

UNIVERZITET U BEOGRADU

MEDICINSKI FAKULTET

Jelena M. Martić

**KLINIČKE I LABORATORIJSKE
OSOBENOSTI INFEKCIJE IZAZVANE
HERPES SIMPLEKS VIRUSOM KOD
NOVOROĐENE DECE**

doktorska disertacija

Beograd, 2016

UNIVERSITY OF BELGRADE

SCHOOL OF MEDICINE

Jelena M. Martić

**CLINICAL AND LABORATORY
CHARACTERISTICS
OF HERPES SIMPLEX VIRUS INFECTION
IN NEWBORN INFANTS**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2016

Mentor

Prof.dr. Borisav Janković, redovni profesor,
Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Komentor

Prof. dr Aleksandra Knežević, vanredni profesor,
Institut za mikrobiologiju i imunologiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Članovi komisije

Prof. dr Tanja Jovanović, redovni profesor,
Institut za mikrobiologiju i imunologiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beograd

Prof. dr Srđan Pašić, vanredni profesor,
Institut za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije „dr Vukan Čupić”,
Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Prof. dr Svjetlana Maglajlić Đukić, redovni profesor,
Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Rezime

KLINIČKE I LABORATORIJSKE OSOBENOSTI INFEKCIJE IZAZVANE HERPES SIMPLEKS VIRUSOM KOD NOVOROĐENE DECE

Cilj rada: analiza kliničkih i laboratorijskih karakteristika novorođenčadi sa infekcijom izazvanom Herpes simpleks virusom (HSV). Procena učestalosti neonatalnog herpesa (NH) u našoj sredini. Ispitivanje korelacije seroloških i molekularnih metoda dijagnostike. Definisane kriterijuma za dijagnostičke i terapijske postupke.

Materijal i metode: Analizirani su podaci o novorođenčadi i odojčadi uzrasta ≤ 45 dana sa sumnjom na infekciju HSV u periodu od januara 2003. do maja 2015. godine. Dokazana HSV infekcija je podrazumevala ispoljenu kliničku sliku NH i pozitivan PCR i/ili serologiju na HSV. Za ispitivanje incidencije NH korišćeni su podaci Republičkog zavoda za statistiku Srbije. Analizirane su kliničke manifestacije, laboratorijske analize, ishod lečenja, kao i kvantifikovanje težine bolesti korišćenjem skorova SNAP II i SNAPPE II. Za statističku analizu korišćene su deskriptivne i analitičke metode.

Rezultati: Studija ima 168 ispitanika, 29 sa dokazanom, 133 sa suspektom i 6 sa asimptomskom HSV infekcijom. Incidencija NH tokom ispitivanog perioda je 3,01 na 100.000 živorođenih. U periodu 2010-2015. godine, sa uvođenjem rutinske PCR dijagnostike zabeležen je porast incidencije na 4,78 na 100 000 živorođenih. Najveći broj novorođenčadi sa dokazanom infekcijom, 72,45%, imao je herpesni encefalitis, 24,1% je imalo diseminovani oblik i 3,5% lokalizovani oblik bolesti. Većina infekcija uzrokovana je HSV-2 tipom (55,2%). Teži oblik bolesti imala su novorođenčad sa HSV-1 infekcijom. Ukupna smrtnost iznosila je 13,8%.

Zaključak: Učestalost neonatalnog herpes u našoj populaciji odgovara učestalosti u ostalim evropskim zemljama. Sa unapređenjem dijagnostičkih metoda očekujemo dalji porast incidencije. Osobnosti NH u našoj sredini su veći broj HSV-2 infekcija i češća pojava herpes encefalitisa. Smrtni ishod je češći kod HSV-1 infekcije.

Cljučne reči: herpes simpleks virus, infekcija, novorođenče

Abstract

CLINICAL AND LABORATORY CHARACTERISTICS OF HERPES SIMPLEX VIRUS INFECTION IN NEWBORN INFANTS

Aim of study: Analysis of clinical and laboratory characteristics of newborns with Herpes simplex virus infection (HSV). Estimation of neonatal herpes incidence (NH) in our population. Correlation of serological and PCR tests. Comparison between suspected and confirmed cases of NH in order to define diagnostic and therapeutic protocol.

Material and methods: Medical records of infants age ≤ 45 days with suspected NH, from January 2003 to May 2015. A confirmed case of NH was defined in an infant with clinical signs compatible with HSV disease and positive serology or PCR for HSV. Incidence was calculated by using Statistical Office of Republic of Serbia's data of live births. We analyzed clinical manifestations, laboratory analysis, treatment outcome and predicting scores (SNAP II and SNAPPE II). Descriptive and analytic statistical methods were used for analysis of study results.

Results: There were 168 infants, 133 with suspected, 29 with confirmed and 6 with asymptomatic HSV infection. Incidence of NH during the study period was 3.01 per 100.000 live births. Rise of incidence to 4.78 per live births 100.000 was noted after 2010. Majority of infants, 72.45%, presented with encephalitis, 24.1% had disseminated and 3,5% localized disease. Majority of infections were caused by HSV-2 (55.2%). Mortality was 13.8%, mostly accompanied with HSV-1 disease.

Conclusion: Incidence of NH in our population is similar to other European countries. The rise of incidence was observed with improvement of HSV diagnostics. Characteristics of NH in our population are predominance of HSV-2 infections and herpes encephalitis. Mortality in our group is in accordance with other reports of NH.

Key words: herpes simplex virus, infection, newborn

Sadržaj

1. UVOD	10
1.1. Herpes simpleks virus	11
1.1.1. Struktura Herpes simpleks virusa	12
1.2 Patogeneza Herpes simpleks virusne infekcije.....	13
1.3. Kliničko ispoljavanje infekcije Herpes simpleks virusima	15
1.3.1. Infekcija Herpes simpleks virusom tip 1.....	15
1.3.2. Infekcija Herpes simpleks virusom tip 2.....	15
1.4. Infekcija novorođenčeta herpes simpleks virusom	16
1.4.1. Epidemiologija Herpes simpleks infekcije novorođenčeta.....	16
1.4.2. Genitalni herpes.....	17
1.4.3. Rizik za nastanak infekcije novorođenčeta kod trudnica sa genitalnim herpesom.....	19
1.5. Učestalost neonatalne Herpes simpleks virus infekcije	21
1.6. Etiologija neonatalne Herpes simpleks virus infekcije	22
1.7. Intrauterusna herpes simpleks virus infekcija	22
1.8. Kliničke manifestacije neonatalnog herpesa	24
1.8.1. Lokalizovani oblik (koža, oči i usna duplja)	24
1.8.2. Herpes encefalitis novorođenčeta	27
1.8.3. Diseminovana infekcija novorođenčeta	29
1.9. Laboratorijska dijagnostika Herpes simpleks virusne infekcije	31
1.9.1. Serološka dijagnostika	31
1.9.2. Virusološka dijagnostika	31
1.10. Preporuke za dijagnostiku neonatalne herpes simpleks virus infekcije	34
1.11. Lečenje neonatalnog herpesa.....	35
1.11.1. Oralna supresivna terapija nakon preležanog neonatalnog herpesa.....	39
1. 12. Prevencija neonatalnog herpesa.....	40
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	47
3. MATERIJAL I METODOLOGIJA	49
3.1. Ispitanici.....	50
3.2. Laboratorijska dijagnoza	51

3.3. Incidencija neonatalnog herpesa	52
3.4. Analiza karakteristika ispitanika	53
3.5. Kvantifikovanje težine bolesti	55
3.6. Statističke metode	57
4. REZULTATI	58
4.1. Podela ispitanika na grupe	59
4.2. Incidencija neonatalnog herpesa	60
4.3. Osnovne karakteristike ispitanika s dokazanom HSV infekcijom	61
4.4. Poređenje novorođenčadi sa suspektom i dokazanom HSV infekcijom	64
4.4.1. Poređenje osnovnih karakteristika novorođenčadi sa suspektom i dokazanom HSV infekcijom	64
4.4.2. Poređenje znakova i simptoma bolesti novorođenčadi sa suspektom i dokazanom HSV infekcijom	69
4.4.3. Poređenje laboratorijskih parametara između novorođenčadi sa suspektom i dokazanom HSV infekcijom	73
4.4.4. Poređenje elektroencefalografskih, oftalmoloških i neuroradioloških ispitivanja kod novorođenčadi sa suspektom i dokazanom HSV infekcijom	79
4.4.5. Poređenje analiza cerebrospinalne tečnosti kod novorođenčadi sa suspektom i dokazanom HSV infekcijom	80
4.4.6. Poređenje seroloških i PCR testova kod novorođenčadi sa suspektom i dokazanom HSV infekcijom	82
4.4.7. Poređenje anamnestičkih podataka o izvoru infekcije između novorođenčadi sa suspektom i dokazanom HSV infekcijom	84
4.4.8. Poređenje ishoda bolesti novorođenčadi sa suspektom i dokazanom HSV infekcijom	88
4.4.9. Poređenje primene terapije kod novorođenčadi sa suspektom i dokazanom HSV infekcijom	90
4.4.10. Poređenje skorova SNAP II i SNAPPE II između novorođenčadi sa suspektom i dokazanom HSV infekcijom	91
4.5. Rezultati poređenja HSV-1, HSV-2 i netipizovanog oblika HSV infekcije kod novorođenčadi	96
4.5.1. Analiza oblika bolesti kod novorođenčadi s dokazanom HSV infekcijom i poređenje između grupa sa HSV-1, HSV-2 i netipizovanom HSV infekcijom	97
4.5.2. Poređenje osnovnih karakteristika novorođenčadi s HSV-1, HSV-2 i netipizovanom infekcijom	98

4.5.3. Poređenje znakova i simptoma bolesti novorođenčadi HSV-1, HSV-2 i netipizovanom infekcijom	101
4.5.4. Poređenje laboratorijskih parametara novorođenčadi sa HSV-1, HSV-2 i netipizovanom infekcijom	106
4.5.5. Poređenje elektroencefalografskih, oftalmoloških i neuroradioloških ispitivanja novorođenčadi s HSV-1, HSV-2 i netipizovanom HSV infekcijom.....	110
4.5.6. Poređenje analiza cerebrospinalne tečnosti kod novorođenčadi sa HSV-1, HSV-2 i netipizovanom HSV infekcijom	111
4.5.7. Poređenje seroloških i PCR testova kod novorođenčadi sa HSV-1, HSV-2 i netipizovanom HSV infekcijom.....	113
4.5.8. Poređenje anamnestičkih podataka o izvoru infekcije između novorođenčadi s HSV-1, HSV-2 i netipizovanom infekcijom	115
4.5.9. Poređenje ishoda bolesti novorođenčadi sa HSV-1, HSV-2 i netipizovanom HSV infekcijom	117
4.5.10. Poređenje primene terapije kod novorođenčadi sa HSV-1, HSV-2 i netipizovanom HSV infekcijom.....	119
4.5.11. Poređenje skorova SNAP II i SNAPPE II između novorođenčadi s HSV-1, HSV-2 i netipizovanom HSV infekcijom	120
4.6. Prikaz novorođenčeta sa dualnom Herpes simpleks virus infekcijom.....	123
4.7. Poređenje novorođenčadi s herpes encefalitisom i diseminovanom HSV infekcijom	124
4.7.1. Poređenje karakteristika novorođenčadi s herpes encefalitisom i diseminovanom HSV infekcijom	124
4.7.2. Poređenje znakova i simptoma bolesti između novorođenčadi sa herpes encefalitisom i diseminovanom HSV infekcijom.....	126
4.7.3. Poređenje laboratorijskih parametara između novorođenčadi s herpes encefalitisom i diseminovanom HSV infekcijom.....	128
4.7.4. Poređenje nalaza u cerebrospinalnoj tečnosti kod novorođenčadi s herpes encefalitisom i diseminovanom HSV infekcijom.....	130
4.7.5. Poređenje elektroencefalografskih, oftalmoloških i neuroradioloških ispitivanja kod novorođenčadi s herpes encefalitisom i diseminovanom HSV infekcijom.....	131
4.7.6. Poređenje ishoda bolesti novorođenčadi s herpes encefalitisom i diseminovanom HSV infekcijom	132
4.7.7. Poređenje vrednosti SNAP II i SNAPPE II skora novorođenčadi s herpes encefalitisom i diseminovanom HSV infekcijom.....	133

4.8. Karakteristike novorođenčadi s asimptomskom HSV infekcijom	134
5. DISKUSIJA.....	136
6. ZAKLJUČCI.....	160
7. LITERATURA.....	163
8. PRILOG	177

1. UVOD

Infekcija Herpes simpleks virusom prepoznata je još u vreme antičke Grčke. Istoričar Herodot, opisao je pojavu ulceracija u usnoj duplji i vezikula na usnama, koji su bili praćeni povišenom temperaturom i nazvao je *herpes febrilis*. Reč herpes je grčkog porekla, potiče od reči *herpein* i opisuje način širenja herpetičnih lezija po koži, a doslovno bi značila „puzati, miletiti”. Rimski imperator *Tiberius* je prepoznao herpes kao zaraznu bolest, a da bi sprečio širenje labijalne infekcije, uveo je „zabranu ljubljenja na javnim skupovima”. Prvi pokušaji lečenja herpesa takođe potiču iz staroga Rima, od lekara Celzusa, koji je herpetične promene spaljivao usijanim gvožđem. U 16. veku, Šekspir u svojoj tragediji „Romeo i Julija” daje prvi književni opis herpetičnih lezija kroz lik dame sa „plikom na usnama”. Genitalni herpes prvi put je opisao u 18. veku *Astruc*, lekar francuske kraljevske porodice. Tokom 19. veka objavljeni su brojni naučni radovi sa temom transmisije infekcije herpesom i razlikovanja ove infekcije od drugih sličnih bolesti. Prvi dijagnostički testovi, objašnjenja patofizioloških mehanizama i jasno opisane kliničke prezentacije infekcije Herpes simpleks virusom pojavili su se u 20. veku (1, 2).

1.1. Herpes simpleks virus

Herpes simplex virus (HSV) pripada familiji *Herpesviridae*. Ova familija obuhvata više od 100 različitih vrsta virusa. Infekcije kod ljudi izaziva osam virusa, nazvanih humani herpesvirusi (tabela 1-1). Na osnovu bioloških svojstava, brzine replikacije i tipa ćelije u kojima uspostavljaju latenciju humani herpesvirusi su svrstani u tri podfamilije: *Alfa*, *Beta* i *Gama herpesvirinae*.

Herpes simplex virusi pripadaju podfamiliji *Alpha herpesvirinae*, rodu *Simplexvirus*. U humanoj medicini značajna su dva tipa ovih virusa: HSV-1 i HSV-2. Oba tipa karakteriše brza replikacija u epitelnim ćelijama kože i mukoza, kao i uspostavljanje latentnog perioda u neuronima senzornih gangliona. Čovek je jedini prirodni domaćin HSV. S obzirom na veliku rasprostranjenost ovih virusa u populaciji, infekcije kod ljudi su veoma česte (3).

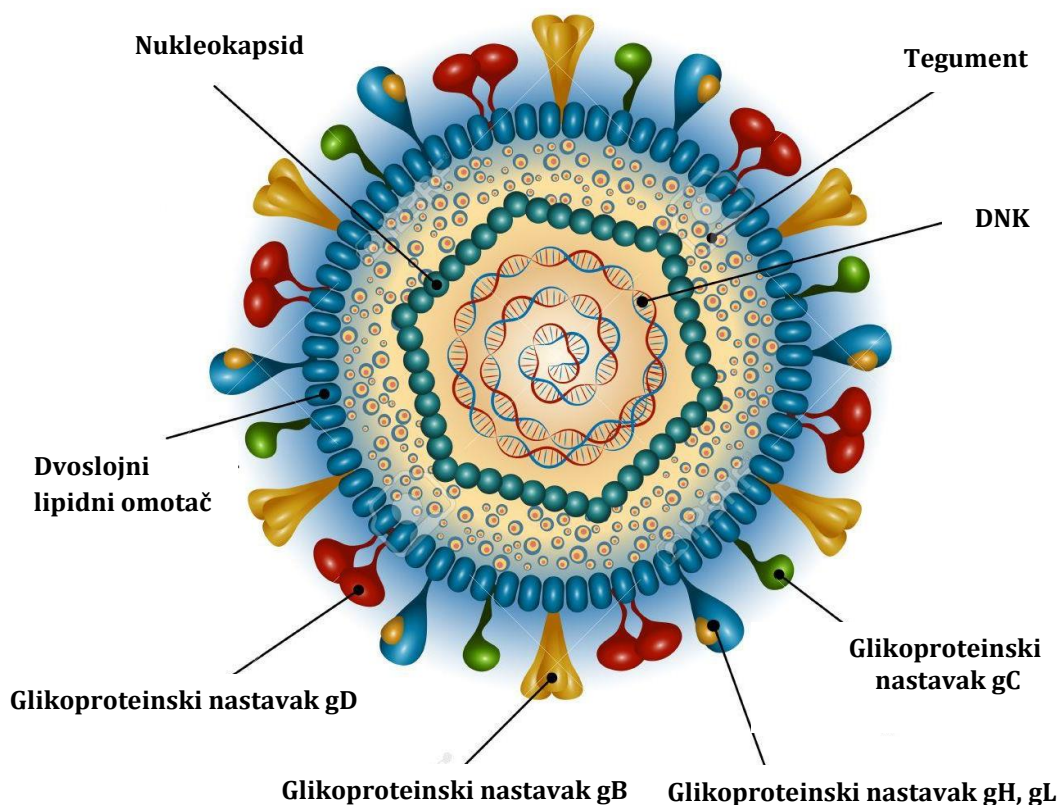
Tabela 1-1. Klasifikacija humanih herpesvirusa

PODFAMILIJA	ROD	VIRUSI
Alphaherpesvirinae	Rod Simplexvirus	Herpes simplex virus 1 (HSV-1) Herpes simplex virus 2 (HSV-2)
	Rod Varicellovirus	Varicella-zoster virus (VZV)
Betaherpesvirinae	Rod Cytomegalovirus	Humani cytomegalovirus (CMV)
	Rod Roseolovirus	Humani herpesvirus 6 (HSV-6) Humani herpesvirus 7 (HHV-7)
	Rod Lymphocryptovirus	Epstein-Barr virus (EBV)
Gammaherpesvirinae	Rod Rhadinovirus	Humani herpesvirus 8 (KSHV)-HHV8

1.1.1. Struktura Herpes simpleks virusa

Virion HSV je sferičnog oblika, veličine oko 200 nm i izgrađen je od ikosaedarnog nukleokapsida i dvoslojnog lipidnog omotača. Za herpesviruse je karakteristično da između spoljašnjeg omotača i kapsida imaju tegument, strukturu fibrilarne građe u kojoj se nalaze proteini značajni za životni ciklus virusa. To su: protein za transaktivaciju alfa-virusnih gena - *alpha* TIF, protein za rani prestanak sinteze ćelijskih proteina – VHS i veliki protein VHS 1-2 koji ima ulogu u prolasku virusne DNK kroz nuklearne pore nakon ulaska virusa u ćeliju. Kapsid *Herpesvirusa* je izgrađen od 162 prizmatične kapsomere. U njemu se nalazi dvolančana, linearna DNK sa terminalno umnoženim krajevima, veličine 150 kbp koja kodira oko 80 različitih proteina. Spoljašnji omotač vodi poreklo od jedarne membrane inficirane ćelije i ima sličnu strukturu. Na njemu se nalaze glikoproteinski nastavci u vidu izdanaka veličine oko 8-10 nm. Glikoproteinski nastavci imaju značajnu ulogu u patogenezi herpesvirusne infekcije, virusnoj infektivnosti, pripajanju i penetraciji u osetljivu ćeliju. Integritet ćelijske ovojnice je neophodan za infektivnost virusa (slika 1-1) (4,5). Herpesvirusi su zbog posedovanja ovog omotača osetljivi na etar i druge lipidne rastvarače, pa se mogu

inaktivisati standardnim dezinfekcionim sredstvima, kao i povišenom temperaturom, UV i gama zracima (3).



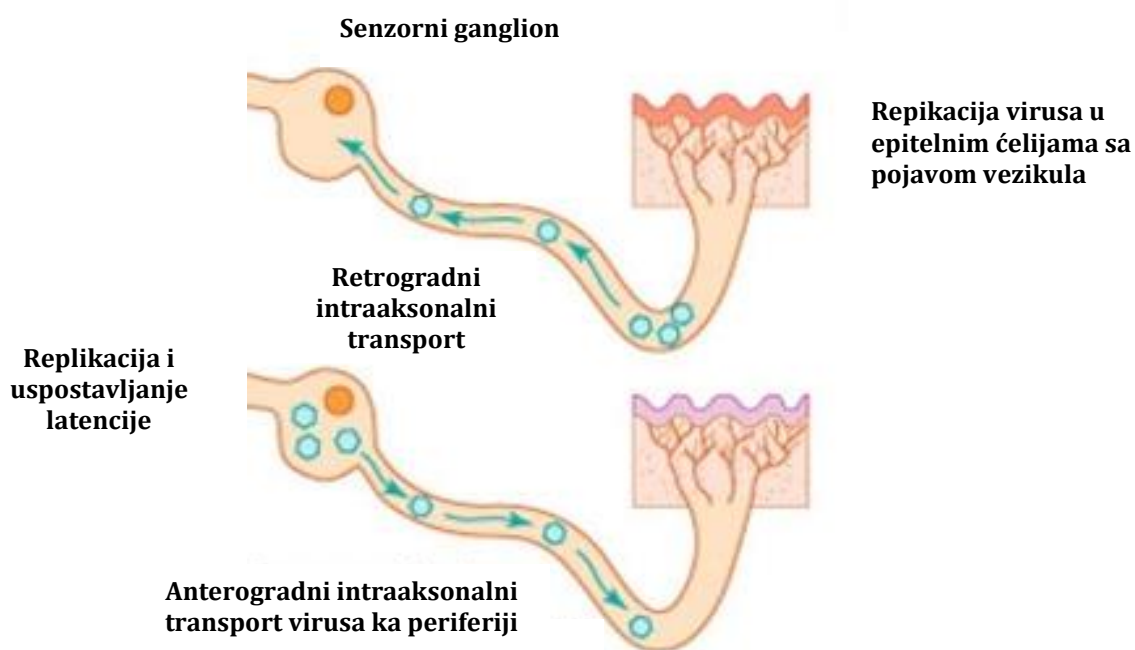
Slika 1-1. Struktura viriona Herpesvirusa

1.2 Patogeneza Herpes simpleks virusne infekcije

Herpes simplex virus ispoljava citocidan efekat na epitelne ćelije kože i mukoze. U toku replikacije virusa, u inficiranoj ćeliji dolazi do karakterističnih morfoloških promena u vidu balonirajuće degeneracije ćelije sa stvaranjem intrajedarnih inkluzija. Često dolazi do stvaranja džinovskih višejedarnih ćelija. Pored epitelnih, HSV je citocidan i za ćelije centralnog nervnog sistema (CNS), kako za neurone tako i astrocite (5). Infekcije CNS-a su česte, s obzirom na veliku virulenciju i izražen neurotropizam (6). Virus posebno pokazuje predilekciju za temporalni region velikog mozga.

Nasuprot citocidnom efektu za ćelije CNS-a, HSV ne ispoljava ovaj efekat za neurone senzornih gangliona u kojima uspostavlja latenciju. U njima se ne odigrava aktivna replikacija virusa, jer su neuroni senzornih gangliona nepropusni za HSV. Uspostavljanje i održavanje virusne latencije omogućava ekspesija ranih nestrukturnih gena virusa u senzornim ganglionima (7).

Herpes simpleks virus tip 1 najčešće uspostavlja latenciju u trigeminalnom ganglionu, dok HSV tip 2 latenciju uspostavlja u senzornim ganglionima sakralne regije. U senzorne ganglione virus dospeva sa periferije, intraaksonalnim retrogradnim transportom. Posebna karakteristika HSV je da za razliku od drugih neurotrofnih virusa, može da se intraaksonalnim putem transportuje u oba pravca, retrogradno i anterogradno, omogućavajući na taj način reaktivaciju i transport virusa na periferiju (slika 1-2). Pod dejstvom različitih faktora koji dovode do poremećaja homeostaze, kao što su stres, zračenje, izlaganje suncu, hormonske promene, dolazi do reaktivacije virusa, koji preko nervnih aksona anterogradnim transportom dospeva do permisivnih ćelija kože i sluzokože, gde se odigrava ponovna replikacija (3,5).



Slika 1-2. Uspostavljanje latencije i reaktivacije latentne HSV-1 infekcije

1.3. Kliničko ispoljavanje infekcije Herpes simpleks virusima

Infekcije HSV mogu biti manifestne ili mogu proći kao asimptomatske. Većina primarnih infekcija su asimptomatske i javljaju se još u detinjstvu (HSV-1) ili nakon adolescencije (HSV-2). Posle primarne infekcije osoba je doživotno nosilac virusa. Najveće izlučivanje virusa je u toku primarne simptomske infekcije, dok je najmanje u toku asimptomatske reaktivacije (8).

1.3.1. Infekcija Herpes simpleks virusom tip 1

Infekcija HSV-1 je rasprostranjena širom sveta, zastupljena je kako u razvijenim, tako i u nerazvijenim zemljama. Čovek je jedini prirodni domaćin i prenosilac infekcije. Najčešće, do infekcije dolazi već u detinjstvu, direktnim kontaktom ili kapljičnim putem. Prema podacima iz SAD, do pete godine života skoro 35% dece je prokuženo HSV-1. Veća prokuženost je zabeležana u grupacijama sa nižim socioekonomskim uslovima života. Prokuženost odraslih osoba HSV-1 tipom prelazi 70% u većini zemalja (9). Jedna od najčešćih manifestacija primarne HSV-1 infekcije, koja se javlja u oko jedne trećine inficiranih, je pojava akutnog gingivostomatitisa. Pored lokalnih promena, infekcija nekada može biti praćena i opštim simptomima sličnim mononukleozi. Reaktivacija se najčešće ispoljava u vidu herpes labialis. Pored toga, HSV-1 uzrokuje infekcije oka u vidu keratokonjunktivitisa ili iridociklitisa. Posebno mesto HSV tip 1 ima u etiologiji virusnih encefalitisa, kako kod dece tako i kod odraslih osoba. Poslednjih godina HSV-1 je sve više zastupljen kao uzročnik genitalnih infekcija i posledične neonatalne infekcije (8).

