концу третьей недели был снижен (p<0,05). При повторном обследовании детей вновь установлено повышенное содержание CD3+IL-4 лимфоцитов (спонтанный и стимулированный синтез), и сниженное содержание в периферической крови CD3+ лимфоцитов, спонтанно синтезирующих IL-2 (p<0,05) (рисунок 17).

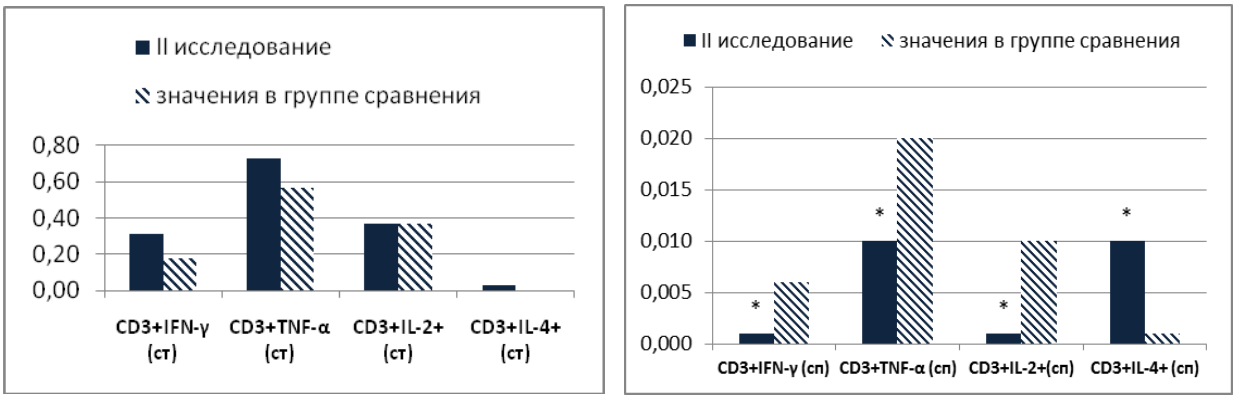


Рисунок 17- Показатели цитокинового профиля Т - лимфоцитов у детей 3-7 лет с ЕСНО - вирусными менингитами, II исследование.

*-достоверно значимые различия (p<0,05).

При оценке результатов исследований гуморального звена иммунитета на заключительном этапе болезни (II исследование) установлено, что уровень IgA, IgM и IgG не отличался от аналогичных показателей в группе сравнения. Количество ЦИК значительно снизилось по сравнению с исходными данными (p<0,05).

Таким образом, у детей с ЕСНО-вирусными менингитами в возрасте 3-7 лет острый период заболевания характеризуется низкой активностью факторов врожденного иммунитета и недостаточностью иммунного ответа. В период регресса клинических симптомов выявлены показатели, которые

были ниже уровня показателей группы сравнения, что может вызывать настороженность в отношении этих детей по формированию вторичной иммунологической недостаточности.

4.2. Иммунологическая характеристика ЕСНО - вирусных менингитов у детей 8-14 лет

Комплекс иммунологических тестов, характеризующих разные звенья иммунитета, был проведен на 1-7 день болезни (I исследование) и на 14-21 день (II исследование) у 47 детей в возрасте от 8 до 14 лет при ЕСНО - вирусных менингитах. Сравнение полученных результатов проводили с данными иммунологического обследования практически здоровых детей в аналогичной возрастной группе (n=27). Результаты представлены в таблице 26.

В первые дни болезни у детей в возрасте 8-14 лет с ЕСНО - вирусными менингитами количество лимфоцитов, гранулоцитов было в пределах контрольных значений. Выявлено снижение абсолютного количества моноцитов (0,36±0,02, $p<0,05$).

Число Т-лимфоцитов (CD4+) и их субпопуляций (Т-хелперные лимфоциты, цитотоксические Т-лимфоциты, активированные Т-лимфоциты), на первой неделе заболевания достоверно не отличались от аналогичных показателей группы сравнения. Был значительно повышен уровень В-лимфоцитов (CD19+) (рисунок 18).

Зарегистрировано увеличение количества NK-лимфоцитов (0,38±0,04, $p<0,05$), а также снижение уровня TNK-клеток (0,05±0,01, $p<0,05$).

Анализ цитокинового профиля Т-лимфоцитов свидетельствует о повышении содержания главных медиаторов клеточного иммунитета - CD3+IFN-γ+ лимфоцитов (0,43±0,05, $p<0,05$). У детей с ЕСНО - вирусной инфекцией в начале заболевания установлено уменьшение CD3+

Таблица 26 - Показатели иммунограммы при ЕСНО - вирусных менингитах у детей 8-14 лет (M±m)

Показатели	Здоровые дети 8-14 лет (n=27)	ЕСНО - вирусные менингиты (n=47)	
		I исследование	II исследование
Лимфоциты,х10^9/л	2,25±0,4	2,42±0,13	2,98±0,19↑ *↑
Моноциты, х10^9/л	0,46±0,04	0,36±0,02↓	0,41±0,03
Гранулоциты, х10^9/л	3,6±0,27	3,75±0,22	4,4±0,35
Т-лимф. (CD3+),х10^9/л	1,61±0,11	1,6±0,09	2,06±0,6↑ *↑
В-лимф. (CD19+), х10^9/л	0,33±0,03	0,94±0,58↑	0,39±0,02
Т-хелперы (CD3+CD4+), х10^9/л	0,92±0,07	0,82±0,04	1,0±0,06
Т-цитотокс. (CD3+CD8+), х10^9/л	0,54±0,04	0,64±0,05	0,89±0,12↑
Т-активир. (HLA-DR+ CD3+), х10^9/л	0,02±0,01	0,037±0,04	0,05±0,01
NK- лимфоциты (CD3-CD16+CD56+),х10^9/л	0,23±0,03	0,38±0,04↑	0,45±0,06↑
TNK (CD3+CD16+CD56+),х10^9/л	0,2±0,001	0,05±0,01↓	0,07±0,01↓
IgA,мг/мл	1,39±0,15	1,37±0,09	1,34±0,16
IgM,мг/мл	1,54±0,13	1,58±0,11	1,23±0,14
IgG, мг/мл	11,56±0,42	11,38±0,52	9,62±0,65↓
ЦИК,ед.опт.пл.	30,53±3,85	67,16±5,94↑	43,95±8,04*↓
НСТ спонт,%	11,74±2,47	11,56±1,31	9,57±1,27
НСТ стим,%	11,33±2,55	14,56±1,58	13,95±1,50
Бактер.активность,%	39,96±2,41	37,24±1,54	35,95±2,28
Активн.фаг-за (моноциты),х10^9/л	0,37±0,03	0,31±0,02	0,36±0,03
Активн.фаг-за (нейтрофилы),х10^9/л	3,24±0,22	3,36±0,2	4,07±0,26*↑
CD3+IFN-γ (ст),х10^9/л	0,23±0,02	0,43±0,05↑	0,45±0,12
CD3+IFN-γ (сп),х10^9/л	0,006±0,001	0,01±0,001↑	0,01±0,001↑
CD3+TNF-α (ст),х10^9/л	0,68±0,06	0,73±0,07	0,73±0,12
CD3+TNF-α (сп),х10^9/л	0,015±0,001	0,01±0,002↓	0,01±0,001↓
CD3+IL-2+ (ст),х10^9/л	0,48±0,06	0,26±0,03↓	0,38±0,04*↑
CD3+IL-2+(сп),х10^9/л	0,01±0,001	0,01±0,002	0,01±0,001
CD3+IL-4+ (ст),х10^9/л	0,009±0,001	0,02±0,001↑	0,02±0,001↑
CD3+IL-4+ (сп),х10^9/л	0,001±0,001	0,01±0,002↑	0,01±0,002↑

Примечание:↓ или ↑- достоверно значимые различия ($p<0,05$) при сравнении показателей основных групп с группой сравнения; *↓ или *↑- достоверно значимые различия в основных группах в зависимости от сроков обследования при сопоставлении результатов I и II исследований.

лимфоцитов, спонтанно синтезирующих TNF-α (0,01±0,002, p<0,05) и CD3+IL-2+ лимфоцитов (0,26±0,03, p<0,05, стимулированный синтез).

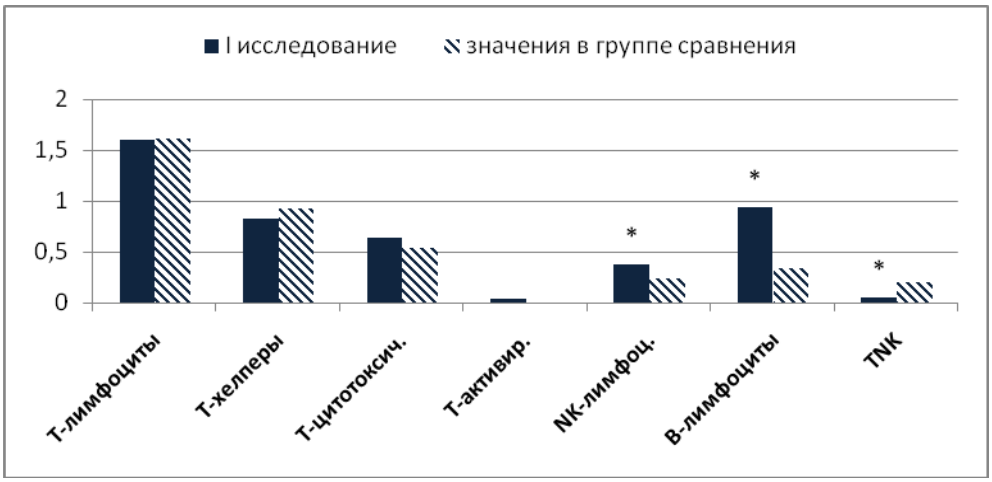


Рисунок 18 - Показатели клеточного иммунитета у детей 8-14 лет с ЕСНО - вирусными менингитами, I исследование.

*-достоверно значимые различия (p<0,05).

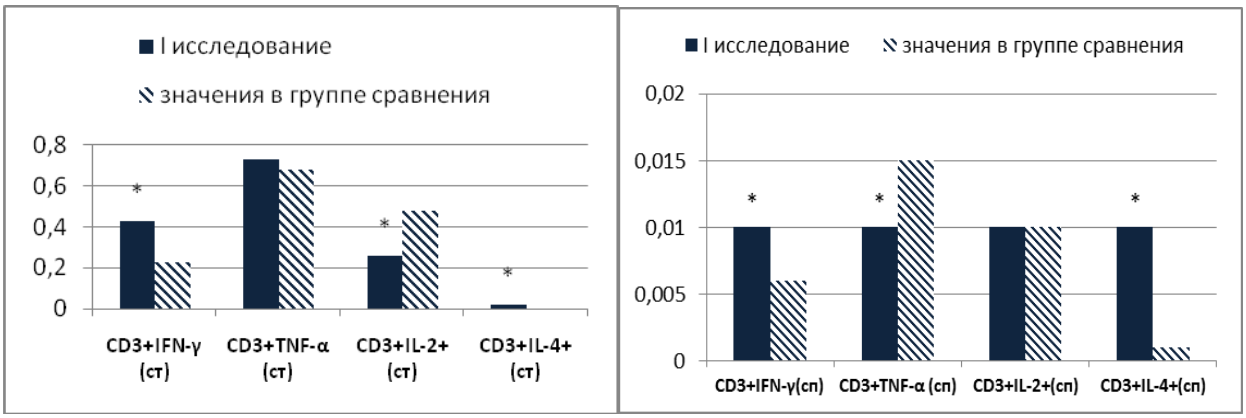


Рисунок 19 - Показатели цитокинового профиля Т-лимфоцитов у детей 8-14 лет с ЕСНО - вирусными менингитами, I исследование.

*-достоверно значимые различия (p<0,05).

Содержание IL-4-синтезирующих Т-лимфоцитов значимо превышало показатели группы сравнения (рисунок 19).

При оценке показателей гуморального звена иммунитета на первой неделе болезни детей 8-14 лет каких-либо значимых изменений выявлено не было: синтез иммуноглобулинов классов А, М и G соответствовал показателям группы сравнения.

Установлено значительное (в 2,2 раза) увеличение количества ЦИК, как результат избытка вирусного антигена в организме детей (67,16±5,94, p<0,05).

К третьей неделе болезни (II исследование) у детей 8-14 лет с ЕСНО - вирусными менингитами наблюдали увеличение абсолютного количества лимфоцитов (2,98±0,19, p<0,05). Число гранулоцитов и моноцитов при этом соответствовало нормальным показателям.

Рисунок 20 - Показатели клеточного иммунитета у детей 8-14 лет с ЕСНО - вирусными менингитами, II исследование.

*-достоверно значимые различия (p<0,05).

Выявлен рост уровня CD3+ лимфоцитов (2,06±0,6, p<0,05), CD3+CD8+ лимфоцитов (0,89±0,12, p<0,05), NK-лимфоцитов (0,45±0,06, p<0,05). По-

прежнему отмечали увеличение уровня CD3+ лимфоцитов, спонтанно синтезирующих IFN-γ (0,01±0,001, p<0,05), снижение CD3+TNF-α+ лимфоцитов (0,01±0,001, p<0,05), значительный уровень Т-лимфоцитов, синтезирующих IL-4 (спонтанный и стимулированный синтез) (p<0,05) (рисунок 20,21).

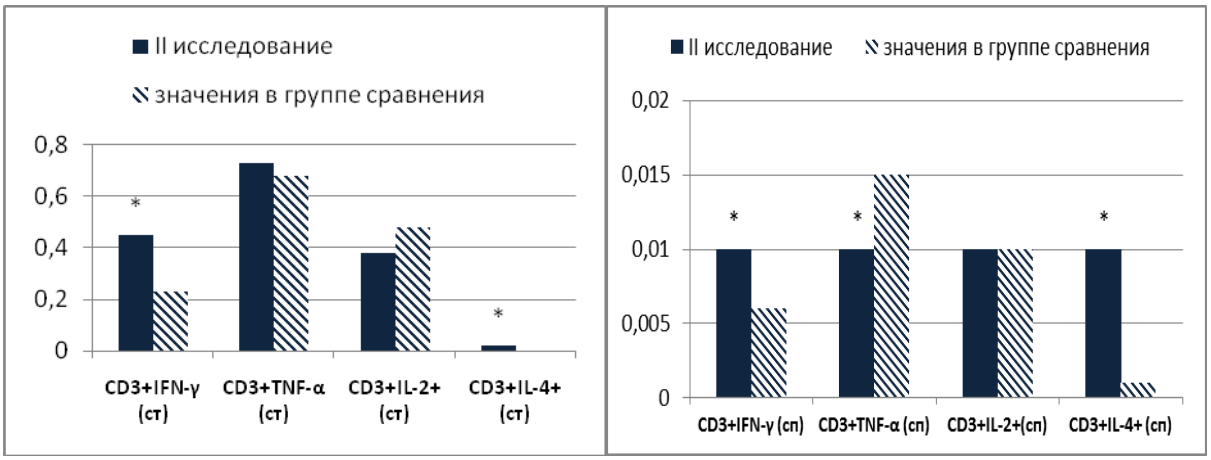


Рисунок 21 - Показатели цитокинового профиля Т-лимфоцитов у детей 8-14 лет с ЕСНО - вирусными менингитами, II исследование.

*-достоверно значимые различия (p<0,05).

Оценивая показатели гуморального иммунитета, можно отметить снижение образования иммуноглобулинов класса G (9,62±0,65, p<0,05).

Количество ЦИК на заключительном этапе болезни (II исследование) значительно уменьшилось (43,95±8,04, p<0,05) в сравнении со стартовыми показателями (I исследование).

Таким образом, иммунный ответ при ЕСНО-вирусных менингитах у детей 8-14 лет характеризуется активностью клеточного звена иммунитета. Вместе с тем отмечена недостаточность факторов неспецифической защиты и гуморального звена иммунитета.

4.3. Сравнительная иммунологическая характеристика ЕСНО - вирусных менингитов у детей 3-7 и 8-14 лет

Сравнительный анализ иммунологических показателей в группах детей 3-7 и 8-14 лет в остром периоде менингеальной формы ЕСНО - вирусных менингитов позволил установить как общие, так и зависящие от возраста особенности иммунологического реагирования. К универсальным закономерностям, не зависящим от возраста заболевших, относятся: снижение абсолютного количества моноцитов в периферической крови на 1-й неделе болезни, высокое содержание NK- клеток в острый период болезни, увеличение содержания цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3+CD8+) на 3-й неделе заболевания. При оценке цитокинового профиля Т-лимфоцитов выявлено повышение уровня CD3+ лимфоцитов, спонтанно синтезирующих IFN-γ (начальные этапы заболевания), CD3+IL-4+ лимфоцитов (спонтанный и стимулированный синтез) в течение всего периода наблюдения. Отмечено уменьшение количества CD3+TNF-α+ и CD3+IL-2+ лимфоцитов. В обеих возрастных группах мы наблюдали высокое содержание ЦИК.

Проведенный анализ позволил сформулировать и отличительные особенности, характеризующие ЕСНО - менингиты в разных возрастных группах. Так, у детей 3-7 лет было зарегистрировано повышение уровня Т-активированных и снижение уровня Т-хелперных лимфоцитов на начальном этапе болезни. У детей с ЕСНО - менингитами в возрасте 8-14 лет установлен высокий уровень В - лимфоцитов (CD19+) в острый период болезни, а также длительное время сохранялся низкий уровень TNK-клеток.

При ЕСНО-менингитах у пациентов от 3 до 7 лет наблюдали снижение фагоцитарной активности моноцитов; в старшей возрастной группе фагоцитарная активность моноцитов была в норме. В отличие от детей 8-14

лет, у пациентов 3-7 лет на 1-й неделе болезни повышался синтез иммуноглобулинов класса G.

4.4. Иммунологическая характеристика Коксаки В - вирусных - менингитов у детей 3-7 лет

Для оценки иммунного статуса детей с Коксаки В - вирусными менингитами было обследовано 34 ребенка в возрасте от 3 до 7 лет на 1-7 день болезни (I исследование) и на 14-21 день (II исследование). Результаты представлены в таблице 27.

Таблица 27 - Показатели иммунограммы при Коксаки В - вирусных менингитах у детей 3-7 лет (M±m).

Показатели	Здоровые дети 3-7 лет (n=33)	Коксаки В - вирусные менингиты (n=34)	
		I исследование	II исследование
Лимфоциты,х10^9/л	3,25±0,2	3,31±0,21	3,12±0,22
Моноциты, х10^9/л	0,52±0,05	0,63±0,05	0,70±0,08
Гранулоциты, х10^9/л	3,64±0,28	5,21±2,05	3,24±0,35
Т-лимф. (CD3+),х10^9/л	2,34±0,7	2,1±0,4	2,06±0,12
В-лимф. (CD19+), х10^9/л	0,5±0,04	0,63±0,05↑	0,47±0,05*↓
Т-хелперы (CD3+CD4+), х10^9/л	1,32±0,11	1,09±0,08	1,18±0,07
Т-цитотокс. (CD3+CD8+), х10^9/л	0,81±0,07	0,86±0,06	0,91±0,10
Т-активир. (HLA-DR+ CD3+), х10^9/л	0,05±0,02	0,04±0,04	0,04±0,01
NK- лимфоциты (CD3-CD16+CD56+),х10^9/л	0,31±0,03	0,51±0,06↑	0,39±0,05
TNK (CD3+CD16+CD56+),х10^9/л	0,026±0,004	0,04±0,01	0,04±0,01
IgA,мг/мл	0,96±0,07	1,12±0,09	1,08±0,09
IgM,мг/мл	1,36±0,07	1,84±0,13↑	1,71±0,12↑
IgG, мг/мл	8,96±0,42	10,45±0,54↑	9,42±0,57
ЦИК,ед.опт.пл.	26,65±2,77	89,7±8,71↑	63,54±7,35↑ *↓
НСТ спонт,%	9,0±1,78	13,48±1,32↑	14,0±1,58↑
НСТ стим,%	13,5±2,24	20,87±1,90↑	20,58±2,67↑
Бактер.активность,%	42,33±2,27	37,84±2,84	32,93±3,33↓
Активн.фаг-за (моноциты),х10^9/л	0,41±0,04	0,45±0,03	0,5±0,06

Продолжение таблицы 27

Активн.фаг-за (нейтрофилы),х10^9/л	3,40±0,17	4,14±0,47	2,93±0,33*↓
CD3+IFN-γ (ст),х10^9/л	0,18±0,02	0,59±0,09↑	0,49±0,13↑
CD3+IFN-γ (сп),х10^9/л	0,006±0,001	0,05±0,01↑	0,06±0,01↑
CD3+TNF-α (ст),х10^9/л	0,57±0,06	0,85±0,12↑	0,67±0,20
CD3+TNF-α (сп),х10^9/л	0,02±0,002	0,07±0,02↑	0,07±0,01↑
CD3+IL-2+ (ст),х10^9/л	0,37±0,04	0,42±0,06	0,35±0,08
CD3+IL-2+(сп),х10^9/л	0,01±0,002	0,06±0,01↑	0,05±0,01↑
CD3+IL-4+ (ст),х10^9/л	0,01±0,002	0,08±0,02↑	0,07±0,01↑
CD3+IL-4+ (сп),х10^9/л	0,001±0,001	0,06±0,02↑	0,07±0,01↑

Примечание:↓ или ↑- достоверно значимые различия (p<0,05) при сравнении показателей основных групп с группой сравнения; *↓ или *↑- достоверно значимые различия в основных группах в зависимости от сроков обследования при сопоставлении результатов I и II исследований.

На первой неделе болезни в крови детей количество лимфоцитов, гранулоцитов и моноцитов соответствовало аналогичным показателям группы сравнения.

Рисунок 22 - Показатели клеточного иммунитета у детей 3-7 лет с Коксаки В - вирусными менингитами, I исследование.

*-достоверно значимые различия (p<0,05).

Количество Т-лимфоцитов и их субпопуляций (Т-хелперных лимфоцитов, цитотоксических Т-лимфоцитов, активированных Т-лимфоцитов) не отличалось от контрольных значений (рисунок 22). Установлено увеличение уровня В-лимфоцитов (0,63±0,05, p<0,05), NK-лимфоцитов (0,51±0,06, p<0,05). Одновременно с увеличением количества NK - клеток наблюдали повышение уровня IFN-γ-положительных Т-лимфоцитов (0,59±0,09 и 0,05±0,01 в спонтанном и стимулированном тесте соответственно; p<0,05). Кроме того, у пациентов данной группы выявлено увеличение количества CD3+TNF-α+, CD3+IL-2+ (спонтанный синтез) и CD3+IL-4+ лимфоцитов (p<0,05) (рисунок 23).

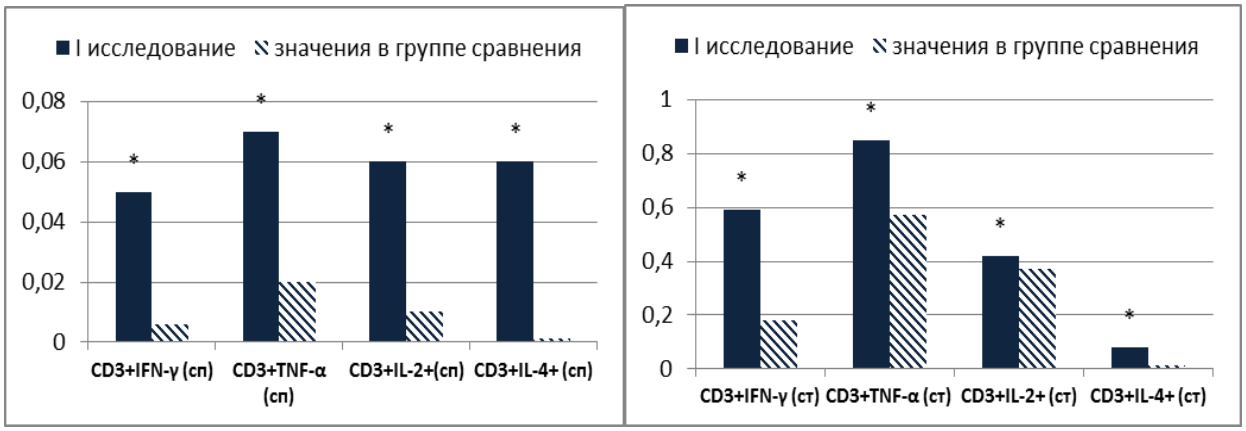


Рисунок 23 - Показатели цитокинового профиля Т-лимфоцитов у детей 3-7 лет с Коксаки В - вирусными менингитами, I исследование

*-достоверно значимые различия (p<0,05).

