© Коллектив авторов, 2018

DOI: 10.24110/0031-403X-2019-98-1-53-56
https://doi.org/10.24110/0031-403X-2019-98-1-53-56

М.А. Никольский[1], А.А. Вязовая[2], В.Е. Ведерников[3], О.В. Нарвская[2], Д.А. Лиознов[1,2], Н.Н. Смирнова[1], А.В. Полунина[1], А.Г. Бурмистрова[1], М.А. Золотова[4]

МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВИРУСА ГЕРПЕСА ЧЕЛОВЕКА 6-го ТИПА У ПАЦИЕНТОВ С РАЗЛИЧНЫМИ ВАРИАНТАМИ ТЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ

[1]ФГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ; [2]ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, [3]ГК «Алкор Био», [4]ГБУЗ Детская городская клиническая больница № 5 им. Н.Ф. Филатова, г. Санкт-Петербург, РФ

Вирус герпеса человека 6-го типа (ВГЧ-6) с 2012 г. разделен на два отдельных биологических вида: ВГЧ-6А и ВГЧ-6В. Географическая распространенность этих вирусов различается, при этом данные о том, какой вариант превалирует в России, отсутствуют. Целью нашей работы явилось определение молекулярно-биологических свойств возбудителя у пациентов с ВГЧ-6 инфекцией. Материалы и методы исследования: в исследование включены 200 больных. Использовали качественный и количественный метод ПЦР, определение генотипа ВГЧ-6 проводили с помощью собственной экспериментальной тест-системы. Результаты: впервые показано, что вирусная нагрузка у пациентов с внезапной экзантемой была достоверно выше, чем у пациентов с лихорадкой без сыпи (p<0,05). У всех больных был определен ВГЧ-6 генотипа В. Требуются дальнейшие более масштабные исследования для клинико-эпидемиологической характеристики ВГЧ-6-инфекции в России.

Ключевые слова: *ВГЧ-6, генотипы ВГЧ-6, внезапная экзантема, лихорадка без сыпи, дети.*

Цит.: *М.А. Никольский, А.А. Вязовая, В.Е. Ведерников, О.В. Нарвская, Д.А. Лиознов, Н.Н. Смирнова, А.В. Полунина, А.Г. Бурмистрова, М.А. Золотова. Молекулярно-биологическая характеристика вируса герпеса человека 6-го типа у пациентов с различными вариантами течения заболевания. Педиатрия. 2019; 98 (1): 53–56.*

M.A. Nikolsky[1], A.A. Vyazovaya[2], V.E. Vedernikov[3], O.V. Narvskaya[2], D.A. Lioznov[1,2], N.N. Smirnova[1], A.V. Polunina[1], A.G. Burmistrova[1], M.A. Zolotova[4]

MOLECULAR AND BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF HUMAN HERPES VIRUS TYPE 6 IN PATIENTS WITH DIFFERENT VARIANTS OF THE DISEASE COURSE

[1]Pavlov First Saint Petersburg State Medical University; [2]Pasteur Institute of Epidemiology and Microbiology; [3]Alkor Bio CG; [4]N.F. Filatov Children's City Clinical Hospital № 5, St. Petersburg, Russia

Human herpes virus type 6 (HHV6) since 2012 has been divided into two separate species: HHV6A and HHV6B. The geographic prevalence of these viruses varies, and there is no information on which variant prevails in Russia. Objective of the research – to determine molecular and biological characteristics of the pathogen in patients with HHV6 infection. Materials and methods: 200 patients were included in the study. A qualitative and quantitative method of PCR was used, the determination of the HHV6 genotype was performed using authors own experimental test system. Results: for the first time it was proved that viral load in patients with sudden exanthema was significantly higher than in patients with fever without rash (p<0,05). All patients had HHV6 genotype B. Further more extensive studies are required for the clinical and epidemiological characteristics of HHV6 infections in Russia.

Контактная информация:
Никольский Михаил Андреевич – врач-педиатр, к.м.н., асс. каф. педиатрии ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова
Адрес: Россия, 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6/8
Тел.: (921) 864-64-48, **E-mail:** nicolm@inbox.ru
Статья поступила 20.02.18, принята к печати 6.06.18.