1.3.2. Infekcija Herpes simpleks virusom tip 2

Herpes simplex virus tip 2 primarno izaziva infekcije genitalnog trakta. S obzirom da se infekcija HSV-2 obično prenosi seksualnim kontaktom, prokuženost se postepeno povećava od perioda adolescencije, tako da kod žena generativnog

perioda u većini zemalja dostiže 25-30%. Učestalost ove infekcije korelira sa brojem seksualnih partnera. Primarna HSV infekcija, i kod žena i muškaraca obično protiče asimptomski, neprepoznata i od obolelog a često i od zdravstvenih radnika (8). Genitalna infekcija herpesom ima poseban značaj u etiologiji perinatalnih i neonatalnih infekcija. Najozbiljnija komplikacija genitalnog herpesa je HSV infekcija novorođenčeta.

U retkim slučajevima, može doći i do ukrštene infekcije sa oba tipa HSV. Dualna infekcija je opisana u slučaju genitalne infekcije, kao i posledične infekcije novorođenčeta (10, 11).

Česte i veoma ozbiljne infekcije HSV javljaju se kod osoba s oštećenim imunitetom (imunosupresivna terapija, maligne bolesti, opsežne hirurške intervencije ili transplantacija organa). Infekcije herpes virusima kod ove grupe bolesnika imaju mnogo teži klinički tok, a često i atipičnu prezentaciju u vidu pneumonije, encefalitisa, gastroenteritisa, ezofagitisa (5,8).

1.4. Infekcija novorođenčeta herpes simpleks virusom

Neonatalna HSV infekcija (uobičajeno neonatalni herpes-NH), prvi put je opisana sredinom tridesetih godina prošlog veka, kada je Hass prikazao histopatološki nalaz letalne HSV infekcije novorođenčeta i Batignani objavio nalaz HSV keratitisa kod novorođenčeta (12, 13). Tokom narednih decenija, detaljno su opisana klinička ispoljavanja ove infekcije, a od sedamdesetih godina i prva iskustva u primeni antivirusnih lekova (14). Uvođenje aciklovira u terapiju herpesnih infekcija imalo je revolucionarnu ulogu u lečenju NH. Uprkos značajnom smanjenju mortaliteta i morbiditeta, NH i dalje spada u najteže infekcije stečene tokom perinatalnog perioda (15).

1.4.1. Epidemiologija Herpes simpleks infekcije novorođenčeta

Neonatalna infekcija je najčešće posledica genitalnog herpesa majke. Naime, u više od 85% slučajeva infekcija nastaje u toku porođaja (intrapartusna infekcija).

Prolaskom kroz porođajni kanal plod dolazi u direktan kontakt sa uzročnikom prisutnim u sekretu majke ili do infekcije dolazi ascendentim putem, što je moguće i kroz naizgled intaktne plodove ovojke (8).

Znatno ređe, u oko 10% svih neonatalnih HSV infekcija, do transmisije dolazi nakon porođaja (postnatalna infekcija). Izvor postnatalne infekcije mogu biti članovi porodice ili osobe koje neguju novorođenče, a imaju aktivnu herpes infekciju (najčešće orolabijalni herpes, herpetične lezije na dojčkama majke i slično). Kao mogući uzrok postnatalno stečene infekcije navode se i nozokomijalne infekcije (16).

Kod manje od 5% obolele novorođenčadi, infekcija je nastala in utero (kongenitalna HSV infekcija) (8,16,17).

S obzirom na način nastanka infekcije novorođenčeta HSV, posebno mesto u epidemiologiji NH ima genitalna infekcija majke.

1.4.2. Genitalni herpes

Genitalni herpes, se kao glavni uzrok NH tradicionalno vezuje za infekciju HSV-2 tipom. Obzirom da infekcija ovim sojem uobičajeno nastaje seksualnim kontaktom, prokuženost se očekuje od perioda adolescencije da bi u populaciji žena generativnog perioda u većini zemalja dostigla 25-30% (18, 19, 20, 21). Epidemiološka istraživanja o serološkom statusu trudnica pokazala su da svaka peta trudnica ima antitela na HSV-2 (1, 22). Veća seroprevalencija sreće se u određenim populacijama u kojima postoji povećan rizik za nastanak infekcije. Činioci koji povećavaju rizik za nastanak infekcije HSV-2 su starosno doba, nepovoljni socioekonomski uslovi, niži stepen obrazovanja i veći broj seksualnih partnera (23). Naročit značaj za nastanak genitalnog herpesa ima stupanje u seksualne odnose sa većim brojem partnera, pa tako infekcija HSV-2 tipom postoji kod prosečno 10% žena koje imaju jednog, dok se može očekivati i kod 50% osoba koje su imale seksualno iskustvo sa više od 10 partnera (9).

Međutim, prema novijim izveštajima, u etiologiji genitalnog herpesa sve je zastupljeniji HSV tip 1. Ta pojava je naročito izražena u visokorazvijenim zemljama, tako da u SAD oko 50% genitalnih herpesa je uzrokovano HSV-1 tipom

(8). Velika učestalost HSV-1 genitalne infekcije registruje se i u skandinavskim zemljama gde iznosi do 40% slučajeva (24). Epidemiološki izveštaji iz 2015. godine pokazuju da je učestalost genitalne infekcije uzrokovane HSV-1 tipom veća u Americi, Evropi i zemljama Zapadnog Pacifika u odnosu na ostala područja (25). Kao glavni razlog za izmenu etiologije genitalne infekcije herpesom navode se „nestandardne“ seksualne navike, odnosno orogenitalni seksualni kontakt. Još jedan od razloga može ležati u činjenici da seroprevalencija HSV tipom 1 u populaciji adolescenata i mladih osoba beleži pad u poslednjoj dekadi. U vreme stupanja u seksualne odnose, mlade osobe su lišene protektivnog uticaja HSV-1 antitela što ih čini sklonijim nastanku genitalne infekcije (26).

Okolo 20 do 30% trudnica imaju antitela na HSV-2 (18,19). Kod njih se očekuju moguće reaktivacije infekcije u toku trudnoće. Smatra se da 75% trudnica koje su imale genitalni herpes pre trudnoće, ima bar jednu reaktivaciju infekcije u toku trudnoće. Kod trudnica koje nemaju antitela na HSV-1 i HSV-2 mogućnost da obole od genitalnog herpesa u trudnoći procenjena je na 4%, dok kod trudnica koje imaju samo HSV-1 antitela mogućnost da dobiju HSV-2 genitalnu infekciju je 2% (27).

Kao što je već istaknuto, u slučajevima kada NH nastaje usled vertikalne transmisije, 60-80% majki novorođenčadi obolele od HSV infekcije ne daje podatak o prethodnom postojanju genitalnog herpesa (26, 28, 29). Genitalni herpes u trudnoći se najčešće ispoljava u vidu asimptomatske infekcije ili protiče subklinički, neprepoznat od strane obolelih ili zdravstvenih radnika, naročito ukoliko se radi o naknadnoj ili rekurentnoj infekciji.

Klasičnu kliničku sliku genitalnog herpesa karakteriše pojava vezikula koje progrediraju do ulceracija, što je praćeno bolom u vidu žarenja i ingvinalnom limfadenopatijom. Kod određenog broja žena postoje i opšti poremećaji u vidu povišene telesne temperature, malaksalosti i mijalgija, dok se u 10-20 % slučajeva javlja dizurija (9, 30). U retkim slučajevima, dolazi do teškog oblika infekcije koja može i da ugrozi život trudnice, koji se manifestuje znacima hepatitisa sa insuficijencijom jetre, a diferencijalna dijagnoza je naročito otežana u odnosu na HELLP sindrom (*hemolysis, elevated liver enzymes, low platelet count*- hipertenzija udružena sa povišenom koncentracijom jetrinih enzima i sniženim brojem

trombocita) (31). Ovaj težak oblik infekcije se uglavnom viđa kod imunokompromitovanih osoba.

Mada se kod naknadne, a naročito rekurentne infekcije očekuju blaža klinička ispoljavanja nego kod primarne infekcije, klinička slika ne dozvoljava razlikovanje oblika infekcije. Obzirom da rekurentni genitalni herpes kao najčešći oblik genitalne infekcije HSV u trudnoći, veoma često ostaje neprepoznat, uprkos teorijski najmanjem riziku, predstavlja najčešći uzrok perinatalno nastale HSV infekcije novorođenčadi (9, 15).

1.4.3. Rizik za nastanak infekcije novorođenčeta kod trudnica sa genitalnim herpesom

Nastanak NH kao posledice genitalnog herpesa zavisi od toga da li se radi o primarnoj, naknadnoj ili rekurentnoj infekciji.

Primarna infekcija nastaje kod seronegativnih trudnica koje su genitalni herpes dobile tokom trudnoće. Smatra se da oko 10% seronegativnih trudnica ima seropozitivnog partnera i u slučaju takvih diskordinantnih parova rizik infekcije u trudnoći iznosi oko 2-4%. To su najčešće osobe sa višim stepenom obrazovanja kod kojih je način života, pre svega kontrolisane seksualne navike, sprečavao prethodnu infekciju bilo kojim sojem herpes virusa (9,15,31).

Naknadna infekcija (naziva se i prva epizoda ne-primarne infekcije) nastaje kod osoba koje su seropozitivne za jedan, a inficiraju se drugim sojem virusa.

Rekurentna infekcija predstavlja reaktivaciju infekcije, javlja se kod trudnica koje su prethodno bile seropozitivne, odnosno već imale infekciju sa jednim ili oba tipa virusa.

U zavisnosti od oblika infekcije majke, postoji i različit stepen rizika za nastanak neonatalne infekcije. Rizik je najveći u slučaju primarne infekcije. Tada se pojava bolesti kod novorođenčeta može očekivati u 50% slučajeva. Verovatnoća za nastanak infekcije novorođenčeta najmanja je kod rekurentne infekcije (tabela 1-2) (27, 32).

Tabela 1-2. Serološki status trudnice, oblik genitalne i rizik neonatalne infekcije

Serološki status trudnice (IgG antitela)	Oblik genitalne infekcije HSV	Rizik infekcije novorođenčeta HSV*
HSV 1/HSV 2 ∅	Primarna	50%
HSV 1 ∅/HSV 2 + HSV 1 +/HSV 2 ∅	Naknadna	25%
HSV 1 +/HSV 2+	Rekurentna	2%

* u slučaju infekcije trudnice

U slučaju primarne infekcije, odsustvo prethodnog imunskog „iskustva“ odgovorno je za izlučivanje velike količine virusa, čak do 1.000.000 virona na 0,2 ml inokuluma, u prosečnom trajanju od tri nedelje. Međutim, u slučaju rekurentne infekcije kod trudnica koje imaju IgG antitela na HSV, izlučivanje viriona je i do 1000 puta manje, a period izlučivanja kraći (ne duže od pet dana) (33). Treba napomenuti, da je rizik od nastanka infekcije novorođenčeta znatno veći ako do primarne infekcije majke dođe u poslednjem trimestru trudnoće (34, 35, 36). Prisustvo specifičnih antitela u serumu majke i njihov transplacentarni prelazak smanjuju rizik za nastanak infekcije novorođenčeta ili ublažavaju težinu bolesti. Ukoliko do infekcije dođe pred kraj trudnoće, rizik za neonatalnu infekciju je najveći jer nema dovoljno vremena za serokonverziju i izostaje pasivni transport antitela kroz placentu do ploda (20, 28, 32, 37, 38).

Pored oblika infekcije i serološkog statusa majke, faktori koji utiču na vertikalnu transmisiju i povećavaju rizik za nastanak NH su trajanje rupture plodovih ovojaka, način dovršetka porođaja (vaginalni ili carski rez), primena invazivnih procedura koje mogu narušiti kontinuitet kožne barijere novorođenčeta (primena fetalnih „skalp“ elektroda za monitoring ili instrumentalno dovršavanje porođaja) (8, 15, 32).

Dužina perioda od prsnuća plodovih ovojaka do porođaja srazmerna je riziku za nastanak fetalne infekcije. Ukoliko je taj period duži od šest sati, rizik za nastanak ascendentne HSV infekcije je značajno veći (8, 20, 39).

Očuvan integritet mukokutane barijere je od posebnog značaja za sprečavanje prodora virusa u cirkulaciju ploda. Najčešće, do narušavanja integriteta kože ploda dolazi usled potrebe za prenatalnim monitoringom, koji se sprovodi invazivno, aplikovanjem fetalnih „skalp elektroda“ za monitoring na poglavinu ploda. Na taj način se direktno stvara mesto za prodor virusa u organizam ploda (20, 30).

Carski rez predstavlja mogući način prevencije transmisije herpes infekcije sa majke na plod kod prisutnih aktivnih lezija (2). Rizik je manji ukoliko nije prošlo više od 4h od prsnuća plodovih ovojaka. Ipak, ova zaštita nije potpuna, do infekcije ploda može doći i uprkos carskom rezu sprovedenom pre rupture plodovih ovojaka. Zbog toga se mere prevencije NH ne razlikuju u slučaju porođaja carskim rezom ili vaginalnim putem ako trudnica ima aktivnu genitalnu leziju (20). Kod žena sa prethodnom anamnezom za genitalni herpes, a bez vidljivih lezija u trenutku porođaja ne savetuje se carski rez (20, 30).

1.5. Učestalost neonatalne Herpes simpleks virus infekcije

Postoje značajne varijacije u učestalosti NH u različitim delovima sveta. Najveća incidencija, koja se kreće od 8,4 do 69 na 100.000 živorođenih registrovana je u SAD (40). U mnogim sredinama, navodi se i povećanje incidencije NH tokom godina (15, 24, 40). U evropskim zemljama, učestalost NH je manja i kreće se od 1,6 na 100.000 živorođenih u Danskoj do 4,7 na 100.000 u Holandiji (41, 42). U medicinskoj literaturi uglavnom su dostupni podaci o učestalosti NH u visokorazvijenim zemljama Evrope, Kanadi, Australiji (43–45). Podaci o NH u zemljama srednje i istočne Evrope, kao i zemljama u razvoju za sada ne postoje. U našoj zemlji takođe, ne postoje podaci o učestalosti neonatalnog, kao ni o učestalosti genitalnog herpesa (46). Pilot-studija Knežević i saradnika, sprovedena tokom dvogodišnjeg perioda, skrenula je pažnju domaće medicinske javnosti na ovaj problem i pružila prve podatke o mogućoj razmeri problema NH u našoj sredini (47).

1.6. Etiologija neonatalne Herpes simpleks virus infekcije

Etiologija neonatalne herpes infekcije zavisi pre svega od načina transmisije bolesti (tabela 1-3). S obzirom da infekcija novorođenčeta u 85% slučajeva nastaje intrapartusno, a da HSV-2 dominira kao uzročnik genitalne infekcije, očekivano je da najveći broj neonatalnih infekcija bude uzrokovan ovim tipom virusa. Prema podacima iz prethodnih decenija, preko 70% slučajeva NH je bilo uzrokovano ovim tipom (15). Međutim, poslednjih godina sve veći broj genitalnih infekcija je uzrokovan HSV-1, što za posledicu ima promenu etiologije neonatalne infekcije (41, 44, 48). Razlozi izmene etiologije genitalne, a time i neonatalne infekcije, prethodno su opisani.

U oko 10% slučajeva NH do infekcije dolazi postnatalno i u tom slučaju su izvor „treća lica“ (član porodice, osoba koja neguje novorođenče, zdravstveni radnik i dr.) ili majka sa labijalnom, odnosno herpetičnom lezijom na dojka. Uzročnik je uglavnom HSV-1, mada u slučaju nozokomijalne infekcije dolazi u obzir i HSV-2 virus (43, 49).

Tabela 1-3. Klasifikacija etiologije neonatalne HSV infekcije u zavisnosti od načina nastanka infekcije

Nastanak infekcije	Izvor	Prouzrokovatelj
<i>In utero</i>	majka	HSV-2; HSV-1
Intrapartusna	genitalni trakt majke	HSV-2; HSV-1
Postnatalna	majka, članovi porodice ili treće lice nozokomijalna infekcija	HSV-1 HSV-1 ili HSV-2

1.7. Intrauterusna herpes simpleks virus infekcija

Posledice HSV infekcije u trudnoći mogu biti spontani abortus, prevremeni porođaj, intrauterusni zastoje u rastu, intrauterusna, odnosno kongenitalna infekcija i infekcija novorođenčeta (50, 51). Ukoliko infekcija nastane pre 20.

nedelje gestacije, u više od 25% slučajeva dolazi do spontanog prekida trudnoće. Prva epizoda genitalne infekcije herpesom, može biti udružena sa prematuritetom i intrauterusnim zastojem u rastu, dok u asimptomatskoj, rekurentnoj infekciji ove komplikacije nisu registrovane (51, 52).

Intrauterusna HSV infekcija čini manje od 5% infekcija novorođenčeta uzrokovanih HSV. Ovaj oblik infekcije je veoma redak, javlja se u 1 na 300.000 porođaja (53). Do infekcije dolazi transplacentarnim prelaskom virusa iz krvi majke u krvotok ploda. Neophodan uslov za nastanak infekcije *in utero* je postojanje viremije kod majke, pa zato do ove infekcije najčešće dolazi u toku primarne infekcije trudnice. Znatno ređe, infekcija ploda može nastati u toku rekurentne HSV infekcije, što se češće sreće kod imunonekompetentnih osoba (kod kojih viremija može da postoji i u rekurentnoj infekciji) ili u slučaju ascendentne infekcije (54).

Kongenitalnu infekciju herpesom karakteriše trijas kliničkih znakova koja obuhvata: promene na koži, promene na očima i oštećenja CNS. Ove promene nastaju kao posledica specifičnog tropizma virusa prema neuroektodermalnim tkivima. Kod novorođenčeta sa malom telesnom masom na rođenju, sa prisutnim bulama ili vezikulama na koži, mikrocefalijom, konvulzijama, treba posumnjati i na kongenitalnu HSV infekciju (1, 15, 52). Kliničke manifestacije intrauterusne HSV infekcije prikazane su u tabeli 1-4.

Osamdesetih godina prošlog veka, Hutto i saradnici su opisali kliničke manifestacije, demografske karakteristike i ishod bolesti kod 13 novorođenčadi sa kongenitalnom HSV infekcijom. U celoj grupi ispitanika, infekcija je bila uzrokovana HSV-2, a nastala je kao posledica kako primarne, tako i rekurentne infekcije majke. Kod svih bolesnika je postojala multiorganska zahvaćenost, sa promenama na koži i oštećenjima CNS-a u preko 90%, dok je skoro 70% imalo promene na očima (55). Teške neurološke sekvele, gubitak sluha i vida, uz veliku smrtnost, karakteristika su ishoda bolesti kod bolesnika sa kongenitalnom HSV infekcijom (15, 55).

Tabela 1-4. Kliničke manifestacije intrauterusne herpes simpleks virus infekcije

Organ	Promena
<i>Koža</i>	Ožiljne promene Aktivne lezije (vezikule) Hipo i hiperpigmentacije Aplasio cutus Eritematozni makularni egzantem
<i>Oči</i>	Mikroftalmija Horioretinitis Displazija retine Atrofija optikusa
<i>CNS</i>	Mikrocefalija Encefalomalacija Hidranencefalija Intrakranijalne kalcifikacije

1.8. Kliničke manifestacije neonatalnog herpesa

Bolest novorođenčeta uzrokovana HSV može se manifestovati u tri oblika: lokalizovani oblik (koža, oči i usna duplja), herpes encefalitis i diseminovani oblik.

1.8.1. Lokalizovani oblik (koža, oči i usna duplja)

Lokalizovani oblik koji podrazumeva zahvaćenost kože, očiju ili usne duplje je najblaži oblik HSV bolesti novorođenčeta. U vreme pre uvođenja antivirusne terapije, zastupljenost lokalizovanog oblika infekcije iznosila je svega 18%, dok danas, skoro 45% novorođenčadi sa NH ima ovaj oblik bolesti (15, 56). Osnovne manifestacije lokalizovanog oblika HSV infekcije su vezikularne lezije na koži, sluznici usne duplje i herpetični konjuktivitis ili keratokonjuktivitis. Međutim, herpetične lezije na koži, ustima i oku se mogu se javiti i u sklopu diseminovane bolesti, kao i herpes encefalitisa, zbog čega je potrebno kod ovih bolesnika sprovesti ciljano ispitivanje da bi se utvrdilo da li je došlo do širenja bolesti. Bolest

se obično ispoljava u prve dve nedelje života (prosečno od 10-11 dana), mada promene mogu biti prisutne i na rođenju (1, 57, 58).

Uobičajene kožne promene su vezikule, promera 1-2 mm, pojedinačne ili grupisane na eritematoznoj osnovi (slika 1-3). Često se mogu videti i pustule, kruste i erozije kože. U nekim slučajevima vezikule se mogu spojiti i formirati bule veličine do 1cm. Promene su često su lokalizovane na prednjačjećem delu tela, npr. poglavina, zbog produženog kontakta ovih delova tela sa inficiranim sekretom u toku porođaja (54). Posebno je značajno ukoliko su sprovedene invazivne metode monitoringa poput primene fetalnih „skalp elektroda“, kada se klasteri vezikula registruju na poglavini na mestu aplikacije elektroda (1). Dijagnozu lokalizovanog oblika teže je postaviti u slučajevima kada izostaje pojava tipičnih vezikula na koži, što se sreće u oko 17% ovih infekcija (59). U tim slučajevima, pažljiv pregled usne duplje, kao i oftalmološki pregled mogu nam blagovremeno ukazati na herpesnu infekciju.



Slika1-3. Herpetične lezije na koži novorođenčeta

Unilateralne ili bilateralne promene na očima, ima oko 13% bolesnika, od kojih kod jedne trećine ove promene su jedina manifestacija bolesti. Najčešće su lokalizovane na prednjem segmentu oka, ispoljavaju se kao konjuktivitis, keratitis, kornealni ulkus i katarakta. Na zadnjem polu može se otkriti neuritis optikusa, vitritis, intraretinalne hemoragije, kao i ožiljci na makuli. Ukoliko se ne leči, bolest progredira i može tokom nekoliko nedelja dovesti do kortikalnog slepila. U vreme

pre uvođenja antivirusne terapije okularni oblik HSV infekcije se završavao horiretinitisom, dok se katarakta javljala kao kasna posledica bolesti (54, 60).

Jedna trećina novorođenčadi sa lokalizovanim oblikom ima herpetične promene u usnoj duplji (54). Za razliku od dece mlađeg uzrasta, gde je pojava herpesnog gingivostomatitisa relativna česta, izolovana pojava ovih lezija kod novorođenčadi je izuzetno retka i sreće se kod svega 10% slučajeva sa lokalizovanim oblikom NH (1, 7).

Opšte stanje novorođenčeta sa lokalizovanim oblikom bolesti je dobro, pa je i postavljanje dijagnoze na osnovu prisustva izolovanih kožnih promena otežano. Infekcija herpesom predstavlja samo jednu od brojnih bolesti u diferencijalnoj dijagnozi veziko-pustuloznih promena kod novorođenčeta (tabela 1-5) (54, 61). Dijagnoza lokalizovanog oblika bolesti se potvrđuje izolacijom virusa iz kulture sadržaja uzetog iz vezikule.

Tabela 1-5. Diferencijalna dijagnoza vezikopustularnih dermatoza kod novorođenčad

Stafilokokna infekcija	Neonatalne kandidijaza
Erythema toxicum neonati	Herpes simpleks virus infekcija
Tranzitorna neonatalna pustularna melanoza	Scabies
Miliaria (crystaylina ili rubra)	Infantilna akropustuloza
Benigna cefalična pustuloza	Incontinentia pigmenti

Prognoza lokalizovanog oblika infekcije je dobra i u današnje vreme, kada se primenjuje adekvatna antivirusna terapija, smrtni ishodi se ne registruju. Nelečena bolest u oko 75% progredira u diseminovanu infekciju ili herpes encefalitis. Neurološke sekvele su moguće u 30-40% obolelih koji nisu lečeni i verovatno predstavljaju posledicu subkliničke infekcije CNS. Recidivi kožnih promena u prvih 6 meseci života takođe predstavljaju značajan rizik za nastanak neuroloških oštećenja (62). Da bi se sprečile navede komplikacije, novorođenčad sa lokalizovanim oblikom HSV infekcije moraju se energično lečiti i pažljivo pratiti (54).

1.8.2. Herpes encefalitis novorođenčeta

Herpes encefalitis novorođenčeta može se javiti kao izolovana bolest ili u sklopu diseminovanog NH. Izolovan, sreće se kod jedne trećine novorođenčadi sa HSV infekcijom. Do nastanka infekcije CNS može doći hematogenim putem, kao kod diseminovanog oblika bolesti ili retrogradnim aksonalnim transportom virusa do CNS, kao što je slučaj kod izolovanog encefalitisa. Zbog toga postoji razlika u prezentaciji u zavisnosti da li se radi o izolovanom ili encefalitusu u sklopu diseminovane bolesti (1). Kod herpes encefalitisa, bolest se ispoljava kasnije nego kod ostalih oblika, najranije posle prve, a češće od 2. do 6. nedelje života (ranije ispoljavanje je najčešće u sklopu diseminovanog NH). Jedna od najčešćih manifestacija su konvulzije (fokalne ili generalizovane), koje se javljaju kod približno polovine bolesnika. Obično su praćene manje specifičnim znacima: letargija, iritabilnost, tremor, odbijanje obroka, temperaturna nestabilnost i napeta fontanela (1, 54, 63). Vezikule na koži sreću se kod 60-70% bolesnika i značajno olakšavaju pravovremeno postavljanje dijagnoze (64). Kod novorođenčadi sa encefalitisom u sklopu diseminovanog NH vezikule se uglavnom ne registruju (1). Izmenjeno stanje svesti (koma) i konvulzije predstavljaju loš prognostički znak kod novorođenčadi sa herpes encefalitisom (65, 66).

