

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

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Екатеринбург – 2015

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Ковтун Ольга Петровна

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор

Бейкин Яков Борисович

Официальные оппоненты

Аверьянова Наталья Ивановна доктор медицинских наук, профессор, ГБОУ ВПО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Минздрава России, заведующая кафедрой пропедевтики детских болезней и сестринского дела в педиатрии.

Кашуба Эдуард Алексеевич доктор медицинских наук, профессор, ГБОУ ВПО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России, заведующий кафедрой инфекционных болезней с курсом детских инфекционных болезней.

Ведущая организация

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов имени М.П. Чумакова»

Защита диссертации состоится «_____» _____ 2015 г. в ____ часов на заседании Совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Д 208.102.02, созданного на базе Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, д.3

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке имени В.Н. Климова ГБОУ ВПО УГМУ Министерства России, по адресу: 620028, г. Екатеринбург, ул. Ключевская, д.17, с текстом автореферата – на сайте ВАК Министерства образования и науки РФ: vak2.ed.gov.ru и на сайте университета: www.usma.ru

Автореферат разослан «_____» _____ 2015 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета Д.208.102.02
доктор медицинских наук, профессор



**Гришина
Ирина Федоровна**

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Вирусные менингиты и менингоэнцефалиты составляют в структуре инфекционных заболеваний нервной системы значительный удельный вес - около 60% (Шевцова Н. П., 2004, Панина О. А., Куприна Н. П., 2011). При этом ведущая роль принадлежит энтеровирусным инфекциям, вызванным вирусами Коксаки А, Коксаки В, ЕСНО с максимальной заболеваемостью у детей 3 - 10 лет (Злобин В. И., Львов Д. К., 2008, Тимченко В. Н., Чернова Т. М., 2012, Бессергенева И. К., 2012, Иванова О. Е., 2014).

Эпидемические подъемы энтеровирусной инфекции связаны с разными типами вирусов, спектр возбудителей очень широк и разнообразен. В России от заболевших ЭВИ выделяли вирусы ЕСНО (4, 5, 6, 14, 11, 30 и др. типы), Коксаки В (1, 3, 4, 5), Энтеровирус 71 типа. В других странах мира наиболее частыми возбудителями инфекции были вирусы ЕСНО - 13, ЕСНО - 20, ЕСНО - 30, Энтеровирус 71 типа, Коксаки В5 (Gordievsky-Hrisoho et al., 1998, Кишкурно Е. П., 2007, Ешмоллов С. Н., 2012, Ахмадишина Л. В., Иванова О. Е., 2013). Наличие циркуляции множества типов/серотипов энтеровирусов, их эволюционное развитие может оказывать влияние на начальные проявления заболевания, течение менингитов и характер иммунного ответа (Куприна Н. П., Афанасьева С. С., 2004, Сологуб Т. В., Ледванова М. Ю., 2012).

Поскольку в большинстве случаев энтеровирусными менингитами болеют дети, то необходимо учитывать возрастные особенности развития иммунной системы ребенка, а соответственно, и разный вариант индивидуальной резистентности (Khetsuriani Nino, 2006, Дмитриева Г. М., Орешкина Н. Д., 2012).

Сведения об иммунологической перестройке, динамике ответных иммунных реакций при энтеровирусных менингитах у детей в литературе представлены недостаточно полно, чаще фрагментарно. Немногочисленны работы, посвященные описанию клинико-иммунологических особенностей течения ЭВ - менингитов у детей в зависимости от возраста и периода болезни. Публикации, характеризующие различия клинических проявлений и иммунологических данных в зависимости от этиологической природы заболевания в доступной литературе единичны (Ешмоллов С. Н., 2012, Мартынов Г. П., 2010, Колпаков С. Л., 2012, Учайкин В. Ф., 2013).

В настоящее время для диагностики ЭВИ и оценки состояния иммунной системы организма у детей используют разные методы лабораторной диагностики (вирусологические, серологические, молекулярно-биологические, иммунологические). При высокой чувствительности и специфичности, вирусологические и серологические методы являются длительными и трудоемкими, окончательный результат выдается по истечению 14-21 дней и в большей степени носит ретроспективный характер. Полимеразная цепная реакция указывает лишь на родовую принадлежность этиологического агента (*род Enterovirus*). Метод секвенирования, позволяющий определить нуклеотидную последовательность ЭВ для получения формального описания её первичной структуры, является дорогостоящим и на сегодняшний день не может широко использоваться в практике. Поэтому, поиск нового способа прогнозирования типа возбудителя ЭВ - менингитов и определение характерных клинико-иммунологических реакций организма детей при ЕСНО - и Коксаки В - вирусной инфекции остается актуальной проблемой для специалистов разных категорий - педиатров, иммунологов, эпидемиологов и вирусологов.

Цель работы -

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

Установлено, что периодическая смена ведущих типов энтеровирусов влечет за собой изменения клинической картины заболевания и характера иммунного ответа у детей в различных возрастных группах.

Выявлены различия в проявлении общеинфекционного синдрома при ЕСНО - и Коксаки В - вирусных менингитах у детей, а именно: при ЕСНО -вирусной инфекции из числа общеинфекционных симптомов преобладали гипертрофия миндалин, гиперемия зева, светобоязнь; при Коксаки В-вирусной инфекции чаще регистрировали катаральные явления и признаки поражения желудочно-кишечного тракта. Показано, что признаки поражения ЦНС при менингеальной форме ЕСНО - и Коксаки В - вирусной инфекции идентичны.