Результаты исследований гуморального звена иммунитета продемонстрировали увеличение синтеза IgM (1,84±0,13, p<0,05) и IgG (10,45±0,54, p<0,05) в первую неделю заболевания.

При Коксаки В - вирусной инфекции у детей выявлены высокие показатели НСТ-теста (p<0,05). Количество ЦИК у пациентов с КВ -

вирусными менингитами на начальном этапе заболевания превышало аналогичные показатели в группе сравнения более чем в 3,3 раза (p<0,05).

На третьей неделе заболевания уровень лимфоцитов, гранулоцитов и моноцитов не отличался от стартовых значений и достоверно не отличался от аналогичных показателей группы сравнения.

В динамике заболевания по-прежнему было повышено содержание IFN-γ- и IL-4-положительных Т-лимфоцитов (p<0,05), CD3+TNF-α+, CD3+IL-2+ - лимфоцитов, наблюдались высокие значения НСТ-теста, высокие уровни ЦИК (63,54±7,35, p<0,05) (рисунок 24,25).

Рисунок 24 - Показатели клеточного иммунитета у детей 3-7 лет с Коксаки В - вирусными менингитами, II исследование.

*-достоверно значимые различия (p<0,05).

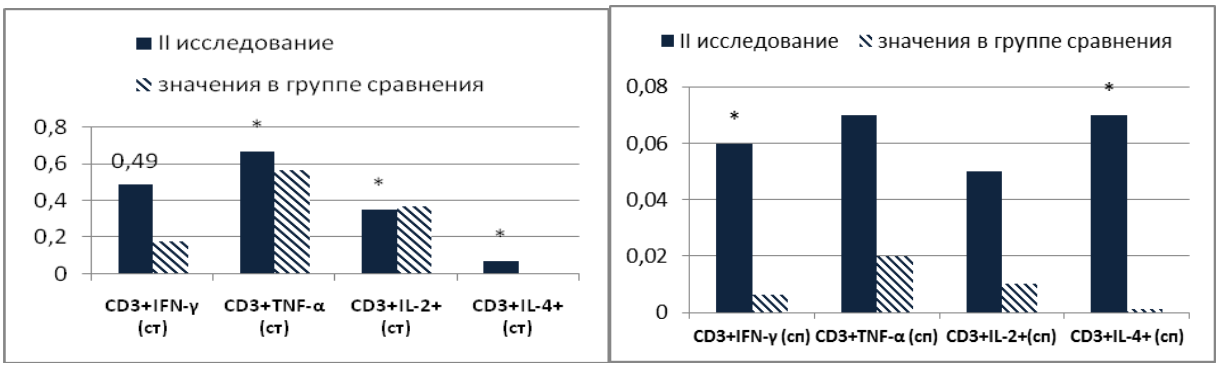


Рисунок 25 - Показатели цитокинового профиля Т-лимфоцитов у детей 3-7 лет с Коксаки В - вирусными менингитами, II исследование

*-достоверно значимые различия (p<0,05).

К концу заболевания у пациентов отмечено снижение бактерицидной активности (32,93±3,33, p<0,05) и фагоцитарной активности нейтрофилов (2,93±0,33, p<0,05).

Таким образом, показано, что у детей 3-7 лет с Коксаки В-вирусными менингитами в иммунном ответе преобладают реакции со стороны неспецефических факторов защиты и гуморального звена, что подтверждается наличием высокого уровня циркулирующих иммунных комплексов, высокими значениями НСТ-теста, высоким уровнем выработки сывороточных иммуноглобулинов класса М и G.

4.5. Иммунологическая характеристика Коксаки В - вирусных менингитов у детей 8-14 лет

Изменение иммунологических показателей у детей при Коксаки В - вирусных менингитах оценивали по результатам обследования 21 ребенка в возрасте от 8 до 14 лет. Исследования проводили двухкратно - на 1-7 день от начало заболевания (I исследование) и на 14-21 день (II исследование). Сравнение полученных результатов проводили с данными обследования практически здоровых детей в аналогичной возрастной группе (n=27) (таблица 28).

На первой неделе болезни (I исследование) уровень лимфоцитов, гранулоцитов и моноцитов у детей основной группы не отличался от значений группы сравнения.

В клеточном звене (рисунок 26, 27) выявлено увеличение количества NK-лимфоцитов (0,35±0,04, p<0,05). Наблюдали повышение содержания CD3+IFN-γ+ и CD3+IL-4+ лимфоцитов на фоне снижения IL-2-положительных Т-клеток (стимулированный синтез, 0,24±0,03, p<0,05).

Таблица 28 - Показатели иммунограммы при Коксаки В - вирусных менингитах у детей 8-14 лет, (M±m)

Показатели	Здоровые дети 8-14 лет (n=27)	Коксаки В - вирусные менингиты (n=21)	
		I исследование	II исследование
Лимфоциты,х10^9/л	2,25±0,4	2,09±0,16	2,39±0,13
Моноциты, х10^9/л	0,46±0,04	0,41±0,04	0,47±0,05
Гранулоциты, х10^9/л	3,6±0,27	3,04±0,27	3,36±0,32
Т-лимф. (CD3+),х10^9/л	1,61±0,11	1,37±0,11	1,59±0,09
В-лимф. (CD19+), х10^9/л	0,33±0,03	0,32±0,03	0,34±0,02
Т-хелперы (CD3+CD4+), х10^9/л	0,92±0,07	0,72±0,08	0,79±0,07
Т-цитотокс. (CD3+CD8+), х10^9/л	0,54±0,04	0,54±0,05	0,61±0,04
Т-активир. (HLA-DR+ CD3+), х10^9/л	0,02±0,01	0,04±0,01	0,04±0,01
NK- лимфоциты (CD3-CD16+CD56+),х10^9/л	0,23±0,03	0,35±0,04↑	0,41±0,05↑
TNK (CD3+CD16 +CD56+),х10^9/л	0,2±0,001	0,04±0,01	0,05±0,01
IgA,мг/мл	1,39±0,15	1,61±0,19	1,34±0,18
IgM,мг/мл	1,54±0,13	1,62±0,12	1,46±0,12
IgG, мг/мл	11,56±0,42	12,37±0,87	11,23±0,63
ЦИК,ед.опт.пл.	30,53±3,85	68,06±9,23↑	72,44±10,07↑
НСТ спонт,%	11,74±2,47	12,72±1,49	13,12±2,43
НСТ стим,%	11,33±2,55	22,61±2,65↑	22,82±2,89↑
Бактер.активность,%	39,96±2,41	37,11±2,0	36,35±2,68
Активн.фаг-за (моноциты),х10^9/л	0,37±0,03	0,34±0,03	0,40±0,04
Активн.фаг-за (нейтрофилы),х10^9/л	3,24±0,22	2,8±0,25	3,13±0,29
CD3+IFN-γ (ст),х10^9/л	0,23±0,02	0,35±0,05↑	0,41±0,04↑
CD3+IFN-γ (сп),х10^9/л	0,006±0,001	0,03±0,01↑	0,04±0,01↑
CD3+TNF-α (ст),х10^9/л	0,68±0,06	0,52±0,06	0,58±0,07
CD3+TNF-α (сп),х10^9/л	0,015±0,001	0,05±0,01↑	0,05±0,01↑
CD3+IL-2+ (ст),х10^9/л	0,48±0,06	0,24±0,03↓	0,29±0,05↓
CD3+IL-2+(сп),х10^9/л	0,01±0,001	0,04±0,01↑	0,03±0,01
CD3+IL-4+ (ст),х10^9/л	0,009±0,001	0,04±0,01↑	0,04±0,01↑
CD3+IL-4+ (сп),х10^9/л	0,001±0,001	0,04±0,01↑	0,03±0,01↑

Примечание:↓ или ↑- достоверно значимые различия ($p<0,05$) при сравнении показателей основных групп с контрольной группой; *↓ или *↑- достоверно значимые различия в основных группах в зависимости от сроков обследования при сопоставлении результатов I и II исследований.

Показатели, характеризующие гуморальное звено иммунитета (IgA, IgM, IgG), на первой неделе заболевания у детей с Коксаки В - вирусными менингитами были в пределах контрольных значений.

В начальном периоде Коксаки В - вирусной инфекции выявлено значительное увеличение количества ЦИК (68,06±9,23, p<0,05). Значения стимулированного НСТ-теста практически в 2 раза превышали аналогичные показатели в группе сравнения (p<0,05).

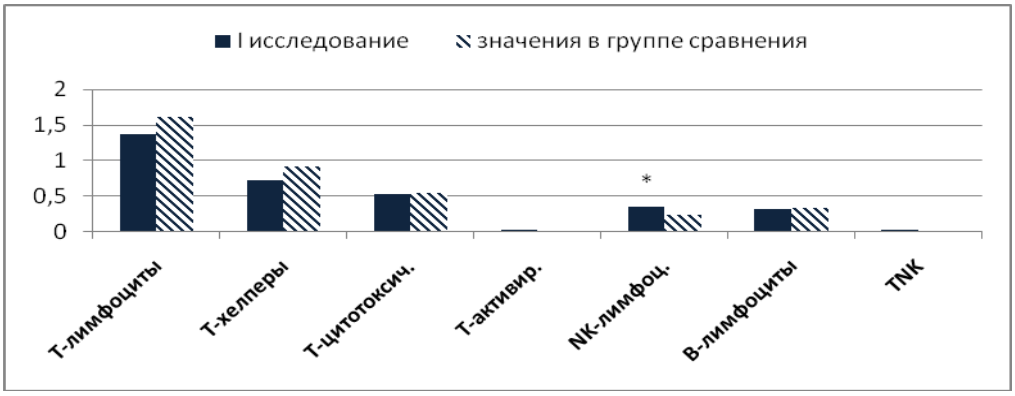


Рисунок 26 - Показатели клеточного иммунитета у детей 8-14 лет с Коксаки В - вирусными менингитами, I исследование.

*-достоверно значимые различия (p<0,05).

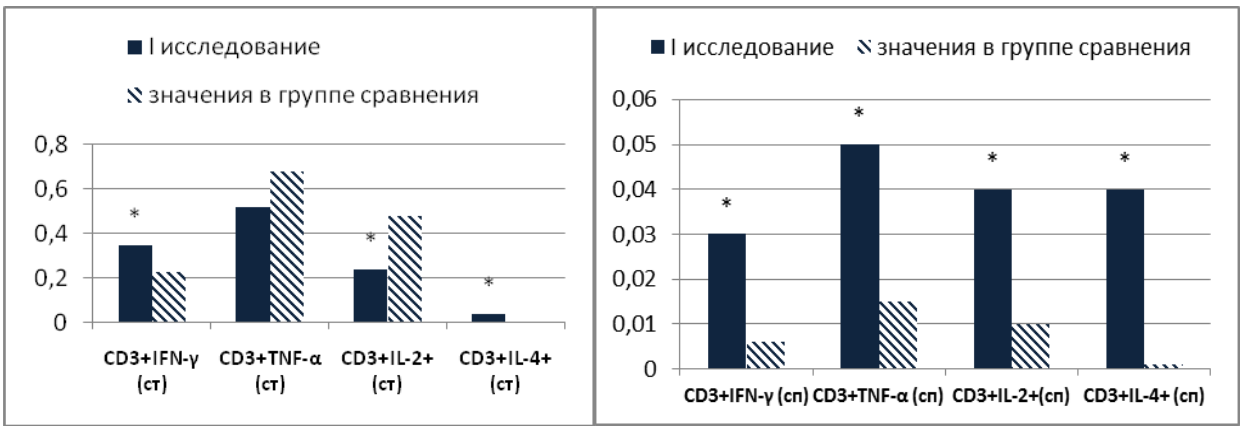


Рисунок 27 - Показатели цитокинового профиля Т-лимфоцитов у детей 8-14 лет с Коксаки В - вирусными менингитами, I исследование

*-достоверно значимые различия (p<0,05).

На третьей неделе болезни (рисунок 28, 29) у детей с Коксаки В - вирусными менингитами сохранялись те же изменения, которые были выявлены в острый период болезни: увеличение количества NK-лимфоцитов (0,41±0,05, p<0,05), повышенное содержание IFN-γ- (0,41±0,04 стимулированный синтез, 0,04±0,01 спонтанный синтез, p<0,05), TNF-α- (0,05±0,01 при спонтанном синтезе, p<0,05) и IL-4-синтезирующих Т-лимфоцитов (0,04±0,01 стимулированный и 0,03±0,01 спонтанный синтез, p<0,05), уменьшение IL-2-положительных Т-клеток в периферической крови (0,29±0,05, p<0,05).

Рисунок 28 - Показетели клеточного иммунитета у детей 8-14 лет с Коксаки В - вирусными менингитами, II исследование.

*-достоверно значимые различия (p<0,05).

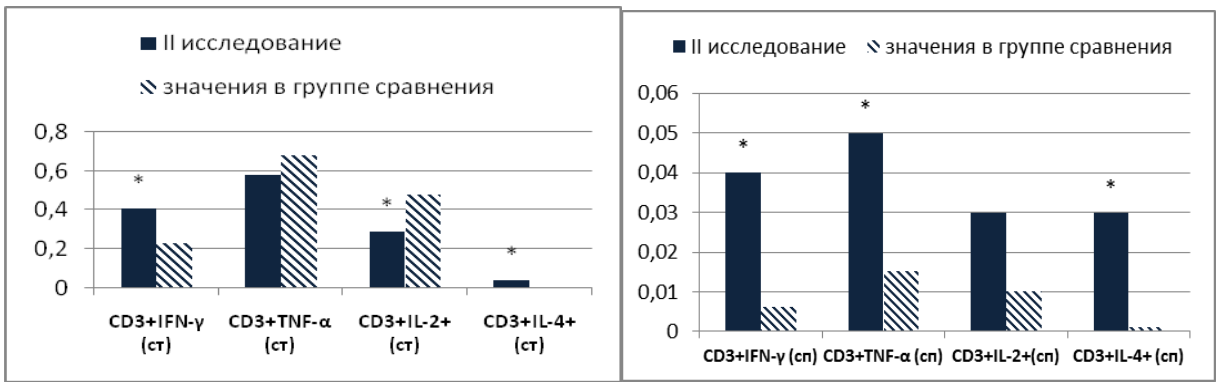


Рисунок 29 - Показатели цитокинового профиля Т-лимфоцитов у детей 8-14 лет с Коксаки В - вирусными менингитами, II исследование

*-достоверно значимые различия (p<0,05).

Значения НСТ-теста и уровень ЦИК к концу периода наблюдения были выше возрастных норм.

4.6. Сравнительная иммунологическая характеристика Коксаки В - вирусных менингитов у детей 3-7 и 8-14 лет

Установлены общие закономерности иммунного ответа у детей разного возраста с Коксаки В - вирусными менингитами. Они касаются в основном показателей, которые характеризуют клеточное звено иммунитета и систему неспецифической резистентности. Для всех пациентов (3-14 лет) было характерно увеличение содержания Т-лимфоцитов, спонтанно синтезирующих IFN-γ, TNF-α, IL-2, IL-4 и повышенное содержание NK-лимфоцитов.

У детей в обеих возрастных группах с Коксаки В-менингитом отмечено высокое содержание ЦИК. На протяжении всего периода болезни выявлены высокие показатели НСТ-теста (у детей 3-7 лет – стимулированный и спонтанный, у детей 8-14 лет – стимулированный).

Между тем, у детей 3-7 лет в отличие от группы 8-14-летних выявлен высокий уровень В-лимфоцитов в острый период болезни. В гуморальном звене у пациентов младшей группы наблюдали увеличение синтеза иммуноглобулинов класса М и G. Кроме того в младшей возрастной группе отмечено снижение бактерицидной активности и фагоцитарной активности нейтрофилов на третьей неделе болезни.

4.7. Общие и частные закономерности развития иммунологических изменений при ЕСНО - и Коксаки В - вирусных менингитах

При анализе иммунологическизх изменений при ЕСНО - и Коксаки В - вирусных менингитах выделены общие признаки, характеризующие энтеровирусные менингиты вне зависимости от типа возбудителя и возраста пациентов. Универсальной реакцией является увеличение содержания NK-лимфоцитов, повышение содержания Т-лимфоцитов, продуцирующих IFN-γ и IL-4, а так же циркулирующих иммунных комплексов.

При ЕСНО - вирусных менингитах независимо от возраста пациентов на начальном этапе заболевания (первая неделя) при иммунологическом обследовании в крови детей было выявлено снижение абсолютного количества моноцитов и Т-лимфоцитов, спонтанно синтезирующих TNF-α.. В динамике болезни у детей отмечалось увеличение количества цитотоксических лимфоцитов (CD3+CD8+), увеличение IL-2 положительных Т-лимфоцитов (стимулированный синтез). Сохранялся низкий уровень CD3+TNF-α+лимфоцитов.

Для Коксаки В - вирусных менингитов характерными признаками являлись высокие показатели НСТ-теста и уровень Т-лимфоцитов, спонтанно синтезирующих TNF-α на протяжении всего периода болезни. Кроме того, отмечено повышенное содержание CD3+IL-2+лимфоцитов в острый период заболевания (спонтанный синтез).

4.7.1. Сравнительная характеристика иммунологических изменений при ЕСНО - и Коксаки В - вирусных менингитах у детей 3-7 лет

В острый период болезни ЕСНО - вирусные менингиты у детей 3-7 лет характеризовались значимым снижением содержания Т-хелперных лимфоцитов, а так же IL-2 положительных Т-лимфоцитов. Параллельно с

этим наблюдалось увеличение содержания активированных Т- лимфоцитов (CD3+HLA-DR+). Низкий уровень моноцитов у детей с ЕСНО - менингитами сопровождался снижением фагоцитарной активности этих клеток (0,32±0,02, p<0,05) и уменьшением бактерицидной активности (34,03±1,27, p<0,05).

У детей с Коксаки В - вирусными менингитами в острый период наблюдали совершенно другие изменения. Отмечено увеличение количества В-лимфоцитов (0,63±0,05), уровня иммуноглобулинов класса М (1.84±0,06), повышено содержание НСТ-положительных нейтрофилов. Кроме того отмечено увеличение CD3+TNF-α+ лимфоцитов.

Различия, установленные в остром периоде болезни при ЕСНО - и Коксаки В - вирусных менингитах, повлекли за собой и расхождения в более позднем периоде болезни (третья неделя). При ЕСНО - вирусных менингитах в отличие от Коксаки В - менингитов отмечено увеличение содержания Т-цитотоксических лимфоцитов (0,97±0,08), снижение количества Т-лимфоцитов, спонтанно синтезирующих IFN-γ и IL-2. Сохранялся пониженный уровень CD3+TNF-α+лимфоцитов (спонтанный синтез). При Коксаки В-менингитах в крови детей в этот период болезни наблюдали изменения, которые были отмечены и в начальном периоде, а именно: высокие значения НСТ-теста, повышенное сожержание Т-лимфоцитов продуцирующих TNF-α (0,06±0,01). Кроме того при Коксаки В - вирусных менингитах в отличие от ЕСНО-менингитов наблюдалось снижение фагоцитраной активности нейтрофилов и бактерицидной активности.

При оценке гуморального звена иммунитета (рисунок 30) установлено, что при ЕСНО - вирусных менингитах уровень IgM не отличался от значений в группе сравнения. При Коксаки В - вирусной инфекции было отмечено значительное увеличение уровня IgM (на 1-й и 3-й неделе болезни).

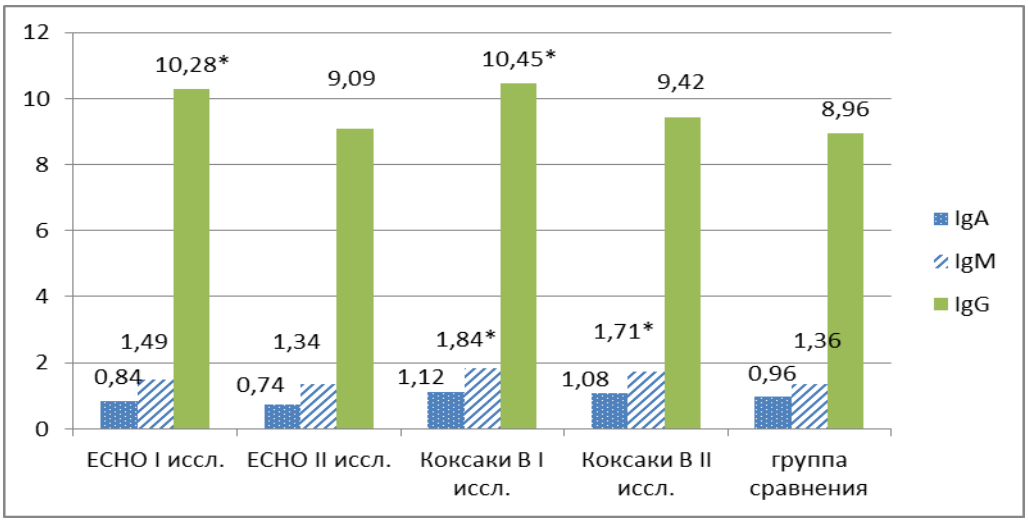


Рисунок 30 - Динамика выработки иммуноглобулинов у детей 3-7 лет с ЕСНО - и Коксаки В - вирусными менингитами.

*-достоверно значимые различия (p<0,05) относительно группы сравнения.

Количество ЦИК у детей с энтеровирусными менингитами на начальном этапе болезни было значительно повышено (как при ЕСНО - , так и при Коксаки В - инфекции). Однако, наибольший уровень и более длительную циркуляцию иммунных комплексов наблюдали при Коксаки В - вирусных менингитах.

Сравнительный анализ иммунологических показателей при ЕСНО - и Коксаки В - вирусных менингитах позволил выявить отличия между сравниваемыми группами в зависимости от типа возбудителя, основные из них представлены в таблице 29.

Оценка клеточного звена иммунитета показала, что в острый период болезни Коксаки В - вирусных менингитов содержание Т-лимфоцитов синтезирующих IFN-γ, TNF-α, IL-2 и IL-4 достоверно выше, чем при ЕСНО - вирусных менингитах. Динамика изменений показателей, характеризующих гуморальный иммунный ответ, имела такую же закономерность на протяжении всего периода наблюдения. Факторы неспецифической

резистентности у детей с Коксаки В - менингитами (количичество НСТ-положительных нейтрофилов) значимо превышали аналогичные показатели детей с ЕСНО - инфекцией.

Таблица 29 - Сравнение иммунологических показателей при ЕСНО - и Коксаки В - вирусных менингитах у детей 3-7 лет.

Показатели	ЕСНО - менингиты (n=39)		Коксаки В - менингиты (n=34)	
	I иссл.	II иссл.	I иссл.	II иссл.
	1	2	3	4
Моноциты, $x10^9$/л	0,38±0,02	0,41±0,04	0,63±0,05	0,7±0,08 ↑
Т-лимф. (CD3+),$x10^9$/л	2,0±0,12	2,69±0,22 ↑	2,1±0,14	2,06±0,12
IgA,мг/мл	0,84±0,06	0,74±0,13	1,12±0,09 ↑	1,08±0,09 ↑
IgM,мг/мл	1,49±0,09	1,34±0,12	1,84±0,13 ↑	1,71±0,12 ↑
ЦИК,ед.опт.пл.	62,92±5,42	37,69±3,49	89,7±8,71 ↑	63,54±7,35 ↑
НСТ спонт,%	9,9±1,32	8,75±1,24	13,48±1,32	14,0±1,58 ↑
НСТ стим,%	12,9±1,31	11,6±1,79	20,87±1,9 ↑	20,58±2,67 ↑
CD3+IFN-γ (ст),$x10^9$/л	0,3±0,04	0,31±0,04	0,59±0,09 ↑	0,49±0,13
CD3+IFN-γ (сп),$x10^9$/л	0,01±0,001	0,001±0,001	0,05±0,01 ↑	0,06±0,01
Активн.фаг-за (моноциты),$x10^9$/л	0,32±0,02	2,03±0,03	0,45±0,03 ↑	0,51±0,06
CD3+TNF-α (сп),$x10^9$/л	0,01±0,001	0,01±0,001	0,07±0,02 ↑	0,07±0,01
CD3+IL-2+ (ст),$x10^9$/л	0,22±0,03	0,37±0,06	0,42±0,06 ↑	0,35±0,08
CD3+IL-4+ (ст),$x10^9$/л	0,02±0,001	0,03±0,001	0,08±0,02 ↑	0,07±0,01 ↑
CD3+IL-2+ (сп),$x10^9$/л	0,01±0,001	0,001±0,001	0,06±0,02 ↑	0,05±0,01

Примечание:↓ или ↑- достоверно значимые различия ($p<0,05$) при сравнении показателей групп 1-3 и 2-4.