Poseban značaj za postavljanje dijagnoze herpes encefalitisa ima pregled cerebrospinalne tečnosti (CST). Ovim pregledom obično se nalaze blaga do umerena pleocitoza (50-100 leukocita/mm³ sa predominacijom monocita), povišena koncentracija proteina i snižena koncentracija glukoze (38). Ipak, treba imati na umu da citološki i biohemijski pregled CST mogu biti uredni, naročito u ranim fazama bolesti, što ne isključuje dijagnozu herpes encefalitisa. Herpes simpleks virus pokazuje posebnu predilekciju za neurone korteksa i ređe moždanog stabla. S obzirom da funkcija korteksa nije dominantna za većinu aktivnosti novorođenčeta, replikacija virusa u ovom regionu može biti klinički inaparentna. Takođe, i nadražaj meningeja u HSV encefalitisu novorođenčeta nije izražen, tako da je moguć i izostanak pleocitoze, naročito u ranom stadijumu bolesti (67).

Definitivna potvrda dijagnoze herpes encefalitisa kod novorođenčadi je detekcija HSV DNK reakcijom lančane polimeraze (8, 68, 69). Međutim, u prvim danima bolesti i PCR na HSV u CST može biti negativan, a senzitivnost metode u ranom stadijumu bolesti je oko 70% (67, 68).

Nespecifične elektroencefalografske (EEG) promene u vidu usporene osnovne aktivnosti i periodiciteta, mada nisu patognomonične nalaz, značajno doprinose potvrdi dijagnoze herpes encefalitisa. Promene na EEG viđaju se kod više od 80% obolelih (38, 70, 71).

Savremena neuroradiološka ispitivanja (magnetna rezonancija i kompjuterizovana tomografija) imaju značajnu ulogu za potvrdu dijagnoze herpes encefalitisa kod novorođenčadi. Promene se registruju u preko 65% obolele novorođenčadi. U inicijalnoj fazi i tokom prvih dana bolesti nalaz na kompjuterizovanoj tomografiji mozga može biti uredan. Za razliku od herpes encefalitisa odraslih i veće dece, kod kojih su promene na mozgu lokalizovane uglavnom u temporalnim i frontalnim regionima, kod herpes encefalitisa novorođenečeta promene na mozgu su difuzne, gotovo uvek bilateralne, obično zahvataju periventrikularnu belu masu. Vide se kao nekroze, kalcifikacije, edem, ređe kao hemoragijske promene (17, 35, 72, 73).

Mortalitet kod nelečenih oblika herpes encefalitisa je oko 50%. Uprkos dobrom odgovoru na antivirusnu terapiju (smanjenje mortaliteta na manje od 15%), neurološke sekvele su česte (64). Zbog nezrelosti imunskog sistema, kao i odsustva transplacentarno stečenog imuniteta morbiditet i mortalitet kod prevremeno rođene dece su značajno veći u odnosu na terminsku novorođenčad. Veći broj sekvela (mikrocefalija, konvulzije, oštećenje vida, cerebralna paraliza i mentalna retardacija) zabeležen je kod novorođenčadi sa herpes encefalitisom uzrokovanim HSV-2. Prema podacima iz literature, većina novorođenčadi kod kojih je lečenje HSV-1 encefalitisa započeto pravovremeno ima povoljniji neurološki ishod u odnosu na HSV-2 infekciju (63).

1.8.3. Diseminovana infekcija novorođenčeta

U eri pre uvođenja antivirusne terapije, zastupljenost diseminovanog oblika bolesti bila je između polovine i dve trećine obolelih od NH (15). U današnje vreme, diseminovana herpes infekcija se javlja kod oko 25% NH. Najveći broj novorođenčadi sa ovim oblikom infekcije je rođeno od majki sa primarnom infekcijom i odsutnim antitelima na HSV, tako da nedostatak pasivno stečenog imuniteta je jedan od uzroka nastanka teškog oblika bolesti (1, 66). Bolest karakteriše rani početak, prosečno od 9-11 dana života, sa nespecifičnim znacima sepse. Kliničke manifestacije bolesti su posledica zahvaćenosti više organa: jetre, nadbubrežnih žlezda, pluća, CNS. Uvek kada se kod novorođenčeta jave iritabilnost, konvulzije, respiratorni distres, žutica, hemoragijska dijateza, šok, povišena temperatura, posebno ako su udruženi sa insuficijencijom jetre, trombocitopenijom, diseminovanom intravaskularnom koagulacijom i pneumonijom treba misliti i na diseminovanu herpes infekciju. Postavljanje dijagnoze olakšava prisustvo vezikula na koži, koje se viđaju kod 60% obolele novorođenčadi. Herpes encefalitis u sklopu diseminovane bolesti ima oko 75% novorođenčadi (1, 59, 74).

Nespecifični simptomi koji se javljaju na početku bolesti nastaju kao posledica sistemskog inflamatornog odgovora uzrokovanog viremijom. Jednu od vodećih uloga u patogenezi sistemskog inflamatornog odgovora imaju proinflamatorni citokini, interleukin-6 i faktor nekroze tumora- α čije su koncentracije značajno povišene kod novorođenčadi sa diseminovanim oblikom HSV. Imunopatološke promene koje rezultiraju oštećenjem pojedinih organa, nastankom multiorganske disfunkcije i smrtnog ishoda kod novorođenčadi sa diseminovanim herpesom nastaju usled prenatlaženog imunskog odgovora (75).

U toku diseminacije virusa jetra je prvi zahvaćeni organ i sa najtežim oštećenjima. Brojni prikazi bolesnika pokazuju da je insuficijencija jetre jedan od najčešćih uzroka mortaliteta novorođenčadi sa diseminovanim oblikom (10, 74, 76, 77). Povišene vrednosti serumskih transaminaza predstavljaju značajan pokazatelj oštećenja jetre, ali i praćenja efikasnosti antivirusne terapije. Više od

deset puta povišene vrednosti serumskih transaminaza u trenutku započinjanja terapije su nepovoljan prognostički znak (54, 59).

Pneumonija uzrokovana HSV čest je uzrok respiratornog distresa kod novorođenčadi sa diseminovanim oblikom bolesti. Radiografski se manifestuje difuznim intersticijskim promenama, sa često prisutnim efuzijama. Predstavlja jedan od nepovoljnih prognostičkih faktora (78). Do diseminacije infekcije na CNS obično dolazi u kasnijem stadijumu bolesti. Stoga, rano započinjanje antivirusne terapije dovodi do manjeg broja neuroloških sekvela kod novorođenčadi sa diseminovanim oblikom u odnosu na bolesnike sa herpes encefalitisom nastalim aksonalnom transmisijom (38, 54).

Mortalitet kod nelečenog diseminovanog oblika HSV infekcije iznosi preko 80%. U današnje vreme, uprkos antivirusnoj terapiji, smrtnost kod diseminovanog NH je i dalje velika, 31-57% (59, 64). Neurološke sekvele prisutne su kod 15% preživelih (64, 69). Rano započinjanje antivirusne terapije je mogući način smanjenja smrtnosti kod novorođenčadi obolele od diseminovanog herpesa. Zato kod novorođenčadi sa znacima sepse a negativnim bakteriološkim nalazima nakon 48-72h treba razmotriti mogućnost herpes infekcije i započeti antivirusnu terapiju (35).

Tabela 1-6. Nepovoljni prognostički znaci kod infekcije novorođenčeta herpes simpleks virusom

Herpes encefalitis	Diseminovani oblik
Poremećaj svesti na prijemu	Poremećaj svesti na prijemu
Prematuritet	Diseminovana intravaskularna koagulacija
Konvulzije	HSV pneumonija
	Težak hepatitis

1.9. Laboratorijska dijagnostika Herpes simpleks virusne infekcije

Laboratorijska dijagnostika HSV infekcija može da bude serološka i virusološka.

1.9.1. Serološka dijagnostika

U našim uslovima, još uvek je široko rasprostranjena serološka dijagnostika, kojom se indirektno postavlja dijagnoza HSV infekcije na osnovu nalaza specifičnih antitela u krvi obolele osobe. Međutim, ova dijagnostika ima velika ograničenja. Jedan od problema serološke dijagnostike HSV infekcije odnosi se na razlikovanje primarne od rekurentne infekcije, s obzirom da i u toku reaktivacije virusa dolazi do *de novo* sinteze IgM antitela (79). U prevazilaženju ovog problema nam donekle pomaže test za određivanje aviditeta specifičnih IgG antitela. Aviditet je jačina veze između antitela i antigena određena specifičnošću antitela za HSV antigene. U primarnoj infekciji sintetišu se antitela niskog aviditeta (antitela male specifičnosti za HSV antigene). Vremenom, dolazi do sazrevanja humoralnog imunskog odgovora, pa se u toku reaktivacije mogu dokazati samo visokoaviditetna antitela (80). Ograničavajući faktor u serološkoj dijagnostici HSV infekcije predstavlja i unakrsna reaktivnost antitela na pojedinačne virusne antigene, čime se onemogućava precizna dijagnoza na osnovu dokazivanja tipski specifičnih antitela (3).

1.9.2. Virusološka dijagnostika

Virusološka dijagnostika podrazumeva dokazivanje prisustva virusa ili delova virusnih čestica (virusnih antigena ili virusnog genoma) u kliničkom materijalu. Prisustvo HSV može se dokazivati u različitim uzorcima, kao što su: krv, cerebrospinalna tečnost, bris promene na koži ili sadržaj vezikula, bris oka, nosa,

guše, genitalnog trakta i ostalo. Virusološka dijagnostika obuhvata sledeće metode: izolovanje virusa na sistemu živih ćelija, dokazivanje antigena imunološkim testovima (ELISA i tehnika imunofluorescencije) i molekularne metode za za dokazivanje i kvantifikovanje virusnog genoma, molekularne metode (81).

Izolovanje virusa

Izolovanje virusa iz kliničkog uzorka je metod izbora za dijagnostiku HSV infekcija. Potrebno je da se klinički materijal transportuje u specijalnim transportnim podlogama iz kojih se potom inokuliše u kulture ćelija. HSV se najčešće izoluje u kulturama ćelija Vero, Hep 2, HeLa i dr. Karakterističan citopatogeni efekat se javlja u zavisnosti od količine infektivnog agensa u kliničkom uzorku, najčešće za jedan do tri dana od inokulacije. Identifikacija i tipizacija izolovanog virusa vrši se najčešće dokazivanjem HSV antigena, tehnikom imunofluorescencije primenom monoklonskih antitela na glikoprotein G omotača (gG), jer je ovaj glikoprotein tipski specifičan (5). Kulture u kojima izostane pojava citopatogenog efekta nakon pet dana mogu se smatrati negativnim (8).

Dokazivanje antigena imunološkim testovima

Dokazivanje HSV antigena u suspektom materijalu (sadržaj vezikule, bris promena na koži, bris sluznice...) različitim imunološkim testovima podrazumeva primenu specifičnih monoklonskih ili poliklonskih antitela. Najčešće korišćene metode za dokazivanje antigena su ELISA i imunofluorescentna tehnika. Prednost ove metode je njena brzina, ali je osetljivost tehnike mala i zahteva vrlo visok stepen replikacije virusa u ćelijama za dobijanje pozitivnog nalaza. Zbog toga ova metoda predstavlja pomoćno sredstvo u dijagnostici HSV infekcija.

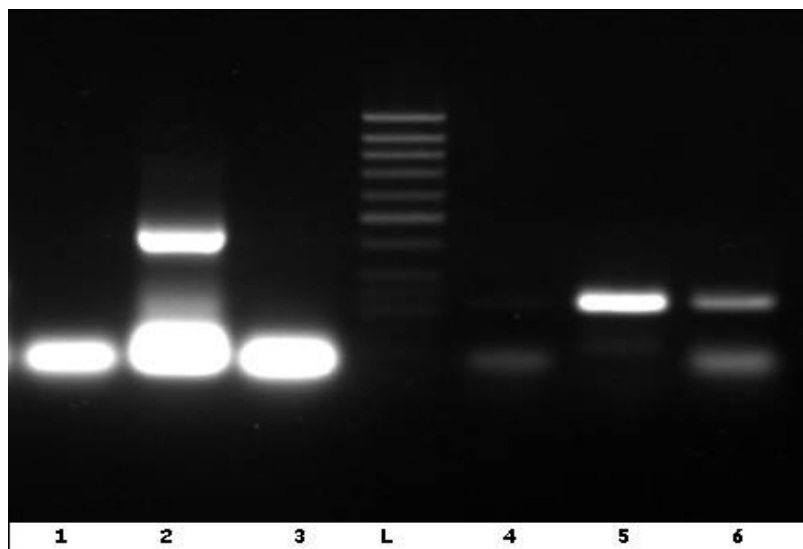
Molekularne metode

Brzo postavljanje dijagnoze je veoma značajno za dijagnostiku teških, često i životno ugrožavajućih infekcija, kao što su herpes encefalitis i infekcija

novorođenčeta. U tim slučajevima, tehnike molekularne biologije predstavljaju zlatni standard za postavljanje dijagnoze HSV infekcije (8). Molekularna dijagnostika HSV infekcije pruža višestruke prednosti u odnosu na metode klasične dijagnostike. Najznačajnije prednosti su mogućnost dokazivanja virusa u specifičnim kliničkim uzorcima (likvor, očna vodica, plodova voda, fetalna krv), koji se obično dobiju u minimalnoj količini, sa malom količinom infektivnog virusa nedovoljnom za klasičnu dijagnostiku i otkrivanje latentno prisutnih virusa. Ovim metodama mogu se otkriti virusi i u materijalu koji je neadekvatno transportovan ili skladišten, zbog čega je došlo do njegove inaktivacije. Molekularna dijagnostika HSV omogućava nam i praćenje reaktivacije latentne HSV infekcije, što je naročito značajno kod imunokompromitovanih i transplantiranih bolesnika, praćenje uspešnosti antivirusne terapije i pojave rezistencije HSV na antivirusne agense (5).

Molekularne tehnike koje se primenjuju u dijagnostici virusnih oboljenja, zasnivaju se na otkrivanju virusne nukleinske kiseline u kliničkom uzorku. Virusna nukleinska kiselina koja se dokazuje može biti u virusnoj čestici, inficiranoj ćeliji ili slobodna u uzorku. Postoji veći broj metoda molekularne dijagnostike kao što su tehnike hibridizacije, target amplifikacije i signalne amplifikacije.

U laboratorijskoj dijagnostici HSV infekcija najčešće se koriste metode target amplifikacije među kojima je najznačajnija tehnika lančanog umnožavanja, odnosno PCR metoda (*engl.* Polymerase chain reaction - PCR). Ova metoda se zasniva na cikličnom umnožavanju željenog segmenta DNK, koji se odvija po principima DNK replikacije. U vremenskom intervalu od nekoliko sati željeni segment DNK se umnožava najmanje milion puta. Da bi se umnožio određeni segment nukleinske kiseline, koriste se kratki oligonukleotidi, to jest prajmeri koji su komplementarni krajevima segmenta nukleinske kiseline koja se umnožava. Ciklično umnožavanje segmenta se odigrava u prisustvu enzima DNK polimeraze i gradivnih nukleotida od kojih se sintetišu novi DNK lanci. Umnoženi segment ciljne DNK se zatim vizuelizuje najčešće elektroforezom na gelu (slika 1-4). S obzirom na veliku osetljivost ove metode dovoljno je prisustvo samo nekoliko kopija virusnog genoma u uzorku da bi se dobio pozitivan rezultat (5).



Slika 1-4. Nalaz pozitivnog PCR testa na HSV

Dokazivanje HSV infekcije primenom PCR tehnike u uzorku cerebrospinalne tečnosti je od posebnog značaja, jer u ovom uzorku metode izolacije virusa iz kulture ćelija obično ostaju negativne (8). Međutim, u nekim slučajevima i PCR metodom se mogu dobiti lažno negativni nalazi, naročito u ranim fazama bolesti (8), zbog čega se savetuje ponavljanje lumbalne punkcije i ponovna PCR dijagnostike nakon par dana (82).

Pored kvalitativnih metoda molekularne biologije, postoje i kvantitativne metode kojima se određuje količina virusa odnosno broj kopija virusnog genoma u uzorku. Određivanje koncentracije partikula HSV DNK u krvi ili cerebrospinalnoj tečnosti, u novije vremene pokazalo se značajno za dijagnostiku neonatalnih infekcija (83).

1.10. Preporuke za dijagnostiku neonatne herpes simpleks virus infekcije

Prema najnovijim preporukama Odbora za infektivne bolesti Američke akademije za pedijatriju (AAP) za utvrđivanje HSV infekcije kod novorođenčeta potrebno je uzeti sledeći klinički materijal:

- uzorci brisa usta, nazofarinksa, konjunktive i anusa („površinski brisevi“) za izolaciju virusa i/ili PCR dijagnostiku

- uzorak sadržaja vezikule na koži za izolaciju virusa i/ili PCR dijagnostiku
- cerebrospinalna tečnost se uzima za PCR dijagnostiku
- puna krv za PCR dijagnostiku
- krv za određivanje nivoa alanin aminotranferaze (ALT) (8).

PCR metoda u cilju dijagnostike HSV u brisu mukoza ili sadržaju vezikule sa kože još uvek nije dovoljno ispitana i zato se koristi kao dodatna metoda uz izolaciju virusa. Pozitivan nalaz izolacije HSV iz kulture ćelija na kojima je zasejan uzorak „površinskog brisa” ili sadržaja vezikule uzet 12 do 24h po rođenju, ukazuje na prisutnu replikaciju virusa, tako da je infekcija mnogo verovatnija nego kontaminacija prolaskom kroz porođajni kanal majke (8).

Određivanje HSV primenom PCR metode u krvi najčešće nije dovoljno za dijagnostiku neonatalne infekcije, zbog mogućih lažno pozitivnih i lažno negativnih nalaza. Stadijum viremije se može javiti kod sve tri kliničke manifestacije neonatalnog herpes (lokalizovani, CNS i diseminovani oblik), tako da pozitivan PCR u krvi ne može se uzeti kao kriterijum za utvrđivanje stepena raširenosti bolesti (8).

Najpouzdanija primena PCR metode je dijagnostika HSV u uzorku cerebrospinalne tečnosti. Ipak, kao što je već pomenuto, negativan nalaz ne isključuje encephalitis kod novorođenčeta, ukoliko je uzorak uzet u ranoj fazi bolesti kad senzitivnost metode ne prelazi 70% (68, 83).

Poslednjih godina započeto je i određivanje količine HSV u telesnim tečnostima kod novorođenčadi sa neonatalnim herpesom. Prvi rezultati pokazuju postojanje korelacije između količine virusnih partikula ili nivoa virusa sa ishodom i oblikom bolesti (83, 84).

1.11. Lečenje neonatalnog herpesa

Vidarabin je prvi antivirusni lek korišćen u lečenju sistemske HSV infekcije od sedamdesetih godina prošlog veka. Uprkos smanjenju mortaliteta novorođenčadi sa herpes encefalitisom (sa 50% na 14%) i diseminovanim

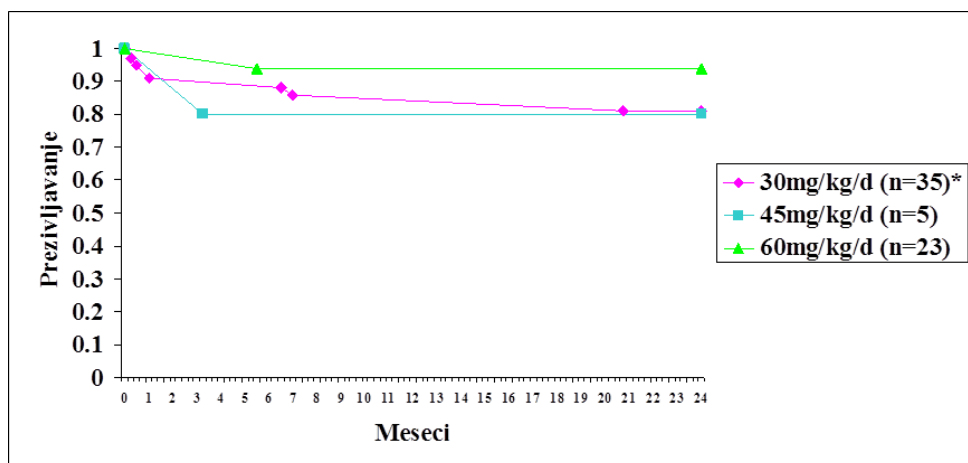
herpesom (sa 85% na 50%) koje je postignuto primenom ovog leka, zbog toksičnosti, njegova primena bila je ograničena samo na infekcije koje ugrožavaju život (63).

Nešto kasnije, od 1980. godine u upotrebu ulazi novi antivirusni lek, aciklovir. Danas je aciklovir lek izbora za lečenje neonatalne HSV infekcije. Dugi niz godina ispitivana je terapijska efikasnost ovog leka i pokazano je da primena aciklovira u dnevnoj dozi od 30 mg/kg telesne mase ima podjednaku terapijsku efikasnost kao i vidarabin, ali uz značajno manje toksičnih efekata (tabela 1-7) (85).

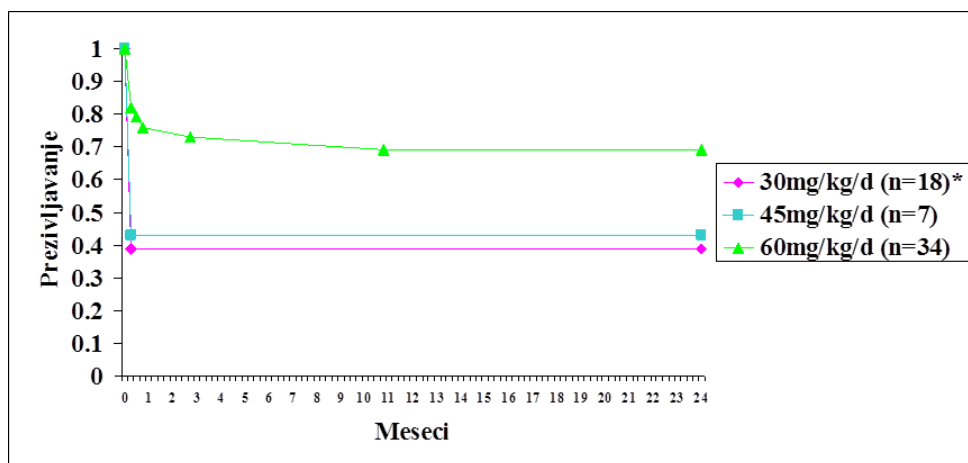
Tabela 1-7. Uticaj antivirusnih lekova na smanjenje mortaliteta novorođenčadi sa diseminovanom HSV infekcijom i herpes encefalitisom

Oblik bolesti	Terapija			
	Placebo	Vidarabin	Aciklovir 30mg/kg/24h	Aciklovir 60mg/kg/24h
Diseminovani oblik	85%	50%	61%	29%
Herpes encefalitis	50%	14%	14%	4%

U cilju poboljšanja ishoda bolesti, Kimberlin i saradnici su sprovedli studiju u kojoj su pratili efikasnost različitih doza aciklovira u lečenju neonatalne herpes infekcije: 30 mg/kg/24h, 45 mg/kg/24h i 60 mg/kg/24h. Rezultati ovog ispitivanja pokazali su da primena aciklovira u dnevnoj dozi od 60mg/kg dodatno smanjuje mortalitet kod novorođenčadi sa herpes encefalitisom i diseminovanim oblikom bolesti (slike 1-5 i 1-6) (64).



Slika 1-5. Preživljanje novorođenčadi sa herpes encefalitisom lečenih aciklovirom *(64)



Slika 1-6. Preživljanje novorođenčadi sa diseminovanom herpes infekcijom lečenih aciklovirom*(64)

Današnja preporuka za lečenje HSV infekcije novorođenčeta koju je dala AAP je da se aciklovir primenjuje intravenskim putem u dozi od 60 mg/kg /24h podeljeno u tri doze (20 mg/kg tri puta dnevno). Terapija se primenjuje tokom 21 dana za lečenje diseminovanog oblika i herpes encefalitisa, a 14 dana za lečenje lokalizovanog oblika infekcije (1, 8). Korišćenje oralnog preparata aciklovira za lečenje akutnog NH nije adekvatno.

Posle tronedeljne terapije herpes encefalitisa potrebna je kontrolna lumbalna punkcija. Ukoliko je HSV PCR u cerebrospinalnoj tečnosti pozitivan, neophodno je nastaviti terapiju aciklovirom još jednu nedelju, kada se ponavlja lumbalna

punkcija. Ukoliko je nalaz pozitivan terapija se nastavlja uz obaveznu konsultaciju pedijatrijskog infektologa i dopunsko neuroradiološko ispitivanje (8, 20).

Oftalmološki topijski preparati: 1% trifluridine, 0.1% iododeoxyuridine ili 0,15% ganciklovir savetuju se za lečenje herpesnog keratokonjuktivitisa, ali isključivo uz parenteralnu antivirusnu terapiju i redovne oftalmološke preglede (8,54).

Posebne preporuke odnose se na lečenje u situacijama kada su ispoljeni neželjeni efekti terapije, pre svega ukoliko se javi neutropenija ili kada zbog nefrotoksičnosti leka kod bolesnika sa bubrežnom insuficijencijom treba korigovati dozu, odnosno interval davanja leka.