Впервые, в отличие от ранее выполненных работ (Н. А. Бацкалевич, 2009, И. И. Протасеня, 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 менингитов изменился характер синдрома гипертензии (чаще регистрируется однократная рвота, продолжительная головная боль на фоне выраженного менингорадикакулярного синдрома в виде полного менингеального симптомокомплекса). В СМЖ в отличие от сравниваемого периода плеоцитоз носит смешанный характер (в предыдущие годы – лимфоцитарный). Различия в течении серозных менингитов в разные периоды, возможно, объясняются высоким уровнем изменчивости вирусного генома энтеровирусов, что ведет к изменению и свойств вирусов, а значит и характера влияния энтеровирусов на организм, в который они попадают (Manzara S., Muscillo, 2004, Львов Д.К., 2008).

Установлены общие признаки, характеризующие ЭВ-менингиты вне зависимости от типа возбудителя и возраста пациентов. Универсальной реакцией иммунной перестройки является перераспределение иммунокомпетентных клеток с увеличением содержания НК-лимфоцитов, CD3+IFN γ + и CD3+IL-4+ лимфоцитов, ЦИК.

Доказано, что Коксаки В-вирусные менингиты отличаются от ЕСНО-менингитов большей активностью гуморального звена иммунитета (увеличение содержания IgM, IgG, высокие титры специфических антител) и фагоцитарного звена (высокое содержание НСТ-положительных нейтрофилов). При ЕСНО-

вирусных менингитах отмечены достоверные отклонения преимущественно показателей, характеризующих Т-клеточное звено иммунитета.

Создан способ определения группы энтеровируса в первые дни болезни по уровню содержания Т-лимфоцитов, спонтанно синтезирующих IL-4.

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 адаптивного иммунного ответа. Период реконвалесценции энтеровирусных менингитов характеризовался нарастанием показателей гуморального звена иммунитета.

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 материалов диссертации и публикации.

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 в практику

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).

Структура и объем 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.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В работе представлены материалы обследования 3733 детей с диагнозом энтеровирусная инфекция (ЭВИ), менингеальная форма в 2003-2014 гг.

На I этапе проведено ретроспективное исследование с целью изучения спектра возбудителей ЭВИ у детей в период 2003-2014 гг. и определения ведущих типов ЭВ. Для выявления клинико-иммунологических особенностей течения ЭВИ на II этапе исследования из числа обследованных (n=3733) методом случайной выборки были набраны дети в количестве 141 человека двух возрастных групп (3-7 и 8-14 лет).

Этапы исследования	
I. Ретроспективное исследование	II. Ретроспективное и проспективное исследование
Методы исследования	
1. Вирусологические	1. Вирусологические
2. Серологические	2. Серологические
3. Молекулярно-биологические	3. Молекулярно-биологические
	4. Иммунологические

В соответствии с целями и задачами, поставленными в работе, пациентам (n=141) были проведены комплексные клинико-иммунологические, вирусологические, серологические и молекулярно-биологические исследования 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 (контрольная группа). 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).

Вирусологические методы исследования. Лабораторное обследование и интерпретацию результатов вирусологических исследований осуществляли в соответствии с методическими указаниями «Эпидемиологический надзор и профилактика энтеровирусных (неполио) инфекций» (МУ 3.1.1.2363-08). 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). Были использованы три вида ткани: RD (культура клеток, полученная из рабдомиосаркомы человека), Нер-2 (культура клеток, полученная из эпидермоидной карциномы человека) и L20В (культура клеток, созданная на основе мышинной линии L-клеток). Все ткани 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 (Ворошилова М.К., 1979; Руководство по вирусологическим исследованиям полиомиелита, 4-е издание, ВОЗ, Женева, 2005).

Серологические методы исследования. Для диагностических целей были исследованы парные пробы сыворотки крови. Первые образцы были взяты в первые дни заболевания ($3,49 \pm 0,05$ день), вторые не ранее, чем через 14-21 день от начала заболевания ($16,07 \pm 0,35$ день). 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 ходе работы были рассчитаны и определены отрицательные логарифмы (\log_2) и средние геометрические титров антител к энтеровирусам (Ворошилова М.К., 1979).

Иммунологические методы исследования. 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 помощью 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 цитофлуориметрии 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 брэфельдина А, без стимуляции (спонтанная экспрессия) и при стимуляции Phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) («Sigma», 25 ng/ml) и иономицином («Sigma», 1 μ g/ml) при 37 °С (стимулированная экспрессия). Окрашивание проводили с использованием моноклональных антител: фикоэритрин (PE)-конъюгированные анти-IFN- γ , анти-IL-4, анти-IL-2, анти- TNF- α («IO Test» и фикоэритринцианин 5.1 (PC-5)-конъюгированные CD3 («IO Test»).

Таблица 1 - Показатели иммунограммы здоровых детей (контрольная группа), (M±m)

Показатели	Здоровые дети	
	3-7 лет (n=33)	8-14 лет (n=27)
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	3,25±0,2	2,25±0,4
Моноциты, $\times 10^9/\text{л}$	0,52±0,05	0,46±0,04
Гранулоциты, $\times 10^9/\text{л}$	3,64±0,28	3,6±0,27
Т-лимф. (CD3+), $\times 10^9/\text{л}$	2,34±0,7	1,61±0,11
В-лимф. (CD19+), $\times 10^9/\text{л}$	0,5±0,04	0,33±0,03
Т-хелперы (CD3+CD4+), $\times 10^9/\text{л}$	1,32±0,11	0,92±0,07
Т-цитотокс. (CD3+CD8+), $\times 10^9/\text{л}$	0,81±0,07	0,54±0,04
Т-активир. (HLA-DR+ CD3+), $\times 10^9/\text{л}$	0,05±0,02	0,02±0,01
NK- лимфоциты (CD3-CD16+CD56+), $\times 10^9/\text{л}$	0,31±0,03	0,23±0,03
TNK (CD3+CD16+CD56+), $\times 10^9/\text{л}$	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. фагоцитоза (моноциты), $\times 10^9/\text{л}$	0,41±0,04	0,37±0,03
Активн. фагоцитоза (нейтрофилы), $\times 10^9/\text{л}$	3,40±0,17	3,24±0,22
CD3+IFN- γ (ст), $\times 10^9/\text{л}$	0,18±0,02	0,23±0,02
CD3+IFN- γ (сп), $\times 10^9/\text{л}$	0,006±0,001	0,006±0,001
CD3+TNF- α (ст), $\times 10^9/\text{л}$	0,57±0,06	0,68±0,06
CD3+TNF- α (сп), $\times 10^9/\text{л}$	0,02±0,002	0,015±0,001
CD3+IL-2+ (ст), $\times 10^9/\text{л}$	0,37±0,04	0,48±0,06
CD3+IL-2+(сп), $\times 10^9/\text{л}$	0,01±0,002	0,01±0,001
CD3+IL-4+ (ст), $\times 10^9/\text{л}$	0,01±0,002	0,009±0,001
CD3+IL-4+ (сп), $\times 10^9/\text{л}$	0,001±0,001	0,001±0,001