Contact Information:
Nikolsky Mikhail Andreevich – pediatrician, Ph.D., assistant of Pediatrics Department, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University
Address: Russia, 197022, St. Petersburg, Lva Tolstogo str., 6/8
Tel.: (921) 864-64-48, **E-mail:** nicolm@inbox.ru
Received on Feb. 20, 2018, submitted for publication on Jun. 6, 2018

Keywords: *HHV6, HHV6 genotypes, sudden rash, fever without rash, children.*

Quote: *M.A. Nikolsky, A.A. Vyazovaya, V.E. Vedernikov, O.V. Narvskaya, D.A. Lioznov, N.N. Smirnova, A.V. Polunina, A.G. Burmistrova, M.A. Zolotova. Molecular and biological characteristics of human herpes virus type 6 in patients with different variants of the disease course. Pediatria. 2019; 98 (1): 53–56.*

Вирус герпеса человека 6-го типа (ВГЧ-6) был открыт в 1986 г. [1]. В 1987 г. и 1988 г. в Африке были выявлены штаммы того же вируса, названные U1102 (Уганда) и Z29 (Заир) [2, 3]. По мере наблюдения и накопления данных стало понятно, что найденные в разных географических областях штаммы ВГЧ-6 представляют два варианта, различающиеся по молекулярным, биологическим и эпидемиологическим характеристикам [4, 5].

В 1992 г. в научном сообществе был достигнут консенсус по выделению вариантов А и В внутри одного вида ВГЧ-6 [6]. К настоящему времени полногеномное секвенирование подтвердило принадлежность ВГЧ-6А и ВГЧ-6В к семейству герпесвирусов. Установлено, что геномы этих двух вариантов в целом совпадают на 90%, хотя различие ряда нуклеотидных последовательностей может достигать 30% [7, 8].

В 2009 г. был создан Специальный комитет по геномной дивергенции ВГЧ-6А и ВГЧ-6В [9]. В 2012 г. Международный комитет по таксономии вирусов (ICTV) официально ратифицировал разделение ВГЧ-6А и ВГЧ-6В как разных вирусов, поместив их в род *Roseolovirus*, подсемейство *Betaherpesvirinae*, семейство *Herpesviridae*, отряд *Herpesvirales* [10].

Географическая распространенность подтипов ВГЧ-6 отличается. В то же время возможна коинфекция обоими вирусами [11]. В США, Великобритании и Японии 97–100% случаев первичной инфекции ВГЧ-6 вызываются ВГЧ-6В и регистрируются у пациентов в возрасте от 6 до 18 мес [12]. Об эпидемиологии ВГЧ-6А известно намного меньше. Установлено, что первичная инфекция ВГЧ-6А значительно чаще встречается на Африканском континенте. В этом регионе она регистрируется в более старшем возрасте и протекает бессимптомно [13], но также вызывает розеолу и лихорадку без сыпи [14, 15].

При реактивации ВГЧ-6 у пациентов с иммунодефицитом, например, после пересадки органов или гемопоэтических стволовых клеток, оба вируса вызывают такие тяжелые заболевания, как энцефалит, пневмония, гепатит. Во взрослой популяции ВГЧ-6 типа А ассоциирован с рассеянным склерозом и рядом других заболеваний [16, 17].

Оба варианта ВГЧ-6 могут интегрироваться в хромосомы человека и передаваться по наследству. Более того, Arbucle и соавт. (2011) считают, что хромосомная интеграция является единственным способом латенции для ВГЧ-6А [18].

Данные о распространенности ВГЧ-6А и ВГЧ-6В в Российской Федерации ограничены. В периодической отечественной научной литературе мы нашли одно исследование типирования ВГЧ-6 у 20 детей в возрасте от 1 года до 11 лет с острыми лихорадочными заболеваниями (ВГЧ-6А выявили у 9 детей, тип В – у 3 обследуемых) [19]. Однако в статье не указан способ генотипирования.

Существующие серологические методы не позволяют определить вариант возбудителя, вызвавшего ВГЧ-6-инфекцию. Для определения вариантов ВГЧ-6 используют молекулярно-биологический метод – полимеразную цепную реакцию (ПЦР). В то же время в России не зарегистрированы тест-системы для генотипирования ВГЧ-6, что ограничивает возможности определения его вариантов в клинической практике и для научных целей. В 2015 г. нами совместно с ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера и ООО «Вега» была разработана первая в России экспериментальная методика для определения типа ВГЧ-6 методом ПЦР в режиме реального времени (патент № 2627607 от 28.09.16). Таким образом, представляется актуальным определение превалирующего варианта ВГЧ-6 в Российской Федерации.

Целью нашей работы явилось определение генотипа возбудителя у пациентов с ВГЧ-6 инфекцией в Российской Федерации.

Материалы и методы исследования

Сбор образцов ДНК ВГЧ-6 проводили у пациентов с клиническими и/или лабораторными проявлениями ВГЧ-6-инфекции в трех клинических центрах Санкт-Петербурга в феврале 2015 – апреле 2016 гг.