Neutropenija je čest neželjeni efekat lečenja aciklovirom. Apsolutni broj neutrofila (ABN) manji od $1000/\text{mm}^3$ javlja se kod više od 20% novorođenčadi lečenih aciklovirom u dozi od $60\text{mg}/\text{kg}/24\text{h}$. Obično traje kratko i spontano prolazi, bez prekidanja terapije. Ukoliko se ABN održava ispod $500/\text{mm}^3$ tokom dužeg vremena, treba razmotriti smanjivanje doze aciklovira i davanje granulocitnog faktora rasta. Nefrotoksičnost je moguća, ali ne tako česta komplikacija lečenja novorođenčadi aciklovirom. Savetuje se da se kod novorođenčadi sa oštećenjem bubrežne funkcije aciklovir dozira u odnosu na klirens kreatinina: za vrednosti kreatinina od $70\text{--}100\ \mu\text{mol}/\text{l}$ doza od $20\ \text{mg}/\text{kg}$ daje se na 12h, a za vrednosti kreatinina od $110\text{--}130\ \mu\text{mol}/\text{l}$ jednom dnevno. Kod novorođenčadi sa bubrežnom insuficijencijom, kada je kreatinin veći od $130\ \mu\text{mol}/\text{l}$ ili diureza manja od $1\text{ml}/\text{kg}/\text{h}$ doza je $10\text{mg}/\text{kg}$ jednom dnevno (64).

Slučajevi rezistencije HSV na aciklovir su retki. U toku lečenja NH opisani su samo pojedinačni slučajevi pojave rezistencije (86–88). U ovim slučajevima može se primeniti drugi antivirusni lek, foskarnet (89, 90). Nepovoljan ishod i pojavu sekvela kod novorođenčadi koja su adekvatno lečena aciklovirom ne treba *a priori* pripisivati rezistenciji na aciklovir. Klinička pogoršanja u toku lečenja NH, uglavnom su posledica virusom indukovane destrukcije ćelija zahvaćenih organa ili iriverzibilnih promena kao što je diseminovana vaskularna koagulacija (1).

Primena drugih antivirusnih lekova, valaciklovira i famciklovira, koji se uglavnom koriste u obliku oralnih preparata kod odraslih, se ne savetuje za lečenje NH.

Pored antivirusne terapije u lečenju teških oblika herpes infekcije novorođenčeta pažnju treba obratiti i na potpurnu terapiju: održavanje adekvantnog balansa tečnosti i elektrolita, korekciju hipoglikemije, lečenje diseminovane intravaskularne koagulacije, primenu antikonvulzivne terapije, sprovođenje adekvatne potpore respiratorne funkcije, kao i primenu antimikrobne terapije za sprečavanje sekundarne bakterijske infekcije (7).

S obzirom da hiperimuni HSV imunoglobulin ne postoji, a da je količina anti-HSV antitela u konvencionalnim intravenskim imunoglobulinima mala, njihova primena kod novorođenčadi sa herpes infekcijom se ne preporučuje (15, 91). Kao buduća terapijska mogućnost ispituje se primenu monoklonalnih antitela protiv gD antigena HSV koja su pokazala povoljan efekat na animalnim modelima (15).

1.11.1. Oralna supresivna terapija nakon preležanog neonatalnog herpesa

Neposredni ishod bolesti i pojava kasnih neuroloških sekvela kod dece sa preležanim NH zavise pre svega od kliničkog oblika bolesti. Uprkos najvećoj smrtnosti, kod diseminovanog NH pojava kasnih neuroloških sekvela registruje se kod bližno 20% preživelih (59). Nasuprot, kod neonatalnog HSV encefalitisa smrtnost je značajno manja, oko 14%, dok neurološke sekvele ima skoro 70% preživelih (64). U današnje vreme, ne registruju se smrtni slučajevi kod lokalizovanog oblika bolesti, a sekvele su izuzetno retke (85). Praćenjem dece koja su lečena od NH, uočeno je da pojava rekurentnih kožnih herpetičnih lezija tokom odojačkog perioda je udružena sa prisutnijim i težim kasnim neurološkim sekvelama. S obzirom na osobinu HSV da uspostavlja latenciju u senzorineuralnim ganglinima i da može doći do reaktivacije sa pojavom rekurentnih lezija, pretpostavlja se da postoji mogućnost i subkličičke reaktivacije virusa u mozgu, što je uzrok teških neuroloških oštećenja (62). Povoljan efekat supresivne terapije primećen je kod pojave rekurentnog oralnog ili genitalnog herpesa. Stoga je Nacionalni institut za alergije i infektivne bolesti (NIAID-National Institute of Allergy and Infectious Diseases), grupa za antivirusna studije (CASG-Collaborative Antiviral Study Group) sprovela ispitivanje o efikasnosti oralne supresivne terapije

kod novorođenčadi sa preležanim NH. Desetogodišnje ispitivanje je pokazalo povoljne rezultate i podržalo primenu supresivne oralne terapije aciklovirom u dozi od 300mg/m² tri puta dnevno tokom 6 meseci, koja se započinje po završenom intravenskom lečenju NH. Time se postiže smanjenje pojave rekurentnih kožnih lezija kod novorođenčadi sa lokalizovanim oblikom, dok se kod novorođenčadi sa encefalitisom postiže smanjenje neuroloških sekvela (62). Kao neželjeni efekat ove terapije registruje se neutropenija kod 20-25% (do 7% u kontrolnoj grupi). Do normalizacije apsolutnog broja neutrofila dolazilo je nakon smanjenja doze ili ukidanja terapije (62). Prednosti ove terapije uveliko nadmašuju ovaj neželjeni efekat, tako da se danas oralna supresivna terapija aciklovirom savetuje kod sve novorođenčadi sa preležanom herpesnom infekcijom, bilo kog oblika (lokalizovana bolest, encefalitis, diseminovani oblik) (8).

1. 12. Prevencija neonatalnog herpesa

Osnovu efikasne prevencije NH predstavlja pravovremeno prepoznavanje infekcije kod trudnice. Problemi u pravovremenoj prevenciji perinatalne infekcije novorođenčeta nastaju pre svega usled činjenice da 60-80% trudnica objektivno nema ili ne primeti znake genitalnog herpesa, odnosno infekcija ostane nedijagnostikovana od strane lekara. Sa praktičnog kliničkog aspekta je značajno da približno polovina „asimptomskih“ trudnica naknadno navodi simptome i znake koji ukazuju na genitalni herpes (9).

S obzirom da verovatnoća nastanka, klinički tok i ishod HSV infekcije novorođenčeta u znatnoj meri zavise od oblika infekcije trudnice (koja najčešće ostaje neprimećena, a time i neidentifikovana), pojedine zemlje su pokušale da uvedu rutinski serološki skrining na kraju prvog, odnosno početkom drugog trimestra trudnoće. Ipak, nije postignuta opšta saglasnost u pogledu opravdanosti serološkog testiranja na HSV svake trudnice. Protivargumenti su pre svega visoka cena rutinskog serološkog skrininga koja bi u SAD dostigla 24 miliona dolara tako da bi prevencija jednog slučaja neonatalnog herpesa imala cenu u rasponu od 400.000 do 4 milona američkih dolara (70). Osim toga, moguća različita tumačenja rezultata bi dovela do neopravdanog povećanja operativnog dovršenja

porođaja carskim rezom, a kao ozbiljna rezerva ističu se i mogući psihološki i porodični problemi uzrokovani saznanjem da se uglavnom radi o seksualno prenosivoj infekciji (43).

Tokom dužeg niza godina, činjeni su brojni napori u iznalaženju preventivne strategije koja bi efikasno sprečila perinatalnu vertikalnu transmisiju herpes virusa. S obzirom na najčešće mehanizme nastanka infekcije novorođenčeta, sprovođenje mera prevencije nastanka NH je pre svega i u najvećoj meri u domenu ginekologa-akušera. Ove mere čine različiti antenatalni i intrapartalni preventivni pristupi.

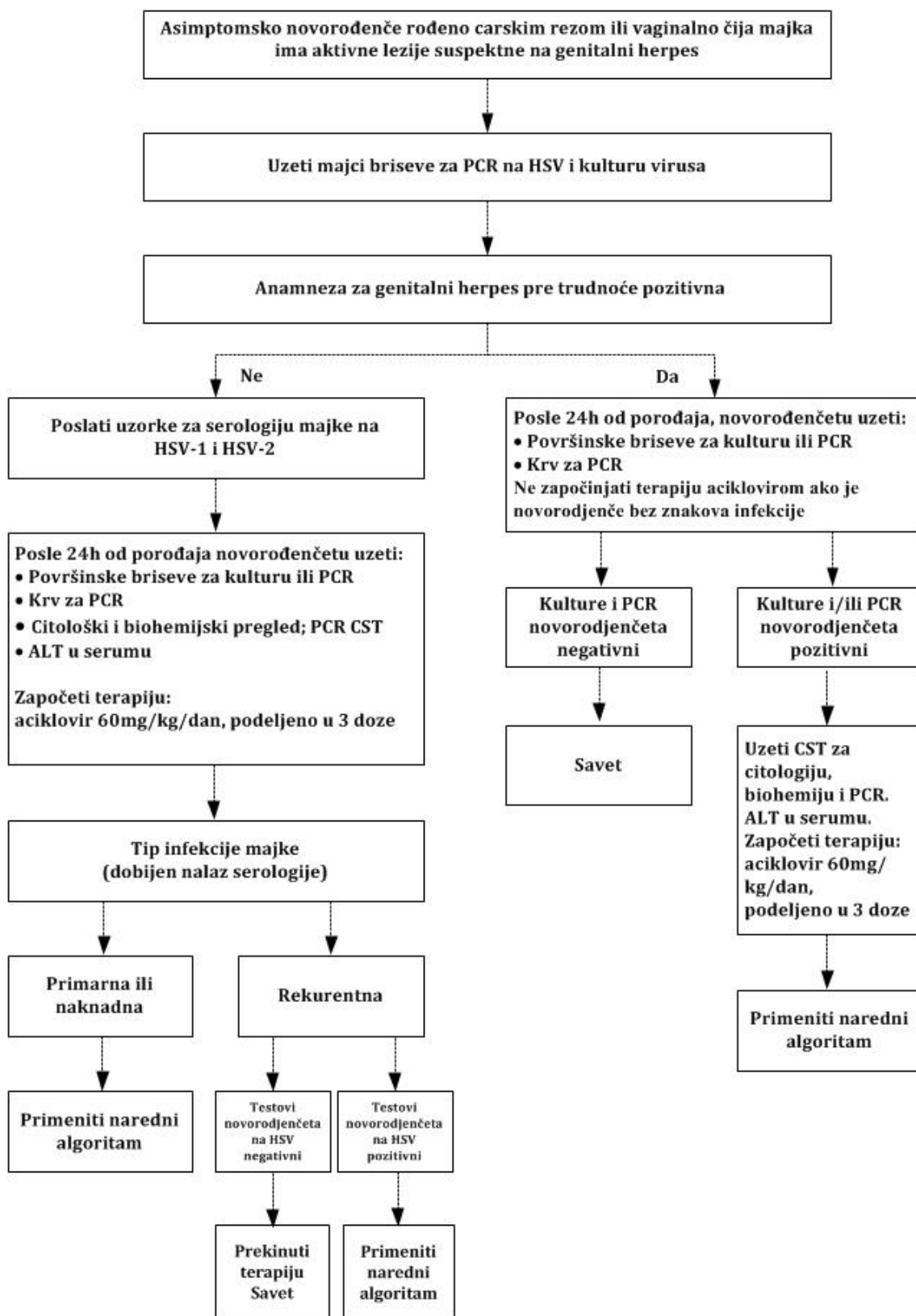
Tokom 80-ih godina prošlog veka primenjivan je protokol prema kome je svakoj trudnici sa anamnezom o recidivima genitalnog herpesa od 32. nedelje gestacije jednom nedeljno uziman uzorak za izolaciju virusa. Međutim, zbog visoke cene i neprihvatljivo male efikasnosti, ovakav pristup je napušten.

Američko udruženje akušera i ginekologa (American College of Obstetricians and Gynecologists-ACOG) dalo je 1999. godine preporuku, dopunjenu 2007. godine po kojoj je carski rez indikovao u slučaju aktivnog genitalnog herpesa ili pojave prodromalnih simptoma koji ukazuju na herpes u vreme ili neposredno pre porođaja (23). Mada je pouzdano dokazano da operativno dovršenje porođaja kod trudnica koje izlučuju virus značajno umanjuje rizik neonatalne infekcije, pojava NH je moguća uprkos carskom rezu, naročito ukoliko je do ruptur plodovih ovojaka došlo pre porođaja (20, 56, 58). Kritičke analize ovakvog pristupa zasnovane na podacima da za svaki preveniran slučaj NH treba uraditi 1580 carskih rezova, što nosi potencijalno visok rizik za maternalim mortalitetom (moguć jedan smrtni ishod kod porodilje na navedeni broj porođaja), kao i veoma visoku cenu (9). S obzirom na ove podatke, u nekim zemljama se pojavila tendencija selektivnijeg pristupa po kome je operativno dovršenje porođaja rezervisano za primarni simptomski genitalni herpes, dok se za recidivirajuće epizode koje nose znatno manji rizik preporučuje tzv. supresivna terapija, odnosno primena antivirusnih lekova (aciklovir, valaciklovir) (49).

Sadašnja preporuka AAP je da je carski rez indikovao kod primarne infekcije, kao i kod rekurentne infekcije ukoliko su prisutne aktivne genitalne lezije u vreme porođaja (20). U cilju smanjenja broja carskih rezova indikovanih u cilju prevencije

NH, sve zastupljenija je praksa sprovođenja oralne supresivne terapije aciklovirom ili valaciklovirom pred kraj trudnoće da bi se sprečila pojava rekurentnog genitalnog herpesa. Zbog toga se prema preporukama ACOG, trudnicama sa rekurentnim genitalnim herpesom savetuje od 36. nedelje gestacije analiza cervikalnog brisa da bi se utvrdilo postoji li izlučivanje virusa i započela terapija (8). Ovakva praksa potvrđeno smanjuje broj klinički manifestnih rekurentnih infekcija u vreme porođaja, ali i broj učinjenih carskih rezova u cilju prevencije NH (20, 92). Uprkos navedenim merama, mogućnost infekcije novorođenčeta nije u potpunosti otklonjena, i u literaturi su opisani slučajevi NH uprkos primeni antivirusne profilakse (93).

Prevenција nastanka NH ne može se završiti pre i intrapartalno, već je neophodno pažljivo praćenje i ispitivanje novorođenčeta u prvim danima po rođenju. U cilju smanjenja rizika za nastanak neonatalne infekcije, AAP je 2013. godine dala preporuke za prevenciju NH u zavisnosti od tipa infekcije majke (20). Ovaj praktičan algoritam (slika 1-7) odnosi se na novorođenčad majki sa aktivnim genitalnim herpesom u vreme ili neposredno pre porođaja, bez obzira da li je porođaj dovršen carskim rezom ili vaginalnim putem. Pored virusološke obrade majke u cilju detekcije HSV u brisevima, potrebno je uraditi i serološke analize da bi se odredio serološki status. Tek po dobijanju ovih informacija pristupa se „obradi“ novorođenčeta u cilju isključenja, odnosno dokazivanja vertikalne transmisije HSV infekcije. Ovaj algoritam se odnosi isključivo na asimptomsku novorođenčad. Ukoliko se kod novorođenčeta pojave znaci moguće HSV infekcije (povišena temperatura, hipotermija, letargija, iritabilnost, vezikularne promene i sl.) neophodno je odmah sprovesti kompletnu evaluaciju i započeti terapiju aciklovirom.



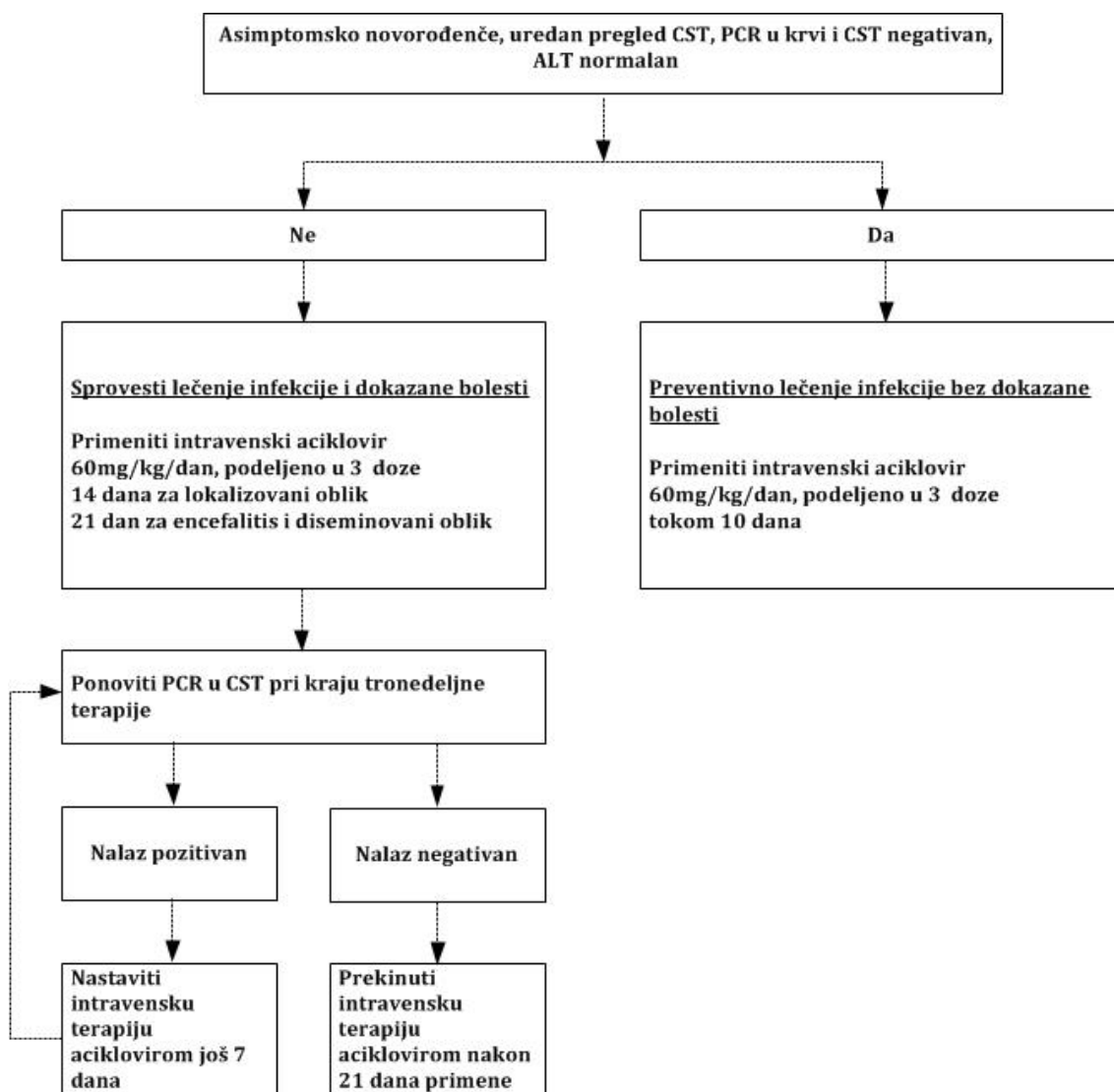
Slika 1-7. Algoritam postupaka sa novorođenčecom rođenim carskim rezom ili vaginalno čija majka ima aktivne genitalne lezije suspektne na HSV infekciju *(20).

Prilikom korišćenja ovog algoritma, potrebno je obratiti pažnju na nekoliko činjenica:

1. Ovaj algoritam može se primenjivati u sredinama u kojima se može obezbediti PCR na HSV i serološka tipizacija u relativno kratkom vremenskom periodu. U ostalim situacijama ovaj algoritam ima ograničen značaj, pa se ne može preporučiti.
2. Za ispitivanje novorođenčadi, savetuje se uzimanje analiza 24 h po rođenju, jer rano uzimanje analiza može biti znak tranzitorne kontaminacije, a ne aktivne replikacije virusa u mukozi novorođenčeta. Nasuprot, u slučaju pojave znakova i simptoma HSV bolesti novorođenčeta, obradu je potrebno uraditi što pre. Ovo važi i za situacije kada postoji podatak o produženoj rupturi plodovih ovojaka (>4-6h) i kod prevremeno rođene dece (≤ 37 nedelja gestacije).
3. Pod pojmom površinskih briseva, podrazumevaju su bris konjunktive, sluznice usta, nazofarinksa i rektuma, a ukoliko postoji podatak o invazivnom fetalnom monitoringu primenom „skalp elektroda“, onda je potrebno uzeti i bris sa mesta aplikacije elektroda.
4. Određivanje PCR na HSV u krvi nije parametar za klasifikaciju bolesti novorođenčeta.
5. Otpust novorođenčeta je moguć ukoliko su u roku od 48h kulture i PCR test negativni. U tim situacijama neophodno je detaljno informisati roditelje o mogućoj pojavi i znacima HSV infekcije, obratiti pažnju da li postoji mogućnost brze hospitalizacije novorođenčeta u slučaju potrebe. U suprotnom, preporučuje se čekanje definitivnog nalaza kultura ili do 96h od zasejavanja (može se poštovati kraći vremenski period).
6. U slučaju negativnih nalaza, roditelji treba da dobiju savet da narednih šest nedelja obraćaju pažnju na moguću pojavu znakova i simptoma NH.

Ukoliko ispitivanje po prethodnom algoritmu pokaže postojanje primarne ili naknadne infekcije majke, kao i pozitivne nalaze izolacije virusa i/ili PCR testova za novorođenče savetuje se kompletna evaluacija novorođenčeta koja uključuje lumbalnu punkciju, određivanje serumskih transaminaza (ALT) i obavezno

započinjanje terapije aciklovirom. Dalji postupak je potrebno sprovesti prema algoritmu prikazanom na slici 1-8, u zavisnosti od toga da li je novorođenče i dalje bez ispoljenih znakova bolesti i sa urednim biohemijskim i PCR testovima. Posebno treba obratiti pažnju na grupu tzv. „asimptomatske“ novorođenčadi, koji nemaju znake bolesti ali imaju HSV infekciju. Kod ove novorođenčadi neophodno je sprovesti antivirusnu terapiju aciklovirom tokom deset dana. Dokazanu neonatalnu HSV bolest, lečiti u zavisnosti od oblika bolesti 14 ili 21 dan, a u slučaju herpes encefalitisa po potrebi i duže (20).



Slika 1-8. Algoritam lečenja novorođenčeta rođenog carskim rezom ili vaginalno čija majka ima aktivne genitalne lezije suspektne na HSV infekciju *(20).

Prevenција postnatalne HSV infekcije podrazumeva mere koje se odnose na sprečavanje transmisije infekcije sa roditelja, osoba koja se brinu o novorođenčetu ili zdravstvenih radnika ukoliko imaju prisutne herpetične lezije na koži i ustima. S obzirom na lokalizaciju i načine prenosa infekcije, najefikasnija mera je energično pranje ruku pre i posle bilo kakvog kontakta sa novorođenčecom. Aktivni orolabijalni herpes podrazumeva i nošenje maske koja treba da prekriva i nos (8).

U prevenciji postnatalne HSV infekcije najčešće se postavljaju tri praktična pitanja: dojenje, odvajanje majke i deteta, rad osoblja sa herpesom. Jedina apsolutna kontraindikacija za dojenje je herpesna infekcija majke sa lokalizacijom herpetičnih lezija na dojka. Kao relativna kontraindikacija može se smatrati primarna infekcija majke praćena izraženim opštim poremećajima. U toj situaciji treba razmotriti i odvajanje majke i deteta u periodu trajanja izmene opšteg stanja.

U odnosu na rad medicinskog osoblja sa aktivnom herpesnom infekcijom liberalniji pristup podrazumeva i mogućnost neposrednog učešća u zbrinjavanju novorođenčeta uz sve prethodno navedene mere (pranje ruku, maska na licu, prekrivanje herpetičnih promena). Međutim, postoji i oprezniji stav prema kome se lekari ili medicinske sestre u fazi aktivnih herpetičnih promena angažuju na poslovima koji ne podrazumevaju direktni kontakt sa novorođenčecom. Inače, postoji opšta saglasnost da HSV infekcija u odsustvu opštih poremećaja nije razlog za privremeno udaljavanje sa posla (8, 9).

U cilju prevencije HSV infekcije veliki broj ispitivanja se sprovodi na izradi vakcine koja bi sprečila primarnu infekciju majke (preventivna vakcina), ili otklonila rekurentne epizode genitalnog herpesa uz smanjenje asimptomskog izlučivanja virusa (terapijska vakcina) (94). Realni problemi vezani su za brz prodor HSV virusa u nervna tkiva gde ostaju zaštićeni od imunske eradikacije, poteškoće vezane za složenost imunskog odgovora kod herpes infekcije, kao i činjenicu da se radi o velikom virusu sa više od 80 proteinskih komponenti. Iz tih razloga su se kao nedovoljno efikasne pokazale mrtva vakcina i inaktivisana živa vakcina. Prema aktuelnom stanju, izgledne perspektive sa potencijalnom zaštitom od 40-70% nude vakcine dobijene metodama genetskog inženjeringa iz frakcije žive atenuisane vakcine (34).

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Učestalost i karakteristike neonatalnog herpesa variraju među različitim zemljama. Zbog toga smo pretpostavili da kod novorođene dece u našoj sredini infekcija HSV ima određene kliničke i laboratorijske osobenosti , kao i da ne postoji značajna razlika u učestalosti u odnosu na ostale evropske zemlje. Učestalost i karakteristike neonatalnog herpesa značajni su zbog razvijanja strategije prevencije infekcije.

Ciljevi ovog istraživanja uključuju:

1. Analizu kliničkih i laboratorijskih karakteristika NH u odnosu na mogući oblik ispoljavanja sa kvantifikovanjem težine bolesti
2. Procenu učestalosti obolevanja od HSV infekcije kod novorođene dece u našoj sredini
3. Ispitivanje korelacije molekularnih i seroloških metoda u dijagnostici NH
4. Definisane kriterijuma za dijagnostičke i terapijske postupke kod novorođenčadi sa sumnjom na NH i dokazanom infekcijom HSV u našoj sredini.