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

Показатели	Здоровые дети	
	3-7 лет (n=33)	8-14 лет (n=27)
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	7,7±0,34	6,32±0,33
Лимфоциты, $10^9/\text{л}$	3,25±0,22	2,25±0,14
Моноциты, $10^9/\text{л}$	0,5±0,05	0,46±0,04
Грауноциты, $10^9/\text{л}$	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, $10^9/\text{л}$	273,4±12,59	268,72±14,38
Эритроциты, $10^9/\text{л}$	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
Распределение тромбоцитов по объему (PDV)	13,68±0,25	14,21±0,28

Был оценен иммунный статус и показатели общего анализа крови у 60 практически здоровых детей, которые составили контрольную группу (дети 3-7 лет в количестве 33 человек и 8-14 лет - 27 человек). Результаты обследования представлены в таблице 1 и 2.

Молекулярно-биологические методы исследования. С помощью метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) было обследовано 1704 детей, поступивших в инфекционное отделение ГКБ №40 г.Екатеринбурга с предварительным диагнозом – энтеровирусная инфекция (ЭВИ), менингеальная форма. Ликвор отбирали в рамках обычной диагностической спинномозговой пункции в первые дни болезни. 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). Проведение ПЦР и оценку полученных результатов осуществляли на оборудовании трех поколений: термоциклере «Терцик» фирмы «ДНК-технология» (Россия), с последующим выявлением ампликонов методом электрофореза в агарозном геле на трансиллюминаторе; амплификаторах «GeneAmp PCR System 2400» фирмы «Applied Biosystems» (США) и «Gradient Palm Cycler» фирмы «Corbett Reseach» (Австралия) с последующей гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации по «конечной точке» на анализаторе «АЛА ¼» фирмы «BioSan» (Латвия); автоматическом анализаторе «Rotor Gene Q» фирмы «Qiagen» (Германия) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме «реального времени».

Статистическая обработка данных. Использовались общепринятые статистические параметры. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. Непараметрические данные оценивали с использованием 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).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценивая количество выделенных вирусов за период 2003-2014 гг, можно отметить тенденцию к увеличению удельного веса вирусывыделителей среди заболевших лиц (рис. 1). Ведущее значение в этиологии ЭВИ имели вирусы ЕСНО (31,3%) и Коксаки группы В (34,3%). Вирусы ЕСНО наиболее активно выделяли с 2008 года; максимальный удельный вес выделителей ЕСНО - вирусов наблюдали в 2008 г. (41,6%), в 2009 г. (33,8%) и в 2013 г.(18,1%).

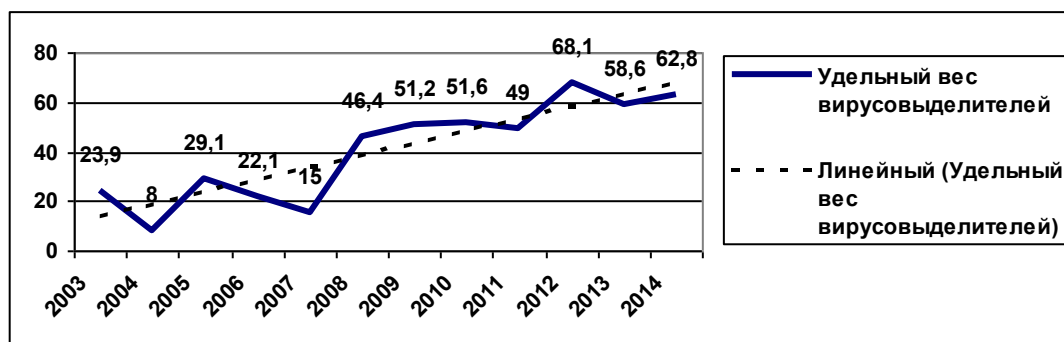


Рисунок 1 - Динамика выделения энтеровирусов в период 2003-2014 гг.

Наиболее частыми возбудителями ЕСНО-инфекции были серотипы ЕСНО-30 (43,3%), ЕСНО-6 (19,5%), ЕСНО-7 (9,97%) (рис.2, 3).

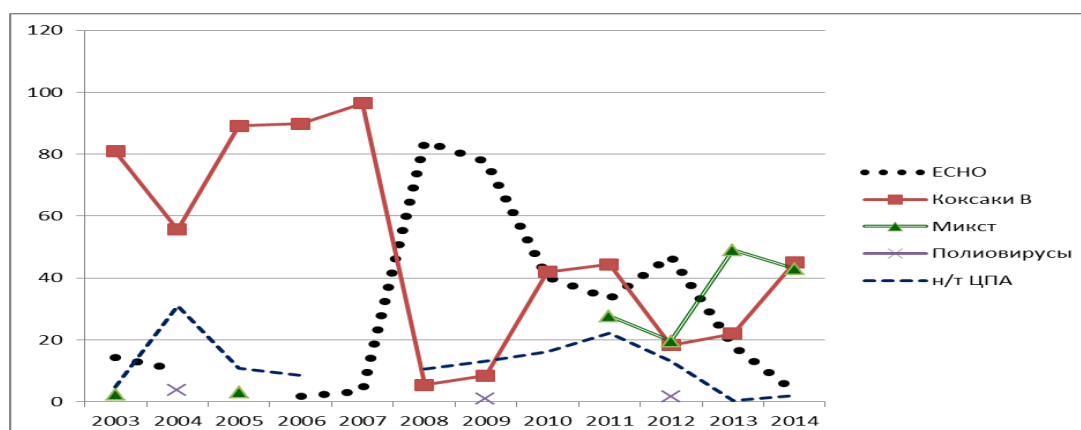


Рисунок 2 - Спектр выделенных энтеровирусов в период 2003-2014 гг.