4.7.2. Сравнительная характеристика иммунологических изменений при ЕСНО - и Коксаки В - вирусных менингитах у детей 8-14 лет

Характерные для ЕСНО - и Коксаки В - вирусных менингитов особенности иммунного статуса были выявлены и у детей 8-14 лет. Количество Т-лимфоцитов у заболевших детей в начале болезни было в пределах контрольных значений, однако, у детей с ЕСНО - инфекцией к концу заболевания их количество значительно увеличилось. Такая же закономерность установлена в отношении Т-цитотоксических лимфоцитов. В группе с ЕСНО - менингитами отмечен низкий уровень TNK - клеток; у выделителей вирусов Коксаки В количество CD3+CD16+CD56+ было в пределах контрольных значений.

Так же как и в младшей возрастной группе, показатели стимулированного НСТ-теста в группе детей с Коксаки В - вирусными менингитами значительно превышали аналогичные показатели при ЕСНО - инфекции. При ЕСНО - менингитах отмечено увеличение фагоцитраной активности нейтрофилов к концу болезни.

При проведении сравнительного анализа иммунограмм детей с ЕСНО - и Коксаки В - вирусными менингитами между собой (таблица 30) выявлено, что в острый период болезни показатели, характеризующие клеточное звено иммуннитета достоверно выше при Коксаки В - инфицировании (CD3+IFN-γ+, CD3+TNF- α+, CD3+IL-2+, CD3+IL-4+лимфоциты). Высокий уровень ЦИК наблюдали и при ЕСНО - и при Коксаки В - менингитах, но более высокое их содержание отмечено при менингитах Коксаки В - вирусной этиологии.

Таблица 30 - Сравнение иммунологических показателей при ЕСНО - и Коксаки В - вирусных менингитах у детей 8-14 лет.

Показатели	ЕСНО - менингиты (n=47)		Коксаки В - менингиты (n=21)	
	I иссл.	II иссл.	I иссл.	II иссл.
	1	2	3	4
Лимфоциты,х10^9/л	2,42±0,13	2,98±0,19	2,09±0,16	2,39±0,13 ↓
Гранулоциты, х10^9/л	3,75±0,22	4,4±0,35	3,04±0,27 ↓	3,36±0,32
Т-лимф. (CD3+),х10^9/л	1,6±0,09	2,06±0,16	1,37±0,11	1,59±0,09 ↓
Т-хелперы (CD3+CD4+), х10^9/л	1,82±1,01	1,0±0,06	0,72±0,08	0,79±0,07 ↓
Т-цитотокс. (CD3+CD8+), х10^9/л	1,07±0,44	0,89±0,12	0,54±0,05	0,61±0,04 ↓
ЦИК,ед.опт.пл.	67,16±5,94	43,95±8,04	68,06±9,23	72,44±10,07 ↑
НСТ стим,%	14,56±1,58	13,95±1,5	22,61±2,65 ↑	22,89±2,89 ↑
Активн.фаг-за (нейтрофилы),х10^9/л	3,36±0,2	4,07±0,26	2,8±0,25	3,13±0,29 ↓
CD3+IFN-γ (сп),х10^9/л	0,01±0,001	0,01±0,001	0,03±0,01 ↑	0,04±0,01 ↑
CD3+TNF-α (ст),х10^9/л	0,73±0,07	0,73±0,12	0,52±0,06 ↓	0,58±0,07
CD3+TNF-α (сп),х10^9/л	0,01±0,001	0,01±0,001	0,05±0,01 ↑	0,05±0,01 ↑
CD3+IL-2+ (сп),х10^9/л	0,01±0,001	0,01±0,001	0,04±0,01 ↑	0,03±0,01
CD3+IL-4+ (ст),х10^9/л	0,02±0,001	0,02±0,002	0,04±0,01 ↑	0,04±0,01
CD3+IL-4+ (сп),х10^9/л	0,01±0,002	0,01±0,001	0,04±0,01 ↑	0,03±0,01

Примечание:↓ или ↑- достоверно значимые различия ($p<0,05$) при сравнении показателей групп 1-3 и 2-4.

4.8. Оценка специфического иммунитета у детей 3-14 лет с энтеровирусными менингитами

В реакции нейтрализации с аутоштаммами были исследованы парные пробы сывороток крови детей. Количество пациентов с наличием двух проб крови составило 124 человека. Антитела к аутоштамму были определены в 83,9% случаев (таблица 31).

Таблица 31 - Результаты серологического обследования детей с ЕСНО - и Коксаки В - вирусными менингитами (реакция нейтрализации с аутоштаммами)

Количество обследованных детей		Сероконверсия		Наличие стационарных титров		Всего с наличием антител		Антитела не выявлены	
		абс	%	абс	%	абс	%	абс	%
ЕСНО-вирусные менингиты	77	48	62,3	18	23,4	66	85,7	11	14,3
Коксаки В-вирусные менингиты	47	26	55,3	12	25,5	38	80,8	9	19,2
Итого	124	74	59,7	30	24,2	104	83,9	20	16,1

У пациентов с ЕСНО - вирусными менингитами диагностический прирост титра антител (в 4 и более раз) наблюдали в 62,3%, при Коксаки В - менингитах - в 55,3%. Ещё 30 человек (24,2%) имели титры без сероконверсии.

Были рассчитаны и определены отрицательные логарифмы (log_2) и средние геометрические титров антител на первой и третьей неделе болезни. Результаты представлены в таблице 32.

У детей с ЭВ - менингитами во всех возрастных группах и независимо от этиологии возбудителя наблюдали достоверно значимое повышение уровня титра антител к 3-й неделе болезни. Однако, у пациентов с ЕСНО - инфекцией значения отрицательных log_2 (рисунок 31) и соответствующие им титры антител были ниже, чем у заболевших Коксаки В - менингитами.

Таблица 32 - Значения отрицательных логарифмов log_2 и средних геометрических титров антител у детей с энтеровирусными менингитами, (M±m)

Возраст. группы	Показатели	ЕСНО		Коксаки В		p
		I исслед.	II исслед.	I исслед.	II исслед.	
		1	2	3	4	
3-7 лет	log_2	2,02±0,07	4,37±0,07	3,77±0,11	4,96±0,10	<0,01
	титр	1:4,0	1:19,7	1:13	1:30,0	
8-14 лет	log_2	2,64±0,05	4,59±0,05 #	3,25±0,14	4,85±0,13 #	<0,01
	титр	1:6,1	1:24,1	1:9,2	1:28	

Примечание: достоверно значимые различия уставнолены между группами 1-2, 3-4, 1-3 и 2-4 (за исключением #).

Наиболее значимые отличия выявлены на начальном этапе болезни, особенно у детей 3-7 лет. В группе заболевших ЕСНО - вирусными менингитами в возрасте от 3 до 7 лет титр антител в 3,3 раза был ниже, чем в аналогичной группе детей с Коксаки В - вирусной инфекцией (log_2 2,02±0,07 против log_2 3,77±0,11, $p<0,01$). На третьей неделе болезни разница между этими группами была меньше (log_2 4,37±0,07 против log_2 4,96±0,10; $p<0,01$), но она по-прежнему сохранялась. В старшей возрастной группе так же наблюдали более низкие уровни антител при ЕСНО - вирусных менингитах, чем при Коксаки В, хотя эти различия были менее выражены, чем в группе детей 3-7 лет.

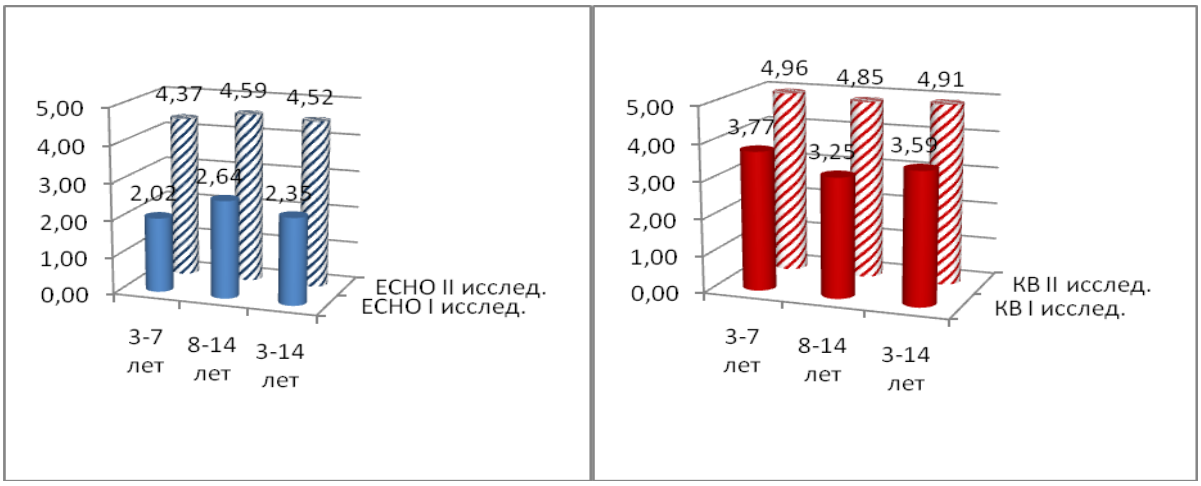


Рисунок 31 - Значения отрицательных $\log_2$ у детей с ЕСНО - и Коксаки В - вирусными менингитами.

Таким образом, иммунный ответ при Коксаки В - менингитах характеризовался как активацией компонентов врожденного иммунитета (естественные киллеры, нейтрофильный НСТ-тест), так и более выраженными по сравнению с ЕСНО - инфекцией, увеличением содержания Т-эффекторов, синтезирующих цитокины Th1- и Th2-типа. Менингеальная форма Коксаки В-инфекции также сопровождался значимым увеличением содержания общих иммуноглобулинов IgM и IgG (в возрастной группе 3-7 лет) и более высоким титром вирус-специфических нейтрализующих антител.

В остром периоде менингеальной формы ЕСНО - инфекции наблюдали снижение содеражания моноцитов периферической крови, сопровождающееся снижением их фагоцитарной активности, увеличение количества естественных киллеров. Увеличение содержания компонентов адаптивного иммунитета: эффекторных субпопуляций Т-клеток, В - лимфоцитов и уровня антител были менее выражены по сравнению с Коксаки В - инфекцией.

Глава 5. СОПОСТАВЛЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ И КЛИНИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРИ ЕСНО - И КОКСАКИ В - ВИРУСНЫХ МЕНИНГИТАХ

5.1. Оценка корреляционных связей при ЕСНО - вирусных менингитах

Нами проанализированы корреляционные связи между клиническими симптомами энтеровирусных менингитов и иммунологическими показателями у детей в острый период болезни и в период реконвалесценции в зависимости от возраста и от типа возбудителя. Во внимание принимали значения коэффициента корреляции (r) равного и больше 0,5 ($p<0,05$).

Таблица 33 – Корреляционные связи между клиническими симптомами и иммунологическими показателями у детей 3-7 лет с ЕСНО - вирусными менингитами в острый период болезни

Клинические проявления	Иммунологический показатель	r
Продолжительность общеинфекционного синдром	ЦИК	-0,79
Продолжительность синдрома гипертензии	CD3+IL-2+ (сп)	-0,69
	HLA-DR+CD3+	0,62
Уровень плеоцитоза	CD3+IL-4+ (ст)	-0,53

Как следует из таблицы 33, у пациентов младшей возрастной группы (от 3 до 7 лет) с ЕСНО - вирусными менингитами в начальный период болезни удалось установить, что продолжительность общеинфекционного синдрома находилась в обратной зависимости от уровня ЦИК (r = - 0,79). Длительность гипертензии у детей была статистически связана с

повышенным содержанием Т-активированных лимфоцитов (0,3±0,01, p<0,05; r=0,062), а также с уровнем Т-лимфоцитов, спонтанно синтезирующих регуляторный цитокин IL-2 (r=-0,62), причем эта зависимость была обратной направленности, т.е. увеличение уровня CD3+IL-2-лимфоцитов вероятно способствует уменьшению длительности гипертензионных симптомов. Кроме того, выявлено, что уровень плеоцитоза у детей 3-7 лет с ЕСНО-вирусными менингитами имел корреляционную связь с количеством Т-лимфоцитов, продуцирующих противовоспалительный цитокин IL-4 (r=-0,53). Наличие высокого уровня CD3+IL-4(сп) - лимфоцитов в острый период болезни (0,02±0,001; p<0,05) может быть благоприятным прогностическим признаком, т.е. увеличение уровня выработки противовоспалительного цитокина IL-4 способствует снижению воспалительных изменений в ликворе.

К третьей неделе заболевания число и характер корреляционных связей между клиническими признаками и иммунологическими показателями значительно изменились в сравнении с начальным периодом болезни (таблица 34). Отмечено, что наличие менингеального синдрома зависело от показателей, характеризующих Th-1 иммунный ответ (CD3+TNFα+ и CD3+IL-2+ (сп)), действие которых направлено на защиту от внутриклеточных патогенов и отвечающие за местные и системные проявления воспаления и показателей, характеризующих факторы неспецифической защиты (количество моноцитов и фагоцитарная активность нейтрофилов).

Таблица 34 - Корреляционные связи между менингеальными симптомами и иммунологическими показателями у детей 3-7 лет с ЕСНО -вирусными менингитами в период реконвалесценции

Клинические проявления	Иммунологический показатель	r
Менингеальный комплекс (длительность)	Моноциты	-0,65
	CD3+TNFα(ст)	0,57
	CD3+TNFα(сп)	0,66
	CD3+IL-2+ (сп)	0,71
	CD3+IL-4+ (сп)	0,55
	Фагоц.акт.нейтрофилов	-0,67
Уровень плеоцитоза	CD3-CD16+CD56+	0,63
	HLA-DR+CD3+	0,63
	CD3+IFNγ (ст)	0,65
	CD3+IFNγ (сп)	0,51
	CD3+TNFα(ст)	0,61
	CD3+IL-2+ (сп)	0,55

Изучены корреляционные связи между показателями, которые характеризуют звенья иммунитета (гуморальное, клеточное, фагоцитарное) в разные периоды болезни (I и II исследования). На начальном этапе заболевания (1 неделя) было выявлено 12 корреляционных зависимостей (рисунок 32). Наибольшее число взаимодействий выявлено между составляющими клеточного иммунного ответа (n=9).Значения коэффициента корреляции (r) были в пределах от +0,52 до +0,82 ($p<0,05$). Наибольшую силу связи имели CD3+-лимфоциты, продуцируюшие IL-2 и IL-4 (r = +0,82). Наличие взаимного влияния между NK-клетками и фагоцитарной активностью моноцитов (r=0,68) в острый период ЕСНО-менингитов может

свидетельствовать об активности врожденного иммунитета, направленного на распознование чужеродных агентов (энтеровирусов), на ограничение распространения вируса в организме. В то же время, известно, что фагоцитарные моноциты могут усиливать выработку белков острой фазы воспаления, что клинически проявляется лихорадкой, наличием общеинфекционных симптомов в первые дни болезни. Однако, содружественное действие CD3+-лимфоцитов, содержащих эндоплазматические цитокины IL-2 (r=0,63), IL-4 (r=0,63), IFNγ(r=0,6) оказывает регуляторную функцию, способствуя дифференцировке и пролиферации иммунных клеток и переходу индуктивной фазы иммунного ответа (восприятие антигенного стимула лимфоцитами и дифференцировка эффекторных клеток) в эффекторную (реализация защитных реакций эффекторными клетками).

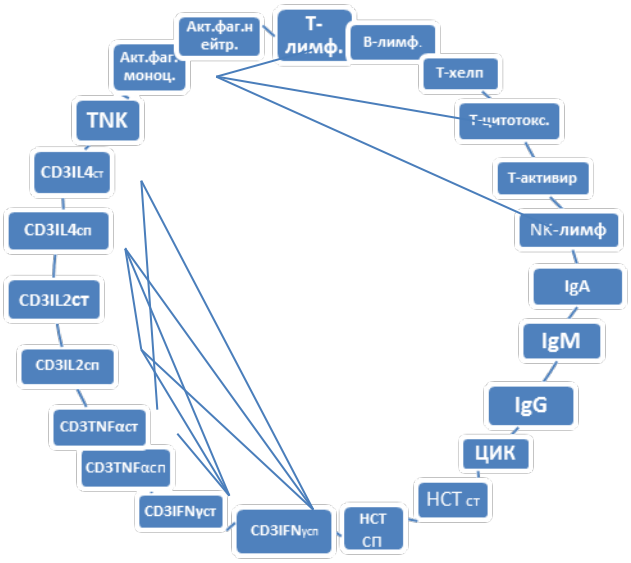


Рисунок 32 - Корреляционные связи между иммунологическими показателями у детей 3-7 лет с ЕСНО - вирусными менингитами, I исследование.

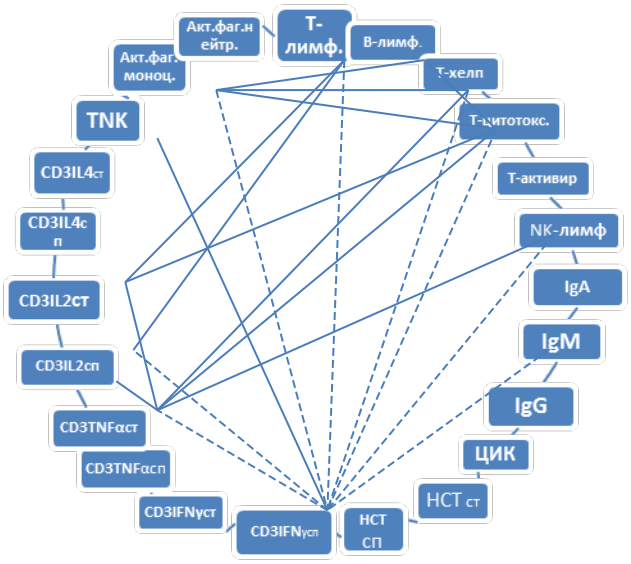


Рисунок 33 - Корреляционные связи между иммунологическими показателями у детей 3-7 лет с ЕСНО - вирусными менингитами, II исследование [1]

[1] –сплошная линия – прямые корреляционные связи, пунктирная линия – обратные корреляционные связи

В результате к третьей неделе заболевания (рисунок 33) число корреляционных связей между показателями иммунного ответа увеличилось (n=21). Наибольшее количество связей выявлено между составляющими компонентами клеточного звена иммунитета (n=14). Внимание заслуживает наличие зависимости между фагоцитарной активностью моноцитов и количеством CD8+-лимфоцитов (r=0,7) Это может свидетельствовать о совместном действии врожденного и адаптивного (клеточного) иммунного ответа, что клинически сопровождается снижением интенсивности проявлений симптомов, нормализацией общего состояния пациентов. Корреляционная связь между CD8+ -лимфоцитами и Т-лимфоцитами,

содержащими IL-2 (r=0,61) говорит о влиянии IL-2 на CD8+-лимфоциты, что в дальнейшем ведет к дифференцировке цитотоксических Т-лимфоцитов, осуществляющих цитолиз клеток-мишеней. Результатом этого взаимодействия является элиминация энтеровирусов и пораженных ими клеток, приводящая к выздоровлению.

При ЕСНО-вирусных менингитах у детей в возрасте 8-14 лет в острый период болезни в отличие от детей 3-7 лет значимых корреляционных связей между клиническими сипмтомами и иммунологическими показателями выявлено не было, а в период реконвалесценции такие связи установлены (таблица 35).

Показано, что продолжительность симптомов общеинфекционного синдрома имела корреляционную связь между CD3+-лимфоцитами, спонтанно синтезирующими IL-2 (r = 0,57), которые оказывают влияние на активацию дифференцировки Th и Т-цитотоксических лимфоцитов и CD3+IL-4+-лимфоцитами (r = 0,56), вырабатывающими противовоспалительный интерлейкин. В этот период болезни нарастает значимость клеточных механизмов защиты, о чем могут свидетельствовать корреляционные связи между CD3+, CD3+CD4+, CD3+CD8+-лимфоцитами и признаками гипертензионного синдрома. Установлено, что продолжительность менингеального комплекса находилась в статистической зависимости от количества NK-клеток, CD3+CD4+ - лимфоцитов. В этот период болезни, вероятно, нарастает значимость гуморального звена иммунитета, о чем могут свидетельствовать связи между симптомами поражения ЦНС и уровнем CD19+-клеток.

Таблица 35 – Корреляционные связи между клиническими симптомами и иммунологическими показателями у детей 8-14 лет с ЕСНО - вирусными менингитами в период реконвалесценции

Клинические проявления	Иммунологический показатель	r
Продолжительность обшеинфекционного синдрома	CD3+IL-2+ (сп)	0,57
	CD3+IL-4+ (сп)	0,56
Продолжительность синдрома гипертензии	CD3+	0,71
	CD19+	0,7
	CD3+CD4+	0,63
	CD3+CD8+	0,53
Менингеальный комплекс (длительность)	NK-лимфоциты	-051
	CD3+CD4+	-0,5
	CD19+	0,63
	Бактериц.активность	0,62
Уровень плеоцитоза	TNK-лимфоциты	0,53

Оценены корреляционные связи между иммунологическими показателями (рисунок 34,35). На первой неделе болезни у детей с ЕСНО - вирусными менингитами в возрасте 8-14 лет из всего числа зависимостей (n=15) наибольшее количество составили взаимные влияния между компонентами клеточного звена (n=10). Значения коэффициента корреляции на начальном этапе болезни колебалось от +0,56 до +0,88.

Корреляционные связи между такими показателями, как количество Т-хелперных лимфоцитов и NK-клеток (r=0,88), Т-цитотоксических лимфоцитов и NK-клеток (r=0,9), а так же Т-цитотоксических лимфоцитов и TNK-клеток (r=0,85) могут свидетельствовать о наличии взаимного действия

механизмов врожденного и адаптивного иммунитета, что способствует элиминации возбудителя и является положительным прогностическим критерием.

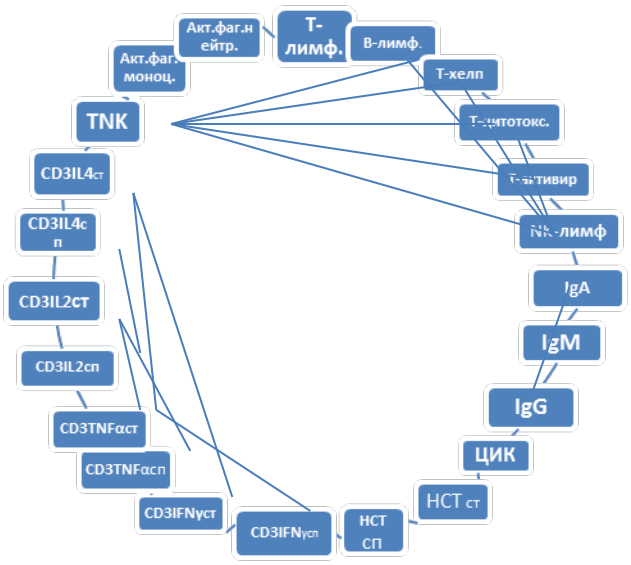


Рисунок 34 - Корреляционные связи между иммунологическими показателями у детей 8-14 лет с ЕСНО - вирусными менингитами,

I исследование.