3. MATERIJAL I METODOLOGIJA

Istraživanje je sprovedeno po tipu deskriptivne studije, koja je podeljena u dva vremenska perioda: prvi, od 2003. do decembra 2010. godine, za koji rađena retrospektivna analiza novorođenčadi sa mogućom i dokazanom HSV infekcijom lečenih u Institutu za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije „Dr Vukan Čupić“ (IMD) ili dokazanih u Virusološkoj laboratoriji Instituta za mikrobiologiju Medicinskog fakulteta u Beogradu i drugi period, od 2010. godine do maja 2015. godine u kome je sprovedeno prospektivno istraživanje, koje je obuhvatilo moguće i dokazane slučajeve NH lečene u IMD ili drugim pedijatrijskim ustanovama, a virusološki dijagnostikovane u Virusološkoj laboratoriji Instituta za mikrobiologiju Medicinskog fakulteta u Beogradu koja je od 2010. godine referentna nacionalna laboratorija za perinatalne infekcije sa mogućnošću molekularne dijagnostike HSV infekcije. U periodu posle 2010. godine, bolesnici kod kojih je infekcija HSV dijagnostikovana u Virusološkoj laboratoriji Instituta za mikrobiologiju Medicinskog fakulteta u Beogradu, su lečeni u tri tercijarne neonatalne ustanove: Institutu za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije „Dr Vukan Čupić“, Univerzitetској dečјој klinici i Institutu za neonatologiju u Beogradu. Zbog nemogućnosti adekvatne dijagnostike i lečenja NH u opštim bolnicama i porodilištima, novorođena deca se upućuju u ove ustanove na dalje lečenje.

3.1. Ispitanici

Analizirani su podaci o novorođenčadi i odojčadi uzrasta ≤ 45 dana sa sumnjom na NH, koja su rođena u periodu od januara 2003. godine do maja 2015. godine, a koja su lečena ili dijagnostikovana u pomenutim institucijama. Medicinski registri i/ili elektronske baze podataka su pretraživani za dijagnoze koje mogu ukazati na HSV infekciju novorođenčeta, a označene kodovima 054.xx i 771.2 u Devetoj internacionalnoj klasifikaciji bolesti (ICD-9) i kodovima B00.x i P35.2 u Desetoj internacionalnoj klasifikaciji bolesti (ICD-10). Laboratorijski registri su pretraživani za sve pozitivne serološke analize na HSV, kao i pozitivne PCR testove na HSV kod novorođenčadi i odojčadi do 45 dana. Uzrast ≤ 45 je određen zbog mogućnosti pojave neonatalne HSV infekcije koja se prezentuje neposredno po završenom neonatalnom periodu.

Ispitanici su podeljeni u tri grupe:

1. novorođenčad kod kojih je laboratorijski dokazana infekcija HSV: molekularnom analizom (PCR) i/ili pozitivnom serologijom na HSV uz postojanje kliničkih znakova NH (dokazani NH)
2. novorođenčad kod kojih je postojala jasna klinička sumnja na HSV infekciju i rađena laboratorijska dijagnostika (PCR i/ili serologija), ali infekcija nije dokazana (mogući NH)
3. novorođenčad kod kojih je laboratorijski dokazana infekcija HSV (PCR i/ili serologija) ali bez ispoljenih kliničkih znakova NH (asimptomatska novorođenčad).

Laboratorijska HSV dijagnostika kod asimptomatske novorođenčadi rađena je zbog anamnestičkih podataka o HSV infekciji majke u cilju prevencije bolesti. S obzirom da ova novorođenčad imaju infekciju, ali ne i HSV bolest, nisu uključeni u analizu karakteristika NH, kao ni u preračunavanje incidencije NH. Asimptomatska novorođenčad su analizirana kao posebna grupa, radi utvrđivanja uzročnika infekcije (HSV-1 ili HSV-2) u cilju sagledavanja epidemioloških karakteristika genitalne infekcije majke.

3.2. Laboratorijska dijagnoza

Laboratorijska dijagnoza HSV infekcije podrazumevala je primenu molekularnih i seroloških metoda dijagnostike HSV infekcije. Uzorci koji su testirani metodom molekularne dijagnostike podrazumevali su krv, cerebrospinalnu tečnost, briseve kože i mukoza i u jednom slučaju postmortem analizu tkiva (materijal je uziman u skladu sa kliničkom prezentacijom). Serološke analize rađene su iz seruma i cerebrospinalne tečnosti bolesnika. Pozitivni serološki nalazi na HSV su uključivali pozitivan IgM i/ili porast IgG više od četiri

puta na ponovljenom testu dve do tri nedelje nakon inicijalnog. Analizirana je korelacija seroloških i molekularnih metoda dijagnostike. U svim slučajevima gde postoji mogućnost vršeno je i ispitivanje serološkog statusa majke, kao i provera aktuelnog izlučivanja virusa PCR analizom cervikalnog brisa. Analizirana je korelacija nalaza majke i novorođenčeta i njihov značaj u dijagnostici NH.



Slika 3-1. Uređaj za PCR dijagnostiku HSV Virusološke laboratorije Instituta za mikrobiologiju Medicinskog fakulteta u Beogradu

3.3. Incidencija neonatalnog herpesa

Incidencija NH je izračunavana deljenjem broja dokazanih slučajeva NH s brojem živorođenih u periodu ispitivanja. Podaci o broju živorođenih, prikazani u tabeli 3-1, dobijeni su sa sajta Republičkog zavoda za statistiku Srbije (<http://webrzs.stat.gov.rs/WebSite/>) (95). S obzirom da je ispitivanje sprovedeno do maja 2015. godine, a da podaci za broj živorođenih u toj godini još uvek nisu dostupni, za proračunavanje incidencije je uzeta vrednost jedne trećine ukupnog broja živorođenih u 2014. godine (period od četiri meseca, januar-maj). Sva novorođenčad koja su rođena izvan teritorije Srbije a upućena su na lečenje u navedene ustanove, nisu uključena u proračunavanje incidencije. S obzirom da ova

deca su rođena u zemljama okruženja Srbije, da su istog etničkog porekla i kulturoloških karakteristika, uključeni su u analizu karakteristika NH.

Tabela 3-1 Broj živorođenih u Republici Srbiji za period 2003-2015, prema podacima RZS

Godina	Broj živorođenih	Godina	Broj živorođenih
2003	79025	2010	68304
2004	78186	2011	65598
2005	72180	2012	67257
2006	70997	2013	65554
2007	68102	2014	66461
2008	69083	2015*	22153
2009	70299	ukupno	863199

RZS-Republički zavod za statistiku

Incidencija je preračunata i za dva različita perioda: period 2003-2010. i period 2010-2015. u cilju ispitivanja postojanja promene incidencije nakon uvođenja rutinske PCR dijagnostike za HSV u našoj zemlji 2010. godine.

3.4. Analiza karakteristika ispitanika

Analizirane su demografske i kliničke karakteristike ispitanika: pol, uzrast, gestacija, način porođaja, telesna masa na rođenju, postojanje faktora rizika za NH, uzrast u vreme pojave simptoma bolesti. Detaljno su analizirani i najčešći znaci bolesti: povišena telesna temperatura, pojava kožnih lezija, konvulzije, somnolencija, letargija, odbijanje obroka, tremor, iritabilnost, respiratorni distres, pneumonija, hepatosplenomegalija, potreba za sprovođenjem mehaničke ventilacije. Analiza laboratorijskih nalaza podrazumevala je parametre krvne slike, vrednost CRP, nivo serumskih transaminaza, postojanje diseminovane intravaskularne koagulacije i poremećaja koagulacije, pregled CST, EEG i neuroradiološka ispitivanja (UZ CNS, CT i MR glave).

Za neparametrijske varijable korišćeni su sledeći kriterijumi za definisanje: trombocitopenija je definisana kao broj trombocita $<150 \times 10^9/l$, leukopenija je broj leukocita $<5 \times 10^9/l$ i leukocitoza $>20 \times 10^9/l$. Povišene transaminaze su definisane aspartat aminotransferaza (AST) >140 UI/L u prvih 5 dana po rođenju, odnosno >60 IU/L od 6 dana života i alanin aminotransferaza (ALT) >50 IU/L (96). Pleocitoza je definisana kao broj leukocita u cerebrospinalnoj tečnosti $\geq 25/ml$. Hipoglikorahija je definisana kao koncentracija glukoze manja od 50% vrednosti koncentracije glukoze u serumu. Proteinorahija je zavisna od uzrasta, tako da je za definisanje hiperproteinorahije kod terminske novorođenčadi korišćena koncentracija >90 mg/dl a za prevremeno rođenu decu preko 115mg/dl (97). Povišena temperatura je definisana kao aksilarno izmerena temperatura $\geq 37,6^\circ C$ ili rektalno $\geq 38^\circ C$, hipotermija kao rektalno izmerena temperatura $\leq 36,4^\circ C$ (98).

Analiza kliničkih karakteristika je podrazumevala i utvrđivanje kliničkog oblika infekcije (lokalizovana infekcija, herpes encefalitis ili diseminovani oblik) kao i izdvajanje specifičnih znakova NH u odnosu na druga oboljenja novorođenčadi sa sličnim manifestacijama bolesti. Lokalizovana bolest je definisana kao postojanje herpetičnih lezija na koži, sluznicama ili promena na očima uz laboratorijsku potvrdu HSV infekcije. Bolesnici sa herpetičnim lezijama na koži, očima i sluznicama ispitivani su i u cilju utvrđivanja težeg oblika bolesti. Ukoliko su bili pozitivni klinički i laboratorijski parametri za teži oblik bolesti, ova novorođenčad su klasifikovana prema težini u najtežu formu (encefalitis, potom diseminovani oblik). Encefalitis je dijagnostikovao na osnovu kliničke slike (najčešće konvulzije), pregleda CST, EEG i neuroradioloških nalaza koji bi ukazivali na bolest uz pozitivnu serologiju ili PCR na HSV u CST i/ili krvi. Diseminovana bolest je utvrđena na osnovu pozitivnog nalaza na HSV u krvi ili tkivima (PCR ili serologija) uz prisutne kliničke i/ili laboratorijske znake hepatitisa, pneumonije ili diseminovane intravaskularne koagulacije. Novorođenčad sa encefalitisom i diseminovanom bolešću klasifikovana su u grupu diseminovane bolesti. Pozitivan HSV PCR u krvi u odsustvu kliničkih znakova diseminacije nije bio potvrda diseminovane bolesti.

3.5. Kvantifikovanje težine bolesti

Težina kliničke slike za svakog ispitanika u studiji je kvantifikovana na osnovu međunarodno prihvaćenih skorova za procenu težine bolesti novorođenčadi, tzv. skora neonatalne fiziologije verzija II (Score for Neonatal Acute Physiology II, SNAP II) i skora neonatalne fiziologije verzija II sa perinatalnim faktorima rizika (Score for Neonatal Acute Physiology Perinatal Extension II, SNAPPE II). Skorovi SNAP II i SNAPPE koriste se za procenu težine bolesti novorođenčeta, odnosno za predikciju smrtnog ishoda (99).

Skorom SNAP II ocenjuje se šest parametara: srednji arterijski pritisak, telesna temperatura, odnos parcijalnog pritiska kiseonika i inspiratorne frakcije kiseonika, pH seruma, pojava ponavljanih konvulzija i diureza. Normalne vrednosti ocenjuju se sa nula poena, dok se odstupanja ocenjuju sa minimum 5 i maksimum 28 poena (vrednosti su zavisne od parametra koji se procenjuje). Skor SNAPPE II sadrži tri dodatna parametra značajna za preživljavanje novorođenčadi: vrednost Apgar skora, telesnu masu na rođenju i procenu da li je telesna masa novorođenčeta mala za gestaciju. Normalne vrednosti ovoga skora se takođe ocenjuju sa nula poena, dok se odstupanja ocenjuju sa 10 do 18 poena. U tabeli 3-2 su navedeni parametri SNAP II i SNAPPE II skora i vrednosti kojima se parametri ocenjuju.

Tabela 3-2. Parametri skorova SNAP II i SNAPPE II

Parametar skora/vrednosti	Skor
SNAP II	
Srednji arterijski pritisak (mmHg)	
>30	0
20-29	9
<20	19
Telesna temperatura (°C)	
>35,6	0
35-35,6	8
<35	15
PO₂/FiO₂	
>2,5	0
1-2,49	5
0,3-0,99	16
<0,3	28
pH seruma	
>7,2	0
7,1-7,19	7
<7,1	16
Ponavljane konvulzije	
Ne	0
Da	19
Diureza (ml/kg/h)	
>1	0
0,1-0,9	5
<0,1	18
SNAPPE II	
Apgar skor	
>7	0
<7	18
Telesna masa (grami)	
>1000	0
750-999	10
<750	17
Telesna masa mala za gestaciju	
< 3. percentila	12

3.6. Statističke metode

Za potrebe ove studije formirana je elektronska baza podataka koja sadraži: demografske podatke i kliničke karakteristike ispitanika, najčešće simptome bolesti, laboratorijske parametre, pomoćne dijagnostičke procedure, rezultate virusološke obrade, osnovne karakteristike majke ispitanika i njihove rezultate laboratorijske obrade, ishod i postojanje sekvela, podatke o sprovedenoj terapiji i vrednosti SNAP II i SNAPPE II skora.

Za analizu primarnih podataka korišćene su deskriptivne statističke metode i metode za testiranje statističkih hipoteza.

Od deskriptivnih statističkih metoda korišćene su mere centralne tendencije (aritmetička sredina, medijana), mere varijabiliteta (standardna devijacija, opseg) i relativni brojevi (pokazatelji strukture).

Od metoda za testiranje statističkih hipoteza korišćeni su: t-test za dva nezavisna uzorka, Mann Whitney test, Hi kvadrat test, Fisherov test tačne verovatnoće.

U cilju ispitivanja prediktivne sposobnosti SNAP II i SNAPPE II skora za moratlitet novorođenčadi sa NH, bila bi korišćena ROC kriva, a na osnovu analize odnosa senzitivnosti i specifičnosti bile bi predložene granične vrednosti.

Za statističku obradu podataka korišćen je statistički softver Statistical Package for Social Sciences (SPSS) v. 21.

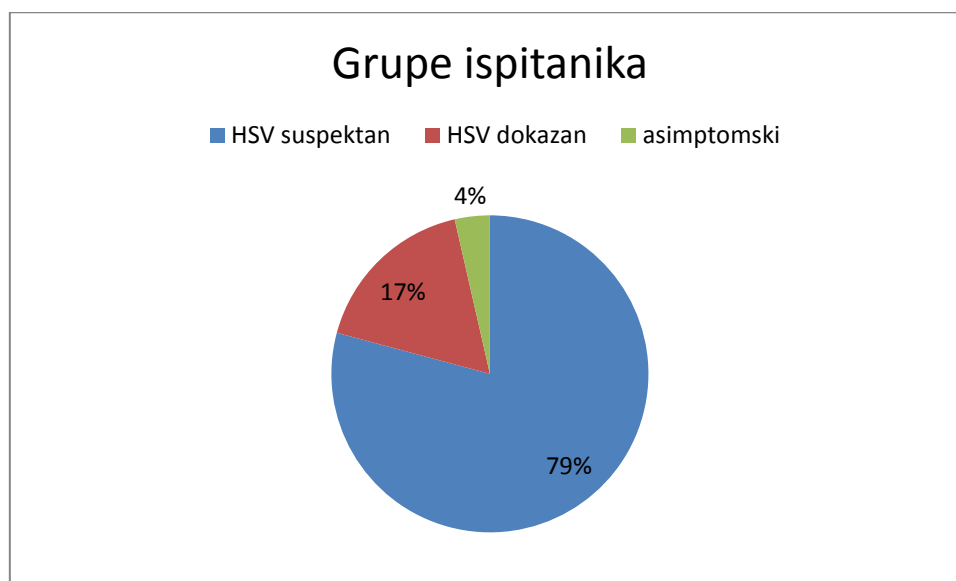
Statističke hipoteze su testirane na nivou statističke značajnosti (alfa nivo) od 0,05.

4. REZULTATI

4.1. Podela ispitanika na grupe

U ispitivanom periodu od januara 2003. godine do maja 2015. godine sumnja na herpes simpleks virus infekciju postojala je kod 168 novorođenčadi, kod kojih je rađeno laboratorijsko ispitivanje.

Infekcija HSV je dokazana kod 29 novorođenčadi (grupa HSV dokazan), koji su imali ispoljenu kliničku sliku bolesti i pozitivne laboratorijske nalaze (PCR i/ili serologiju na HSV). Kod šestoro novorođenčadi potvrđena je HSV infekcija, ali bez znakova HSV bolesti. Ovi bolesnici su svrstani u grupu asimptomatska novorođenčad, koja je analizirana i prikazana nezavisno od grupe novorođenčadi sa dokazanom i suspektnom HSV infekcijom. Kod najvećeg broja bolesnika 133, HSV infekcija nije potvrđena laboratorijskim ispitivanjem (grupa HSV suspektan) (grafikon 4-1).



Grafikon 4-1. Distribucija ispitanika po grupama

4.2. Incidencija neonatalnog herpesa

Analizom medicinskih registara i elektronskih baza podataka u referentnim centrima za dijagnoze koje ukazuju na HSV infekciju novorođenčeta (kodovi 054.xx i 771.2 u ICD-9 i kodovi B00.x i P35.2 u ICD-10, tokom dvanestogodišnjeg perioda ispitivanja, od januara 2003. godine do maja 2015. godine, nađeno je 37 novorođenčadi sa dijagnozom neonatalnog herpesa. Detaljnom retrospektivnom analizom podataka, osmoro novorođenčadi iz ove grupe nisu zadovoljili kriterijume dokazane HSV infekcije, koja zbog nemogućnosti adekvatne laboratorijske dijagnostike nije potvrđena. Za dalju analizu ova novorođenčad su svrstana u grupu novorođenčadi sa suspektom infekcijom.

Ukupan broj novorođenčadi sa ispoljenom kliničkom slikom NH i adekvatnom laboratorijskom potvrdom koji su svrstani u grupu dokazana HSV infekcija je 29.

Od ukupno 29 novorođenčadi sa dokazanom infekcijom, troje je rođeno izvan teritorije Srbije (bolesnici 11, 12 i 14 u tabeli 4-2) i oni nisu uključeni u proračunavanje incidencije NH u populaciji Srbije.

Prema podacima Republičkog zavoda za statistiku u periodu od januara 2003. do maja 2015. godine u Srbiji je rođeno 863 199 novorođenčadi (rang od 65 554 do 79025). S obzirom da podaci o broju živorođenih za 2015. godinu još uvek nisu dostupni, za proračunavanje incidencije je uzeta vrednost jedne trećine ukupnog broja živorođenih u 2014. godine (period od četiri meseca, januar-maj). U tabeli 4-1 prikazani su po godinama broj živorođenih, novorođenčadi s dokazanom HSV infekcijom, kao i preračunate incidencije.

Za celokupan dvanestogodišnji ispitivani period, proračunata incidencija neonatalnog herpesa iznosi 3,01 na 100.000 živorođenih. Od 2003. do 2010. godine, u periodu pre uvođenja PCR dijagnostike kao zvanične metode za dijagnostiku neonatalne HSV infekcije incidencija je iznosila 1,77 na 100.000 živorođenih, dok je u narednom periodu od januara 2010. do maja 2015. godine incidencija iznosila 4,78 na 100.000 živorođenih.

Tabela 4-1. Broj živorođenih, dijagnostikovanih slučajeva neonatalnog herpesa i incidencije po godinama

Godina	Broj živorođenih (RZS)	Dokazana HSV infekcija kod rođenih u RS	Incidencija po godinama
2003	79025	1	1,27
2004	78186	1	1,28
2005	72180	2	2,77
2006	70997		
2007	68102	2	2,94
2008	69083	1	1,45
2009	70299	2	2,84
2010	68304	1	1,46
2011	65598	1	1,52
2012	67257		
2013	65554	3	4,58
2014	66461	6	9,03
2015	22153	6	27,08
ukupno	863199	26	3,01
Period			
2003-2010	507872	9	1,77
2010-2015	355327	17	4,78

4.3. Osnovne karakteristike ispitanika s dokazanom HSV infekcijom.

U tabeli 4-2 prikazane su osnovne demografske i kliničke karakteristike 29 novorođenčadi s dokazanom HSV infekcijom, a koje su detaljno obrađene kroz poređenje s grupom ispitanika sa suspektom infekcijom.

Tabela 4-2. Osnovne demografske i kliničke karakteristike 29 novorođenčadi s dokazanom herpes simpleks virus infekcijom

Bolesnik	Godina	Pol	Gestacija (nedelje)	Način porođaja	Uzrast u vreme prezentacije (dani)	HSV tip	Oblik bolesti	HSV test	Uzorak za PCR	Terapija	Ishod
1	2003	Ž	39	Vaginalni	14	2	Encefalitis	Serologija		Da †	Normalan
2	2004	Ž	39	Vaginalni	3	1 i 2	Diseminovani	PCR	Tkivo	Ne	Exitus
3	2005	M	39	Vaginalni	31	2	Encefalitis	Serologija		Da †	Normalan
4	2005	M	38	Vaginalni	26	2	Encefalitis	Serologija		Da †	Sekvele
5	2007	Ž	38	Vaginalni	1	2	Encefalitis +	PCR	Krv	Da	Normalan
6	2007	M	38	SC	6	1	Encefalitis +	Serologija		Da	Normalan
7	2008	M	36	Vaginalni	16	2	Encefalitis	Serologija/ PCR	Krv/CST	Da	Normalan
8	2009	M	39	Vaginalni	5	1	Encefalitis +	Serologija/ PCR	Krv	Da	Normalan
9	2009	M	39	Vaginalni	37	2	Encefalitis	PCR	Krv	Da †	Normalan
10	2010	M	39	SC	8	1	Encefalitis	Serologija		Da	Normalan
11*	2010	Ž	38	SC	1	1	Encefalitis	PCR	CST	Da	Normalan
12*	2011	M	39	Vaginalni	10	2	Encefalitis	PCR	CST	Da	Normalan
13	2011	M	39	SC	7	2	Encefalitis	PCR	Krv	Da	Normalan
14*	2011	Ž	39	Vaginalni	12	1	Encefalitis	PCR	Krv/CST	Da	Normalan
15	2013	Ž	36	SC	1	1	Diseminovani	PCR	Krv	Da	Exitus

Bolesnik	Godina	Pol	Gestacija (nedelje)	Način porođaja	Uzrast u vreme prezentacije (dani)	HSV tip	Oblik bolesti	HSV test	Uzorak za PCR	Terapija	Ishod
16	2013	Ž	38	Vaginalni	14	2	Encefalitis	PCR	CST	Da	Normalan
17	2013	Ž	36	Vaginalni	1	1	Diseminovani	PCR	Krv	Ne	Exitus
18	2014	M	39	Vaginalni	3	2	Lokalizovani	PCR	Krv/bris	Da	Normalan
19	2014	M	41	Vaginalni	2	1	Encefalitis	PCR	CST	Da	Sekvele
20	2014	Ž	32	Vaginalni	1	Bez tipizacije	Diseminovani	PCR	Krv /CST	Da	Sekvele
21	2014	M	30	SC	1	2	Diseminovani	PCR	Krv /CST	Da	Sekvele
22	2014	M	39	SC	1	1	Encefalitis	PCR	Krv /CST	Da	Exitus
23	2014	M	42	Vaginalni	1	2	Encefalitis	PCR	Krv	Da	Sekvele
24	2015	Ž	39	Vaginalni	22	2	Encefalitis	PCR	Krv /CST	Da	Sekvele
25	2015	Ž	41	SC	2	Bez tipizacije	Encefalitis	PCR	Krv /CST	Da	Sekvele
26	2015	M	41	Vaginalni	2	Bez tipizacije	Encefalitis	PCR	CST	Da	Normalan
27	2015	Ž	31	SC	1	2	Diseminovani	PCR	Krv	Da	Sekvele
28	2015	Ž	35	SC	1	2	Diseminovani	PCR	Krv	Da	Sekvele
29	2015	F	40	Vaginalni	7	2	Encefalitis	PCR	CST	Da†	Sekvele

M –muški pol; Ž- ženski pol; SC-carski rez; CST- cerebrospinalna tečnost; encefalitis+ - encephalitis udružen sa herpetičnim lezijama na koži, ustima ili očima; Da† - neadekvatna doza ili trajanje terapije

4.4. Poređenje novorođenčadi sa suspektom i dokazanom HSV infekcijom

4.4.1. Poređenje osnovnih karakteristika novorođenčadi sa suspektom i dokazanom HSV infekcijom

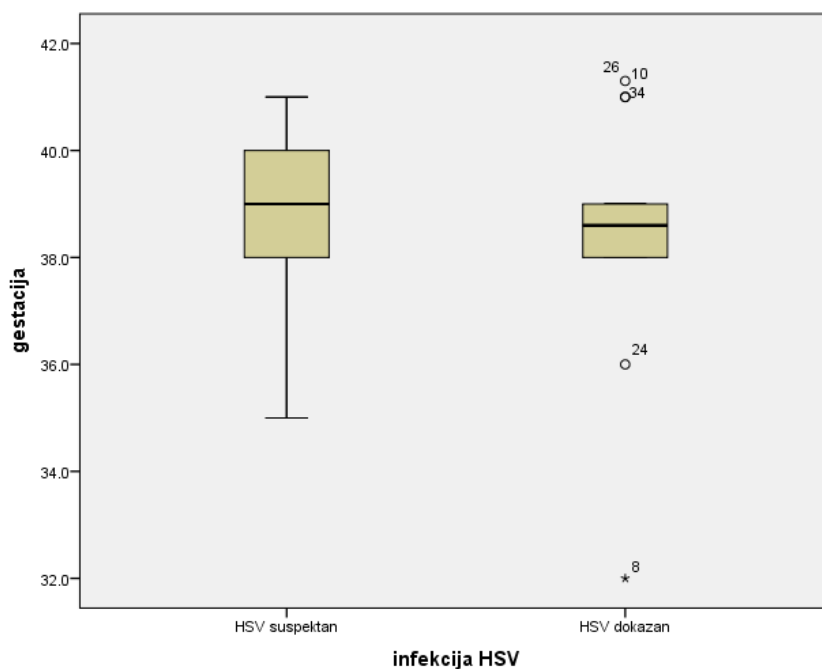
U grupama ispitanika sa suspektom i dokazanom neonatalnom HSV infekcijom poređene su osnovne demografske, kliničke i laboratorijske karakteristike, kao i osnovni podaci o majkama novorođenčadi.