Вирусы Коксаки В выделяли на протяжении всего периода наблюдения. Максимальное количество вирусывыделителей отмечено в 2003-2007 гг.; среди выделенных вирусов Коксаки В, лидирующее место занимали КВ 5 (44,1%) и КВ 4 (20,4%) (рис. 2, 3). Для периода 2011-2014 гг. характерно выделение вирус-вирусных ассоциаций ЭВ, а именно: в 2011 г. - сочетание вирусов КВ 1 и КВ 4

(68,9% от всех выделителей КВ 1+КВ 4), в 2013 и 2014 гг. - миксты КВ и ЕСНО (58,8% и 27,3% соответственно от всех выделителей ЕСНО+КВ).

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

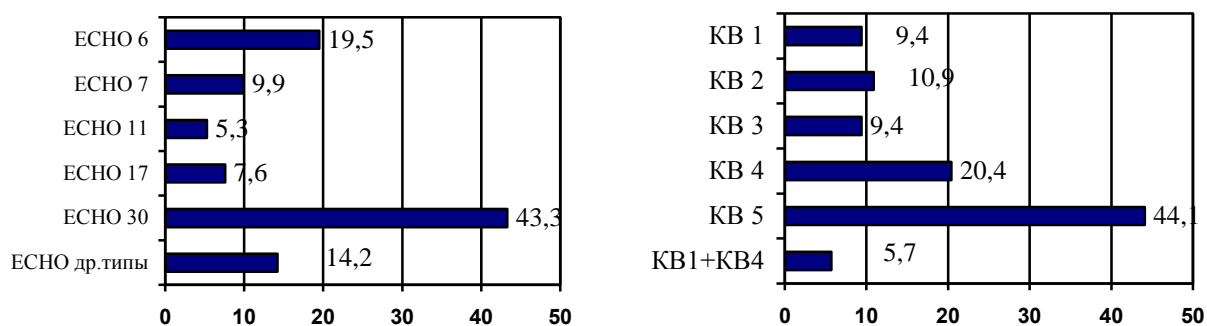


Рисунок 3 - Спектр ЕСНО и Коксаки В вирусов (удельный вес)

В результате проведенных исследований выделены клинические особенности ЕСНО - и Коксаки В - вирусных менингитов у детей разных возрастных групп. Под наблюдением находился 141 ребенок двух возрастных групп: младшая - возраст детей от 3 до 7 лет и старшая - возраст от 8 до 14 лет.

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 день болезни (61,7%). Состояние детей при поступлении в стационар оценивалось как средней тяжести у 139 человек (98,6%). В тяжелом состоянии поступило двое детей (1,4%).

В клинической картине ЭВ - менингитов наблюдали общеинфекционный синдром и синдром поражения центральной нервной системы.

Заболевание практически у всех детей начиналось с подъема температуры (91,5% случаев), которая чаще всего повышалась до уровня 37,6-38,5⁰С (48,2%). Длительность лихорадки составила в среднем 4,1±0,22 дня. Из общих инфекционных признаков наибольшее значение у детей в исследовании имели гиперемия зева (85,1%), увеличение миндалин (63,1%) и полиаденит (58,2%). При поступлении в стационар у 17,7% детей наблюдали катаральные явления, 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 (в 88,6% случаев) и головная боль (в 97,2% случаев). Из данных анамнеза установлено, что в большинстве случаев рвота была однократной (53,9%). Головная боль при поступлении в отделение больницы у большего числа пациентов (n=104) оценивалась как умеренная. Средняя продолжительность головной боли составила $5,0 \pm 0,25$ дней.

Менингеальные симптомы наблюдали у 138 детей (97,9%). Удельный вес пациентов, у которых был полный менингеальный комплекс, составил 70,2%. Диссоциированный менингеальный комплекс 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 (в среднем от $4,5 \pm 0,24$ до $5,4 \pm 0,24$ дней).

При анализе спинномозговой жидкости (СМЖ), полученной в начале заболевания ($3,04 \pm 0,15$ день), наблюдали увеличение плеоцитоза со средним показателем $206,02 \pm 22,42 \cdot 10^6$ /л. Максимальное количество клеток составило $1706 \cdot 10^6$ /л, минимальное - $10 \cdot 10^6$ /л. Плеоцитоз носил смешанный характер (нейтрофилы - $57,20 \pm 2,25\%$, лимфоциты - $44,42 \pm 2,27\%$). Гиперпротеинария составила в среднем $0,405 \pm 0,013$ г/л. В ликворе в 13 случаях (9,3%) были обнаружены макрофаги. При анализе СМЖ, взятой при повторной пункции ($17,71 \pm 0,25$ день), плеоцитоз значительно уменьшился (в среднем $17,16 \pm 3,20 \cdot 10^6$ /л), характер его в большей степени был лимфоцитарным (нейтрофилы - $22,91 \pm 1,91\%$, лимфоциты - $86,20 \pm 1,56\%$). Количество белка снизилось по сравнению с первой пробой СМЖ (до $0,321 \pm 0,013$ г/л). В 14 случаях

вновь были обнаружены макрофаги (10,7%). Изменения показателей ликвора I и ликвора II носили существенные различия ($p < 0,05$).