Критериями включения в исследование были подозрение на острую ВГЧ-6-инфекцию: клиническая картина внезапной экзантемы, фебрильные судороги, лихорадка в сочетании с лейкопенией.

В Детской городской клинической больнице им. Н.Ф. Филатова (ДГКБ № 5) в исследование включены 684 ребенка; в НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой (НИИДОГиТ) ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова – 10 детей с онкогематологическими заболеваниями, обследованных до и после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Также в исследование были включены образцы ДНК ВГЧ-6, выделенные из слюны 48 пациентов различного возраста (от 1 года до 55 лет), обследованных в Медицинском центре ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера.

Для выявления ДНК ВГЧ-6 методом качественной ПЦР в плазме или сыворотке крови использовали

Таблица 1

Распределение пациентов в зависимости от вирусной нагрузки ВГЧ-6 в плазме или сыворотке крови (копии/мл и Lg)

Вирусная нагрузка ВГЧ-6	Копии/мл (30–100)	Копии/мл (200–1100)	Копии/мл (1200–10 800)	Копии/мл (13 000–76 400)	Копии/мл (90 900–320 000)
	1,5 Lg – 2 Lg	2,3 Lg – 3,0 Lg	3,1 Lg – 4,0 Lg	4,1 Lg – 4,9 Lg	5,0 Lg – 5,5 Lg
Число пациентов	10	26	72	35	6

Таблица 2

Диагнозы и возраст пациентов с первичной ВГЧ-6-инфекцией (ДГКБ № 5)

Диагноз (всего пациентов)	Новорожденные	1–12 мес	1–2 года	Старше 2 лет
Только ВЭ (73)	7	51	8	7
ВЭ+ОКИ (19)	3	11	4	1
ВЭ+ОРЗ (26)	1	11	11	3
ВЭ+ангина (7)	0	3	3	1
ВЭ+ФС (13)	0	5	8	0
ЛС (8)	0	3	5	0
Итого 146	11	84	39	12

тест-систему «ДНК-технология» (Россия). Из образцов с положительным результатом ПЦР выделяли ДНК вируса и сохраняли ее при температуре –25 ^{0}С.

Дальнейшую работу по изучению молекулярно-биологических свойств ВГЧ-6 осуществляли в лаборатории молекулярной эпидемиологии и эволюционной генетики ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, где выполняли количественное определение ДНК ВГЧ-6 с помощью тест-системы «АмплиСенсHHV-6-скрин-титр-FL» (Россия) и генотипирование ВГЧ-6 с помощью экспериментальной реал-тайм ПЦР.

Для дифференциального диагноза с ВГЧ-7 у всех пациентов также производили качественную ПЦР («Изоген», Россия).

Протокол исследования был одобрен Этическим комитетом ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. Все лабораторные исследования проводили в рамках рутинной клинической практики. Добровольное информированное согласие родителей получали в момент госпитализации ребенка.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием t-критерия Стьюдента, количественные данные оценивали, вычисляя среднее (M), ошибку среднего (m), достигнутый уровень значимости (p). Статистически значимыми считали различия при доверительном интервале 95% ($p<0,05$).

Результаты и их обсуждение

Из 684 пациентов, включенных в исследование в ДГКБ № 5 им. Н.Ф. Филатова, у 153 (22%) пациентов был выявлен ВГЧ-6 в плазме или сыворотке крови. Возраст пациентов варьировал от 14 дней до 30 мес. Среди них было 80 мальчиков (54%) и 69 девочек (46%). У 4 пациентов одновременно с ВГЧ-6 в плазме крови был выявлен ВГЧ-7.

Из 10 пациентов НИИДОГиТ у 3 пациентов (возраст: один – 14 мес и двое – по 5 лет, 2 мальчика и одна девочка) был выявлен ВГЧ-6 в плазме крови.

Количественное определение числа копий ВГЧ-6 в плазме крови выполнили у 146 пациентов из ДГКБ № 5 им. Н. Ф. Филатова и у 3 из НИИДОГиТ.

Количество копий ВГЧ-6 в 1 мл плазмы или сыворотки крови варьировало от 30 до 320 000 (от 1,5 до 5,5 lg) (табл. 1). Среднее число копий вируса составило 18 078±4063 копий/мл (4,3 lg). У всех 3 пациентов НИИДОГиТ отмечались низкие уровни ВГЧ-6 в плазме (от 100 до 300 копий/мл), среднее значение – 166±54 копий/мл.