Srednje vrednosti i medijane gestacije, telesne mase na rođenju, uzrasta u vreme pojave znakova i simptoma bolesti kao i godina majke u trenutku porođaja u grupama sa dokazanom i suspektom infekcijom prikazane su u tabeli 4-3.

Tabela 4-3. Srednje vrednosti i medijane gestacije, telesne mase na rođenju, uzrasta u vreme pojave znakova i simptoma bolesti kao i godina majke u trenutku porođaja u grupama sa dokazanom i suspektom infekcijom

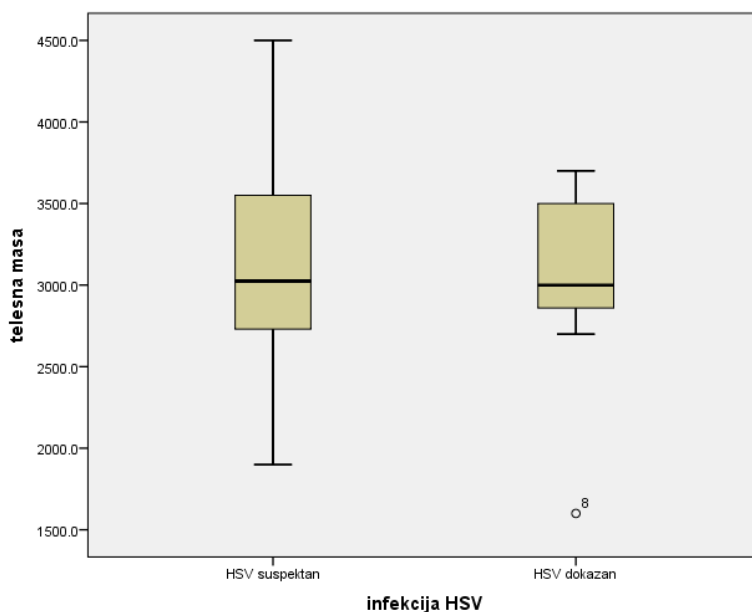
Parametar	Vrednost					Ispitanici (n)	p
	\bar{X}	SD	Med	P ₂₅	P ₇₅		
Gestacija							
HSV suspektan	38.46	1.91	39.00	37.60	40.00	130	.189
HSV dokazan	37.71	2.86	38.60	37.40	39.00	29	
Telesna masa							
HSV suspektan	3184.36	599.27	3140.00	2750.00	3600.00	132	.364
HSV dokazan	3066.55	763.40	3230.00	2750.00	3650.00	29	
Uzrast u vreme tegoba							
HSV suspektan	5.42	6.43	2.00	1.00	7.00	126	.305
HSV dokazan	8.17	9.83	3.00	1.00	12.00	29	
Godine majke							
HSV suspektan	28.63	5.34	28.00	24.00	33.00	115	.375
HSV dokazan	27.54	5.84	26.50	23.50	30.50	24	

Aritmetička sredina gestacije je iznosila 38.46 ± 1.91 nedelja u grupi HSV suspektinih i $38,60 \pm 37,40$ nedelja u grupi HSV dokazanih. Poređenje srednjih vrednosti gestacije vršeno je T testom, nije bilo statistički značajne razlike između ove dve grupe ispitanika ($p=0,189$) (slika 4-1).



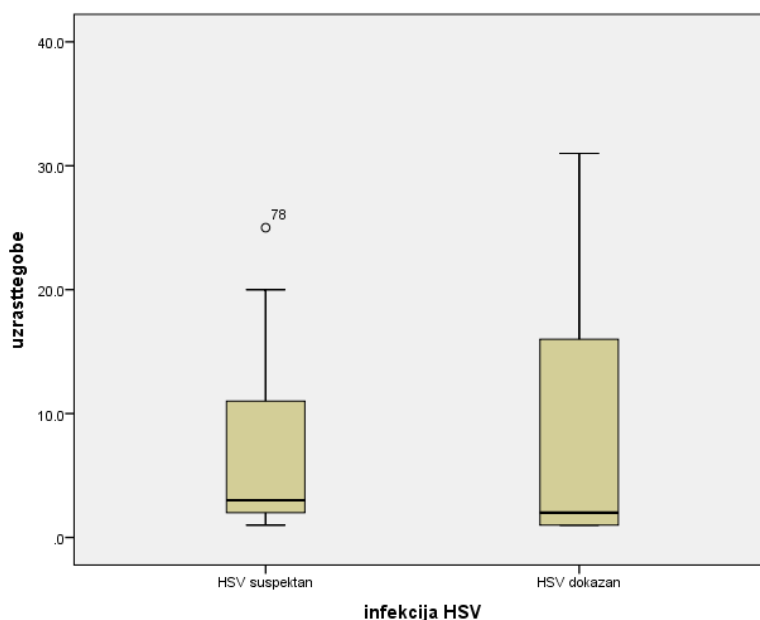
Slika 4-1. Poređenje gestacijske starosti između grupa sa suspektnom i dokazanom infekcijom

Srednja vrednost telesne mase na rođenju je iznosila $3184,36 \pm 599,27$ u grupi HSV suspektinih i $3066,55 \pm 763,40$ u grupi HSV dokazanih. Poređenje srednjih vrednosti gestacije vršeno je T testom, nije bilo statistički značajne razlike u između ove dve grupe ispitanika ($p=0,364$) (slika 4-2).



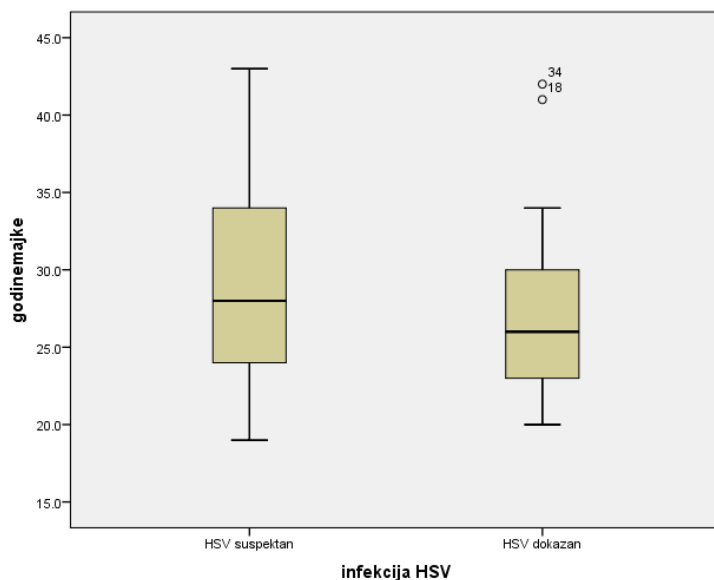
Slika 4-2. Poređenje telesne mase na rođenju između grupa sa suspektnom i dokazanom infekcijom

Medijana uzrasta novorođenčadi u vreme pojave tegoba u grupi sa suspektnom HSV infekcijom je 2 dana (1-7), a u grupi sa dokazanom HSV infekcijom 3 dana (1-12). Poređenje je vršeno Mann Whitney testom, nije bilo statistički značajne razlike u uzrastu pojave tegoba između ove dve grupe ($p=0,305$) (slika 4-3).



Slika 4-3. Poređenje uzrasta u vreme pojave tegoba kod novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom infekcijom

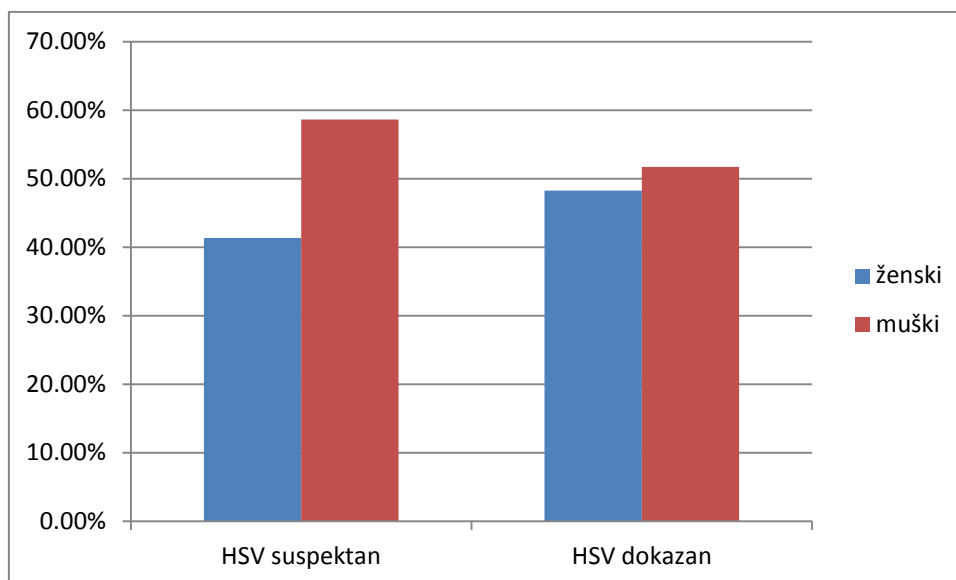
Aritmetička sredina godina majke je iznosila $28,63 \pm 5,34$ u grupi HSV suspektnih i $27,54 \pm 5,84$ u grupi HSV dokazanih. Poređenje srednjih vrednosti gestacije vršeno je T testom, nije bilo statistički značajne razlike u između ove dve grupe ispitanika ($p=0,375$) (slika 4-4).



Slika 4-4. Poređenje godina majke novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom infekcijom

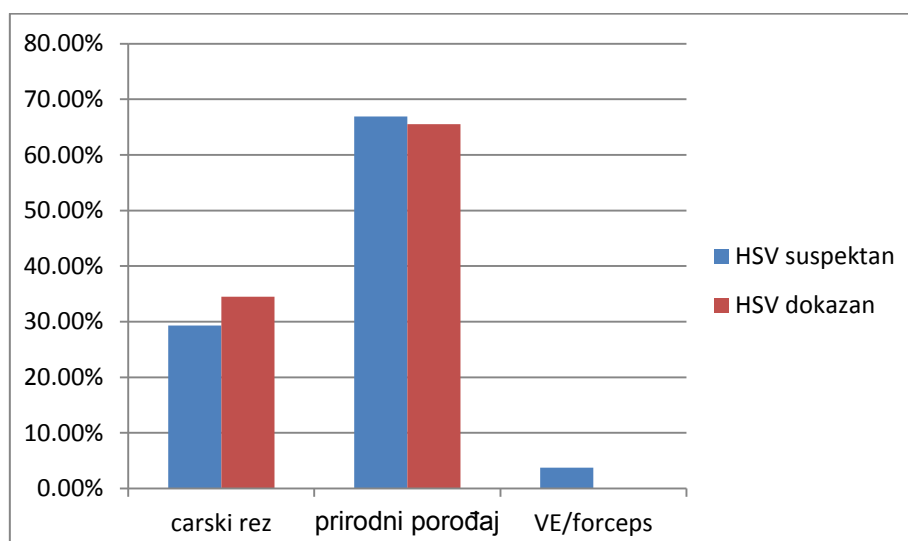
Broj bolesnika ženskog pola u grupi sa suspektnom infekcijom je bio 55 (41,35%), a u grupi sa dokazanom infekcijom 14 (48,28%). Bolesnika muškog pola u grupi sa suspektnom infekcijom bilo je 78 (58,65%), a u grupi sa dokazanom infekcijom 15 (51,72%). Hi kvadrat testom nije utvrđena statistički značajna razlika u distribuciji pola između dve grupe ispitanika ($p>0,05$) (grafikon 4-2).

U grupi ispitanika sa suspektnom HSV infekcijom carskim rezom je rođeno 39, odnosno 29,32% novorođenčadi, instrumentalno dovršen porođaj je bio kod petoro, odnosno 3,76%, dok je normalnim, vaginalnim porođajem rođeno 89 (66,92%) novorođenčadi. U grupi sa dokazanom infekcijom nije bilo instrumentalno dovršenih porođaja, carskim rezom je rođeno 10, odnosno 34,48% novorođenčadi, dok je preostalih 19 rođeno prirodnim putem. Analizom Fisherovim testom, nije utvrđena statistički značajna razlika u načinu porođaja između dve grupe ispitanika ($p>0,05$) (grafikon 4-3).



Grafikon 4-2. Distribucija po polu u grupama sa suspektnom i dokazanom HSV infekcijom

Od faktora rizika za nastanak HSV infekcije kod novorođenčeta, ispitani su prevremena ruptura plodovih ovojaka i korišćenje elektroda za monitoring aplikovanih intrauterusno na poglavinu ploda (fetalne „skapl” elektrode). Podatak o prevremenoj rupturi plodovih ovojaka je postajao kod 3 bolesnika, 2 iz grupe suspektnih i jednog iz grupe s dokazanom infekcijom. Fisherovim testom nije utvrđena statistički značajna razlika u ovom faktoru rizika između dve grupe ispitanika ($p > 0,05$).

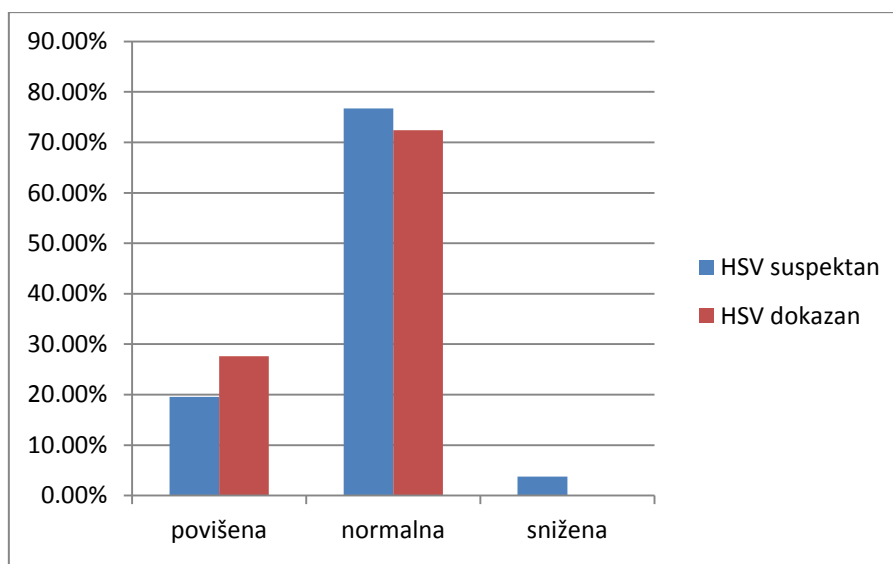


Grafikon 4-3. Način porođaja kod novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom HSV infekcijom

4.4.2. Poređenje znakova i simptoma bolesti novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom HSV infekcijom

Telesna temperatura

Povišenu telesnu temperature je imalo 26 novorođenčadi (19,55%) u grupi sa suspektnom i 8 novorođenčadi (27,59%) sa dokazanom infekcijom. Sniženu temperature je imalo 5 novorođenčadi (3,76%) u grupi sa suspektnom HSV infekcijom, dok u grupi sa dokazanom infekcijom nije registrovana. Poređenjem ovih grupa Fisherovim testom nije nađena statistički značajna razlika u pojavi povišene odnosno snižene temperature u ovim grupama ($p = 0,470$) (grafikon 4. 4).

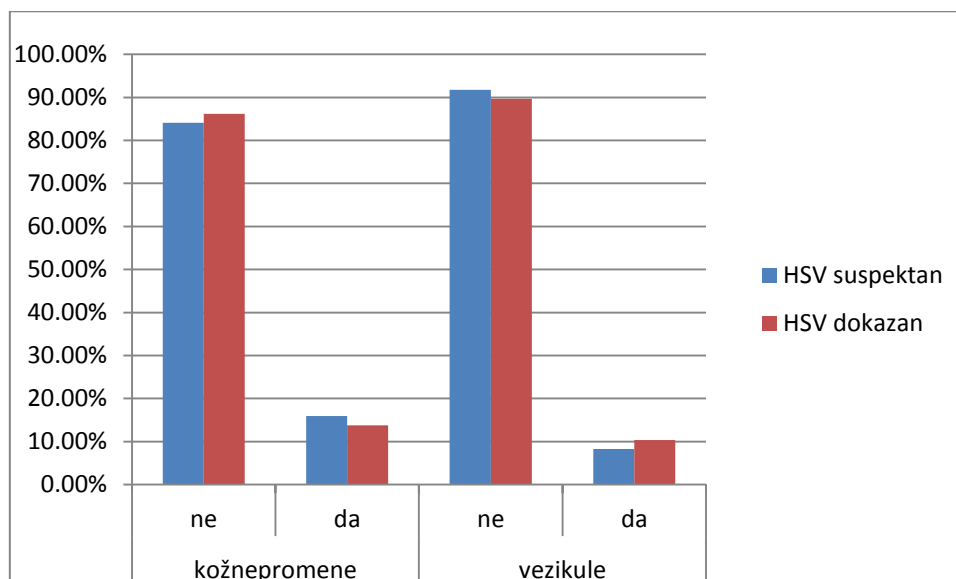


Grafikon 4-4. Telesna temperatura kod novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom HSV infekcijom

Kožne promene i vezikule

Kožne promene je imalo 21 novorođenče (15,91%) u grupi sa suspektnom i 4 novorođenčadi (13,79%) sa dokazanom infekcijom. Poređenjem Hi kvadrat testom nije nađena statistički značajna razlika u pojavi kožnih promena u ispitivanim grupama ($p = 0,776$).

Specifično posmatrana pojava vezikula registrovana je kod 11 novorođenčadi (8,27%) sa suspektnom i 3 novorođenačdi (10,34%) s dokazanom infekcijom. Poređenjem Hi kvadrat testom nije nađena statistički značajna razlika u pojavi vezikula u ispitivanim grupama (p 0,719) (grafikon 4-5).

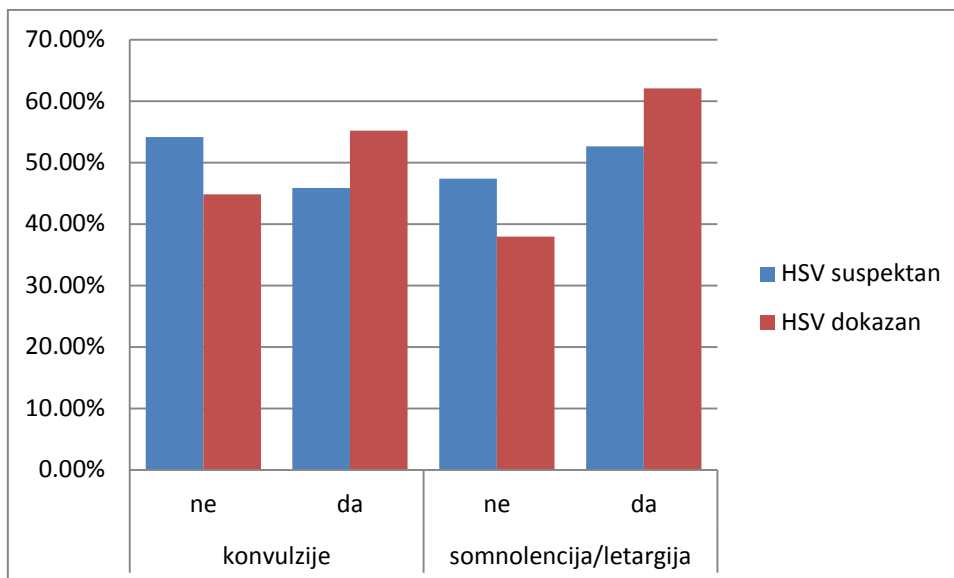


Grafikon 4-5. Pojava vezikula i drugih kožnih promena kod novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom HSV infekcijom

Konvulzije i somnolencija/letargija

Konvulzije je imalo 61 novorođenče (45,86%) u grupi sa suspektnom i 16 novorođenačdi (55,17%) sa dokazanom infekcijom. Poređenjem Hi kvadrat testom nije nađena statistički značajna razlika u pojavi konvulzija u ispitivanim grupama (p 0,363).

Somnolenciju i/ili letargiju je imalo 70 novorođenčadi (52,63%) u grupi sa suspektnom i 18 novorođenačdi (62,07%) sa dokazanom infekcijom. Poređenjem Hi kvadrat testom nije nađena statistički značajna razlika u pojavi somnolencije u ispitivanim grupama (p 0,355) (grafikon 4-6).



Grafikon 4-6. Znaci neurološke izmenjenosti (konvulzije i somnolencija/letargija) kod novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom HSV infekcijom

Tremor i iritabilnost

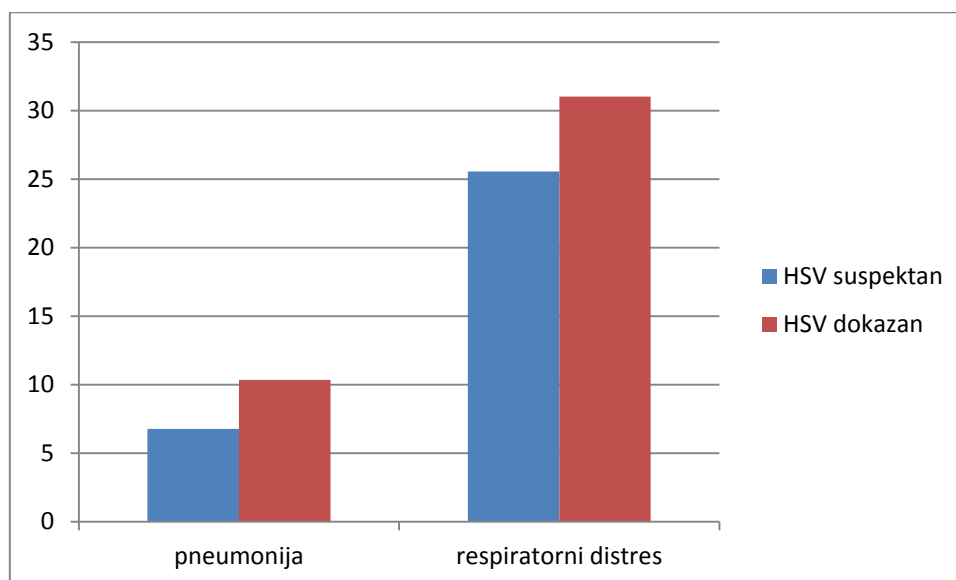
Tremor je imalo 13 novorođenčadi (9,77%) u grupi sa suspektnom i 6 novorođenčadi (20,69%) sa dokazanom HSV infekcijom. Poređenjem Hi kvadrat testom nije nađena statistički značajna razlika u pojavi tremora u ispitivanim grupama (p 0,098).

Iritabilnost je ispoljilo 16 novorođenčadi (12,03%) u grupi sa suspektnom i 6 novorođenčadi (20,69%) sa dokazanom infekcijom. Poređenjem Hi kvadrat testom nije nađena statistički značajna razlika u pojavi iritabilnosti u ispitivanim grupama (p 0,217).

Pneumonija i respiratorni distres

Pneumonija je utvrđena kod 9 novorođenčadi (6,77%) sa suspektnom i 3 novorođenčadi (10,34%) sa dokazanom infekcijom. Poređenjem Hi kvadrat testom nije nađena statistički značajna razlika u pojavi pneumonije u ispitivanim grupama (p 0,505).

Znake respiratornog distresa je ispoljilo 34 novorođenčadi (25,56%) u grupi sa suspektnom i 9 novorođenčadi (31,03%) sa dokazanom infekcijom. Poređenjem Hi kvadrat testom nije nađena statistički značajna razlika u pojavi respiratornog distresa u ispitivanim grupama (p 0,546) (grafikon 4-7).



Grafikon 4-7. Pojava pneumonije i respiratornog distresa kod novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom HSV infekcijom

Odbijanje obroka

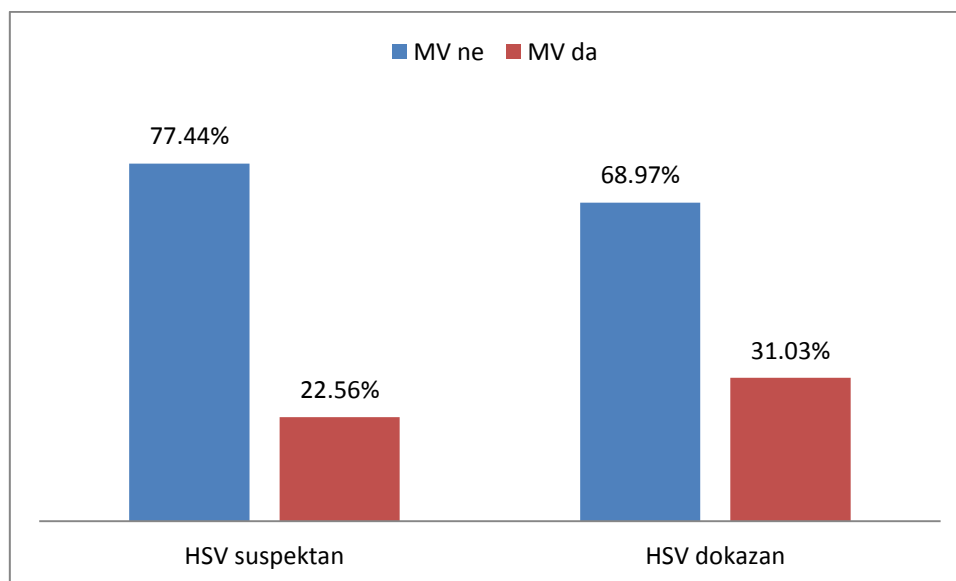
Odbijanje obroka je postojalo kod 51 novorođenčeta (38,35%) u grupi sa suspektnom i 16 novorođenčadi (55,17%) sa dokazanom infekcijom. Poređenjem Hi kvadrat testom nije nađena statistički značajna razlika u pojavi odbijanja obroka u ispitivanim grupama (p 0,095).