Проведен сравнительный анализ клинической картины ЕСНО - и Коксаки В - вирусных менингитов в разных возрастных группах (3-7 и 8-14 лет) (рис.4).

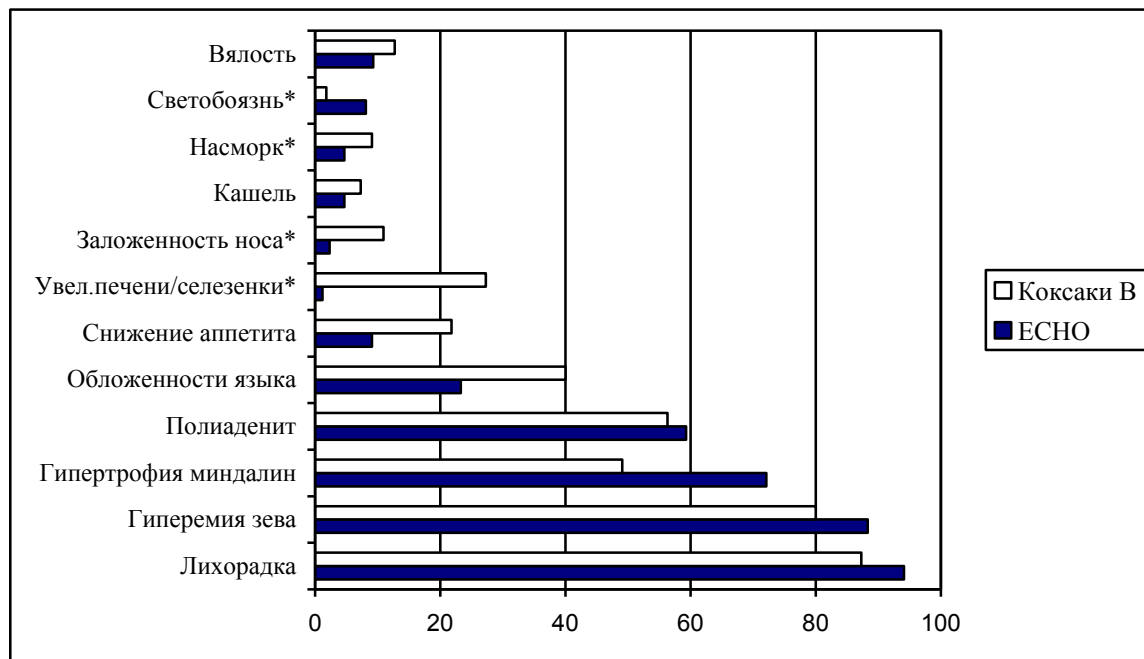


Рисунок 4 - Клинические проявления общеинфекционного синдрома при ЕСНО - и Коксаки В - вирусных менингитах у детей

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

Комплексное сравнение симптомов общеинфекционного синдрома с использованием показателя χ^2 (Хи-квадрат) показало, что повышение температуры чаще наблюдали при ЕСНО-вирусных менингитах (94,2%), однако более высокие ее значения ($39,0^{\circ}\text{C}$ и выше) были зафиксированы у детей с Коксаки В-инфекцией. При менингитах, вызванных вирусами ЕСНО, в отличие от Коксаки В - менингитов, у детей чаще были гипертрофия миндалин (72,1% против 49,1%, $p > 0,05$), гиперемия зева (88,4% и 80,0% соответственно, $p > 0,05$), светобоязнь (8,1 % и 1,8%, $p < 0,05$).

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 (9,3% при ЕСНО - и 21,8% при КВ-менингитах, $p < 0,05$), боль в животе (4,7% и 12,7% соответственно, $p < 0,05$), диспепсия (3,5% и 12,7%, $p < 0,05$), обложенность

языка (23,2% и 40,0%, $p<0,05$), увеличение печени и /или селезенки (1,1% и 27,3%, $p<0,05$).

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.

Сравнение клинических проявлений ЭВ - менингитов в зависимости от возраста детей в группах с ЕСНО- и Коксаки В - инфекцией показало наличие достоверно значимых различий.

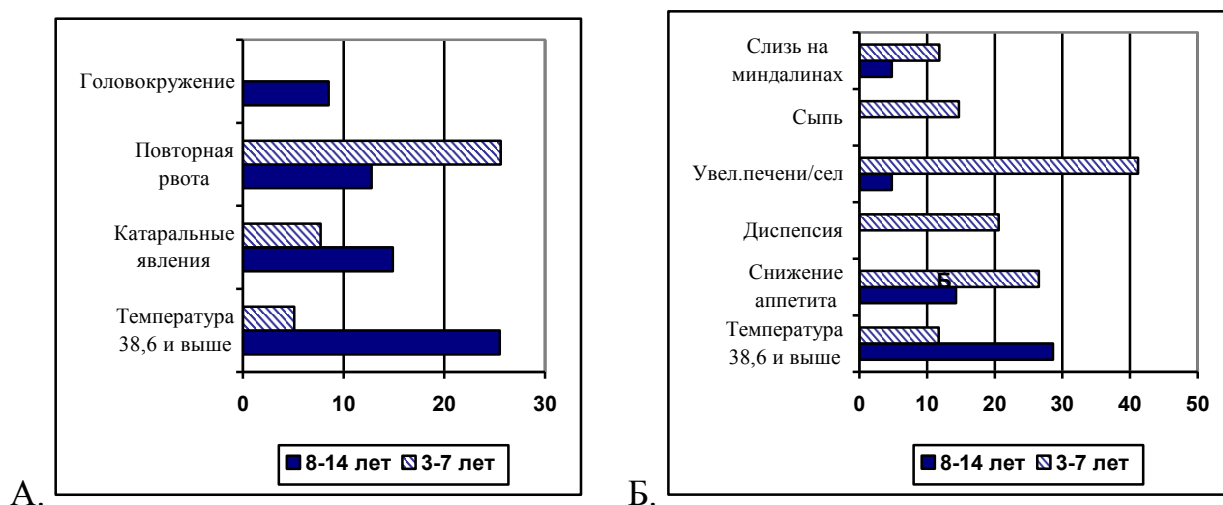


Рисунок 5 - Различия в проявлениях клинических симптомов у детей 3-7 и 8-14 лет ($p<0,05$)

А. - ЕСНО - вирусные менингиты, Б – Коксаки В –вирусные менингиты.