На третьей неделе заболевания количество взаимосвязей увеличилось (n=29). При этом наибольшую значимость и силу по-прежнему имели корреляционные связи между составляющими клеточного иммунитета (n=22). Увеличилось число зависимостей между клеточным и гуморальным звеньями (n=5), причем, в половине случаев они имели обратную направленность (коэффициент корреляции был в пределах от -0,54 до -0,94).

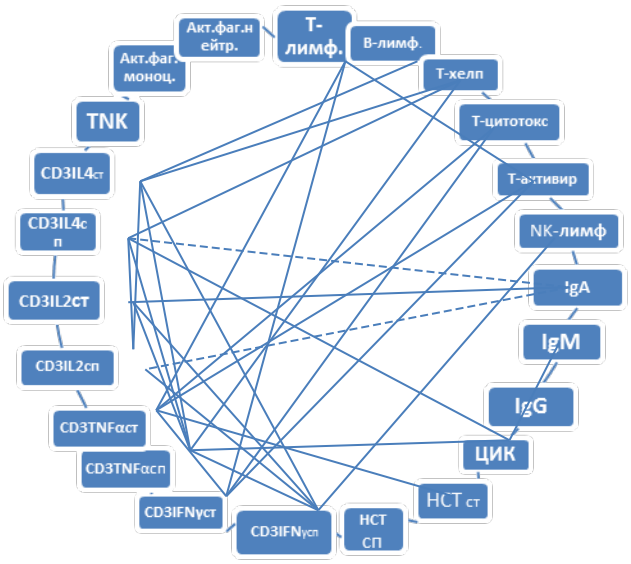


Рисунок 35 - Корреляционные связи между иммунологическими показателями у детей 8-14 лет с ЕСНО - вирусными менингитами, II исследование [1].

[1] –сплошная линия – прямые корреляционные связи, пунктирная линия – обратные корреляционные связи

Таким образом, период реконвалесценции у детей старшей возрастной группы с ЕСНО-вирусными менингитами характеризовался усилением роли механизмов адаптивного иммунного ответа (клеточное звено), что благоприятно сказалось на общем состоянии пациентов, привело к регрессу клинических симптомов, санации ликвора и выздоровлению детей.

5.2. Оценка корреляционных связей при Коксаки В - вирусных менингитах

При Коксаки В - вирусных менингитах у детей 3-7 лет в острый период болезни выявлено незначительное количество корреляционных связей между

клиническими симптомами и иммунологическими показателями. (таблица 36). В этот период болезни (первая неделя) установлена статистическая связь между уровнем ЦИК, значением НСТ-теста и клиническими проявлениями энтеровирусных менингитов.

Таблица 36 – Корреляционные связи между клиническими симптомами и иммунологическими показателями у детей 3-7 лет с Коксаки В - вирусными менингитами в острый период болезни.

Клинические проявления	Иммунологический показатель	r
Продолжительность общеинфекционного синдрома	ЦИК	0,63
Продолжительность синдрома гипертензии	НСТ (ст)	0,62

В период реконвалесценции количество связей между иммунологическими параметрами и клиническими признаками значительно увеличилось (таблица 37).

Выявлено, что длительность общеифекционного синдрома на данном этапе заболевания была статистически связана с количеством CD3+IL-2+лимфоцитов и синтезом IgM. Анализ корреляционных связей показал, что в этот период болезни имели значение все звенья иммунитета. Так плеоцитоз и признаки гипертензионного синдрома находились в статистической зависимости от количества CD3+IFNγ+-, CD3+TNFα(ст)+-, CD3+CD8+-лимфоцитов, что может свидетельствовать о вовлечении клеточного звена иммунитета.

Таблица 37 – Корреляционные связи между клиническими симптомами и иммунологическими показателями у детей 3-7 лет с Коксаки В - вирусными менингитами в период реконвалесценции

Клинические проявления	Иммунологический показатель	r
Продолжительность общеинфекционного синдрома	CD3+IL-2+ (ст)	0,58
	IgM	0,55
Продолжительность синдрома гипертензии	CD3+IFNγ (ст)	0,56
	CD3+TNFα(ст)	0,68
	IgM	0,59
Уровень плеоцитоза	CD19+	0,59
	CD3+CD8+	0,57
	CD3+IFNγ (ст)	0,91
	CD3+TNFα(ст)	0,82
	Фагоц.акт.моноцитов	0,66

Об увеличении активности гуморального звена иммунитета говорит наличие корреляционных связей между уровнем плеоцитоза и количеством CD19+-лимфоцитов, между признаками гипертензионного синдрома и выработкой IgM. Роль факторов неспецифической защиты при Коксаки В - вирусных менингитах подтверждалась наличием корреляционной связи между уровнем плеоцитоза и фагоцитарной активностью моноцитов.

Проведен анализ корреляционных связей между показателями, характеризующими разные звенья иммунитета. В первые дни болезни (1-7 день) было выявлено 32 взаимосвязи (рисунок 36). Максимальное их количество зарегистрировано между компонентами клеточного звена (n=24). Значения коэффициента корреляции были в пределах от +0,54 до +0,91. Установлено наличие взаимодействий между составляющими клеточного

звена иммунитета и показателями фагоцитарного (n=5) и гуморального (n=3) звеньев. При Коксаки В - вирусных менингитах у детей 3-7 лет наличие корреляционных связей высокой силы между количеством NK-клеток и CD3+IL-4-лимфоцитами (r=0,71), количеством NK-клеток и CD3+TNFα – лимфоцитами (r=0,71) и NK-клетками и CD3+IL-2-лимфоцитами (r=0,7) свидетельствует об активности механизмов адаптивного иммунитета уже на первой неделе болезни, что может способствовать более быстрому процессу восстановления общего состояния организма детей. В то же время, активность механизмов защиты (врожденного и адаптивного иммунного ответа) при Коксаки В – вирусных менингитах в острый период болезни может быть следствием более агрессивного действия вирусов Коксаки группы В.

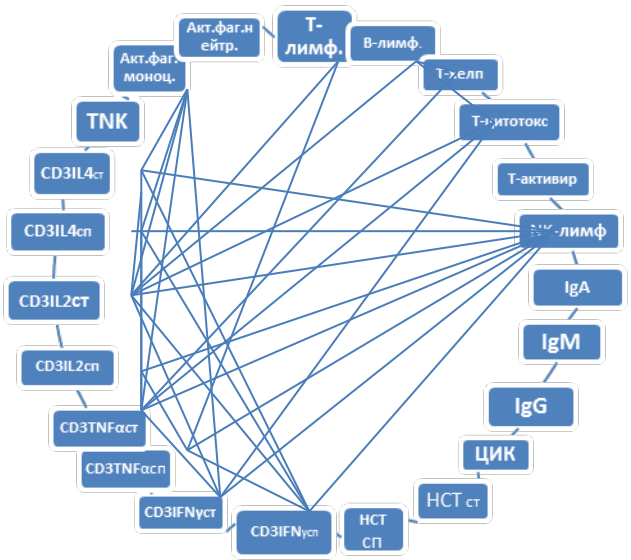


Рисунок 36 - Корреляционные связи между иммунологическими показателями у детей 3-7 лет с Коксаки В - вирусными менингитами, I исследование.

К третьей неделе болезни количество связей изменилось (n=40). Увеличилась роль взаимодействий между компонентами клеточного и гуморального звеньев (n=5), между клеточным звеном и факторами неспецифической защиты (n=6). Максимальное количество зависимостей установлено между показателями клеточного звена (n=28)(рисунок 37).

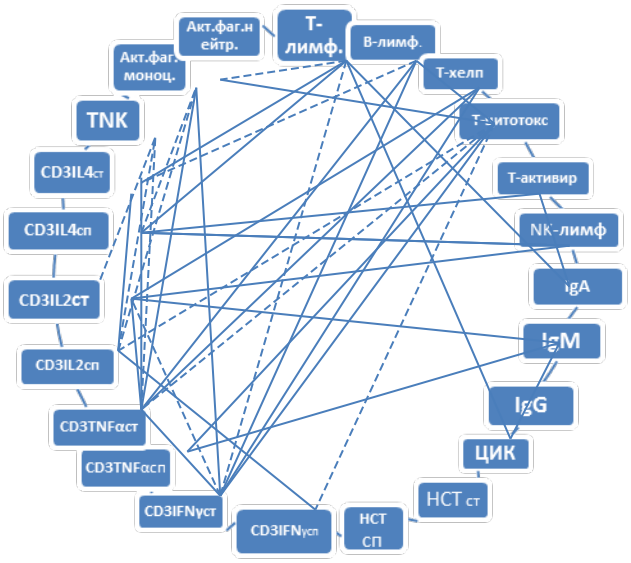


Рисунок 37 - Корреляционные связи между иммунологическими показателями у детей 3-7 лет с Коксаки В - вирусными менингитами, II исследование [1].

[1] –сплошная линия – прямые корреляционные связи, пунктирная линия – обратные корреляционные связи

Для Коксаки В - вирусных меннгитов у детей старшей возрастной группы (8-14 лет) было характерно наличие значительного количества корреляционных связей между клиническими симптомами и иммунологическими показателями (таблица 38, 39).

Длительность общеинфекционного синдрома и симптомов гипертензии имели корреляционные связи между количеством лимфоцитов,

содержащих эндоплазматические цитокины IFN-γ, TNF-α, IL-4 и IL-2 (таблица 39), что может свидетельствовать об активности клеточного звена иммунитета уже на начальном этапе заболевания. Кроме того, установлены статистичские связи между признакми синдрома гипертензии и показателями, характеризующими неспецифические факторы защиты: количество моноцитов и их фагоцитарная активность, показатели НСТ-теста.

Таблица 38 – Корреляционные связи между клиническими симптомами и иммунологическими показателями у детей 8-14 лет с Коксаки В - вирусными менингитами в острый период болезни.

Клинические проявления	Иммунологический показатель	r
Продолжительность общеинфекционного синдрома	CD3+IFNγ (ст)	0,64
	CD3+IFNγ (сп)	0,56
	CD3+TNFα(сп)	0,56
	CD3+IL-4(ст)	0,79
	CD3+IL-4(сп)	0,79
	CD3+IL-2(сп)	0,7
	IgG	-0,54
Продолжительность синдрома гипертензии	CD3+IFNγ (ст)	0,9
	CD3+TNFα(ст)	0,8
	CD3+TNFα(сп)	0,7
	CD3+IL-2(сп)	0,78
	Фагоцит.активность моноцитов	0,68
	Моноциты	0,68
	НСТ (ст)	0,69

Период реконвалесценции у детей 8-14 лет с Коксаки В-вирусными менингитами (таблица 39) характеризовался увеличением количества корреляционных связей. Установлено, что синдром гипертензии и общих инфекционных проявлений, менингеальные симптомы, а также уровень плеоцитоза находились в статистической зависимости от показателей, характеризующих клеточное звено иммунитета, а именно CD3+IFNγ+, CD3+IL-2+, CD3+IL-4+, CD3+TNFα+-лимфоцитов.

Таблица 39 –Корреляционные связи между клиническими симптомами и иммунологическими показателями у детей 8-14 лет с Коксаки В - вирусными менингитами в период реконвалесценции

Клинические проявления	Иммунологический показатель	r
Продолжительность общеинфекционного синдрома	CD3+TNFα(сп)	0,84
	CD3+IL-4(ст)	0,6
	CD3+IL-4(сп)	0,97
	CD3+IFNγ (ст)	0,68
	CD3+IFNγ (сп)	0,63
	CD3+IL-2(ст)	0,7
	TNK-лимфоциты	-0,83
	IgG	-0,65
Продолжительность синдрома гипертензии	CD3+IFNγ (ст)	0,92
	CD3+IFNγ (сп)	0,85
	CD3+TNFα(ст)	0,67
	CD3+TNFα(сп)	0,72
	CD3+IL-2(сп)	0,87
	CD3+IL-4(сп)	0,56

Продолжение таблицы 39

	CD3+	0,8
	CD3+CD8+	0,88
	NK-лимфоциты	0,67
Менингеальный комплекс (длительность)	CD3+IFNγ (ст)	0,6
	CD3+IFNγ (сп)	0,63
	CD3+TNFα(сп)	0,6
	CD3+IL-2(ст)	0,58
	CD3+IL-2(сп)	0,63
	CD3+IL-4(ст)	0,68
	TNK-лимфоциты	-0,5
Уровень плеоцитоза	CD19+	0,53
	CD3+IL-2(ст)	0,97
	CD3+IL-4(ст)	0,9
	CD3+IL-4(сп)	0,56
	Фагоцит.активн. нейтрофилов	0,55
	НСТ (ст)	-0,55
	НСТ (сп)	-0,52

Кроме того, выявлена корреляционная связь между признаками гипертезии и количеством цитотоксических Т-лимфоцитов (r=0,88) и NK-лимфоцитов (r=0,67). Факторы неспецифической резистентности организма были связаны с количеством клеток в ликворе. Выше названные статичестические связи могут свидетельствовать о наличии местного и системного воспаления при Коксаки В – менингитах.

Установлены корреляционные связи между компонентами клеточного, гуморального и фагоцитарного звеньев иммунитета (рисунок 38, 39). В

начале заболевания (I исследование) было выявлено 14 взаимодействий, большинство из которых составили связи между компонентами клеточного звена (n=10). К концу периода наблюдения (II исследование) число связей значительно уменьшилось (n=7). Это может быть показателем снижения активности иммунных процессов при Коксаки В – менингитах у детей 8-14 лет в период реконвалесценции, что сопровождается регрессом клинических симптомов, однако могло повлиять на процесс полного восстановления показателей спинно-мозговой жидкости.

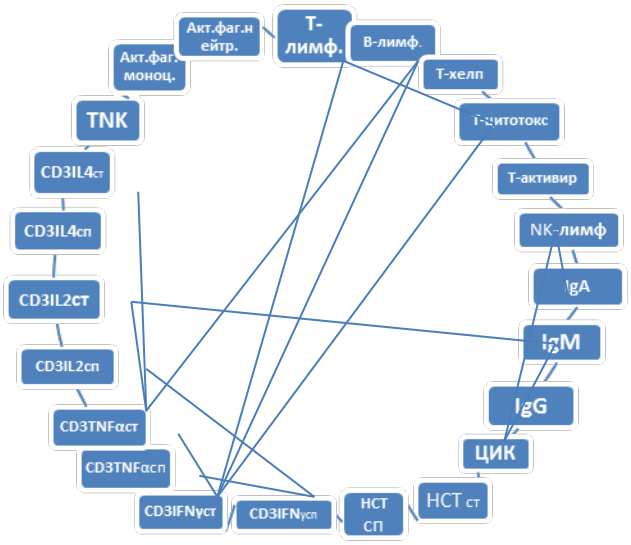


Рисунок 38 - Корреляционные связи между иммунологическими показателями у детей 8-14 лет с Коксаки В - вирусными менингитами, I исследование

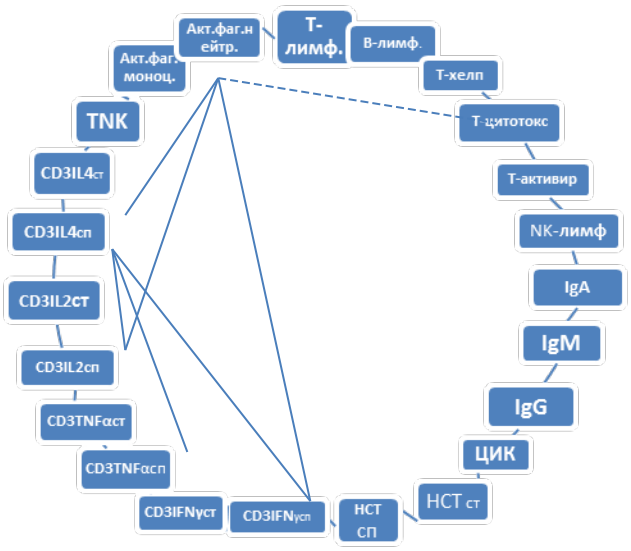


Рисунок 39 - Корреляционные связи между иммунологическими показателями у детей 8-14 лет с Коксаки В - вирусными менингитами, II исследование [1]

[1] –сплошная линия – прямые корреляционные связи, пунктирная линия – обратные корреляционные связи

5.3. Сравнительный анализ корреляционных матриц при ЕСНО - и КВ - вирусных менингитах

В младшей возрастной группе (3-7 лет) на протяжении всего периода болезни (острый период и период реконвалесценции) отмечена тенденция к увеличению количества корреляционных зависимостей между клиническими симптомами и иммунологическими показателями (рисунок 40). Установлено, что число взаимосвязей увеличивается более чем в 3,0 раза независимо от типа энтеровирусов.

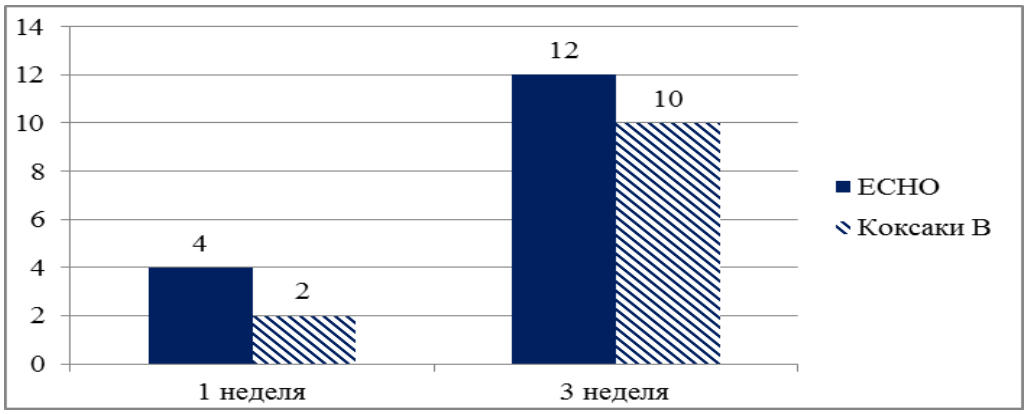


Рисунок 40 - Количество корреляционных связей между клиническими симптомами и иммунологическими показателями у детей 3-7 лет при ЕСНО- и Коксаки В-вирусных менингитах.

Интенсивность взаимодействий между иммунологическими показателями зависела от этиологического агента, который вызвал развитие серозных менингитов (рисунок 41). Так при ЕСНО - вирусных менингитах число корреляционных связей между показателями разных звеньев иммунитета к 3-й неделе болезни возросло более чем в 1,75 раза. При Коскаки В - вирусной инфекции такой закономерности не выявлено.

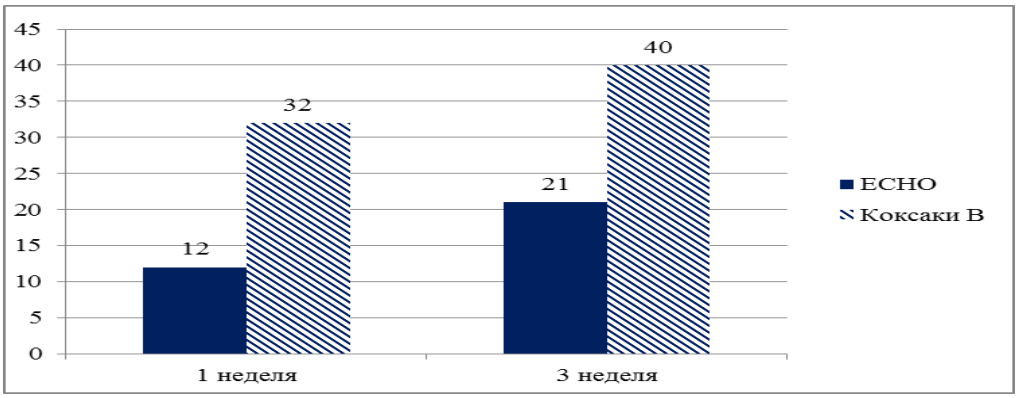


Рисунок 41 - Количество корреляционных связей между иммунологическими показателями у детей 3-7 лет при ЕСНО - и Коксаки В - вирусных менингитах.

В группе детей 8-14 лет отмечены наиболее значимые отличия между менингитами ЕСНО - и Коксаки В - вирусной этиологии. Установлено, что в этой возрастной группе максимальное количество корреляций между клиническими проявлениями и иммунологическими показателями на протяжении всего периода наблюдения было у детей с Коскаки В - вирусной инфекцией (рисунок 42).

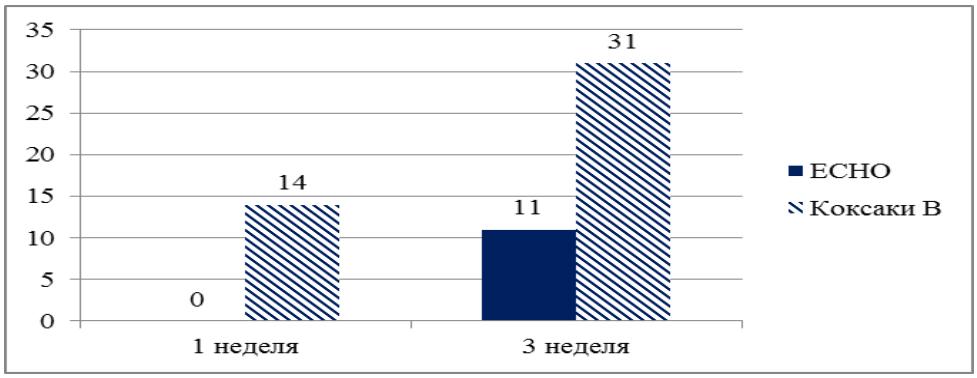


Рисунок 42 - Количество корреляционных связей между клиническими симптомами и иммунологическими показателями у детей 8-14 лет при ЕСНО - и Коксаки В - вирусных менингитах.

При ЕСНО - вирусных менингитах взаимное влияние иммунологических составляющих и клинических проявлений значительно увеличивается в период реконвалесценции (к 3-й неделе болезни).

При анализе корреляционных матриц между иммунологическими показателями выявлено, что иммунологические реакции более интенсивно проявлялись при ЕСНО - вирусной инфекции: на 1-й неделе заболевания установлено 15 пар корреляционных связей, на 3-й неделе- 29 (рисунок 43). У детей с Коксаки В - вирусными менингитами отмечено снижение числа корреляций (14 и 7 на 1-й и на 3-й неделе болезни соответственно).

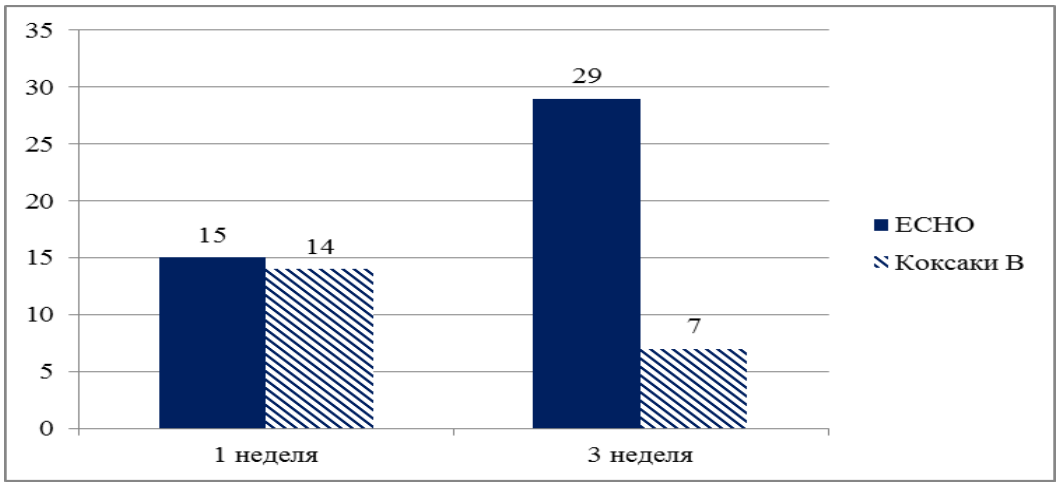


Рисунок 43- Количество корреляционных связей между иммунологическими показателями у детей 8-14 лет при ЕСНО - и Коксаки В - вирусных менингитах.