Hepatosplenomegalija

Hepatosplenomegaliju je imalo 14 novorođenčadi (10,53%) u grupi sa suspektnom infekcijom, dok u grupi sa dokazanom HSV infekcijom nije registrovana. Poređenjem Hi kvadrat testom nije nađena statistički značajna razlika u pojavi hepatosplenomegalije u ispitivanim grupama (p 0,068).

Potreba za mehaničkom ventilacijom

Mehanička ventilacija je sprovedena kod 30 novorođenčadi (22,56%) u grupi sa suspektnom i 9 novorođenčadi (31,03%) sa dokazanom infekcijom. Poređenjem Hi kvadrat testom nije nađena statistički značajna razlika u potrebi za mehaničkom ventilacijom u ispitivanim grupama (p 0,098) (grafikon 4-8).



Grafikon 4-8. Potreba za mehaničkom ventilacijom kod novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom HSV infekcijom

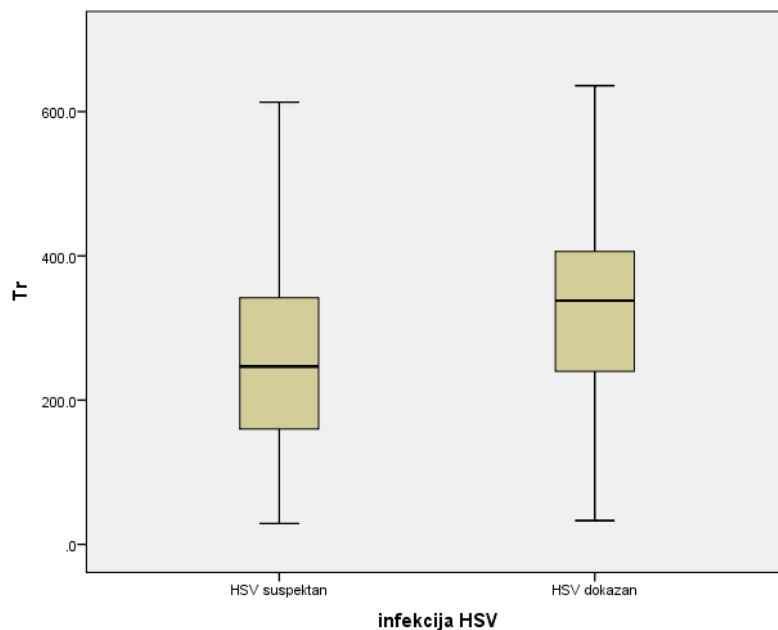
4.4.3. Poređenje laboratorijskih parametara između novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom HSV infekcijom

Parametrijskim testom za ispitivanje statističkih značajnosti ispitivani su sledeći laboratorijski parametri: broj trombocita, koncentracija C-reaktivnog proteina, vrednosti serumskih transaminaza (AST i ALT) i broj leukocita (tabela 4-4).

Tabela 4-4. Poređenje broja trombocita, koncentracija C-reaktivnog proteina, transaminaza (AST i ALT) i broj leukocita kod novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom infekcijom

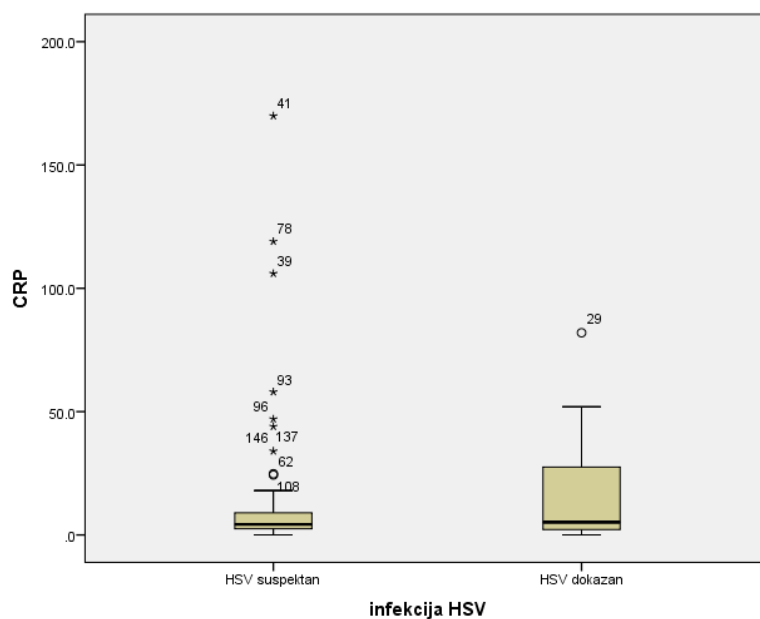
Parametar	Vrednost					Uzorak (n)	p
	\bar{X}	SD	Med	P ₂₅	P ₇₅		
Trombociti							
HSV suspektan	254.73	148.80	241.50	153.00	341.50	132	0.468
HSV dokazan	277.41	166.64	288.00	130.00	393.00		
CRP (mg/L)							
HSV suspektan	12.27	24.70	3.95	1.35	9.55	132	0.024
HSV dokazan	24.78	35.33	10.65	2.20	33.50		
AST (IU/L)							
HSV suspektan	119.91	309.25	50.00	30.00	86.00	105	0.440
HSV dokazan	649.35	2853.92	40.00	29.00	82.00		
ALT (IU/L)							
HSV suspektan	59.95	93.91	26.00	16.00	57.00	105	0.574
HSV dokazan	175.78	655.81	28.00	20.00	34.00		
Leukociti							
HSV suspektan	14.08	7.01	13.50	9.60	16.70	132	0.899
HSV dokazan	14.27	7.97	12.50	10.30	17.20		

Aritmetička sredina broja trombocita je iznosila 254,73±148,8 u grupi HSV suspektnih i 277,41±288 u grupi HSV dokazanih. Poređenje srednjih vrednosti broja trombocita vršeno je T testom, nije bilo statistički značajne razlike u između ove dve grupe ispitanika (p=0,468) (slika 4-5)



Slika 4-5. Poređenje vrednosti broja trombocita kod novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom HSV infekcijom

Srednja vrednost koncentracije C-reaktivnog proteina je iznosila $12,27 \pm 24,71,91$ u grupi HSV suspektnih i $24,78 \pm 35,33$ u grupi HSV dokazanih. Poređenje srednjih vrednosti koncentracije CRP je vršeno Mann Whitney testom i utvrđena je statistički značajna razlika između ove dve grupe ispitanika ($p=0,024$) (slika 4-6).

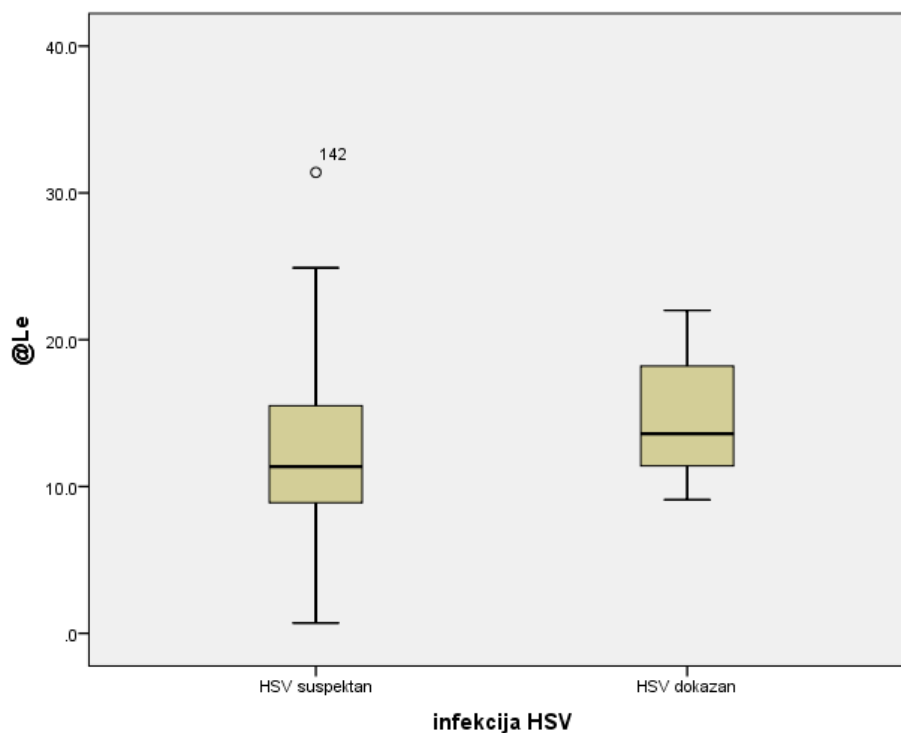


Slika 4-6. Poređenje vrednosti koncentracije C-reaktivnog proteina kod novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom HSV infekcijom

Srednja vrednost AST je iznosila $119,91 \pm 309,25$ u grupi HSV suspektnih i $649,35 \pm 2853,92$ u grupi HSV dokazanih. Poređenje srednjih vrednosti AST je vršeno Mann Whitney testom, nije utvrđena je statistički značajna razlikau koncentraciji AST između ove dve grupe ispitanika ($p=0,440$).

Srednja vrednost ALT je iznosila $59,95 \pm 93,91$ u grupi HSV suspektnih i $175,78 \pm 655,81$ u grupi HSV dokazanih. Poređenje srednjih vrednosti ALT je vršeno Mann Whitney testom testom, nije utvrđena je statistički značajna razlika između ove dve grupe ispitanika ($p=0,574$).

Aritmetička sredina broja leukocita je iznosila $14,08 \times 10^9 \pm 7,01 \times 10^9$ u grupi HSV suspektnih i $14,27 \times 10^9 \pm 7,97$ u grupi sa dokazanom HSV infekcijom. Poređenje aritmetičkih sredina broja leukocita vršeno je T testom i nije utvrđena statistički značajna razlika u ove dve grupe ispitanika ($p=0.899$) (slika 4-7).



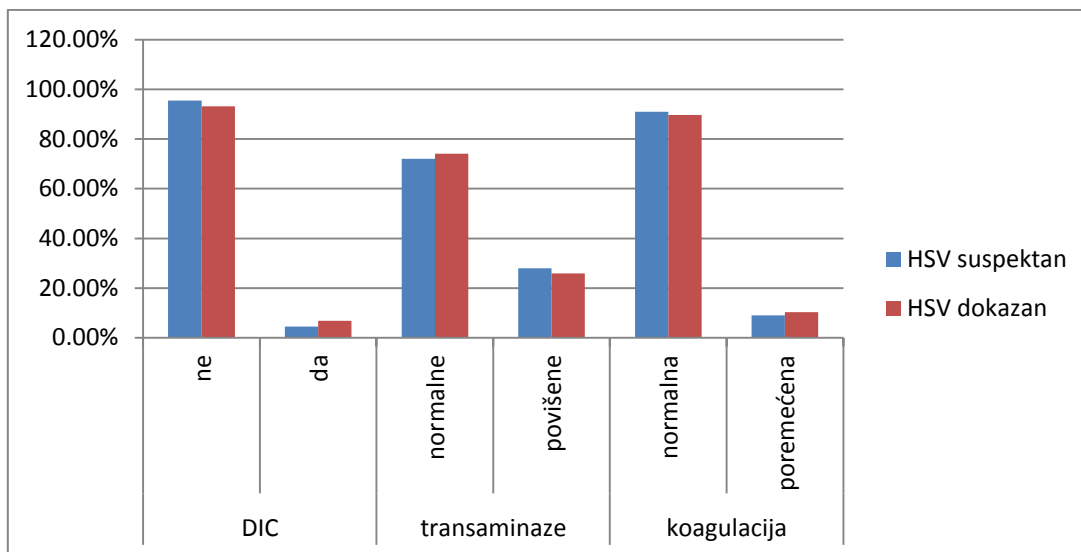
Slika 4-7. Poređenje vrednosti broja leukocita kod novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom HSV infekcijom

Neparametrijskim testom za ispitivanje statističkih značajnosti razlika (Hi kvadrat test) nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike u grupi ispitanika sa suspektom i dokazanom HSV infekcijom za postojanje diseminovane intravaskularne koagulacije, povišenih vrednosti transaminaza, poremećaja koagulacije i postojanja leukopenije odnosno leukocitoze ($p>0,05$) (tabela 4-5, grafikoni 4-9 i 4-10).

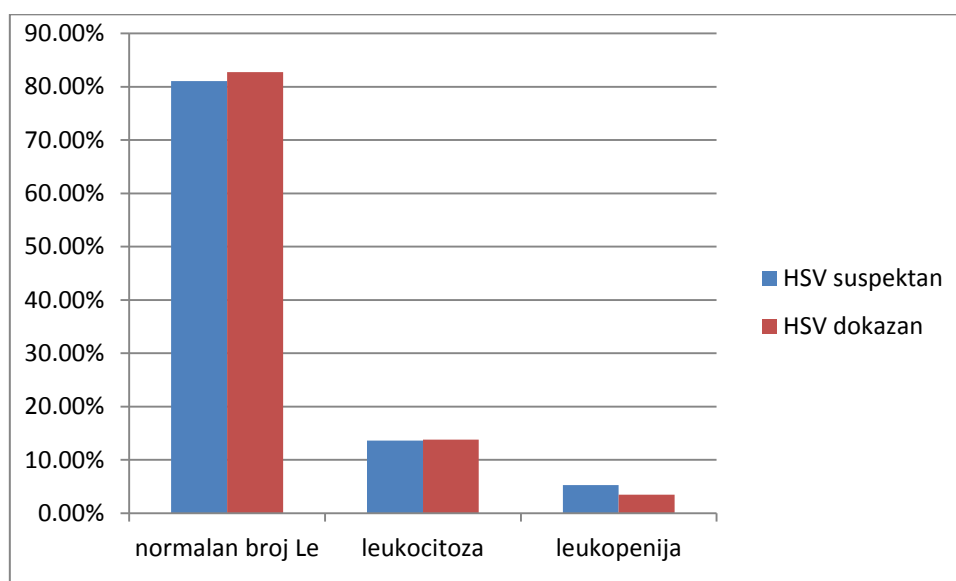
Tabela 4-5. Poređenje učestalosti diseminovane intravaskularne koagulacije, povišenih transaminaza, poremećaja koagulacije i poremećaja broja leukocita kod novorođenčadi sa suspektom i dokazanom HSV infekcijom

	HSV suspektan		HSV dokazan		p
	N	%	N	%	
DIK					
ne	127	95.49	27	93.10	0.591
da	6	4.51	2	6.90	
Transaminaze					
normalne	80	72.07	20	74.07	0.835
povišene	31	27.93	7	25.93	
Koagulacija					
normalna	120	90.91	26	89.66	0.833
poremećena	12	9.09	3	10.34	
Broj leukocita					
normalan	107	81.06	24	82.76	0.917
leukocitoza	18	13.64	4	13.79	
leukopenija	7	5.30	1	3.45	

DIK - diseminovana intravaskularna koagulacija



Grafikon 4-5. Grafički prikaz učestalosti diseminovane intravaskularne koagulacije, povišenih transaminaza i poremećaja koagulacije kod novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom HSV infekcijom



Grafikon 4-60. Grafički prikaz učestalosti poremećaja broja leukocita kod novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom HSV infekcijom

4.4.4. Poređenje elektroencefalografskih, oftalmoloških i neuroradioloških ispitivanja kod novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom HSV infekcijom

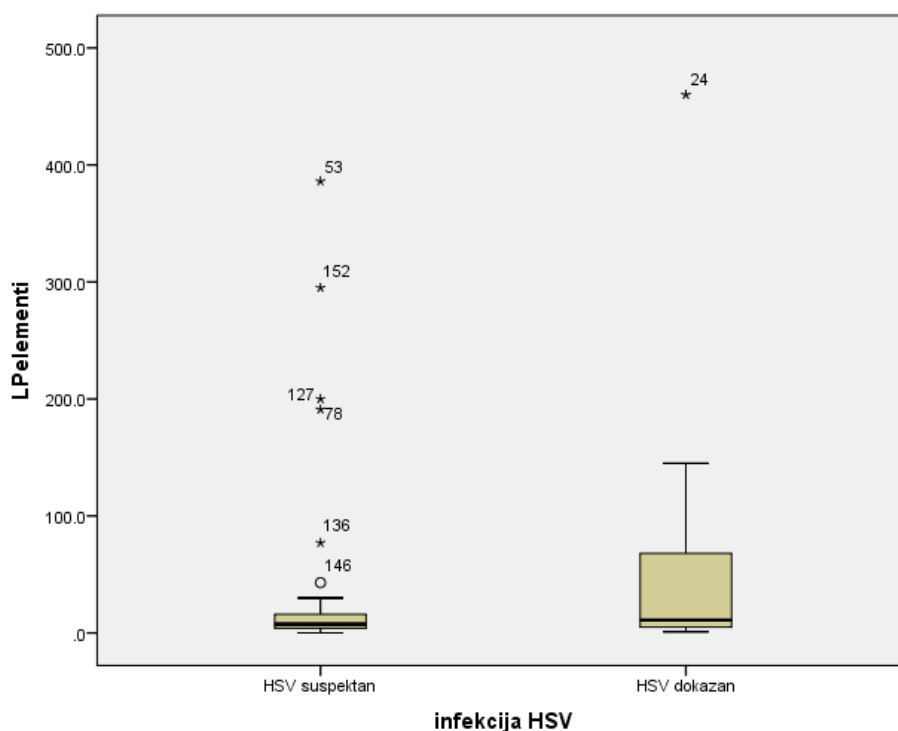
Neparametrijskim testovima za ispitivanje statističkih značajnosti razlika (Hi kvadrat test i Fisherov test) nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike u grupi ispitanika sa suspektnom i dokazanom HSV infekcijom za postojanje izmenjenih elektroencefalografskih, oftalmoloških i neuroradioloških nalaza (CT i MR glave) ($p > 0,05$) (tabela 4-6).

Tabela 4-6. Poređenje elektroencefalografskih, oftalmoloških i neuroradioloških ispitivanja kod novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom HSV infekcijom

		HSV suspektan		HSV dokazan		p
		N	%	N	%	
EEG nalaz	uredan	21	25.61	3	13.04	0.205
	izmenjen	61	74.39	20	86.96	
FOU	uredan	105	97.22	24	96.00	0.570
	izmenjen	3	2.78	1	4.00	
UZ CNS	uredan	98	79.67	22	78.57	0.896
	izmenjen	25	20.33	6	21.43	
CT glave	uredan	18	47.37	5	41.67	0.730
	izmenjen	20	52.63	7	58.33	
MR glave	uredan	10	62.50	2	66.67	0.891
	izmenjen	6	37.50	1	33.33	

4.4.5. Poređenje analiza cerebrospinalne tečnosti kod novorođenčadi sa suspektom i dokazanom HSV infekcijom

Lumbalna punkcija je rađena kod 74 (55,64%) novorođenčadi sa suspektom i kod 24 (82,75%) novorođenčadi sa dokazanom infekcijom HSV. Prosečan broj elemenata u cerebrospinalnoj tečnosti kod bolesnika sa suspektom infekcijom iznosio je $67,11 \pm 241,33$, a u grupi bolesnika sa dokazanom infekcijom $120,88 \pm 196,21$ elemenata. Poređenjem medijana broja elemenata Mann Whitney testom u grupi bolesnika sa suspektom i dokazanom HSV infekcijom, nije utvrđena statistički značajna razlika u broju elemenata u cerebrospinalnoj tečnosti kod bolesnika ove dve grupe ($p=0,229$) (slika 4-8).

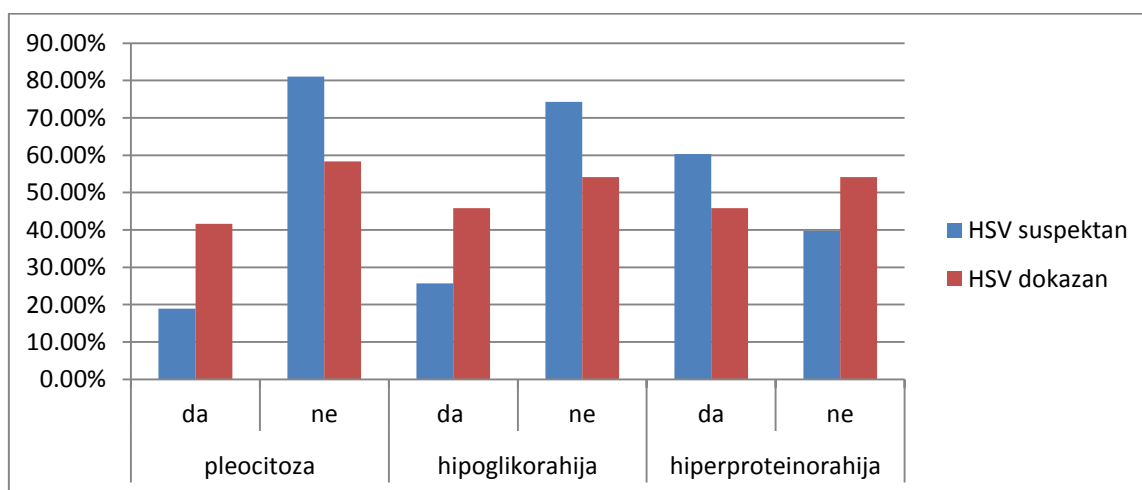


Slika 4-8. Poređenje broja elemenata u cerebrospinalnoj tečnosti kod bolesnika sa suspektom i dokazanom HSV infekcijom

Neparametrijskim testom za ispitivanje statističkih značajnosti razlika (Hi kvadrat test) utvrđena je statistički značajna razlika u grupi ispitanika sa suspektnom i dokazanom HSV infekcijom za postojanje pleocitoze, definisane kao >25 elemenata /ml CST (p 0,024). Ispitivanje postojanja hipoglikorahije, iako blizu granice statističke značajnosti (p 0,063) nije potvrdilo statistički značajnu razliku, kao ni postojanje hiperproteinozahije (p 0,215) (tabela 4-7, grafikon 4-11).

Tabela 4-7. Poređenje parametara ispitivanih u cerebrospinalnoj tečnosti kod novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom HSV infekcijom

		HSV suspektan		HSV dokazan		p
		N	%	N	%	
Pleocitoza	da	14	18.92	10	41.67	0.024
	ne	60	81.08	14	58.33	
Hipoglikorahija	da	19	25.68	11	45.83	0.063
	ne	55	74.32	13	54.17	
Hiperproteinozahija	da	44	60.27	11	45.83	0.215
	ne	29	39.73	13	54.17	

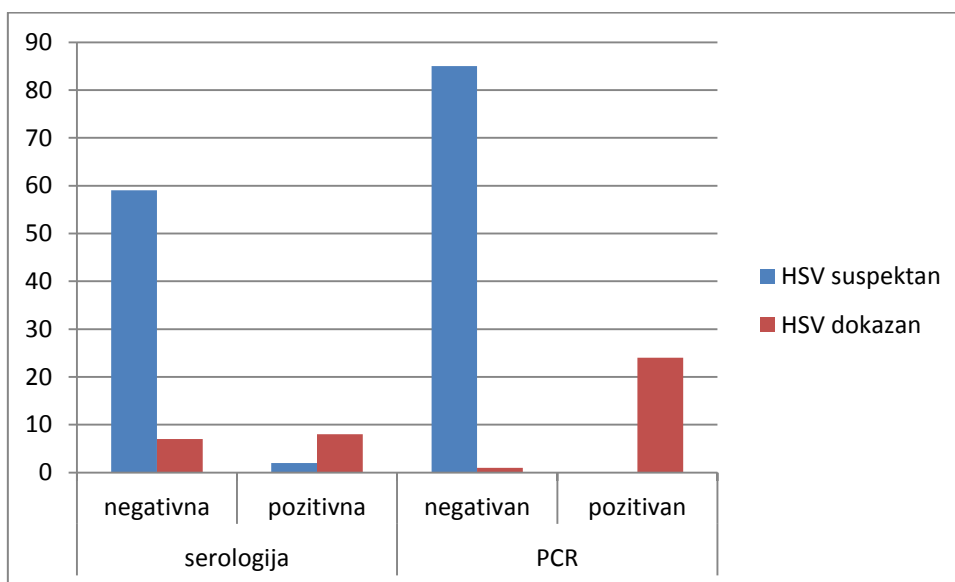


Grafikon 4-11. Grafički prikaz učestalost pleocitoze, hipoglikorahije i hiperproteinozahije kod novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom HSV infekcijom

4.4.6. Poređenje seroloških i PCR testova kod novorođenčadi sa suspektom i dokazanom HSV infekcijom

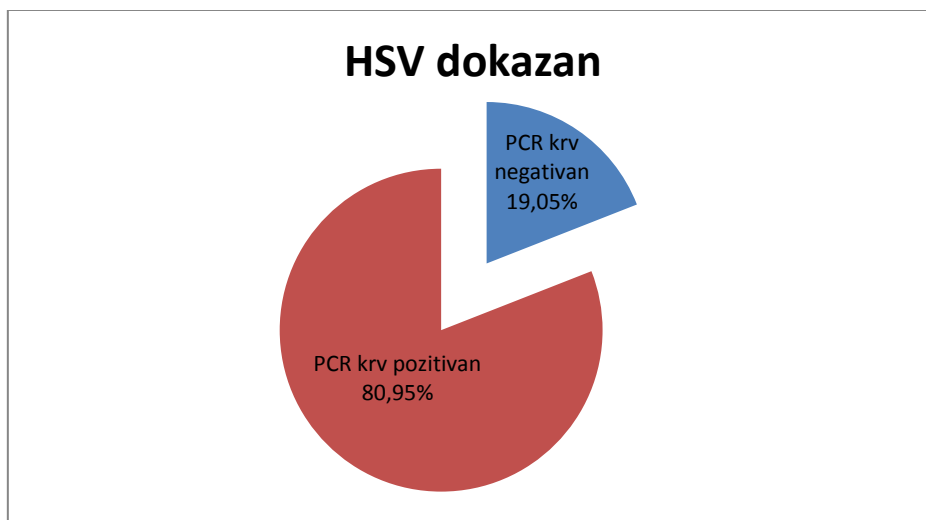
Serološko testiranje vršeno je kod 76 novorođenčadi, od toga kod 61 novorođenčeta sa suspektom i 15 novorođenčadi sa dokazanom infekcijom. Pozitivan nalaz serologije je zabeležen kod 10 (13,16%) ispitivane novorođenčadi. Kod 8 od 15 ispitivane novorođenčadi sa dokazanom infekcijom (53,33%) serologija je bila pozitivna, kao i kod 2 od 61 ispitanog novorođenčeta sa suspektom infekcijom (3,28%). Hi kvadrat testom dobijena je statistički značajna razlika u pozitivnim serološkim nalazima između dve grupe ispitanika ($p < 0,000$).