Клинически ВГЧ-6-инфекция у подавляющего числа больных ДГКБ № 5 (138 чел., 95%) была представлена в форме внезапной экзантемы (ВЭ), из них у 13 пациентов (9%) она протекала с фебрильными судорогами (ФС). Среди пациентов с ФС преобладали пациенты мужского пола (10 чел. – 77%).

В ряде случаев ВЭ регистрировалась у пациентов, поступивших с острой кишечной инфекцией (ОКИ), острыми респираторными заболеваниями (ОРЗ), а также с ангиной (табл. 2). У 8 детей (5%) зарегистрировали лихорадку без сыпи (ЛС).

При сопоставлении клинических диагнозов и вирусной нагрузки ВГЧ-6 у пациентов ДГКБ № 5 выявлено, что при ВЭ (как изолированной, так и в сочетании с другими диагнозами) среднее количество копий ВГЧ-6 было примерно в 2 раза выше, чем у пациентов с ЛС и у пациентов с ФС. При статистическом анализе выявлено достоверное различие между количеством копий у пациентов с ВЭ и ЛС ($p<0,05$) (табл. 3).

Определение генотипа ВГЧ-6 провели у 149 пациентов ДГКБ № 5, у 3 пациентов НИИДОГиТ и 48 образцов ДНК, поступивших из Медицинского центра ФБУН НИИ им. Пастера.

Таким образом, для определения вариан-

Таблица 3

Характеристика пациентов с разными вариантами течения ВГЧ-6-инфекции (ДГКБ № 5)

Диагноз	Возраст, мес	Пол (м/ж, %)	Среднее число копий ВГЧ-6 в мл (M±m)
ВЭ (125)	11,9±0,7	60/55 (52/48)	20 459±4700*
ЛС (8)	11,4±1,8	5/3 (62/38)	8371±3332*
ВЭ+ФС (13)	11,2±1,1	10/3 (77/23)	9864±4159

*p<0,05.

та ВГЧ-6 были отобраны 200 образцов ДНК. Проведенный молекулярно-биологический анализ ДНК ВГЧ-6 выявил во всех образцах присутствие ВГЧ-6 типа В.

Заключение

Полученные данные соответствуют современным представлениям о географическом распределении вариантов ВГЧ-6. Так же, как в Северной Америке, Европе и Азии, нами выявлено абсолютное превалирование ВГЧ-6В в обследованной популяции.

Основная клиническая форма ВГЧ-6-инфекции в первые 2 года жизни – ВЭ, реже встречаются ФС и ЛС. У 4 пациентов была выявлена коинфекция ВГЧ-6 и ВГЧ-7.

В настоящее время в научном сообществе не принят консенсус по взаимосвязи между вирусной нагрузкой ВГЧ-6 и клиническими формами и стадиями инфекции, вследствии нестандартизированного подхода и разнообразия используемых тест-систем и биологических материалов для исследования. Однако нами установлено, что среднее количество копий ДНК ВГЧ-6 у пациентов с ВЭ было достоверно выше (p<0,05), чем у больных с ЛС.

Небольшая выборка нашей работы не дает возможности экстраполировать результаты на российскую популяцию. Требуются дальнейшие более масштабные исследования для клинико-эпидемиологической характеристики ВГЧ-6-инфекции в России.

Конфликт интересов: *работа поддержана грантом правительства Санкт-Петербурга № 43-17 от 20.10.17.*

Nikolsky M.A. 0000-0001-9766-2577
Vyazovaya A.A. 0000-0001-9140-8957
Vedernikov V.E. 0000-0001-7260-8013
Narvskaya O.V. 0000-0002-0830-5808
Lioznov D.A. 0000-0003-3643-7354
Smirnova N.N. 0000-0002-0581-7285
Polunina A.V. 0000-0003-1847-8363
Burmistrova A.G. 0000-0001-6115-7720
Zolotova M.A. 0000-0002-3720-2103