Таким образом, нами установлено, что при менингитах ЕСНО - и Коксаки В - вирусной этиологии клинические проявления острого периода болезни в большей степени связаны с реакциями неспецифической защиты организма. Значимость клеточных и гуморальных механизмов возрастает к третьей неделе болезни. Однако показано, что существуют различия между ЕСНО - и Коксаки В - вирусной инфекцией. Интенсивность влияния иммунологических реакций на течение болезни при Коксаки В - инфицировании выше, корреляционных связей между иммунологическими показателями и клиническими симптомами значительно больше, чем при ЕСНО - менингитах. В то же время, при менингитах, вызванных вирусами ЕСНО, активней идут процессы непосредственно между компонентами иммунной системы, в большей степени нарастает количество связей между показателями, характеризующими разные звенья иммунитета, особенно корреляционные связи между составляющими клеточного звена.

5.4. Способ определения типа энтеровируса, вызвавшего развитие серозного менингита у детей

Согласно существующим нормативным документам (МУ 3.1.1.2363-08 «Эпидемиологический надзор и профилактика энтеровирусной (неполио) инфекции»; СП 3.1.2950-11 «Профилактика энтеровирусной (неполио) инфекции»; «Руководство по лабораторным исследованиям полиомиелита», 4-е издание, ВОЗ, Женева) основными методами лабораторного подтверждения ЭВИ являются вирусологический и молекулярно-биологические методы (полимеразно-цепная реакция, секвенирование).

Вирусологические методы диагностики энтеровирусных инфекций являются длительным и трудоемким процессом. Окончательный ответ на вопрос, какой вирус (тип) вызвал заболевание можно получить по истечению 14-21 дней от его начала. Проведение таких исследований возможно в специально оборудованных лабораториях, сотрудники таких подразделений должны обладать определенными навыками работы с культурами клеток, владеть методами выделения и идентификации энтеровирусов.

Метод ПЦР бесспорно является наиболее быстрым и информативным. Однако, на сегодняшний день, используя данный способ, возможно лишь определить, является ли причиной инфицирования энтеровирус, либо заболевание вызвано другим возбудителем, т.е. назвать тип энтеровируса (ЕСНО или Коксаки) невозможно.

Метод секвенирования (определение нуклеотидной последовательности ДНК и РНК для получения формального описания её первичной структуры) является наиболее точным и высокотехнологичным способом диагностики, но является дорогостоящим и пока не может быть широко использован в рутинной практике.

Все выше изложенное, послужило основанием для создания способа определения (прогнозирования) типа энтеровируса в первые дни заболевания на основании минимального количества показателей.

В ходе выполнения работы был показано, что при энтеровирусных менингитах у детей независимо от этиологии возбудителя общей закономерностью развития острого периода болезни является увеличение уровня NK-клеток, В-лимфоцитов и Т-лимфоцитов, продуцирующих эндоплазматические цитокины IFN-γ и IL-4. Методом дисперсионного и регрессионного анализов из числа выше названных показателей выделены наиболее значимые иммунологические показатели, среди которых ведущее место занимал уровень CD3+IL4+-лимфоцитов при спонтанном синтезе. Была выведена формула, позволяющая установить, какой тип энтеровируса (ЕСНО или Коксаки В) вызвал заболевание.

Суть метода состоит в следующем. В крови заболевших детей в первые дни болезни определяют содержание CD3+IL4+(сп.).Полученное значение (X) подставляют в формулу (*1,12+9,32*X*), получают результат (Y). Если Y выше критического значения 1,28 , то можно предположить, что возбудителем заболевания являются вирусы Коксаки группы В; если Y ниже критического значения 1,28, - возбудителем являются вирусы ЕСНО.

Значения 1,12 и 9,32 (в формуле) являются постоянными коэффициентами; значение 1,28 - является критическим уровнем, относительно которого проводят оценку результата.

Проверка точности модели (формулы) проведена на контрольной группе, в которую вошли данные пациентов, показатели иммунограммы которых не были использованы при выведении формулы. В группу детей с ЕСНО -вирусными менингитами вошло 12 человек, с Коксаки В - вирусными менингитами - 15 человек. Были получены следующие результаты:

- из 12 человек, от которых при проведении вирусологических исследований были выделены вирусы ЕСНО, совпадение результатов наблюдали в 11 случаях (полученное значение было ниже критического 1,28), в 1 случае значение было выше критического уровня;

- из 15 человек, от которых при проведении вирусологических исследований были выделены вирусы Коксаки В, совпадение результатов наблюдали в 12 случаях (полученное значение было выше критического 1,28), у 3-х детей данный показатель оказался ниже 1,28.

Таким образом, формула оказалась достоверной в 80,0% случаев при Коксаки В - вирусных менингитах и в 92,0% - при ЕСНО - вирусных менингитах.

Данный способ способствует расширению методов диагностики энтеровирусных инфекций; является информативным, доступным и простым в исполнении; способ пригоден для предварительной этиологической расшифровки заболевания.

5.5. Клинические примеры

1.Ребенок Алиса Л., 3 лет (история болезни № 58090) поступила в инфекционное отделение стационара на второй день болезни с жалобами на многократную рвоту, интенсивную головную боль, повышение температуры до 38,3^{0}С. Предварительный диагноз, который был установлен при первичном осмотре ребенка - энтеровирусная инфекция, менингеальная форма. Состояние девочки оценено как средней тяжести.

При объективном осмотре выявлены гипертрофия миндалин (I степени), увеличение подчелюстных лимфатических узлов. У ребенка наблюдали гиперемию зева, признаки которой исчезли на 5-6-й день болезни.

На фоне общеинфекционных симптомов у ребенка наблюдали менингеальные симптомы (ригидность затылочных мышц, симптом Брудзинского и симптом Кернига). Симптомы Брудзинского и Кернига сохранялись в течение четырех дней, ригидность затылочных мышц наблюдали дольше - в течение 6 дней, лихорадка - в течение 2-х дней.

Со стороны желудочно-кишечного тракта, дыхательной системы, сердечно-сосудистой системы каких-либо отклонений выявлено не было.

С диагностической и лечебной целью ребенку проведена люмбальная пункция в день поступления (второй день болезни). Ликвор вытекал под давлением, был бесцветным и прозрачным. Уровень цитоза составил $176*10^6$/л, при этом в спинномозговой жидкости преобладали нейтрофилы (67%). Количество белка составило 0,378 г/л. При повторной пункции (на 17-й день болезни) количество клеток уменьшилось до $28*10^6$/л, характер цитоза при этом был лимфоцитарным (лимфоцитов - 78%).

Для уточнения и подтверждения первоначального диагноза инфекционный материал от ребенка (смыв, 2 пробы фекалий, 2 пробы сыворотки крови) был исследован вирусологическими и серологическими методами. Получены следующие результаты: выделен и идентифицирован вирус ЕСНО - 32, установлено наличие четырехкратного нарастания титра специфических антител к выделенному штамму вируса - на первой неделе титр 1:16, на второй - 1:64. Кроме того, методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) установлено наличие вирусной РНК в ликворе. Таким образом, окончательный диагноз - ЭВИ, менингеальная форма, вызванная вирусом ЕСНО - 32.

С целью оценки состояния иммунной системы ребенка на начальном этапе болезни (4-й день) и в динамике (18-й день) был проведен комплекс иммунологических тестов. Количество лимфоцитов в дебюте заболевания было в пределах возрастной нормы ($2,33*10^9$/л), незначительно снижено

количество моноцитов (0,41*10^9/л), повышен уровень гранулоцитов (4,76*10^9/л). Содержание Т-лимфоцитов (1,26*10^9/л) и их субпопуляций (Т-хелперных лимфоцитов и Т-активированных лимфоцитов) на старте были ниже возрастных норм. Абсолютное содержание NK-клеток (0,42*10^9/л) было выше аналогичного показателя в группе сравнения. Оценка цитокинового профиля Т-лимфоцитов показала уменьшение содержания лимфоцитов, синтезирующих IFN-γ, TNF-α, IL-2. Исключение составили CD3+IL-4-лимфоциты, уровень которых был повышен. Со стороны гуморального звена иммунитета отмечено незначительное повышение количества В-лимфоцитов (0,55*10^9/л), гипоиммуноглобулинемия (IgA, IgG). При анализе показателей, характеризующих факторы неспецифической защиты, выявлено значительное количество циркулирующих иммунных комплексов, повышенная фагоцитарная активность нейтрофилов и высокие значения НСТ-теста.

К третьей неделе болезни в крови ребенка наблюдали лимфоцитоз (4,19*10^9/л), увеличение содержания Т-лимфоцитов (2,8*10^9/л), Т-хелперных, Т-супрессорных и Т-активированных лимфоцитов (1,45*10^9/л, 0,88*10^9/л и 0,036*10^9/л соответственно). В этот период времени отмечено увеличение CD3+TNF-α (сп.)-, CD3+IL-2 (сп.)- и CD3+IL-4 (ст) –лимфоцитов (0,034, 0,017, 0,034% соответственно). Количество В-лимфоцитов к концу заболевания оставалось высоким (0,92*10^9/л), уровень IgA, IgM и IgG низкий (0,3, 0,9 и 8,1 г/л соответственно). Число ЦИК значительно уменьшилось (26,0 ед.), восстановлена фагоцитарная активность нейтрофилов (3,144%).

На фоне регресса ведущих клинических симптомов отмечено значительное уменьшение воспалительных изменений в ликворе, хотя плеоцитоз практически в 3 раза превышает нормальные значения и восстановление большинства показателей (за исключением параметров гуморального иммунитета).

2. Ребенок Лена З., 7 лет (история болезни № 57644) поступила в стационар на третий день болезни с жалобами на сильную головную боль, слабость, вялость, рвоту, повышение температуры до 37,4^{0}С. Предварительный диагноз - энтеровирусная инфекция, менингеальная форма. Состояние ребенка оценено как средней тяжести.

При объективном осмотре выявлено увеличение миндалин (I степени), подчелюстных лимфатических узлов, незначительная гиперемия зева.

У девочки присутствовали менингеальные симптомы - ригидность затылочных мышц и симптом Кернига, которые сохранялись в течение четырех дней. Лихорадка наблюдалась в течение первых 3-х дней болезни, отмечено незначительное повышение температуры на 13-й день болезни до 37,1^{0}С.

Со стороны дыхательной и сердечно-сосудистой системы каких-либо патологических изменений установлено не было.

С диагностической и лечебной целью девочке была проведена люмбальная пункция на третий день болезни. Ликвор вытекал под давлением, был бесцветным и прозрачным. Количество клеток в СМЖ составило 464*10^6/л, при этом уровень нейтрофилов и лимфоцитов в ней был 41,0% и 56,0% соответственно. Количество белка в ликворе при первой пункции 0,42 г/л. При повторном взятии СМЖ (на 19-й день болезни) уровень цитоза уменьшился до нормальных значений (5*10^6/л), характер его был лимфоцитарным (нейтрофилы - 14,0%, лимфоциты -86,0%).

Для лабораторного установления диагноза инфекционный материл от ребенка (пробы фекалий, пробы сыворотки крови) был исследован вирусологическими и серологическими методами. В результате был выделен и идентифицирован вирус Коксаки В 2, отмечено диагностическое нарастание титра специфических антител к аутоштамму (титр в первой пробе

сыворотки крови 1:128, во второй пробе - 1:512). Методом ПЦР выявлено наличие РНК энтеровируса в ликворе. Таким образом, первичный диагноз ребенка был подтвержден.

Оценку состояния иммунной системы заболевшей девочки провели по результатам комплексного иммунологического обследования на начальном этапе болезни (5 - й день) и в динамике наблюдения (17-й день болезни).

В острый период выявлены лимфопения ($1,64*10^9$/л), гранулоцитопения ($2,51*10^9$/л), снижено количество Т-лимфоцитов (1,25%) и их субпопуляций (Т-хелперных, Т-цитотоксических и Т- активированных лимфоцитов), количество NK- и TNK-клеток. Оценка цитокинового профиля показала увеличение содержания CD3+-лимфоцитов, синтезирующих IFN-γ, TNF-α, IL-2 и IL4.

Со стороны гуморального звена иммунитета отмечено снижение количества В-лимфоцитов при наличии гипериммуноглобулинемии (Ig A, IgM и IgG).

У ребенка на первой неделе болезни выявлено большое количество ЦИК (92 ед.), снижение фагоцитарной активности моноцитов (0,322%) и нейтрофилов (2,3%).

При повторном обследовании (на 17-й день болезни) сохранялось пониженное содержание лимфоцитов ($2,43*10^9$/л), хотя количество их увеличилось в сравнении со стартовыми показателями, в большей степени уменьшилось количество гранулоцитов ($1,89*10^9$/л). По-прежнему оставался сниженным уровень Т-лимфоцитов и их субпопуляций. Сохранилась высокой продукция цитокинсинтезирующих клеток CD3+ IFN-γ, CD3+TNF-α, CD3+ IL-2 и CD3+IL4.

Содержание иммуноглобулинов A, M и G было повышенным. Восстановлена фагоцитарная активность моноцитов. Количество ЦИК

значительно уменьшилось (65 ед.), но по-прежнему было выше нормальных значений.

Таким образом, регресс клинических симптомов сопровождался уменьшенеием воспалительных изменений в СМЖ. Однако, к периоду клинико-ликворологического восстановления сохранялись изменения показателей иммунного статуса ребенка клеточного и гуморального звена: на фоне гипериммуноглобулинемии наблюдалась Т-лимфопения.

5.6. Применение способа определения типа энтеровируса

1. Ребенок Марина Г., 9 лет поступил в стационар с предварительным диагнозом - ЭВИ, менингеальная форма на второй день болезни. На третий день болезни пациенту проведено исследование иммунологических параметров, включая определение количества CD3+IL-4+ лимфоцитов при спонтанном синтезе. Был получен результат - содержание CD3+IL4 +(сп.) составило 0,002 $*10^9$/л. Используя формулу: Y= 1,12+9,32*X, где X - это абсолютное значение CD3+IL-4+, а Y - искомое, получаем, что Y= 1,12+9,32*0,002=1,13. Данное значение ниже критического уровня - 1,28, это означает, что возбудителем серозного менингита у ребенка являются вирусы ЕСНО. При проведении вирусологических исследований установлено, что этиологическим агентом заболевания явился вирус ЕСНО-30. Таким образом, результат расчета по формуле был подтвержден лабораторно.

2. Ребенок Саша К., 9 лет поступил в стационар на второй день болезни с предварительным диагнозом - ЭВИ, менингеальная форма. На второй день ребенку проведены иммунологические исследования, при которых был определ уровень содержания CD3+IL-4+ лимфоцитов при спонтанном синтезе. Их количество соответствовало $0,072*10^9$/л. Применив формулу, получаем, что искомое значение Y= 1,12+9,32*0,072=1,79. Данное значение выше критического уровня 1,28, из чего следует, что возбудителем заболевания являются вирусы Коксаки В. Вирусологические методы

исследования показали, что менингит у ребенка был вызван вирусом Коксаки B4. Результат расчета по формуле был подтвержден лабораторно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Заболевания, связанные с энтеровирусами, представляют серьезную проблему здравоохранения во многих странах мира. Энтеровирусная инфекция относится к тем заболеваниям, с которой врач чаще сталкивается, чем ставит диагноз (А. В. Демина, С. В. Нетесов, 2009, А. С. Прилуцкий, С. В. Бабенко, 2009, С. Л. Колпаков, А. Ф. Попов, 2013). С одной стороны, это связано с пантропизмом ЭВ, и, следовательно, манифестацией данной инфекции в виде различных клинических вариантов с возможным поражением одного или нескольких органов и систем (респираторная инфекция, гастроэнтерит, экзантема, миокардит и т д.). С другой стороны, диагностика ЭВИ затруднена, т.к. в настоящее время известно более 70 серотипов ЭВ человека, что делает сложным процесс серодиагностики, а выделение вирусов на чувствительных культурах клеток - ещё более трудоемким и длительным.

Энтеровирусные инфекции распространены повсеместно. Наиболее частыми клиническими формами ЭВИ являются: серозный (асептический) менингит/менингоэнцефалит, малая болезнь («трехдневная лихорадка», «летний грипп»), герпангина, инфекционная экзантема (Бостонская экзантема, эпидемическая экзантема).

Актуальность проблемы энтеровирусных менингитов, как отмечают исследователи (Э. Н. Симованьян, Л. Ф. Бовтало, 2009, Mong-Cheng Lin, Yu-Jium Chan, 2008), определяется высокой восприимчивостью детского населения, регистрацией спорадической и вспышечной заболеваемости, полиморфизмом клинических проявлений. Несмотря на среднетяжелое течение нейроинфекции в остром периоде, развитие отдаленных последствий болезни в результате перенесенного серозного менингита возможно. Поэтому выявление клинических особенностей заболевания, закономерности иммунологических изминений, влияющих на течение острого периода и

исходы энтеровирусных менингитов представляют научный и практический интерес для специалистов.

Широкое распространение энтеровирусов и большой спектр их типов/серотипов, наличие разнообразных клинических проявлений и иммунологических изменений при серозных менингитах у детей в разных возрастных группах подтверждает необходимость дальнейшего изучения и анализа этих заболеваний.

Исходя из выше сказанного, нами была определена цель настоящей работы: определить клинико-иммунологические особенности Коксаки В - и ЕСНО - вирусных менингитов у детей различного возраста и разработать способ определния группы возбудителя.

В связи с поставленной целью, проведена оценка эпидемиологических данных за 2003-2014гг. (изучен типовой состав и динамика выделения энтеровирусов), клинической картины и иммунологических изменений при менингитах ЕСНО - и Коксаки В - вирусной этиологии у 141 ребенка в возрасте от 3 до 14 лет. Проведен сравнительный анализ серозных менингитов в разные периоды наблюдения (1980-1984гг. и 2003-2012гг.).

Абсолютные и относительные показатели обнаружения ЭВ указывали на лидирующее положение вирусов Коксаки В (34,3%) и ЕСНО (31,3%). Вирус-вирусные ассоциации встречались реже - в 21,8% случаев, преимущественнов 2011-2014гг. В динамике выделения ЕСНО - и Коксаки В - вирусов наблюдали волнообразный характер и смену одного этиологического агента другим. Так вирусы ЕСНО были ведущими в 2008, 2009 и 2012гг., в то время как вирусы Коксаки группы В превалировали в 2003, 2007, 2010, 2013гг. Известно, что энтеровирусы обладают высокой степенью изменчивости (Oberste, Macher, 1998; Львово Д.К., 2008). Это, в свою очередь, может оказывать влияние на такие свойства вируса, как

вирулентность, патогеность и иммуногенность. Изменения свойств вирусов и смена ведущих типов могут способствовать изменению характера заболеваний, вызванных ЭВ, а соответственно и изменения в иммунном ответе инфицированного организма.

Нами проведен анализ клинической картины и течения энтеровирусных менингитов ЕСНО - и Коксаки В - вирусной этиологии у детей 3-14 лет. Диагноз энтеровирусный менингит был поставлен на основании клинических данных и результатов лабораторного обследования детей (исследование СМЖ, вирусологические и молекулярно-биологические исследования**).**

Ретроспективно все дети были распределены на группы: пациенты с ЕСНО - вирусной инфекцией (n=86) двух возрастных подгрупп (3-7 лет - 39 человек и 8-14 лет - 47 человек) и с Коксаки В - вирусной инфекцией (n=55) аналогично, двух возрастных подгрупп (3-7 лет- 34 человека, 8-14 лет - 21 человек).

Для энтеровирусных менингитов, независимо от этиологии, было характерно острое начало с поступлением большинства пациентов на 1-2-й день от начала болезни. В стационар заболевшие дети госпитализировались в состоянии средней тяжести в 98,6% случаев. Среди ведущих синдромов традиционно преобладали общеинфекционный и синдром поражения центральной нервной системы (ЦНС). Из общих инфекционных симптомов чаще всего отмечали лихорадку (91,5%), гиперемию зева (85,1%), увеличение миндалин (63,1%), полиаденит (58,2%). Заболевание сопровождалось катаральными явлениями (17,7%) и нарушениями со стороны желудочно-кишечного тракта (боль в животе - 7,8%, снижение аппетита - 14,2%, расстройство стула - 7,1%, увеличение печени и /или селезенки - 11,3%).

Наиболее частыми признаками поражения ЦНС были рвота (88,6%) и головная боль (97,2%), что соответствовало развитию острого гипертензионного синдрома. Менингеальные симптомы присутствовали

практически у всех детей (97,9%), обычно наблюдали полный менингеальный комплекс (70,2%).

При анализе СМЖ в начале заболевания отмечено увеличение количества клеток (206,02±22,42*10^6/л). Плеоцитоз имел смешанный характер (нейтрофилы - 57,2±2,25%, лимфоциты - 44,42±2,27%). Полученные данные коррелируют с результатами работ Штейнберга А.В. (2009), Хамановой Ю.Б. (2013). Наличие нейтрофильного плеоцитоза у детей при ЭВ-менингитах, к сожалению, осложняет диагностическую дифференцировку этиологии менингитов (бактериальная или вирусная природа возбуителя заболевания) и затрудняет выбор тактики дальнейшего лечения детей. При повторной пункции число клеток значительно уменьшилось (17,16±3,2*10^6/л), и это были клетки преимущественно лимфоцитарного профиля (нейтрофилы - 22,91±1,91%, лимфоциты - 86,2±1,56%).

Отличия клинических проявлений энтеровирусных менингитов у детей в зависимости от этиологии возбудителя были описаны в ранее выполненных работах (Штейнберг А.В., 2009; Протасеня И.И., 2010; Комарова Т..В., 2012; Хаманова Ю.Б., 2013). Однако, нами установлены некоторые отличия в результатах нашей работы и работ, выше названных авторов.

Сравнение клинических проявлений менингитов ЕСНО - и Коксаки В - вирусной этиологии показало, что симптомы поражения ЦНС проявлялись в равной степени, независимо от типа возбудителя и возраста пациентов.

Достоверные отличия были установлены при комплексном сравнении признаков общеинфекционного синдрома (с использованием показателя χ^2) при менингитах разной этиологии. Можно утверждать, что течение общеинфекционного синдрома у детей 3-14 лет при ЕСНО - вирусных менингитах отличалось от дебюта этого синдрома при Коксаки В - менингитах. При менингитах, вызванных вирусами ЕСНО, в отличие от

Коксаки В - менингитов у детей чаще наблюдали гипертрофию миндалин (72,1% против 49,1%, p>0,05), гиперемию зева (88,4% и 80,0%, p>0,05), светобоязнь (8,1 % и 1,8 % соответственно, p<0,05). Дети с Коксаки В-вирусными менингитами в большей степени предъявляли жалобы на наличие катаральных явлений (насморк, кашель, заложенность носа), на симптомы поражения ЖКТ, такие как, снижение аппетита (21,8%), боль в животе (12,7%), диспепсия (12,7%), обложенность языка (40,0%), увеличение печени и/или селезенки (27,3%).

Показатели СМЖ в обеих группах детей в целом были идентичны. Однако, у больных ЕСНО - вирусными менингитами в возрасте 8-14 лет уровень цитоза при повторной пункции был достоверно выше, чем у детей 3-7 лет.

Установлено, что при энтеровирусных менингитах в период 2003-2012 гг. в сравнении с серозными менингитами, которые наблюдались в период 1980-1984гг. сменился характер синдрома гипертензии и менингеальных симптомов (в настоящее время рвота преимущественно однократная, головная боль более продолжительная, менингеальный комплекс, как правило, полный). При анализе течения общеинфекционного синдрома выявлено, что при энтеровирусных менингитах в современный период значительно чаще отмечают наличие гипертрофии миндалин (63,1% против 10,5%, p<0,05), полиаденит (58,2% против 11,8%, p<0,05), нарушения со стороны поражения желудочно-кишечного тракта, такие как снижение аппетита (14,2% против 2,9%, p<0,05), обложенность языка (29,8% против 12,8%, p<0,05). У детей в период 1980-1984гг. в большей степени проявлялись катаральные симптомы (кашель, насморк). Уровень цитоза при «современных» энтеровирусных менингитах был значительно выше, кроме того, изменился его характер - в период 1980-1984гг. он был лимфоцитарный, в период 2003-2012гг. - смешанный. Необходимо отметить, что в период

2003-2012гг. ведущим этиологическим агентом серозных менингитов преимущественно были вирусы ЕСНО, в период 1980-1984гг.- вирусы Коксаки группы В. Вероятно, что смена одного ведущего серотипа энтеровирусов другим, эволюционное развитие энтеровирусов, обладающих высокой степенью изменчивости, объясняет различия в проявлениях клинических симптомов и течении серозных менингитов в разные временные периоды.