У детей старшей возрастной группы с ЕСНО-вирусными менингитами достоверно чаще наблюдали головокружение (8,5% против 0,0%; $p<0,05$), катаральные явления (14,9% против 7,7%; $p<0,05$), лихорадка 38,6⁰С и выше (25,5% против 5,1; $p<0,05$). Повторная рвота наблюдалась преимущественно у детей в возрасте 3-7 лет (25,6 % против 12,8%; $p<0,05$) (рис.5-А).

В возрастной группе 3-7 лет при Коксаки В-вирусных менингитах удельный вес проявлений таких симптомов, как слизь на миндалинах (11,8% против 4,8%; $p<0,05$) , сыпь (14,7% против 0,0%; $p<0,05$), увеличение печени и/или селезенки (41,2% против 1,1%; $p<0,05$), снижение аппетита (26,5% против 14,3%; $p<0,05$), диспепсия (20,6% против 0,0%; $p<0,05$) наблюдали достоверно чаще, чем у детей старшего возраста (рис. 5-Б). Температуру 38,6⁰С и выше отмечали преимущественно у пациентов 8-14 лет (28,6% и 11,7% соответственно; $p<0,05$).

Показатели СМЖ в группах детей с ЕСНО- и Коксаки В-менингитами были идентичны и достоверных различий не имели.

Проведен сравнительный анализ дебюта течения энтеровирусных менингитов в период 1980-1984 гг. и 2003-2012 гг. [О.П. Ковтун, 1984]. Основными синдромами ЭВ - менингитов в разные временные периоды традиционно были общеинфекционный и синдром поражения ЦНС.

Для ЭВ - менингитов на современном этапе более характерны изменения со стороны ЖКТ (обложенность языка, диспепсия, снижение аппетита), увеличение лимфатических узлов и миндалин. В период 1980-1984 гг. вирусные менингиты отличались наличием конъюнктивита, высоким уровнем лихорадки, катаральными явлениями.

Синдром поражения ЦНС при энтеровирусных менингитах в анализируемые периоды времени был доминирующим. Основные его проявления: рвота, головная боль, менингеальные симптомы. Однако на современном этапе изменился характер синдрома гипертензии - он менее выражен, а именно: рвота в настоящее время чаще однократная, а менингеальный комплекс в большинстве случаев – полный. Таким образом, в предыдущие годы доминировал синдром внутричерепной гипертензии и был ведущим в клинике, в последующие годы - менингоградикулярный синдром.

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 (табл. 3). Всего было обследовано 86 детей с ЕСНО - вирусными менингитами (в возрасте от 3 до 7 лет - 39 чел., 8-14 лет - 47 чел.) и 55 пациентов с Коксаки В-менингитами (от 3 до 7 лет - 34 чел., 8-14 лет - 21 чел.). Первое обследование проводили в 1-7 день от начала заболевания (I исследование), второе – на 14-21 день (II исследование). Сравнение полученных результатов осуществляли с данными иммунологического обследования практически здоровых детей в аналогичных возрастных группах (табл. 1).

Таблица 3 - Показатели иммунограммы у детей при ЕСНО – и Коксаки В - вирусных менингитах, (M±m)