Литература

1. *Salahuddin SZ, Ablashi DV, Markham PD, Josephs SF, Sturzenegger S, Kaplan M, Halligan G, Biberfeld P, Wong-Staal F, Kramarsky B.* Isolation of a new virus, HBLV, in patients with lymphoproliferative disorders. Science 1986; 234 (4776): 596–601.
2. *Downing RG, Sewankambo N, Serwadda D, Honess R, Crawford D, Jarrett R, Griffin BE.* Isolation of human lymphotropic herpes-viruses from Uganda. Lancet. 1987; 2 (8555): 390.
3. *Lopez C, Pellett P, Stewart J, Goldsmith C, Sanderlin K, Black J, Warfield D, Feorino P.* Characteristics of human herpesvirus-6. J. Infect. Dis. 1988; 157 (6): 1271–1273.
4. *Wyatt LS, Balachandran N, Frenkel N.* Variations in the replication and antigenic properties of human herpesvirus 6 strains. J. Infect. Dis. 1990; 162 (4): 852–857.
5. *Ablashi DV, Balachandran N, Josephs SF, Hung CL, Krueger GR, Kramarsky B, Salahuddin SZ, Gallo RC.* Genomic polymorphism, growth properties, and immunologic variations in human herpesvirus-6 isolates. Virology. 1991; 184 (2): 545–552.
6. *Ablashi D, Agut H, Berneman Z.* Human herpesvirus-6 strain groups: a nomenclature. Arch. Virol. 1993; 129 (1): 363–366.
7. *Isegawa Y1, Mukai T, Nakano K, Kagawa M, Chen J, Mori Y, Sunagawa T, Kawanishi K, Sashihara J, Hata A, Zou P, Kosuge H, Yamanishi K.* Comparison of the complete DNA sequences of human herpesvirus 6 variants A and B. J. Virol. 1999; 73 (10): 8053–8063.
8. *Dominguez G, Dambaugh TR, Stamey FR, Dewhurst S, Inoue N, Pellett PE.* Human herpesvirus 6B genome sequence: coding content and comparison with human herpesvirus 6A. J. Virol. 1999; 73 (10): 8040–8052.
9. *Flamand L, Lautenschlager I, Krueger G, Ablashi D.* Human Herpesviruses HHV-6A, HHV-6B, and HHV-7. Diagnosis and Clinical Management. 3 ed. Elsevier, Oxford., 2014: 341.
10. *Adams MJ, Carstens EB.* Ratification vote on taxonomic proposals to the International Committee on Taxonomy of Viruses. Arch. Virol. 2012; 157 (7): 1411–1422.
11. *Leibovitch EC, Brunetto GS, Caruso B.* Coinfection of Human Herpesviruses 6A (HHV-6A) and HHV-6B as Demonstrated by Novel Digital Droplet PCR Assay. PLoS One. 2014; 9 (3): e92328. Published online 2014 Mar 24.
12. *Zerr DM, Meier AS, Selke SS, Frenkel LM, Huang ML, Wald A, Rhoads MP, Nguy L, Bornemann R, Morrow RA, Corey L.* A population-based study of primary human herpesvirus 6 infection. N. Engl. J. Med. 2005; 352 (8): 768–776.
13. *Bates M, Monze M, Bima H, Kapambwe M, Clark D, Kasolo FC, Gompels UA.* Predominant human herpesvirus 6 variant A infant infections in an HIV-1 endemic region of Sub-Saharan Africa. J. Med. Virol. 2009; 81 (5): 779–789.
14. *Agut H, Bonnafous P, Gautheret-Dejean A.* Update on infections with human herpesviruses 6A, 6B, and 7. Med. Mal. Infect. 2017; 47 (2): 83–91.
15. *Tembo J, Kabwe M, Chilukutu L, Chilufya M, Mwaanza N, Chabala C, Zumla A, Bates M.* Prevalence and risk factors for betaherpesvirus DNAemia in children >3 weeks and <2 years of age admitted to a large referral hospital in sub-Saharan Africa. Clin. Infect. Dis. 2015; 60 (3): 423–431
16. *Chapenko S, Trociukas I, Donina S, Chistyakov M, Sultanova A, Gravelsina S, Lejniece S, Murovska M.* Relationship between beta-herpesviruses reactivation and development of complications after autologous peripheral blood stem cell transplantation. J. Med. Virol. 2012; 84 (12): 1953–1960.
17. *Alvarez-Lafuente R, De Las Heras V, Bartolome M, Picazo JJ, Arroyo R.* Relapsing-remitting multiple sclerosis and human herpesvirus 6 active infection. Arch. Neurol. 2004; 61 (10):1523–1527.
18. *Arbuckle JH, Medveczky PG.* The molecular biology of human herpesvirus-6 latency and telomere integration. Microbes Infect. 2011; 13 (9): 731–741.
19. *Калугина М.Ю., Мелехина Е.В., Свитич О.А., Каражас Н.В. и др.* Роль изолятов ВГЧ-6 (ВГЧ-6А и ВГЧ-6В) в формировании первичных активных форм инфекций у детей/ материалы конференции Terra MEDICA. 2015; 1–2: 81–82.