При анализе показателей гемограммы выявлено, что у детей с менингеальной формой ЕСНО-вирусной инфекции в возрасте 8-14 лет в течение всего периода наблюдения количество лейкоцитов был достоверно выше, чем у детей с Коксаки В - вирусными менингитами. При ЕСНО - вирусных менингитах выявлено снижение количества моноцитов у всех детей (3-14 лет).

Детям в наблюдаемых группах был проведен комплекс иммунологических тестов на начальном этапе заболевания (1-7 день болезни) и в динамике (14-21 день болезни). Сравнение результатов проводили с иммунологическими показателями, полученными при обследовании практически здоровых детей в аналогичных возрастных группах (3-7 лет и 8-14 лет).

У пациентов с ЕСНО - вирусными менингитами в возрасте 3-7 лет были выявлены достоверные изменения в иммунограмме. При оценке показателей клеточного звена иммунитета установлено увеличение уровня NK-клеток, Т-активированных лимфоцитов и снижение количества Т-хелперных лимфоцитов на начальном этапе заболевания. При оценке цитокинового профиля в остром периоде болезни выявлено снижение содержания Т-лимфоцитов, содержащих IL-2 (стимулированный синтез) и TNF-α (спонтанный синтез). Количество IFN-γ синтезирующих и IL-4 положительных Т-лимфоцитов было выше уровня возрастных норм. У детей

с менингеальной формой ЕСНО - вирусной инфекции обнаружено значительное количество ЦИК, высокий уровень IgG, снижение бактерицидной активности и фагоцитарной активности моноцитов. В период реконвалесценции у детей выявлены следующие изменения: значительный прирост количества Т-лимфоцитов и эффекторных клеток (Т-хелперных, Т-цитотоксических лимфоцитов) и уменьшение числа Т-активированных лимфоцитов, при этом количество NK-клеток соответствовало возрастным нормам. Сохранялся сниженный уровень Т-лимфоцитов - продуцентов TNF-α и высокий уровень CD3+IL4+ лимфоцитов (спонтанный синтез). Количество клеток, синтезирующих IFN-γ, к концу третьей недели болезни было снижено. Количество ЦИК, в сравнении с исходными данными, снизилось, но все же оставалось выше возрастных норм. Нормализация иммунологических параметров сопровождалась регрессом клинических симптомов заболевания и улучшением общего состояния пациентов.

У детей с ЕСНО - вирусными менингитами в возрасте 8-14 лет в острый период болезни наблюдали достоверное увеличение числа NK-клеток и значительное уменьшение TNK-клеток. Оценка клеточного звена иммунитета показала снижение уровня одних цитокинпродуцирующих Т-лимфоцитов (CD3+IL-2+, CD3+TNF-α+) при увеличении количества других Т-клеток (CD3+IFN-γ+, CD3+IL-4+). В крови у детей отмечали высокое содержание ЦИК. В период регресса клинических симптомов выявлено увеличение количества Т- лимфоцитов, вероятно, за счет увеличения субпопуляции цитотоксических Т-лимфоцитов. Сохранялись высокий уровень NK-клеток, CD3+IFN-γ+ и CD3+IL-4+ лимфоцитов при низком уровне TNK-клеток и TNF-α положительных Т-лимфоцитов. Выявлено снижение синтеза IgG, увеличение фагоцитарной активности нейтрофилов.

При Коксаки В - вирусных менингитах у детей 3-7 лет в острый период болезни в иммунограмме отмечены следующие изменения: увеличение

количества В-лимфоцитов, NK-лимфоцитов. Анализ цитокинового профиля показал значительное уменьшение количества CD3+IL-2+лимфоцитов при стимулированном синтезе, увеличение уровня CD3+IFN-γ +-, CD3+TNF-α+ - и CD3+ IL-4+ -лимфоцитов. Установлено увеличение продукции IgM и IgG, высокое содержание НСТ-положительных нейтрофилов и ЦИК. К третьей неделе заболевания у детей выявлено снижение количества В-лимфоцитов в сравнении со стартовыми показателями, восстановлен уровень NK-лимфоцитов. По-прежнему сохранялись повышенными уровни Т-лимфоцитов - продуцентов IL-4 и TNF-α; содержание IL-2-положительных Т-лимфоцитов было в пределах возрастных норм. Выработка иммуноглобулинов G была повышена, значения показателя НСТ-теста сохранялись высокими, установлено снижение бактерицидной активности и фагоцитарной активности нейтрофилов.

В иммунограмме детей 8-14 лет с Коксаки В - вирусными менингитами выявлено увеличение количества NK-лимфоцитов на начальном этапе болезни. Установлено снижение стимулированной выработки IL-2, увеличение содержания CD3+IFN-γ+-, CD3+IL-4+-, CD3+TNF-α+ - Т-лимфоцитов. У детей установлен высокий уровень ЦИК и НСТ-положительных нейтрофилов. В период реконвалесценции уровень NK-лимфоцитов по-прежнему сохранялся высоким, более того он был значительно выше стартовых показателей. Сохранился низкий уровень CD3+IL-2+ - лимфоцитов при повышенном содержании CD3+IFN-γ+, IL-4 и CD3+TNF-α- лимфоцитов.

На основании выше представленных изменений при ЕСНО - и Коксаки В - вирусных менингитах, выделены общие и частные закономерности иммунного ответа в зависимости от типа вируса и возраста пациентов.

В острый период болезни у всех детей с энтеровирусными менингитами отмечали следующие изменения: увеличение количества NK-

лимфоцитов, Т-лимфоцитов синтезирующих IFN-γ и IL-4, уменьшение CD3+IL-2+ лимфоцитов, высокое содержание ЦИК. Все это может свидетельствовать об активности на данном этапе заболевания механизмов врожденного иммунитета. Одновременно с этим происходит активация механизмов, регулирующих адаптивный иммунитет, усиливается роль противовоспалительных реакций. Изменения со стороны иммунной системы сопровождались клиническими проявлениями острого периода болезни (лихорадка, головная боль, рвота, наличие менингеальных симптомов, вялость, слабость, нарушения со стороны желудочно-кишечного тракта), нарастанием плеоцитоза в СМЖ.

Для периода реконвалесценции при энтеровирусных менингитах у детей были характерны: высокий уровень CD3+IL-4+-лимфоцитов и большое количество ЦИК. Сохраняющееся высокое содержание циркулирующих иммунных комплексов, по-видимому, является результатом активной выработки антител и низкой активностью макрофагов, принимающих непосредственное участие в элиминации возбудителя.

Больные ЕСНО - вирусными менингитами, наряду с вышеназванными изменениями, имели свои особенности. В острый период менингеальной формы ЕСНО - вирусной инфекции у детей наблюдали моноцитопению, уменьшение числа Т-хелперных лимфоцитов, TNK-клеток и TNF-α-положительных Т-лимфоцитов. В период реконвалесценции в иммунограмме детей с ЕСНО - вирусными менингитами отмечали увеличение количества Т-лимфоцитов и их субпопуляций - Т-хелперных лимфоцитов и Т-цитотоксических лимфоцитов; уменьшение числа Т-активированных и TNK-лимфоцитов; сохранялся низкий уровень выработки TNF-α при спонтанном синтезе. Полученные результаты могут свидетельствовать о низкой активности факторов врожденного иммунитета при ЕСНО - вирусных

менингитах на начальном этапе заболевания и недостаточности иммунного ответа.

Острый период Коксаки В - вирусных менингитов характеризовался: повышенным содержанием CD3+TNF-α-лимфоцитов, высоким уровнем IgM и значительным увеличением показателей НСТ-теста. К третьей неделе болезни у детей сохранялись все выше названные отклонения, за исключением стимулированного синтеза TNF-α (его уровень на 3-й неделе болезни соответствовал возрастным нормам). Данные изменения могут свидетельствовать о наличии при Коксаки В - вирусной инфекции активной пролиферации и дифференцировки клеток воспаления, а также механизмов естественного иммунитета. Кроме того, при Коксаки В - вирусных менингитах отмечена значительная активация и роль гуморального звена иммунитета и факторов неспецифической защиты.

В отличе от ранее выполенныз работ, нами установлены особенности специфического иммунного ответа при энтеровирусных менингитах у детей в зависимости от этиологии возбудителя. Анализ результатов изучения специфического иммунитета показал наличие существенных различий между ЕСНО - и Коксаки В - вирусной инфекцией. Было установлено, что уровень отрицательных логарифмов (log_2) и соответствующие им средние геометрические титров антител при Коксаки В - вирусных менингитах были достоверно выще ($p<0,01$), чем при ЕСНО - вирусных менингитах как в остром периоде болезни, так и в период реконвалесценции независимо от возраста пациентов. Титр антител при ЕСНО - инфекции на первой неделе болезни составил 1:4,9, на третьей неделе болезни 1:22,6; при Коксаки В - инфекции титры были 1:12 и 1:30,0. Все это может говорить о наибольшей антигенной активности вирусов Коксаки группы В, что в свою очередь влечет к развитию активного процесса антителообразования.

Если рассматривать иммунологические изменения при энтеровирусных менингитах в возрастном аспекте, то и в этом случае были выявлены некоторые особенности. Практически все различия касались изменений, которые наблюдали в период реконвалесценции (к 3-й неделе болезни). У детей 8-14 лет к концу болезни отмечали увеличение уровня NK-лимфоцитов, увеличение выработки цитокинов – IL-4 (стимулированный синтез) и IFN-γ. Для детей 3-7 лет было характерным наличие высокого содержания в сыворотке крови IgG в острый период болезни. Таким образом, у детей старшего возраста (8-14 лет) более выражены механизмы врожденного иммунитета, противовирусная защита значительно эффективнее, чем у детей 3-7 лет, активнее протекают противовоспалительные реакции. У детей младшего возраста (3-7 лет) наблюдается недостаточная выраженность иммунных процессов, на первый план выступают гуморальные факторы.

При менингитах ЕСНО - и Коксаки В - вирусной этиологии клинические проявления острого периода болезни в большей степени связаны с реакциями неспецифической защиты организма. Значимость клеточных и гуморальных механизмов возрастает к третьей неделе болезни. Однако показано, что существуют различия между ЕСНО - и Коксаки В - вирусной инфекцией. Интенсивность влияния иммунологических реакций на течение болезни при Коксаки В - инфицировании выше, корреляционных связей между иммунологическими показателями и клиническими симптомами значительно больше, чем при ЕСНО - менингитах. В то же время, при менингитах вызванных вирусами ЕСНО, активнее перераспределение между компонентами иммунной системы, в большей степени нарастает количество связей между показателями, характеризующими разные звенья иммунитета, причем корреляционные связи в большинстве случаев выявлены между составляющими клеточного звена.

Нами установлены общие иммунологические измения, которые были характерны как для ЕСНО-, так и для Коксаки В-вирусных менингитов (увеличение уровня CD3+IFN-γ, CD3+IL-4, CD3-C16+CD56+, CD19+, ЦИК). Методом дисперсионного анализа из этого числа показателей определен наиболее значимый критерий – абсолютное содержание Т-лимфоцитов, спонтанного синтезирующих цитокин IL-4. Регрессионный анализ позволил вывести математическую закономерность (формулу), по которой можно установить, какой энтеровирус (ЕСНО или Коксаки В) стал причиной серозного менингита у детей.

Для этого в крови заболевших детей в первые 3 дня болезни определяли содержание CD3+IL4+-Т-лифоцитов при спонтанном синтезе (X). Полученное значение (X) подставляли в формулу (1,12+9,32*X), получали результат (Y). Если Y выше критического значения 1,28 (критическое значение определено методом подбора) , то можно с высокой степенью вероятности предположить, что возбудителем заболевания являются вирусы Коксаки группы В; если Y ниже критического значения 1,28, - возбудителем следует считать вирусы ЕСНО.

Формула была проверена на контрольной группе (12 человек с ЕСНО - вирусным менингитом и 15 человек с Коксаки В - вирусным менингитом). Она оказалась достоверной в 80,0% случаев при Коксаки В - вирусных менингитах и в 92,0% - при ЕСНО - вирусных менингитах.

Данный способ способствует расширению методов диагностики энтеровирусных инфекций; является информативным, доступным и простым в исполнении. Способ полезен практикующим врачам для предварительной этиологической расшифровки заболевания.

Таким образом, задачи, поставленные в работе, выполнены, цель достигнута. Проведена оценка эпидемиологической значимости энтеровирусов разных типов, проанализирована клиническая картина

серозных менингитов ЕСНО - и Коксаки В - вирусной этиологии, установлены особенности течения менингитов в разные временные периоды, выделены различия иммунологических изменений энтеровирусных менингитов в зависимости от типа вируса и возраста пациентов, создан способ определения типа энтеровируса, вызвавшего заболевание.

ВЫВОДЫ

1. Ведущими типами вирусов-возбудителей менингитов были ЕСНО (31,3%) и Коксаки В (34,3%). Среди ЕСНО-вирусов лидерами являлись серотипы ЕСНО - 30 (43,3%), ЕСНО - 6 (19,5%), ЕСНО - 7 (9,97%). Вирусы Коксаки В5 и Коксаки В4 чаще других серотипов выделяли от детей с менингитами Коксаки В - вирусной этиологии (44,1% и 20,4% соответственно).

2. Для ЭВ - менингитов характерен периодический характер циркуляции доминирующих энтеровирусов. Вирусы Коксаки группы В преимущественно были выделены в период 2003-2007гг., при этом максимальный удельный вес их отмечен в 2005г.(93,0%), 2006г.(84,8%) и в 2007г.(90,1%). Вирусы ЕСНО разных серотипов были ведущими в 2008г.(41,6%), 2009г.(33,8%) и 2013г.(18,1%). Вирус-вирусные ассоциации (ЕСНО и Коксаки В) лидировали в период 2013-2014гг.; удельный вес микстов в эти годы составлял 50,0% и 43,2% соответственно.

3. Серозные менингиты, вызванные разными типами ЭВ, отличаются по характеру проявления общеинфекционного синдрома. При ЕСНО -менингитах у детей чаще наблюдали гипертрофию миндалин (42,1 %), гиперемию зева (88,4%), светобоязнь (8,1%). Для Коксаки В - вирусных менингитов более характерными были катаральные явления (кашель, насморк, заложенность носа), симптомы поражения ЖКТ, такие как снижение аппетита (21,8%), боль в животе (12,7%), диспепсия (12,7%), увеличение печение и/или селезенки (27,3%).

Симптомы поражения ЦНС при ЕСНО - и Коксаки В - вирусных менингитах достоверных отличий не имели.

4. Тип энтеровируса оказывает влияние на характер иммунологических изменений. Острый период энтеровирусных менингитов

сопровождался увеличением количества NK - лимфоцитов, высоким содержанием ЦИК и Т - лимфоцитов, продуцирующих IFN-γ и IL-4. У детей с ЕСНО - вирусными менингитами на начальном этапе, в отличие от Коксаки В -вирусных менингитов, установлено снижение абсолютного количества моноцитов, их фагоцитарной активности на фоне уменьшения количества Т - лимфоцитов - продуцентов TNF-α. При Коксаки В - вирусных менингитах в иммунограмме детей выявлено увеличение TNF-α - положительных Т - лимфоцитов, НСТ - положительных нейтрофилов на фоне повышения концентрации сывороточных иммуноглобулинов М и G и вирус-нейтрализующих антител.

5. Для энтеровирусных менингитов характерны возрастные иммунологические особенности. В возрастной группе 3-7 лет у детей с ЕСНО -менингитами отмечали наличие высокого уровня Т - активированных и снижение Т - хелперных лимфоцитов. В старшей группе детей (8-14 лет) отмечено увеличение уровня В-лимфоцитов и низкое содержание TNK-клеток.

При Коксаки В - вирусных менингитах в иммунограмме детей 3-7 лет выявлен высокий уровень В-лимфоцитов и, как следствие этого, повышенный синтез сывороточных иммуноглобулинов класса М и G, а также снижение бактерицидной активности и фагоцитарной активности нейтрофилов. В группе 8-14 лет таких изменений выявлено не было.

6. Из числа иммунологических показателей с помощью методов дисперсионного и регрессионного анализов выделены наиболее значимые параметры, среди которых лидирующее положение занимал уровень CD3+IL4+-лимфоцитов (спонтанный синтез). Выведена формула, позволяющая на начальном этапе заболевания установить с точностью до 80,0%, какой тип энтеровирусов (ЕСНО - или Коксаки В) стал причиной серозного менингита у детей.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В план обследования детей с подозрением на энтеровирусный менингит помимо основных клинико-лабораторных исследований необходимо включать иммунологическое обследование с целью определения уровня Т-лимфоцитов спонтанно синтезирующих IL-4. Используя данный показатель и разработанную формулу, возможно определить тип ЭВ, установить этиологический диагноз и проводить своевременную дифференциальную диагностику в первые три дня болезни.

2. Дети, перенесшие ЕСНО - вирусные менингиты, могут быть отнесены к группе риска по формированию постинфекционной транзиторной иммунологической недостаточности по Т-клеточному звену. Они требуют дальнейшего наблюдения у врачей-педиатров и иммунологов. При планировании вакцинопрофалактики им необходимо проводить контрольное иммунологическое исследование для определения иммунной резистентности.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ЭВИ энтеровирусная инфекция

ПЦР полимеразная цепная реакция

ЭВ энтеровирус

ЦНС центральная нервная система

IFN-γ интерферон гамма

IL интерлейкин

TNF-α фактор некроза опухоли

АГ антиген

ЦИК циркулирующий иммунный комплекс

ЦПД цитопатогенное действие

РНК рибонуклеиновая кислота

ДНК дезоксирибонуклеиновая кислота

н/т ЦПА нетипирующийся цитопатогенный агент

РН реакция нейтрализации

РЗМ ригидность затылочных мышц

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адамов, А. К. Иммунотрофическая система организма и иммунитет / А. К. Адамов. - Саратов: Саратовский источник, 2011. - 259 с.

2. Алексеева, Л. А. Диагностическое значение белкового спектра цереброспинальной жидкости при бактериальных и вирусных меингитах у детей / Л. А. Алексеева, М. Н. Сорокина // Клиническая лабораторная диагностика. - 2001. - № 7. - С. 15-19.

3. Альмишева, А. Ш. Эпидемиологические и экологические аспекты серозных менингитов энтеровирусной природы : автореф. дис. … канд. мед. наук : 14.00.30 / Альмишева Анфиса Шамилевна. - Москва, 2009. - 37 с.

4. Анализ филогенетических связей энтеровирусов, выделенных от больных серозным менингитом в г. Екатеринбурге и Свердловской области в 2008 г. / А. В. Устюжанин, А. В. Резайкин, Т. Э. Снитковская [и др.] // Уральский медицинский журнал. - 2011. - № 13 (91). - С. 19-23.

5. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии: учебное пособие для студентов медицинских вузов / под ред. А. А. Воробьева, А. С. Быкова. - Москва : Медицинское информационное агентство, 2003. - 236 с.

6. Базарный, В. В. Анализ ликвора [Электронный ресурс] / В. В. Базарный. - Прививка.Ру. - Режим доступа : http: //www.Privivka.ru .-15.07.2010.

7. Бацкалевич, Н. А. Клинические, иммунологические особенности и прогностическая оценка показателей врожденного и адаптивного иммунитета у подростков с энтеровирусной инфекцией : автореф. дис. … канд. мед. наук : 14.00.09 / Бацкалевич Наталья Александровна. -

Екатеринбург, 2009. - 39 с.

8. Бацкалевич, Н. А. Оценка иммунитета в обосновании иммунотропной терапии энтеровирусных менингитов / Н. А. Бацкалевич, В. К. Веревщиков, Ю. Г. Лагерева // Инфекционные болезни. -2009. -Т.7, № 3. - С. 20-24.

9. Белов, А. Б. Биологическое разнообразие возбудителей инфекционных болезней и эпидемический процесс / А. Б. Белов, П. И. Огарков // Эпидемиология и инфекционные болезни. -2010. -№ 1. - С. 53-57.

10. Беляев, А. Л. Профилактика вирусных инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи / А. Л. Беляев, Е. Л. Феодоритова // Здравоохранение. -2012. -№ 6. - С. 76-83.

11. Бессергенева, И. К. Полиомиелит и энтеровирусные инфекции: тактика эпидемиологического надзора в постсертификационный период / И. К. Бессергенева, А. В. Слободенюк, В. И. Чирков [и др.] // Тез. докл. X съезда ВНПОЭМП. - Москва. 2012.

12. Богадельников, И. Лабораторные методы диагностики при нарушении функции ЦНС при инфекционных болезнях у детей [Электронный ресурс] / И. Богадельников, Г. Кушнир .- Здоровье ребенка. - 2008. - № 3 (12). – Режим доступа : http: // www.pediatric.mif-ua.com/archive/issue-5808/article-5880/.

13. Богомолов, Б. П. Диагностика вторичных и первичных менингитов / Б. П. Богомолов // Эпидемиология и инфекционные болезни. -2007. - № 6. - С. 44-49.

14. Богомолов, Б. П. Инфекционные болезни: Пособие / Б. П. Богомолов. - Москва: Изд-во Московского университета, 2006. – 608 с.

15. Болошинов, А. Б. О состоянии эпиднадзора за полио/овп в республике

Бурятия // А. Б. Болошинов, С. С. Ханхареев, Г. С. Амагзаева // Тез. докл. X съезда ВНПОЭМП. - Москва. 2012.

16. Борисов, А. Г. Клиническая характеристика нарушения функции иммунной системы / А. Г. Борисов // Медицинская иммунология. - 2013. - Т.15,№ 1. - С. 45-50.

17. Босс, А. Получение и характеристика моноклональных антител к структурным белкам вируса Коксаки В5 / А. Босс, А. Пиирсо // Вопросы вирусологии. - 1994. -№ 2. - С. 80-82.

18. Бочаров, Е. Ф. Энтеровирусные инфекции: новые аспекты / Е. Ф. Бочаров, Б. А. Ерман, В. В. Фомин [и др.]. – Новосибирск : наука. Сиб.отд-ние, 1990. - 120 с.

19. Вирусологическая и клинико-эпидемиологическая характеристика серозных менингитов в Москве (2008-2012 г.г.) / О. Е. Иванова, Т. П. Еремеева, А. Н. Лукашев [и др.] // Эпидемиология и вакционопрофилактика. - 2014. - № 3 (76). - С. 10-17.

20. Вирусология: в 3-х томах. Т.1 / под ред.Б. Фиядса; пер.с англ. - М.: Мир, 1989. - 492 с.

21. Вирусология: в 3-х томах. Т.2 / под ред.Б. Фиядса; пер.с англ. - М.: Мир, 1989. - 496 с.

22. Ворошилова, М. К. Энтеровирусные инфекции человека / М. К. Ворошилова. - М.: Медицина, 1979. – 359 с.

23. Вспышка энтеровирусной инфекции в Витебске в условиях загрязнения питьевой воды энтеровирусами / Т. В. Амвросьева, З. Ф. Богуш, О. Н. Казинец [и др.] // Вопросы вирусологии. - 2004. - № 1. - С. 30-34.

24. Гаврилова, Т. А. Анализ заболеваемости энтеровирусной инфекцией и

пейзаж циркулирующих энтеровирусов на территории Иркутской области / Т. А. Гаврилова, А. В. Севостьянов, Л. П. Нурсаянова [и др.] // Тез. докл. X съезда ВНПОЭМП. - Москва. 2012.

25. Географическое распространение энтеровирусного увеита / В. А. Лашкевич, Г. А. Королева, Л. А. Катаргина [и др.] // Вопросы вирусологии. - 1990. - № 4. - С. 51- 58.

26. Громыко, Ю. Н. Менингиты и менингоэнцефалиты / Ю. Н. Громыко, Ю. В. Лобзин, В. А. Пилипенко. - СПб.: Фолиант, 2000. - 128 с.