Показатели	ЕСНО-вирусные менингиты (n=86)				Коксаки В-вирусные менингиты (n=55)			
	3-7 лет (n=39)		8-14 лет (n=47)		3-7 лет (n=34)		8-14 лет (n=21)	
	I исслед.	II исслед.	I исслед.	II исслед.	I исслед.	II исслед.	I исслед.	II исслед.
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	3,15±0,19	3,77±0,33	2,42±0,13	2,98±0,19*↑	3,31±0,21	3,12±0,22	2,09±0,16	2,39±0,13
Моноциты, $\times 10^9/\text{л}$	0,38±0,02↓	0,41±0,04	0,36±0,02↓	0,41±0,03	0,63±0,05	0,70±0,08	0,41±0,04	0,47±0,05
Гранулоциты, $\times 10^9/\text{л}$	4,49±0,44	4,12±0,68	3,75±0,22	4,4±0,35	5,21±2,05	3,24±0,35	3,04±0,27	3,36±0,32
T-лимф. (CD3+), $\times 10^9/\text{л}$	2,0±0,12	2,69±0,22*↑	1,6±0,09	2,06±0,6*↑	2,1±0,4	2,06±0,12	1,37±0,11	1,59±0,09
В-лимф. (CD19+), $\times 10^9/\text{л}$	0,59±0,05	0,63±0,09	0,94±0,58↑	0,39±0,02	0,63±0,05↑	0,47±0,05*↓	0,32±0,03	0,34±0,02
T-хелперы (CD3+CD4+), $\times 10^9/\text{л}$	1,02±0,07↓	1,44±0,13*↑	0,82±0,04	1,0±0,06	1,09±0,08	1,18±0,07	0,72±0,08	0,79±0,07
T-цитотокс. (CD3+CD8+), $\times 10^9/\text{л}$	0,78±0,05	0,97±0,08*↑	0,64±0,05	0,89±0,12↑	0,86±0,06	0,91±0,10	0,54±0,05	0,61±0,04
T-активир. (HLA-DR+ CD3+), $\times 10^9/\text{л}$	0,3±0,01↑	0,03±0,001*↓	0,037±0,04	0,05±0,01	0,04±0,04	0,04±0,01	0,04±0,01	0,04±0,01
NK- лимфоциты (CD3-CD16+CD56+), $\times 10^9/\text{л}$	0,46±0,06↑	0,38±0,07	0,38±0,04↑	0,45±0,06↑	0,51±0,06↑	0,39±0,05	0,35±0,04↑	0,41±0,05↑
TNK (CD3+CD16+CD56+), $\times 10^9/\text{л}$	0,03±0,01	0,02±0,01	0,05±0,01↓	0,07±0,01↓	0,04±0,01	0,04±0,01	0,04±0,01	0,05±0,01
IgA, мг/мл	0,84±0,06	0,74±0,13	1,37±0,09	1,34±0,16	1,12±0,09	1,08±0,09	1,61±0,19	1,34±0,18
IgM, мг/мл	1,49±0,09	1,34±0,12	1,58±0,11	1,23±0,14	1,84±0,13↑	1,71±0,12↑	1,62±0,12	1,46±0,12
IgG, мг/мл	10,28±0,49↑	9,09±0,67	11,38±0,52	9,62±0,65↓	10,45±0,54↑	9,42±0,57	12,37±0,87	11,23±0,63
ЦИК, ед. опт. пл.	62,92±5,42↑	37,68±3,49*↓	67,16±5,94↑	43,95±8,04*↓	89,7±8,71↑	63,54±7,35↑	68,06±9,23↑	72,44±10,07↑
НСТ спонт, %	9,9±1,32	8,75±1,24	11,56±1,31	9,57±1,27	13,48±1,32↑	14,0±1,58↑	12,72±1,49	13,12±2,43
НСТ стим, %	12,9±1,31	11,6±1,79	14,56±1,58	13,95±1,50	20,87±1,90↑	20,58±2,67↑	22,61±2,65↑	22,82±2,89↑
Бактер. активность, %	34,03±1,27↓	42,08±3,27*↑	37,24±1,54	35,95±2,28	37,84±2,84	32,93±3,33↓	37,11±2,0	36,35±2,68
Активн. фаг-за (моноциты), $\times 10^9/\text{л}$	0,32±0,02↓	0,35±0,03	0,31±0,02	0,36±0,03	0,45±0,03	0,5±0,06	0,34±0,03	0,40±0,04
Активн. фаг-за (нейтрофилы), $\times 10^9/\text{л}$	3,98±0,37	3,63±0,50	3,36±0,2	4,07±0,26*↑	4,14±0,47	2,93±0,33*↓	2,8±0,25	3,13±0,29
CD3+IFN- γ (ст), $\times 10^9/\text{л}$	0,3±0,04↑	0,31±0,04↑	0,43±0,05↑	0,45±0,12	0,59±0,09↑	0,49±0,13↑	0,35±0,05↑	0,41±0,04↑
CD3+IFN- γ (сп), $\times 10^9/\text{л}$	0,01±0,001↑	0,001±0,001↓	0,01±0,001↑	0,01±0,001↑	0,05±0,01↑	0,06±0,01↑	0,03±0,01↑	0,04±0,01↑
CD3+TNF- α (ст), $\times 10^9/\text{л}$	0,62±0,05	0,73±0,05	0,73±0,07	0,73±0,12	0,85±0,12↑	0,67±0,20	0,52±0,06	0,58±0,07
CD3+TNF- α (сп), $\times 10^9/\text{л}$	0,01±0,001↓	0,01±0,001↓	0,01±0,002↓	0,01±0,001↓	0,07±0,02↑	0,07±0,01↑	0,05±0,01↑	0,05±0,01↑
CD3+IL-2+ (ст), $\times 10^9/\text{л}$	0,22±0,03↓	0,37±0,06*↑	0,26±0,03↓	0,38±0,04*↑	0,42±0,06	0,35±0,08	0,24±0,03↓	0,29±0,05↓
CD3+IL-2+ (сп), $\times 10^9/\text{л}$	0,01±0,003	0,001±0,001↓	0,01±0,002	0,01±0,001	0,06±0,01↑	0,05±0,01↑	0,04±0,01↑	0,03±0,01
CD3+IL-4+ (ст), $\times 10^9/\text{л}$	0,02±0,001↑	0,03±0,001↑	0,02±0,001↑	0,02±0,001↑	0,08±0,02↑	0,07±0,01↑	0,04±0,01↑	0,04±0,01↑
CD3+IL-4+ (сп), $\times 10^9/\text{л}$	0,01±0,001↑	0,01±0,001↑	0,01±0,002↑	0,01±0,002↑	0,06±0,02↑	0,07±0,01↑	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.

Анализ полученных в ходе исследования результатов позволил выделить общие и частные закономерности иммунного ответа при ЕСНО - и Коксаки В - вирусных менингитах в зависимости от типа вируса и возраста пациентов.

В острый период болезни у всех больных энтеровирусными менингитами отмечали следующие изменения: увеличение количества НК - 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.

Анализ результатов изучения специфического иммунитета у больных энтеровирусными менингитами показал наличие существенных различий между ЕСНО - и Коксаки В - вирусной инфекцией. Установлено, что уровень отрицательных логарифмов (\log_2) и соответствующие им средние геометрические титров антител при Коксаки В - вирусных менингитах были достоверно выше ($p < 0,01$), чем при ЕСНО - вирусных менингитах как в остром периоде болезни, так и в период реконвалесценции независимо от возраста пациентов. Отрицательный логарифм (\log_2) среднего геометрического титра антител при ЕСНО - инфекции на первой неделе болезни составил 2,35; на третьей неделе болезни 4,52. Аналогичные показатели при Коксаки В - инфекции соответствовали значениям 3,59 и 4,91.

Все это может говорить о, возможно, большей антигенной активности вирусов Коксаки группы В, что в свою очередь приводит к развитию активного процесса антителообразования.