27. Групповые заболевания энтеровирусной инфекцией, обусловленной вирусами Коксаки А16, на Северо-Западе России / М. А. Бичурина, Н. И. Романенкова, Н. А. Новикова [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. - 2014. - № 2. - С. 51-58.

28. Демина, А. В. Энтеровирусы. Часть 1: История открытия, таксономия, строение генома, эпидемиология / А. В. Демина, Н. А. Маркович, С. В. Нетесов // Бюллетень СО РАМН. - 2008. - № 1(129). - С. 92-100.

29. Демина, А. В. Энтеровирусы. Часть 2: Энтеровирусные инфекции: многообразие клинических проявлений. / А. В. Гусева, С. В. Нетесов // Бюллетень СО РАМН. - 2009. - № 6 (140). - С. 116-125.

30. Демьянов, А. В. Диагностическая ценность исследования уровней цитокинов в клинической практике / А. В. Демьянов, А. Ю. Котов, А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. - 2003. - Т.2,№ 3. - С. 20-33.

31. Денисюк, Н. Б. Вирусные инфекции у детей: некоторые клинико-эпидемиологические особенности // Н. Б. Денисов // Журнал инфектологии. 2011. - Т.3,№ 3. - С. 43-44.

32. Дифференциальная этиологическая диагностика вирусной кишечной инфекции у новорожденных детей с диарейым синдромом / Л. С.

Лозовская, Ш. А. Сахетдурдыев, Н. И. Захарова [и др.] // Вопросы вирусологии. - 1991. - № 2. - С. 162-164.

33. Дмитриева, Г. М. Вспышка энтеровирусного менингита у детей Богучанского района Красноярского края / Г. М. Дмитриева, Н. Д. Орешкина, С. С. Лалетина [и др.] // Тез. докл. X съезда ВНПОЭМП. - Москва. 2012.

34. Дранник, Г. Н. Строение и функции иммунной системы [Электронный ресурс] / Г. Н. Дранник. - Режим доступа: http: // www.health-ua.org/archives/immuno/9.html

35. Ершов, Ф. И. Ранние цитокиновые реакции при вирусных инфекциях / Ф. И. Ершов, А. Н. Наровлянский, М. В. Мезенцев // Цитокины и воспаление. – 2004. - Т.3,№ 1. - С. 3-6.

36. Естественный иммунитет: иммуномодулирующие свойства пробиотиков / В. М. Абрамов, В. С. Хлебников, В. Г. Мельников [и др.] // Журнал инфектологии. - 2011. - Т.3,№ 3. - С. 23.

37. Ешмолов, С. Н. Клинико-лабораторные особенности и оптимизация терапии энтеровирусных менингитов на современном этапе: автореф.дис. …канд. мед. наук : 14.01.09 / Ешмолов Сергей Николавич. - Москва, 2013. - 24 с.

38. Ешмолов, С. Н. Клинико-лабораторные особенности энтеровирусных менингитов у детей в современных условиях (по данным Ярославской области) / С. Н. Ешмолов, И. Г. Ситников, И. М. Мельникова // Эпидемиология и инфекционные болезни. - 2012. -№ 3. - С. 38-42.

39. Ешмолов, С. Н. Этиотропная терапия серозных энтеровирусных менингитов у детей / С. Н. Ешмолов, И. Г. Ситников, И. М. Мельникова // Современные технологии в медицине. - 2011. - № 4. - С. 169-172.

40. Железникова, Г. Ф. Иммунопатогенез инфекционно-воспалительных заболеваний центральной нервной системы / Г. Ф. Железникова, Н. В. Скрипченко // Журнал инфектологии. - 2011. - Т.3,№ 2. - С. 28-32.

41. Железникова, Г. Ф. Регуляторные Т-лимфоциты в иммунном ответе на инфекцию / Г. Ф. Железникова // Журнал инфектологии. - 2011. - Т.3,№ 1. - С. 6-13.

42. Железникова, Г. Ф. Уровни иммунной реактивности при острых инфекциях у детей / Г. Ф. Железникова, В. В. Иванова, Н. В. Скрипченко // Журнал инфектологии. - 2011. - Т.3,№ 3. - С. 46-47.

43. Железникова, Г. Ф. Факторы иммунной защиты в цереброспинальной жидкости при вирусных инфекциях центральной нервной системы / Г. Ф. Железникова, Н. В. Скрипченко // Неврология и психиатрия. - 2012. - № 4. - С. 83-85.

44. Железникова, Г. Ф. Цитокины как предикторы течения и исхода инфекции / Г. Ф. Железникова // Цитокины и воспаление. - 2009. - Т.8,№ 1. - С. 10-17.

45. Златковская, Н. М. Энтеровирусные заболевания у детей / Н. М. Златковская. – Ленинград : Медицина, 1976. - 192 с.

46. Изменение в динамике заболеваемости и вирусовыделения при эпидемическом процессе энтеровирусного менингита по материалам г.Екатеринбурга за 1965-2000 гг / Н. П. Глинских, В. К. Слободенюк, Н. М. Башкова [и др.] // Гигиенические проблемы охраны здоровья городского населения на современном этапе : сб.науч.тр. - С.91-98.

47. Иммунологические и гематологические показатели периферической крови у здоровых детей / В. В. Фомин, Я. Б. Бейкин, С. Н. Зыкова [и др.] // Актуальные проблемы детских инфекционных болезней : сб.науч.тр. /

Уральская государственная медицинская академия; под ред. В. В. Фомина. - Екатеринбург : Изд-во УГМА, 2001. – 149 с.

48. Иммунный ответ при вирусных инфекциях / Т. В. Сологуб, М. Ю. Ледванов, В. П. Малый [и др.] // Успехи современного естествознания. - 2012. - № 12. - С. 29-33.

49. Иммунный ответ при вирусных инфекциях : руководство для врачей / А. Л. Коваленко, С. Ю. Голубев, Ф. И. Ершов [и др.]. - С.Пб.: Калининградский государственный университет, 1998. - 67 с.

50. Иммунология: в 3-х томах. Т.1 / Под ред.У. Пола ; пер.с англ. - М. :Мир, 1987. - 476 с.

51. Иммунология: в 3-х томах. Т.2 / Под ред.У. Пола ; пер.с англ. - М. :Мир, 1988. - 456 с.

52. Иммунология: в 3-х томах. Т.3 / Под ред.У. Пола; пер.с англ. - М. :Мир, 1989. - 360 с.

53. Инфекционная заболеваемость в Российской Федерации за 5 месяцев 2010 года [Электронный ресурс] / Эпидемиология и вакцинопрофилактика. - 2010. - №4 (53). - Режим доступа: http://www.epidemvac.ru/arhiv/2010/06/infektsionnaya-zabolevaemost-v-rossoyskoy-federatsii-za pyat-mesyatsev-2010-goda.

54. Инфекционная заболеваемость в Российской Федерации за январь-октябрь 2012 года [Электронный ресурс] / Эпидемиология и вакцинопрофилактика. - 2012. - №6 (67). - Режим доступа: http://www.epidemvac.ru/arhiv/2012/12/infektsionnaya-zabolevaemost-v-rossoyskoy-federatsii-za yanvar-oktyabr-2012-goda

55. Инфекционные болезни и эпидемиология / В. И. Покровский, Г. Пак, Н. И. Брико [и др.]. - М. : ГЭОТАР-МЕД, 2003. - 209-293 с.

56. Кадыкова, Л. Е. Опыт работы по надзору за полио/овп и энтеровиурсной инфекцией в Ростовской области / Л. Е. Кадыкова, С. А. Ненадская, Г. А. Мирошниченко [и др.] // Тез. докл. X съезда ВНПОЭМП. - Москва. 2012.

57. Кишкурно, Е. П. Энтеровирусная инфекция у детей: клиника, диагностика, подходы к терапии / Е. П. Кишкурно, Т. В. Амвросьева // Медицина неотложных состояний. - 2007. - № 2(9). - С. 10-15.

58. Клеточные аналоги вирусных белков / В. М. Блинов, В. Гайслер, Г. С. Краснов [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. - 2014. - № 2. - С. 101-113.

59. Клименко, Т. М. Тест восстановления нейтрофилами нитросинего тетразолия в диагностике энтероколита у недоношенных новорожденных [Электронный ресурс] / Т. М. Клименко, О. В. Воробьева, И. Г. Герасимов. Здоровье ребенка. - 2008. - № 3(12). – Режим доступа : http : www.mif-ua.com/archive/article_print/5875.

60. Клинико-иммунологические особенности серозных менингитов, вызванных Коксаки В и ЕСНО-вирусами / Р. В. Лавринова, Т. П. Павленко, И. В. Михайлова [и др.] // Актуальные проблемы детских инфекционных болезней : сб.науч.тр. / Уральская медицинская академия ; под ред. В. В. Фомина. - Екатеринбург : Изд-во УГМА, 2001. - С. 12.

61. Клинико-ликворологические различия при серозных и гнойных менингитах у детей разного возраст / Е. М. Мазаев, Л. А. Алексеева, Н. В. Скрипченко [и др.] // Детские инфекции. - 2014. - № 1. - С. 61-64.

62. Клинико-эпидемиолгические особенности энтеровирусной инфекции в период вспышек и спорадической заболеваемости /Н. А. Мироманова, Ю. Н. Брум, Ю. Н. Патенюк // Актуальные вопросы инфекционной патологии м вакцинопрофилактики у детей : Материалы IX Общероссийского конгресса детских инфекционистов, 6-8 декабря 2010.

- М. : Ассоциация педиатров-инфекционистов, 2010. - С. 62.

63. Клинико-эпидемиологическая характеристика энтеровирусного менингита по данным вспышки 2004 года / В. Г. Кузнецов, А. А. Мечетина, А.А.Денисова [и др.] // Сборник материалов XV Научно-практической конференции врачей. Новосибирск, 2005. - 415-416 с.

64. Клинико-эпидемиологическая характеристика энтеровирусных менингитов у детей в период подъема заболеваемости в 2008-2009 г.г. / Г. П. Мартынов, Л. А. Гульман, Е. В. Вайцель [и др.] // Детские инфекции. - 2010. - № 2. - С. 12-15.

65. Клиническая характеристика серозных менингитов / П. С. Дьячковская, С. С. Слепцова, В. В. Иванова // Инфекционные болезни. - 2011. Т.9, приложение 1. - С. 114.

66. Клиническая, иммунологическая характеристика энтеровирусного менингита у подростков / В. В. Фомин, Н. А. Бацкалевич, Ю. Б. Хаманова, Ю. Г. Лагерева // Современные проблемы науки и образования. - 2009. - № 6.

67. Клиническое значение показателей некоторых белков острой фазы при энтеровирусных менингитах у детей / О. Г. Кимирилова, А. А. Кимирилов, Г. А. Харченко [и др.] // Инфекционные болезни. – 2011. - Т.9,приложение 1. - С. 164.

68. Ковальчук, Л. В. Иммунотерапия в педиатрической практике [Электронный ресурс] / Л. В. Ковальчук, С. М. Юдин, С. М. Снимщикова [и др.]. - Режим доступа: http//www.medvuz.com.

69. Ковтун, О.П. Клинико-реоэнцефалографические критерии в оценке лечения и прогноза энтеровирусных менингитов у детей: автореф.дис. …канд. мед. наук : 14.00.09 / Ковтун Ольга Петровна. - Свердловск, 1984.

- 35 с.

70. Колпаков, С. Л. Клинико-эпидемиологические аспекты изучения энтеровирусной неполиомиелитной инфекции в Приморском крае / С. Л. Колпаков, Н. В. Миргородская, Т. О. Приходченко // Тез. докл. X съезда ВНПОЭМП. - Москва. 2012.

71. Колпаков, С. Л. Клинические и эпидемиологические аспекты заболеваемости энтеровирусной неполиомиелитной инфекцией в Приморском крае / С. Л. Колпаков, А. Ф. Попов, Н. В. Миргородская // Эпидемиология и инфекционные болезни. - 2013. - № 6. - С. 16-21.

72. Комарова, Т. В. Серозный менингит энтеровирусной этиологии у детей: клинико-патогенетические особенности в период эпидемического подъема : автореф.дис. …канд. мед. наук : 14.01.08 / Комарова Татьяна Владимировна. - Самара, 2012. - 25 с.

73. Коротяев, А. И. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология / А. И. Коротяев, С. А. Бабичев. - СПб.: СпецЛит., 2008. - 767 с.

74. Красовская, Т. Ю. Опыт лабораторной диагностики сезонных серозных менингитов энтеровирусной и арбовирусной этиологии / Т. Ю. Красовская, Е. В. Михайлова, А. В. Корженевич [и др.] // Санитарная охрана территорий государств-участников содружества независимых государств: проблемы биологической безопасности и противодействия биотерроризму в современных условиях : Материалы VI межгосудраственной научно-практической конференции государств участников СНГ. - Волгоград, 2005. - С. 250.

75. Куприна, Н. П. Клинико-эпидемиологические и иммунологические особенности острых нейроинфекций у детей в современных условиях / Н. П. Куприна, С. С. Афанасьев, О. А. Панина [и др.] // Журнал

теоретической и практической медицины. - 2004. - Т.2,№ 1. - С. 23-26.

76. Кусельман, А. И. Оценка состояния тяжести больных детей / А. И. Кусельман, Г. А. Самсыгина // Педиатрия. - 2012. - Т.91,-№ 4. - С. 115-121.

77. Лабораторные критерии системного воспаления при некоторых неотложных состояниях у детей с бактериальными и вирусными нейроинфекциями // Л. А. Алексеева, Н. В. Скрипченко, Т. В. Бессонова [и др.] // Журнал инфектологии. - 2011. - Т.3,№ 3. - С. 24.

78. Лашкевич, В. А. 100 лет изучения вируса полиомиелита и неполиомиелитных энтеровирусов / В. А. Лашкевич // Вопросы вирусологии. - 2008. - № 4. - С. 41-44.

79. Лашкевич, В. А. Вспышка энтеровирусного увеита у детей в Омске в 1987-1988 г.г. / В. А. Лашкевич, С. В. Уманская, Г. А. Королева // Вопросы вирусологии. - 1990. - № 1. - С. 33-38.

80. Лашкевич, В. А. История создания в 1959 г. живой вакцины из аттенуированных штаммов А.Сэбина и идея искоренения полиомиелита / В. А. Лашкевич // Вопросы вирусологии. - 2013. - № 1. - С. 4-10.

81. Лесников, Н. Т. Организация мониторинга за циркуляцией полио/энтеровирусов в Забайкальском крае // Н. Т. Лесников, Л. Г. Днепровская, Е. В. Ермакова // Тез. докл. X съезда ВНПОЭМП. - Москва. 2012.

82. Ликвидация полиомиелита и роль вакцинных вирусов в этом процессе / В. Б. Сейбиль, Л. П. Малышкина, И. К. Лаврова [и др.] / Вопросы вирусологии. - 2002. - № 1. - С. 43-46.

83. Литяева, Л. А. Клинико-эпидемиологические особенности групповой заболеваемости энтеровирусной инфекцией Коксаки А16 у детей / Л. А.

Литяева, О. В. Ковалева, И. С. Якубович // Детские инфекции. - 2013. - № 1. - С. 50-53.

84. Литяева, Л. А. Эпидемиологические аспеткы энтеровирусной инфекции в Оренбургской области /Л. А. Литяева, О. В. Ковалева, И. С. Якубович // Инфекционные болезни. - 2012. - Т.10,№ 4. - С. 66-69.

85. Лобзин, Ю. В. Инфекционные болезни: проблемы адаптации / Ю. В. Лобзин, Ю. П. Финогенов. - СПб. : ЭЛБИ. - 2006. – 392 с.

86. Лобзин, Ю. В. Итоги научно-исследовательских работ ФГУ «НИИ детских инфекций ФМБА России» за 2010 год / Ю. В. Лобзин, Н. В. Скрипченко, В. М. Воложанин // Журнал инфектологии. - 2011. - Т.3,№ 3. - С. 5-14.

87. Лобзин, Ю. В. Менингиты и энцефалиты / Ю. В. Лобзин, В. В. Пилипенко, Ю. Н. Громыко. - С.Пб. : Фолиант, 2006. - 128 с.

88. Лозовская, Л. С. Этиологическая связь ювенильного ревматоидного артрита с хронической формой Коксаки-вирусной инфекции / Л. С. Лозовская, В. Д. Соболева, А. А. Яковлева // Вопросы вирусологии. - 1996. - № 3. - С. 122-126.

89. Лукашов, А. Н. Роль рекомбинации и эволюции энтеровирусов /А. Н. Лукашов // Микробиология. - 2005. - № 4. - С. 83-89.

90. Мазуров, Д. В. Оценка внутриклеточного киллинга стафилококка фагоцитами периферической крови с помощью проточной цитометрии / Д. В. Мазуров, С. В. Дамбаев, Б. В. Пинегин // Иммунология. - 2000. - № 2. - С. 57-59.

91. Малашхия, Ю. А. Иммунный барьер мозга (иммунология и иммунопатология спинномозговой жидкости) / Ю. А. Малашхия. - М. : Медицина. 1986. - 160 с.

92. Малиновская, В. В. Иммунопатогенез острых респираторных инфекций, тактика рационального выбора этиотропной и иммуномодулирующей терапии у детей / В. В. Малиновская, В. П. Тимина, Л. Н. Мазанкова [и др.] // Детские инфекции. - 2013. - № 4. - С. 14-19.

93. Марданлы, С. Г. Спинномозговая жидкость, лабораторные методы исследования и их клинико-диагностическое значение: учебное пособие / С. Г. Марданлы, Ю. В. Первушин, В. Н. Иванова. - Электрогорск, 2011. - 72 с.

94. Медицинская вирусология: руководство / Под ред. Д. К. Львова. - М. : ООО «Медицинское информационное агентство», 2008. - 656 с.

95. Методические указания МУ 3.1.1.2363-08. Эпидемиологический надзор и профилактика энтеровирусной (неполио) инфекции. Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование РФ. М. , 2008. - 61 с.

96. Михайлова, Е. В. Менингиты энтеровирусной этиологии у детей: современные подходы к диагностике и особенности клинического течения / Е. В. Михайлова // Инфекционные болезни. - 2008. - Т.6,№ 1. - С. 31-34.

97. Мишакина, Н. О. Клинико-патогенетические особенности острого и отдаленного периодов при серозном менингите энтеровирусной этиологии у детей: автореф.дис. …канд. мед. наук : 14.01.08 / Мишакина Наталья Олеговна. - Тюмень, 2012, - 23 с.

98. Молекулярная биология вируса ЕСНО-6- возбудителя вспышек серозного менингита в Хабаровске в 2006 г. / А. Н. Лукашев, В. И. Резник, О. Е. Иванова [и др.] // Вопросы вирусологии. - 2008. - № 1. - С. 16-20.

99. Молекулярная эпидемиология и сероэпидемиология энтеровируса 71

типа в Российской Федерации / Л. В. Ахмадишина, О. Е. Иванова, Г. А. Королева [и др.] // Инфекция и иммунитет. - 2013. Т.3,№ 2. С. 111-112.

100. Мониторинг энтеровирусов в Северо-Западном регионе России / Е. А. Мурина, О. А. Аксенов, Н. В. Скрипченко [и др.] // Детские инфекции. - 2006. - № 1. - С. 11-16.

101. Мурина, Е. А. Нейроинфекционные заболевания у детей и их этиологическая связь с энтеровирусами / Е. А. Мурина, Н. В. Скрипченко, Н. Ф. Пульман // Журнал инфектологии. - 2011. - Т.3,№ 3. - С. 77-78.

102. Мурина, Е. А. Циркуляция энтеровирусов в Санкт-Петербурге за сорокалетний период наблюдения / Е. А. Мурина, З. А. Осипова, А. Л. Мукомолова // Журнал инфектологии. - 2011. - Т.3,№ 3. - С. 79.

103. Нейроинфекции у детей / Н. В. Скрипченко, Ю. В. Лобзин, Г. П. Иванова [и др.] // Детские инфекции. - 2014. - № 1. - С. 8-17.

104. Неполиомиелитные энтеровирусы как этиологический фактор менингеальной формы энтеровирусной инфекции // Л. Г. Беседина, Е. А. Андреева, Я. Б. Бейкин [и др.] // Иммунология Урала. - 2003. - № 1(3). - С. 22.

105. Новикова, Н. А. Молекулярный мониторинг неполиомиелитных энтеровирусов на территории России в 2008-2011 г.г. / Н. А. Новикова, Л. Н. Голицына, С. Г. Фомина [и др.] // Тез. докл. X съезда ВНПОЭМП. - Москва. 2012.

106. Носик, Н. Н. Цитокины при вирусных инфекциях / Н. Н. Носик // Вопросы вирусологии. - 2000. - № 1. - С. 4-9.

107. Онищенко Г. Г. О рекомендациях по эпидемиологии, клинике, диагностике и профилактике заболеваний, вызванных энтеровирусом 71-

го типа [Электронный ресурс] / Г. Г. Онищенко. - Режим доступа: http://www.epidemvac.ru/arhiv/2008/06/pismo-glavnogo-gosudarstvennogo-sanitarnogo-vracha-rossii--gg-onishenko

108. Оптимизация терапии энтеровирусного менингита на фоне герпетических инфекций у детей / Э. Н. Симованьян, Л. Ф. Бовтало, В. Б. Денисенко [и др.] // Детские инфекции. - 2009. - № 3. - С. 62-67.

109. Опыт использования химических соединений для первичной идентификации и дифференциации энтеровирусов / Т. В. Амвросьева, В. И. Вотяков, О. Т. Андреева [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. - 2003. - № 2. - С. 49-51.

110. Опыт работы по расшифровке этиологии энтеровирусных инфекций в г.Екатеринбурге / Л. Г. Беседина, Л. В. Власова, Я. Б. Бейкин [и др.] // Адаптационно-компенсаторные иммунологические реакции в норме и патологии у детей : сб. науч. тр. / Уральская государственная медицинская академия.: под ред. В. В. Фомина. – Екатеринбург : Издат-во УГМА, 2003. - 120 с.

111. Особенности вспышек серозных менингитов в Санкт-Петербурге / Е. А. Мурина, М. В. Иванова, З. А. Осипова [и др.] // Журнал инфектологии. - 2011. - Т.3,№ 3. - С. 78.

112. Особенности иммунного статуса при Коксаки- и ЕСНО-менингитах у детей 3-6 лет / Ю. Г. Лагерева, Я. Б. Бейкинв, Н. Н. Сбитнева [и др.] // Инфекционные болезни. - 2010. - Т.8,№ 1. - С. 29-33.

113. Особенности иммуносупрессии при вирусных инфекциях / Е. Г. Чурсина, О. И. Урасова, В. В. Новицкий [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. - 2009. - № 4. - С. 112-117.

114. Особенности клинической картины энтеровирусных менингитов, обусловленных вирусами ЕСНО 30 у детей / В. В. Фомин, Я. Б. Бейкин,

Г. В. Кожарская [и др.] // Уральское медицинское обозрение. - 1997. - № 3. - С. 46-49.

115. Особенности циркуляции энтеровирусов в г.Екатеринбурге (1992-2005 г.г..) / Л. Г. Беседина, Н. С. Субботина, Н. Н. Сбитнева, Я. Б. Бейкин // Уральский медицинский журнал. - 2006. - № 2. - С. 19-22.

116. Особенности энтеровирусных инфекций на территории Свердловской области в эпидсезон 2005-2006 г.г. /Б. И. Никонов, В. В. Романенко, А. И. Юровских [и др.] / Уральский медицинский журнал. - 2006. -№ 2.- С. 29-32.

117. Острые вялые параличи у детей / Г. П. Мартынова, И. А. Кутищева, Я. А. Богвилине [и др.] // Инфекционные болезни. - 2014. - Т.12,№ 1. - С. 34-38.

118. Острый энтеровирусный увеит у детей раннего возраста / В. А. Лашкевич, Г. А. Королева, А. Н. Лукашев [и др.] // Вопросы вирусологии. - 2005. - № 3. - С. 36-45.

119. Оценка разработанного «nested»- варианта полимеразной цепной реакции при выявлении энтеровирусов у больных / Л. Н. Голицына, Н. А. Новикова, Л. К. Домбровская [и др.] // Вопросы вирусологии. - 2002. - № 5. - С. 41-43.

120. Панина, О. А. Клинико-иммунологическое значение интерферонтерапии в лечении серозных менингитов у детей : автореф.дис. …канд. мед. наук : 14.01.10 / Панина Ольга Алексеевна. - Воронеж, 2005. - 25с.

121. Патогенез и современная терапия серозных менингитов / В. А. Исаков, В. Д. Евграфов, В. В. Туркин [и др.] // Цитокины и воспаление. - 2002. - Т.2,№ 2. - С. 115.

122. Попова, Т.А. Результаты мониторинга за циркуляцией энтеровирусов

среди населения и в окружающей среде Тульской области за 10 лет (1985-1994) / Т. А. Попова, И. Н. Овечкин, Н. Н. Зуева // Микробиология. - 1997. - № 1. - С. 35-39.

123. Применение иммунологических методов исследования в диагностике энтеровирусых инфекций / Л. Г. Беседина, Л. В. Власова, Г. П. Степанова [и др.] / Иммунология Урала. - 2002. - № 1(2). - С. 29.

124. Протосеня, И. И. Энтеровирусная инфекция у детей (на примере Хабаровского края) : автореф. дис. … докт. мед. наук : 14.01.09 / Протасеня Ирина Ивановна. - Москва, 2010. -35 с.

125. Разработка и применение современных лабораторных методов в эпидемиологическом мониторинге, диагностике и лечении энтеровирусной инфекции /А. С. Прилуцкий, С. В. Бабенко, А. Г. Колесникова, С. О. Чернуцкий // Таврический медико-биологический вестник. - 2009. - Т.12,№ 3(47). - С. 63-68.

126. Репина, Е. А. Механизмы адаптивного иммунитета (на модели сахарного диабета 1 типа) / Е. А. Репина // Вопросы патогенеза. - 2010. - № 2. - С. 21-27.

127. Руководство по вирусологическим исследованиям полиомиелита.4-е издание. ВОЗ. Женева, 2005.

128. Самсыгина, Г. А. Анаферон детский: результаты 5-летнего опыта применения для профилактики и терапии вирусных инфекций у детей [Электронный ресурс] / Г. А. Самсыгина. Педиатрия и неонатология. - 2009. - № 9. – Режим доступа : http: www.Medlinks.ru.

129. Сапега, Е. Ю. Эпидемический процесс энтеровирусной инфекции в Дальневосточном федеральном округе / Е. Ю. Сапега, О. Е. Троценко, В. И. Резник [и др.] // Тез.докл.Х съезда ВНПОЭМП. - Москва. 2012.

130. Симбирцев, А. С. Цитокины - новая система регуляции защитных реакций организма / А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. - 2002. - № 1. - С. 5-10.

131. Слободенюк, В. К. Значение Коксаки В инфицирования в развитии эпидемического процесса, ассоциированного с энтеровирсами / В. К. Слободенюк, Н. В. Пацук, А. В. Слободенюк [и др.] // Тез. докл. X съезда ВНПОЭМП. - Москва. 2012.

132. Слободенюк, В. К. Смешанная Коксаки В-герпесвирусная инфекция у детей в возрастном аспекте / В. К. Слободенюк, И. К. Берсенев, Н. В. Пацук [и др.] // Детские инфекции. - 2012. - № 4. - С. 13-16.

133. Современные аспекты этиологии и клиники энтеровирусных серозных менингитов у детей / Г. П. Мартынов, М. Б. Драганова, Л. М. Куртасова [и др.] // Инфекционные болезни. - 2011. - Т.9, приложение 1. - С. 234.

134. Соколов, С. А. Патогенетическое обоснование иммунокорригирующей терапии у детей с хроническими соматическими заболеваниями / С. А. Соколов, О. В. Шамшиева // Детские инфекции. - 2013. - № 4. - С. 39-42.

135. Спыну, К. И. Сопоставление заболеваемости серозным менингитом и концентрация вируса Коксаки в сточных водах / К. И. Спыну, В. П. Путкарев // Вопросы вирусологии. - 1986. - № 1. - С. 104-107.

136. Стефен, Х. Наглядные инфекционные болезни и микробиология / Х. Стефен, Гиллеспи, Б. Кетлин [и др.]; пер.с.англ. под ред.С. Г. Пака, А. А. Еровченко. – Москва : Изд. группа «ГЭОТАР-Медиа», 2009. – 136 с.

137. Субпопуляционный состав лимфоцитов у практически здоровых детей г.Екатеринбурга / Ю. Г. Лагерева, С. В. Меньшков, А. Ю. Еременко [и др.] // Российский иммунологический журнал. - 2012. - Т.6(14),№ 3(1). - С. 98-99.

138. Тевеленок, О. Г. Проблема энтеровирусной инфекции в Красноярском крае / О. Г. Тевеленок, Е. П. Замятина, Н. Н. Кузнецова // Тез. докл. X съезда ВНПОЭМП. - Москва. 2012.

139. Тимченко, В. Н. Диагностика, дифференциальная диагностика и лечение детских инфекций / В. Н. Тимченко, В. В. Леванович, И. Б. Михайлов. - Санкт-Петербург, ЛБИ-СПб, 2010. – 432 с.

140. Троценко, О. Е. Молекулярно- эпидемиологические особенности энтеровирусной инфекции сезона 2010-2011 г.г. / О. Е. Троценко, А. Н. Лукашев, Е. Ю. Сапега [и др.] // Тез. докл. X съезда ВНПОЭМП. - Москва. 2012.

141. Трошина, В. В. Иммунологические аспекты респираторных заболеваний у детей [Электронный ресурс] / В. В. Трошина, В. Ф. Демина, О. В. Блинова [и др.]. - Режим доступа: http//www.medvuz.com.

142. Трухин, Д. И. Состояние гуморального иммунитета к вирусам Коксаки В при заболеваниях поджелудочной железы / Д. И. Трухин // Вопросы вирусологии. - 2001. - № 2. - С. 33-36.

143. Устюжанин, А. В. Молекулярно-генетический анализ энтеровирусов, выделенных от больных в 2008-2011 г.г. на территории Уралського Федерального округа // А. В. Устюжанин, А. В. Резайкин, А. Г. Сергеев [и др.] // Тез. докл. X съезда ВНПОЭМП. - Москва. 2012.

144. Учайкин, В. Ф. Современная концепция патогенеза инфекционного заболеванния / В. Ф. Учайкин // Детские инфекции. - 2013. - № 4. - С. 4-8.

145. Учайкин, В. Ф. Эволюция патогенеза инфекционных болезней / В. Ф. Учайкин // Детские инфекции. - 2012. - № 4. - С. 4-8.

146. Участие Т-регулятроных клеток в иммунном ответе при атопическом

дерматите / Д. С. Гонсорунова, Л. М. Огородова, О. С. Федорова [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2011. - № 4. - С. 82-88.

147. Фадеев, Ф. А. Рецепторная специфичность энтеровирусов человека / Ф. А. Фадеев, А. Г. Сергеев, А. В. Новоселов // Вопросы вирусологии. - 2008. - № 1. - С. 4-8.

148. Фомина, С. Г. Энтеровирусы у детей с острой кишечной инфекцией: молекулярно-эпидемиологические аспекты // С. Г. Фомина, Н. А. Новикова // Инфекционные болезни. - 2012. - Т.10,№ 4. - С. 12-17.

149. Хаманова, Ю. Б. Иммунотропная терапия энтеровирусных менингитов у детей / Ю. Б. Хаманова, А. У. Сабитов, В. В. Фомин // Детские инфекции. - 2013. - № 1. - С. 57-61.

150. Хаманова, Ю. Б. Клиника, иммунопатогенез и оптимизация лечения энтеровирусных менингитов у детей: автореф.дис. …докт. мед. наук : 14.01.08 / Хаманова Юлия Борисовна. - Екатеринбург, 2013. - 40 с.

151. Хаманова, Ю. Б. Лечение энтеровирусных менингитов у детей: текущее состояние и клинические перспективы / Ю. Б. Хаманова // Уральский медицинский журнал. - 2012. - № 07(99). - С. 7-11.

152. Хроническая врожденная Коксаки-вирусная инфекция и её участие в этиологии аллергических болезней, выявляемых у детей / Л. С. Лозовская, М. К. Ермакова, Г. И. Менемчидзе [и др.] // Вопросы вирусологии. - 1999. - № 6. - С. 268-272.

153. Чередниченко, Т. В. О чем пишут коллеги (по материалам XII Конгресса детских инфекционистов России «Актуальные вопросы инфекционной патологии и вакционопрофилкатики») / Т. В. Чередниченко // Детские инфекции. - 2013. - № 4. - С. 8-14.

154. Шанько, Г. Г. Характеристика церебральных нарушений при

энтеровирусной инфекции [Электронный ресурс] / Г. Г. Шанько, Л. И. Ясинская. // Международный неврологический журнал. - 2009. - Т.2,№ 24. – Режим доступа : http: www.mif-ua.com/archive/article/8891.

155. Штейнберг, А. В. Клинико-лабораторная диагностика и этиотропная терапия энтеровирусного менингита у детей: автореф.дис. …канд. мед. наук : 14.00.09 / Штейнберг Александра Вячеславовна. - Саратов, 2009. – 25 с.

156. Экспериментальная модель вертикальной передачи энтеровирусов группы Коксаки и её использование при разработке методов профилактики врожденной Коксаки-вирусной инфекции / Л. С. Лозовская, И. В. Зубкова, Э.А. Хелленов [и др.] // Вопросы вирусологии. - 1993. - № 5. - С. 218-222.

157. Энтеровирусные неполиомиелитные инфекции в Краснодарском крае / Л. И. Жукова, Г. К. Рафеенко, Ф. И. Ларин [и др.] // Журнал микробиологии. - 2014. - № 4. - С. 13-17.

158. Энтеровирусы. Часть 3. Лабораторная диагностика, лечение, иммунопрофилактика и профилактические мероприятия в очаге / А. Н. Демина, В. А. Терновой, Н. И. Шульгина [и др.] // Бюллетень СО РАМН. - 2011. - Т.31,№ 3. - С. 115-122.

159. Энтеровирус типа 71: ящуроподобное заболевание, энцефаломиелит, острый отек легких / В. А. Лашкевич, Г. А. Королева, А. Н. Лукашев [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. - 2011. - № 6. - С. 38-45.

160. Энтеровирусная инфекция. Синдром рука-нога-рот / Ю. Б. Хаманова, В. В. Фомин, О. А. Чеснакова [и др.] // Уральский медицинский журнал. - 2013. - № 06(111). - С. 65-67.

161. Энтеровирусный менингит у детей Хабаровска в конце XX столетия / Г.

Ф. Учайкин, И. И. Протасеня, В. И. Резник [и др.] // Эпидемиолгия и инфекционные болезни. - 2003. - № 2. - С. 42-47.

162. Эпидемиология, профилактика и лабораторная диагностика энтеровирусных инфекций / Информационный бюллетень. - С.Петербург. - 2007. – 30 с.

163. Ярилин, А. А. Цитокины в тимусе. Биологическая активность и функции цитокинов в тимусе [Электронный ресурс] / А. А. Ярилин. Цитокины и воспаление. - 2003. - № 2. – Режим доступа : http : www.cytokines.ru/2003/2/Art1/php.

164. Ярилин, А. А. Цитокины в тимусе. Выработка и рецепция цитокинов [Электронный ресурс] / А.А.Ярилин. Цитокины и воспаление. - 2003. - № 1. – Режим доступа : http : www.cytokines.ru/2003/1/Art1/php.

165. Abed, Y. Human parechovirus infections in Canada [Электронный ресурс] / Yacine Abed , Guy Boivin // Emerging Infectious Diseases / - Режим достпуа: http: // www.cdc.gov/eid. - vol.12. - No.6. - June. 2006.

166. Baron, S. Picarnoviruses / Baron S. [Электронный ресурс] // Medical microbiology. - 4th edition. / - Режим достпуа: http: // www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7687/?report=printable

167. Berg, Anna-Carin Enterovirus Markers and Serum CXCL 10 in children with type 1 diabetes / Anna - Carin Berg, Torsten Tuvemo, Gun Frisk // Journal of medical virology. - 2010. - P. 2-15.

168. Chabenoud, I. Supressor T cells - they are back and critical for regulation of auto immunity / I. Chabenoud, B. Salomon, J. Bluestone // Immunal. Rev. - 2001. - Vol.182. - P. 149-163.

169. Chang, L-Y. Transmission and clinical features of enterovirus 71 infections in Household Contacts in Taiwan / Luan-Yin Chang, Kou-Chien Tsao, Shao-

Hsuan and et. // American Medical Association. - 2004. - № 2. - P. 222-227.

170. Chia, Po-Ying. Viral encephalitis with focus on human enterovirus [Электронный ресурс] // Chia Po-Ying, Justun Jang Chu / - Режим достпуа: http: // www.dx.doi.org/10.5772/52574.

171. D'Alessio, D.J. A case-control stydy of group B Coxsackievirus immunoglobulin M antibody prevalence and HLA-DR antigens in newly diagnosed cases of insulin-dependent diabetes mellitus / D'Alessio D. J. // Am. J. Epidemiol. - 1992. - № 135. - P. 1331-1338.

172. Davies, N. W. S. Factors influencing PCR detection of virus in cerebrospinal fluid of patients with suspected CNS infections. / N. W. S. Davies, L. J. Brown, J. Gonde [et al.] // J. Neurosurg Psychiatry. - 2005. - № 76. - P. 82-87.

173. Di. Piro, J. T. Cytokine network with infection: Mycobacterial infections, leismaniosis, human immunodeficiency virus infection and sepsis // Pharmacotherapy. - 1997. - vol.17. - No. 2. - P. 205-223.

174. Diagnosis of enteroviral meningitis by use of polymerase chain reaction of cerebrospinal fluid, stool, and serum specimens / Laura Kupila, Tytti Vuorinen, Raiia Vainionpaa [et al.] // Clinical Infectious Diseases. - 2005. - № 40. - P. 982-987.

175. Diedrich, S. Aseptic meningitis in Germany associated with echovirus type 13 [Электронный ресурс] / Sabine Diedrich, Eckart Schreier // BMC Infection Diseases. - 2001. - № 1(4). - Режим доступа: http: www.biomedcentral.com/1471-2334/1/14.

176. Echovirus and Enteroviruses infection. [Электронный ресурс] / Режим доступа : http: www.virology-online.com/virus/Enterovirus6.htm.

177. Enterovirus 71 isolated from cases of epidemic poliomyelitis-like disease in Bulgaria / M. Chumacov, M. Vorosholova, L. Shindarov [et al.] // Arch.Virol.

- 1979. - № 60. - P. 329-340.

178. Enterovirus Surveillanc-United States, 1970-2005, CDC / Morbidity and Mortaility Weekly report // Sept.15. - 2006. - vol.55. - № SS-8.

179. Galama, J. M. D. Enterovirus antibody titers after IVIG replacement in agammaglobulinemic children / J. M. D. Galama, M. Gielen, C. M. R. Weemaes // Clinical Microbiology and Infection. - 2000. - № 6. - P. 629-632.

180. Gary, R. Klimpel. Immun Defenses [Электронный ресурс] / Gary R. Klimpel // Режим доступа :http: www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8423/?report=printable

181. Gordievsky-Hrisoho, Meri. Detection by PCR of Enteroviruses in cerebrospinal fluid a summer outbreak of aseptic meningitis in Switzerland / Meri Gordievsky-Hrisoho, Jean - Daniel Schumacher, Nevenka Vilimonovic [et al.] // Journal of clinical microbiology. - 1998. - vol.36. - № 9. - P. 2408-2412.

182. Grieco, F. A. Immunology in the clinic review series; focus on type 1 diabetes and virus: how viral infections modulate beta cell function // Grieco F. A. , Sebastiani G. ,Spagnulo I. [et al.] // Clinical and experimental immunology. - 2011. - № 168. - P. 24-29.

183. Hovel human enterovirus C infection in child with community-asquired pneumonia [Электронный ресурс] / Emerging infectious diseases. - 2012. - Vol.18. - № 11. - Режим доступа: http: //www.cdc.gov/eid

184. John, K. S. Chia. Chronic fatigue syndrome is associated with chronic enterovirus infection of the stomach [Электронный ресурс] / K. S. John Chia, Andrew Y Chia // J.Clin Pathaol. – 2007. - Режим доступа: http: www. Jclinpath.com.

185. Jorge, M Quinonez. Echovirus [Электронный ресурс] / Режим доступа :

http: www.emedicine.medscap.com/article/963458-print.

186. Kilpatric David R. Type-specific detection echovirus 30 isolates using degenerate reverse transcriptase PCR primers / David R. Kilpatric, Jacqueline Quay, Mark A.Pallansch et al. //Journal of Clinical Microbiology. - 2001. - Vol.39. -№ 4. - P. 1299-1302.

187. Kubo, H. Molecular classification of enteroviruses not identified by neutralization tests / Hideyuki Kubo, Nobuhiro Iritani, Yoshiyuki Seto // Emerging Infectious Diseases / www.cdc.gov/eid.Vol.8, No.3, March 2002.

188. Kyoung, Ah Baek. Epidemics of enterovirus infection in Chungnam Korea, 2008 and 2009 [Электронный ресурс] / Kyoung Ah Baek, Sang Gu Yeo, Baeck Hee Lee [et al.] // Virology Journal. - 2011. - 8:297. - Режим доступа: http: www.virology.com/content/8/1/297.

189. Larson, P. G. Previous maternal infection protects offspring from enterovirus infection and prevents experimental diabetes development in mice [Элктронный ресурс] / P. G. Larson, T. Lakshmikanth, E. Svedin [et al.] // Diabetologia. - 2013. - Режим доступа: : http: //www.doi: 10.1007/s00125-013-2834-z.

190. Lewthwaite, P. Enterovirus 75.Encephalitis in children, Southern India / Penny Lewthwaite, David Perera, Mong How Ooi [et.al.] [Электронный ресурс] // Emerging Infectious Diseases / - Режим доступа.: www.cdc.gov/eid.Vol.16, No.11, November 2010.

191. Lin Mong-Cheng. Epidemiology and diagnostic methodology for enterovirus infection, including cerebrospinal fluid analysis: a 5-year review/ Mong-Cheng Lin, Yu-Jiun Chan, Chan-Jen Chen [et al.] // J Microbiol Immunol Infect. – 2008. - № 41. - P. 450-455.

192. M.Steven Oberste . Comparison of classic and molecular approaches for he

identification of untypeable enterovirus [Электронный ресурс] / M. Steven Oberste, Kaija Maher, Mary R. Flemister [et al.] // Journal of Clinical Microbiology. - 2000. - Vol.38. - №. 3. - P. 1170-1174. - Режим доступа : http: www.jcm.asm.org/cgi/conent/ful/38/3/1170?view=lohg&pmid=10699015.

193. Maloy, K. J. CD4+CD25 TR cell supressis innate immune pathology through cytokine. Dependent mechanisms / K. J. Maloy, L. Salaum, R. Cahill // J.Exp.Med. - 2003. - Vol.197. - P. 111-119.

194. Narkeviciute, I. Outbreak of echovirus 13 infection among Lithuanian children/ I. Narkeviciute, D. Vaiciuniene // Clinical Microbiology and Infectious Diseases. - 2004. - № 10. - P. 1023-1025.

195. Neonatal enterovirus infections reported to the National Enterovirus Surveillance System in the United States, 1983-2003 / Nino Khetsuriani, Ashley LaMonter, M. Steven Obereste [at al.] // The Pediatric Infectious Disease journal. – 2006. - Vol.25. - № 10. - P. 889-893.

196. Oikarnen, M. Type 1 Diabetes is associated with enterovirus infection in gut mucosa [Электронный ресурс] / M. Oikarnen, S. Tauriainen, S. Oikarinen [et al.] -Режим доступа : http: //www.diabetes.diabetesjournals.org/lookup/supp/doi:10.2337/db11-1157/-/DCI.

197. Papa, A. Genetic variation of coxsackie virus B5 strains associated with aseptic meningitis in Greece / A. Papa, K. Dumaidi, F. Franzidou [et al.] // Clinical Microbiology and Infectious Diseases. - 2006. - № 12. - P. 672-694.

198. Perez, C. En ferm infectecc / C. Perez, M. J. Pena, L. Molina // Microbiol.clin. – 2003. - Aug-Sept. - 21(7). - P. 340-5.

199. Peter, G. Markey. Meningitis and a febrile vomiting illness caused by

echovirus type 4, Northetn territory, Australia / Peter G. Markey, Joshua S. Davis, Gerry B. Harnett [et al.] // Emerging Infectious Diseases / www.cdc.gov/eid.Vol.16, No.1, January 2010.

200. Prevalence of enterovirus from patients with herpangina and hand , foot and mouth disease in Nagano Prefecture, Japan, 2007 / I. Miyazawa, Y. Azegami, S. Kasuo [et al.] // Jpn. J. Infect. Dis. - 2008. - № 61(3). - P. 247-8.

201. Ramsingh, A. I. Coxsackievirus and diabetes / A. I. Ramsingh, N. Chapman, S. Tracy // Bioessays. - 1997. - № 19. - P. 793-800.

202. Resurgence of wild poliovirus type 1 transmission and consequences of importation – 21 countrws, 2002-2005 / Centrel for Disease Control and Prevention. // MMWR 2006;55:[inclusive page numbers].

203. Rewers, M. The possible role of enteroviruses in diabetes mellitus / M. Rewers, M. Atkinson // Human Enterivirus Infections. Ed.H.A.Rotbard. Washington: ASM Press. – 1995. - P. 353-385.

204. Rhoades Ross, E. Enterovirus Infections of the Central Nervous System Review / Ross E. Rhoades, Jenna M. Tabor-Godwin, Ginder Tsueng [et al.] // Virology. - 2011. - March 15; 411(2). – P. 288-305.

205. Rotbart, H. Meningitis and encephalitis / H. Rotbart. [et al.] // Human enterovirus Infections. - Washington: ASM Press. - 1995. - P. 271-289.

206. Prevalence of enterovirus from patients with herpangina and hand, foot and mouth disease in Nagano Prefecture, Japan, 2007 / I. Miyazawa, Y. Azegami, S. Kasuo [et al.] // Jpn. J. Infect. Dis. - 2008. - № 61(3). - P. 247-8

207. Di.Piro, J. T. Cytokine network with infection: Mycobacterial infections, leismaniosis, human immunodeficiency virus infection and sepsis // Pharmacotherapy. - 1997. - Vol.17. - № 2. - P. 205-223.

208. Stocker, A. Cosavirus infection in persons with and without gastroenteritis, Brasil // Andres Stocker, Breno Frederico, Tereza Cristina Medrado Ribeiro [et.al.] // Emerging Infectious Diseases /www.cdc.gov/eid.Vol.18, No.4, April 2012.

209. Tang, J. W. Vertical transmission of human echovirus 11 at the time of Bornholm disease in late pregnancy / J. W. Tang, J. W. Bendig, I. Ossuetta // Pediatr. Infect. Dis. - 2005. - № 24(1). - P. 88-89.

210. Tralo, G. Epidemipl.infect. / G, Tralo, I. Casas, A. Tenori [et.al.] // Epidemipl. infect. – 2000. - Jun. - № 124(3). - P. 497-50.

211. Transmission and clinical features of enterovirus 71 infections in household contacts in Taiwan / L. Y. Chang, R. C. Tsao, S. H. Hsia [et all.] // JAMA. - 2004. - № 291. - P. 222-227.

212. Wong, Kum Thong. Enterovirus-associated neurological disease with special reference to enterovirus 71 / Dr. K. T. Wong // Neurol J Southeast Asia. - 2000. - № 5. - P. 47-49.

213. Wong, Shin-Min. Cytokine immunopathogenesis of enterovirus 71 brain stem encephalitis [Электронный ресурс] / Shin-Min.Wong, Huan-Yao Lei, Ching-Chuan Liu // Clinical and Development Immunology. – 2012. - Режим доступа: http:dx.doi.org/10.1155/2012/876241.

214. Zaoutis, Theoklis. Enterovirus infections / Theoklis Zaoutis, Joel D. Klein // Pediatrics Review. - 1998. - Vol.19. - № 6. - P. 183-191.