Выявлены особенности иммунного ответа при ЭВ-менингитах в зависимости от возраста пациентов. Практически все различия касались изменений, которые наблюдали в период реконвалесценции (к 3-й неделе болезни). У детей 8-14 лет отмечали увеличение уровня NK - лимфоцитов, синтеза цитокинов - IL-4 (стимулированный синтез) и IFN- γ . Для детей 3-7 лет было характерно 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.

Методом дисперсионного и регрессионного анализов были выделены наиболее значимые иммунологические показатели, среди которых ведущее место занимал уровень CD3+IL4+-лимфоцитов при спонтанном синтезе. Была выведена формула, позволяющая установить, какой энтеровирус (ЕСНО или Коксаки В) вызвал заболевание. В крови заболевших детей в первые 3 дня болезни определяли содержание CD3+IL4+-Т-лимфоцитов 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, 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 группе детей (12 человек с ЕСНО - вирусным менингитом и 15 человек с Коксаки В - вирусным менингитом), показатели иммунограмм которых не вошли в расчет формулы. Она оказалась достоверной в 80,0% случаев при Коксаки В - вирусных менингитах и в 92,0% - при ЕСНО - вирусных менингитах.

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 2003-2007 г.г., при этом максимальный удельный вес их отмечен в 2005 г.(93,0%), 2006 г.(84,8%) и в 2007 г.(90,1%). Вирусы ЕСНО разных серотипов были ведущими в 2008 г.(41,6%), 2009 г.(33,8%) и 2013 г.(18,1%). Вирус-вирусные ассоциации (ЕСНО и Коксаки В) лидировали в период 2013-2014 г.г.; 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 печени 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 НК - 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 ТНК-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 вакцинопрофилактики им необходимо проводить контрольное иммунологическое исследование для определения иммунной резистентности.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**Статьи в изданиях, рекомендованных ВАК Министерства
образования и науки РФ**

1. **Оленькова О. М.** Современное состояние лабораторной диагностики энтеровирусных инфекций у детей в г. Екатеринбурге / Оленькова О. М., Субботина Н. С., Фомин В. В., Бейкин Я. Б., Сабитов А. У., Хаманова Ю. Б., Ковтун О. П. // Вестник уральской медицинской академической науки. - 2010. - № 4. - С. 42-45.

2. **Оленькова О. М.** Диагностика энтеровирусных инфекций у детей г.Екатеринбурга / Оленькова О. М., Ковтун О. П., Сабитов А. У., Субботина Н. С., Сбитнева Н. Н., Бейкин Я. Б. // Уральский медицинский журнал. - 2011. - № 13(91). - С. 14-18.

3 **Оленькова О. М.** Менингиты ЕСНО- и Коксаки В-вирусной этиологии у детей: клинико-эпидемиологические особенности / Оленькова О. М., Ковтун О. П., Бейкин Я. Б., Лагерева Ю. Г., Сбитнева Н. Н., Павленко Т. П. // Медицинская наука и образование Урала. - 2013. - №4. - С. 131-137.

4.**Оленькова О. М.** Энтеровирусные менингиты у детей: оценка эпидемиологической значимости, особенности диагностики и клинического течения / Оленькова О. М., Ковтун О. П., Бейкин Я. Б., Лагерева Ю. Г., Сбитнева Н. Н., Павленко Т. П. // Вестник уральской медицинской академической науки. - 2014. - № 1. - С. 18-22.

5. **Оленькова О. М.** Энтеровирусные менингиты у детей на современном этапе: эпидемиологические, клинические и иммунологические особенности / Оленькова О. М., Ковтун О. П. / Журнал инфектологии. - 2014. - Т.6, №2. - С. 75-76.

6.Лагерева Ю. Г. Содержание наивных и Т-лимфоцитов памяти в динамике острого периода энтеровирусных менингитов у детей / Лагерева Ю. Г., Бейкин Я. Б., Ищенко Н. В., Сбитнева Н. Н., **Оленькова О. М.** // Журнал инфектологии. - 2014. - Т.6№2. - С. 63-64.

7.Лагерева Ю. Г. Содержание различных субпопуляций лимфоцитов в динамике острого периода менингеальной формы энтеровирусной инфекции у детей / Лагерева Ю. Г., Черешнев В. А., Сбитнева Н. Н., **Оленькова О. М.**, Павленко Т. П., Бейкин Я. Б. // Российский иммунологический журнал. - 2014. - Т.8(17). - С. 183-191.

Прочие публикации

8. **Оленькова О. М.** Состояние коллективного иммунитета к полиомиелиту населения Екатеринбурга / Оленькова О. М., Субботина Н. С., Харитонов А. Н. // Сборник научных трудов «Лабораторная диагностика в клинике инфекционной и соматической патологии», Екатеринбург. - 2010. - С. 121-126.

9. **Оленькова О. М.** Спектр выделенных вирусов от детей, заболевших менингеальной формой энтеровирусной инфекции в г. Екатеринбурге (2009-2010 г.г.) / Оленькова О. М., Ковтун О. П., Субботина Н. С., Бейкин Я. Б. // Вестник УГМА. - 2012. - №25. - С. 61-63.

10. **Оленькова О. М.** Опыт работы по диагностике энтеровирусных инфекций у детей г. Екатеринбурга / Оленькова О. М., Ковтун О. П., Субботина Н. С., Сбитнева Н. Н., Стародубова И. Г., Бейкин Я. Б. // Сборник трудов под ред. академика РАН В.И.Покровского «Молекулярная диагностика - 2014» (VIII Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием), Москва, 2014. - С. 421-422.

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
н/т ЦПА	нетипирующийся цитопатогенный агент
РН	реакция нейтрализации
РЗМ	ригидность затылочных мышц

Оленькова Ольга Михайловна

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

14.01.08 – педиатрия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Автореферат напечатан по решению диссертационного совета
ГБОУ ВПО УГМУ Минздрава России от 02.06.2015 г.