Ispitivanje na HSV infekciju PCR metodom rađeno je kod 110 novorođenčadi. Negativan nalaz je dobijen kod 86 (78,18%) novorođenčadi, od kojih je 85 (98,83%) svrstano u grupu sa suspektom infekcijom. Pozitivnih nalaza je bilo 24 (21,82%). U grupi novorođenčadi sa dokazanom infekcijom negativan nalaz dobijen je samo kod 1 (4%) novorođenčeta od 25 kojima je rađen PCR test (grafikon 4-12).



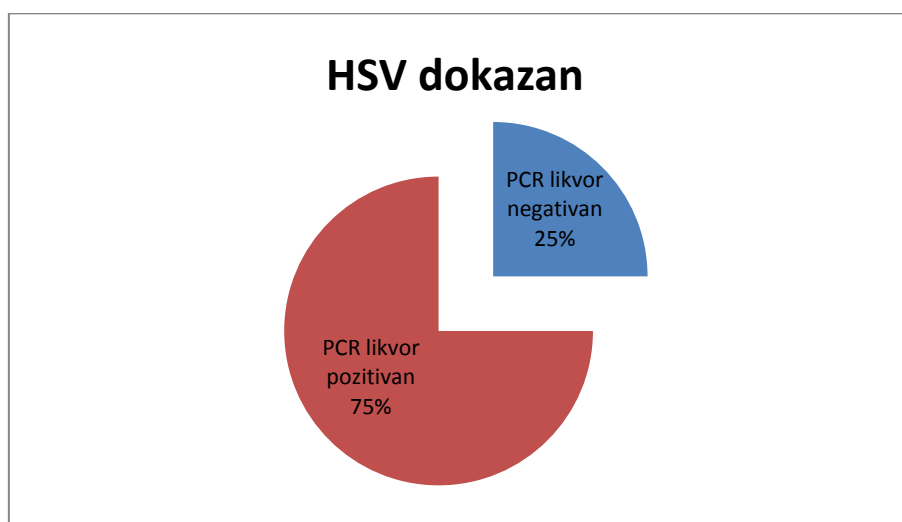
Grafikon 4-12. Nalazi seroloških i PCR ispitivanja kod novorođenčadi sa suspektom i dokazanom infekcijom

Analizom ispitivanja PCR na HSV u krvi kod novorođenčadi sa dokazanom HSV infekcijom, pozitivan nalaz je imalo 17 od 21 analiziranog novorođenčeta (80,95%). Nalaz je bio negativan kod 4 novorođenčadi (19,05%) koji su imali izolovanu CNS infekciju (grafikon 4-13).



Grafikon 4-13. Pozitivni i negativni nalazi PCR na HSV u krvi kod ispitanika sa dokazanom infekcijom

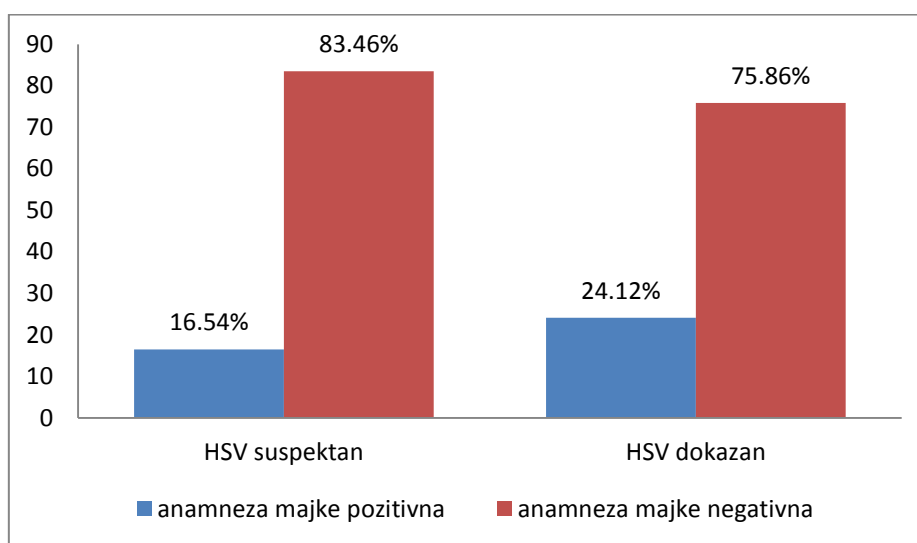
Kod novorođenčadi sa dokazanom infekcijom pozitivan nalaz u CST je imalo 15 od ukupno 20 novorođenčadi kod kojih je ova analiza tražena (75%).



Grafikon 4-14. Pozitivni i negativni nalazi PCR na HSV u cerebrospinalnoj tečnosti kod ispitanika s dokazanom infekcijom

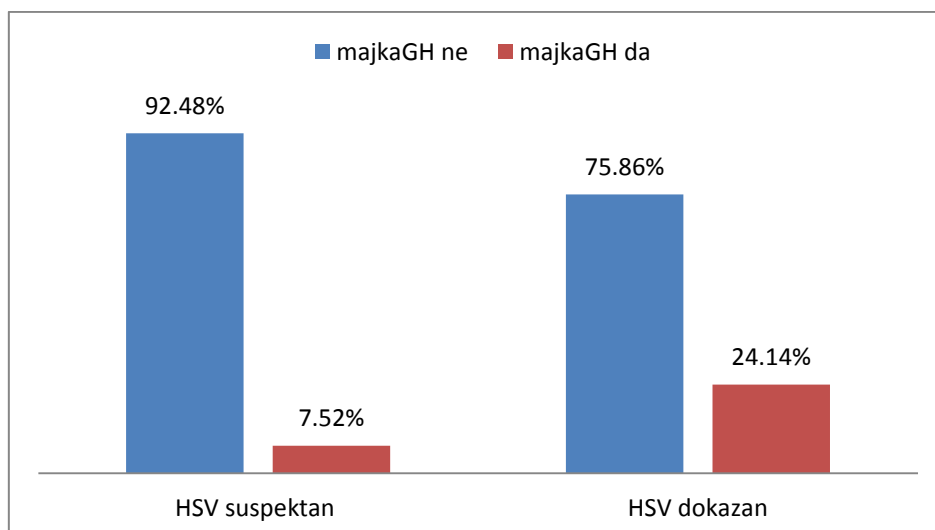
4.4.7. Poređenje anamnestičkih podataka o izvoru infekcije između novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom HSV infekcijom

Pozitivna anamneza o herpesnoj infekciji kod majke registrovana je kod 22 (16,54%) novorođenčadi sa suspektnom i 7 (24,14%) novorođenčadi sa dokazanom HSV infekcijom. Nije utvrđena statistički značajna razlika u postojanju pozitivne anamneze majke za pojavu HSV infekcije ($p = 0,334$) (grafikon 4-15).



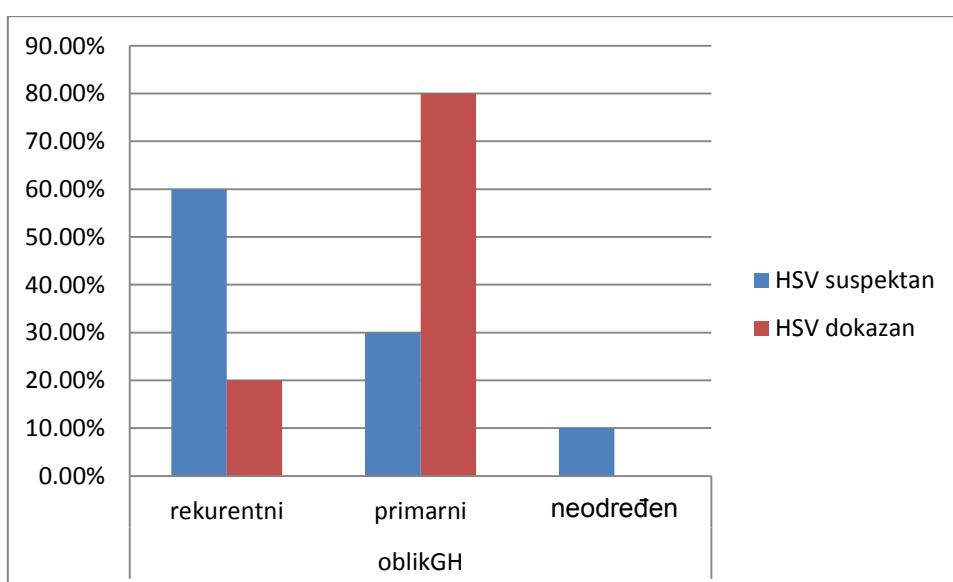
Grafikon 4-75. Pozitivni anamnestički podaci za postojanje herpesne infekcije kod majke novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom infekcijom

Anamnestički podatak o genitalnom herpesu dalo je 10 (7,52%) majki iz grupe sa suspektnom i 4 (17,24%) majki iz grupe sa dokazanom infekcijom. Hi kvadratom testom nije utvrđena statistički značajna razlika u prisustvu anamnestičkog podatka o genitalnom herpesu kod majke između dve grupe ispitanika ($p = 0,102$) (grafikon 4-16).



Grafikon 4-16. Pozitivni anamnestički podaci za postojanje genitalnog herpesa kod majke novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom infekcijom

Analiza oblika genitalnog herpesa kod majki novorođenčadi sa suspektnom infekcijom pokazala je da je 6 majki imalo rekurentni, a 3 primarni oblik (33,33%), dok kod 1 majke oblik infekcije nije bio određen. Kod majki novorođenčadi sa dokazanom infekcijom, rekurentni genitalni herpes je potvrđen kod 1, a primarni kod 4 majke (80%). Poređenjem Hi kvadrat testom nije utvrđena statistički značajna razlika u obliku genitalnog herpesa između grupa (p 0,094) (grafikon 4-17).

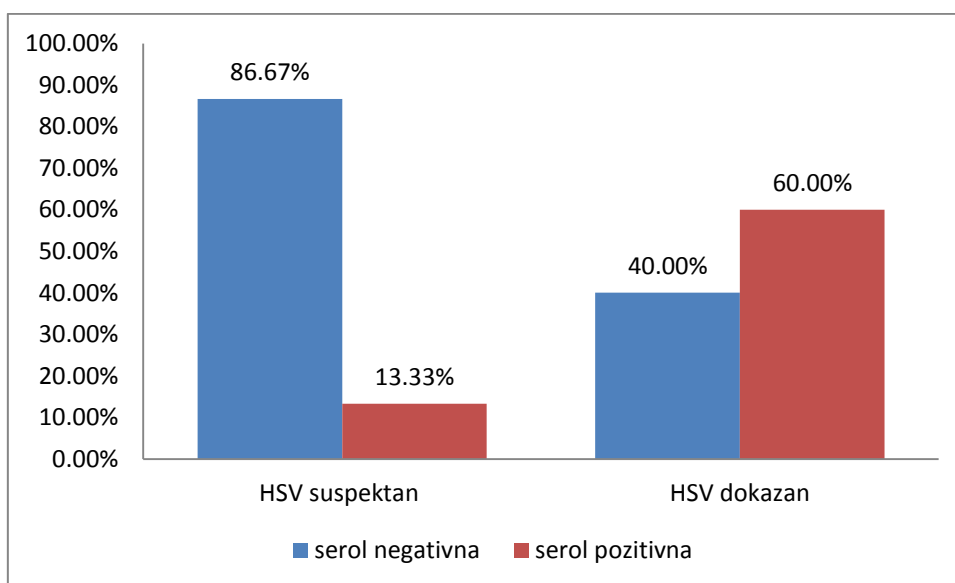


Grafikon 4-17. Oblik genitalnog herpesa majki novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom infekcijom

Bolničko osoblje je bilo izvor infekcije kod jednog novorođenčeta s dokazanom infekcijom i klinički ispoljenim vezikulama po koži i encefalitisom uzrokovanim HSV-1 tipom.

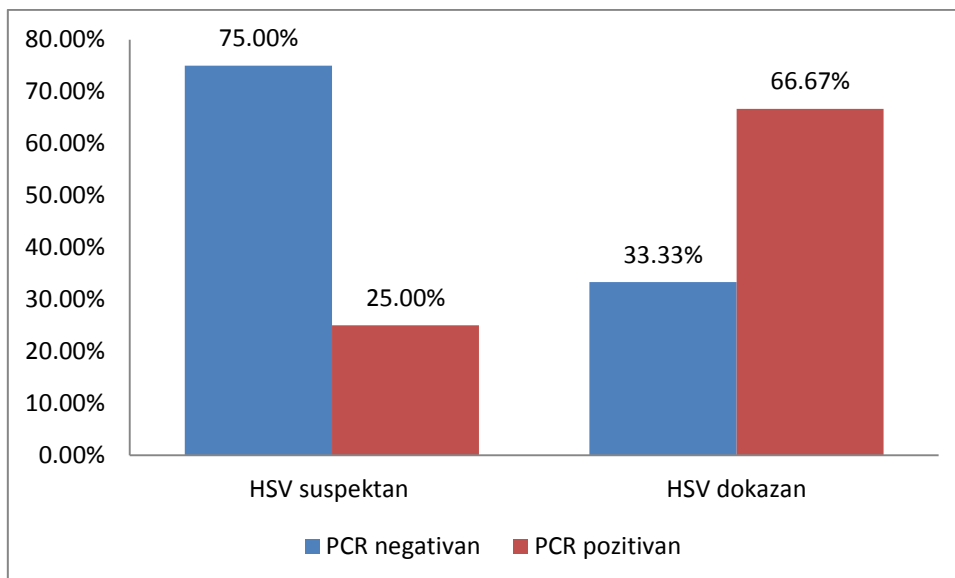
Pozitivnu anamnezu o labijalnom herpesu je imalo 9 (6,77%) novorođenčadi sa suspektom i 2 (6,9%) novorođenčadi sa dokazanom infekcijom. Poređenjem Hi kvadrat testom nije dokazana statistički značajna razlika u prisustvu labijalnog herpesa majke kao uzročnika neonatalnog herpesa (p 0,980).

Pozitivne serološke nalaze na HSV su imale 2 (13,33%) majke od 15 ispitanih iz grupe suspektnih i 3 (60%) od 5 ispitanih majki iz grupe sa dokazanom infekcijom. Poređenjem Hi kvadrat testom utvrđena je statistički značajna razlika (p 0,037) (grafikon 4-18).



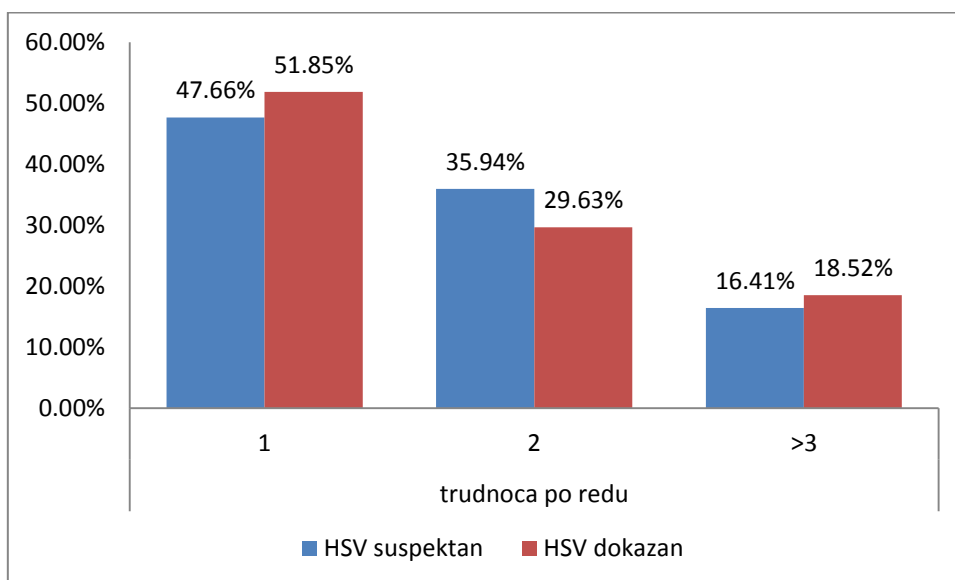
Grafikon 4-18. Pozitivni serološki nalazi kod majki novorođenčadi sa suspektom i dokazanom infekcijom

Pozitivan PCR test na HSV je imala 1 (25%) majka od 4 ispitane iz grupe suspektnih i 4 majke (66,67%) od 6 ispitanih iz grupe sa dokazanom infekcijom. Poređenjem Hi kvadrat testom nije utvrđena statistički značajna razlika (p 0,197) (grafikon 4-19).



Grafikon 4-19. Pozitivni nalazi PCR na HSV kod majki novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom infekcijom

U grupi sa suspektnom infekcijom kao prvo dete rodilo se 47,66% novorođenčadi, kao drugo 35,94% i kao treće i više 16,41%. U grupi sa dokazanom infekcijom kao prvo dete rodilo se 51,85 % novorođenčadi, kao drugo 29,63 % i kao treće i više 18,52%. Poređenjem Hi kvadrat testom nije utvrđena statistički značajna razlika (p 0,821) (grafikon 4-20).



Grafikon 4-20. Prikaz pariteta majki novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom infekcijom

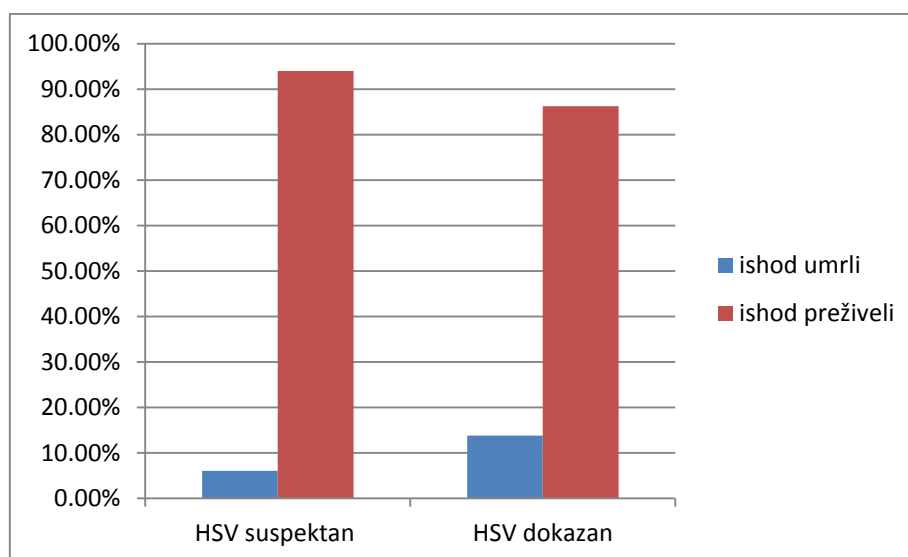
Prenatalno dijagnostikovana infekcija je bila prisutna kod 9 majki sa suspektnom infekcijom i kod 1 majke sa dokazanom infekcijom. Poređenjem Hi kvadrat testom nije utvrđena statistički značajna razlika (p 0,517).

Terapija majke zbog prenatalno dijagnostikovane genitalne HSV infekcije sprovedena je kod 4 majke novorođenčadi sa suspektnom infekcijom, dok prenatalna antivirusna terapija nije sprovedena ni kod jedne majke novorođenčadi sa dokazanom HSV infekcijom. Poređenjem Fisherovim testom nije utvrđena statistički značajna razlika (p 1,00).

4.4.8. Poređenje ishoda bolesti novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom HSV infekcijom

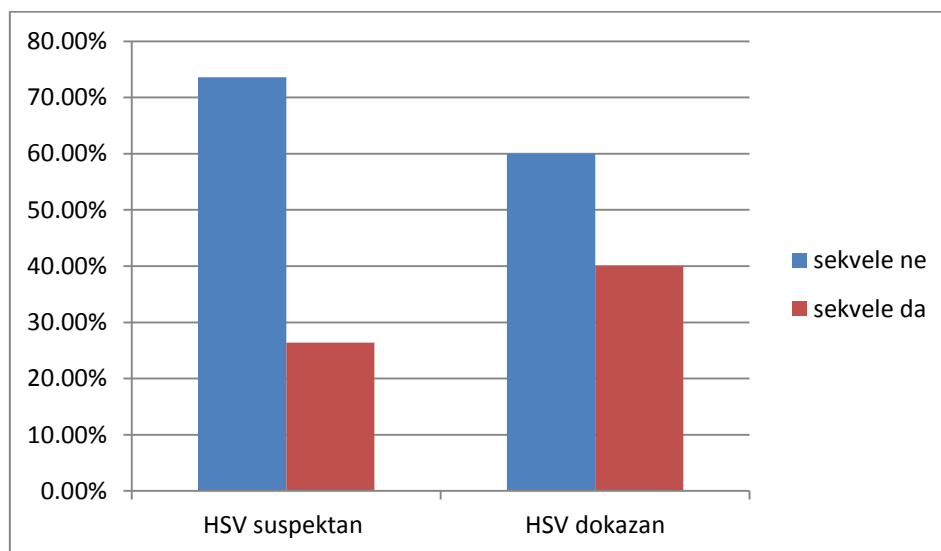
Smrtnost novorođenčadi u celokopnoj grupi ispitanika (dokazana i suspektna HSV infekcija) iznosila je 7,4%.

Letalan ishod zabeležen je kod 8 novorođenčadi (6,02%) iz grupe sa suspektnom i 4 novorođenčadi (13,79%) iz grupe sa dokazanom infekcijom. Poređenjem Hi kvadrat testom nije dokazana statistički značajna razlika (p 0,147) (grafikon 4-21).



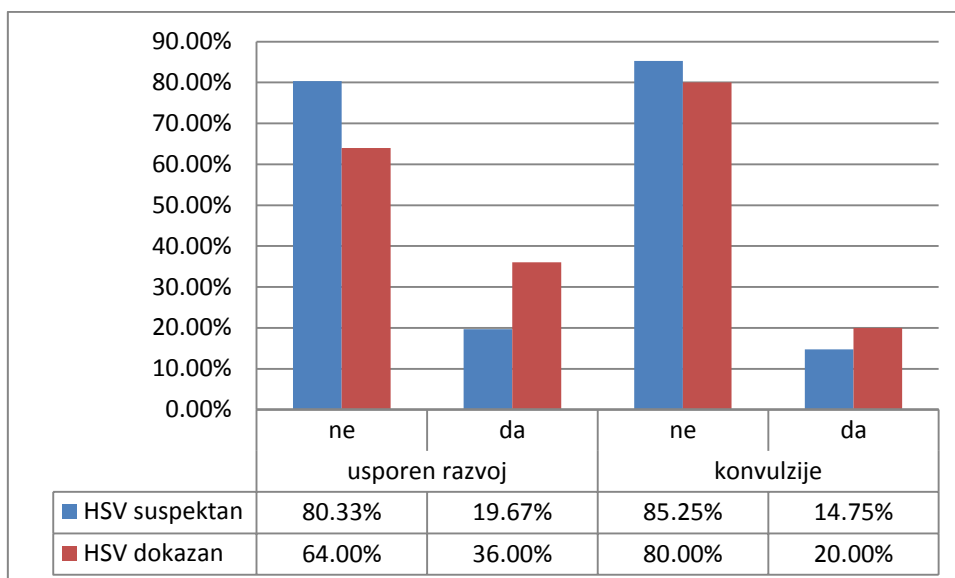
Grafikon 4-21. Poređenje ishoda bolesti kod novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom infekcijom

U grupi preživelih, sekvele je imalo 26,4% u grupi suspektnih i 40% u grupi sa dokazanom HSV infekcijom. Poređenjem grupa Hi kvadrat testom nije dokazana statistički značajna razlika ($p = 0,170$) (grafikon 4-22).



Grafikon 4-22. Postojanje sekvela kod novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom infekcijom

Kod preživjele novorođenčadi sa sekvelama, usporen psihomotorni razvoj je bio prisutan kod 19,67%, a konvulzije kod 14,75% bolesnika iz grupe sa suspektnom infekcijom. U grupi novorođenčadi sa dokazanom infekcijom i prisutnim sekvelama, usporen psihomotorni razvoj je bio prisutan kod 36%, a konvulzije kod 20% bolesnika. Poređenjem grupa Hi kvadrat testom nije dokazana statistički značajna razlika u pojavi usporenog psihomotornog razvoja ($p = 0,075$), kao ni u pojavi konvulzija ($p = 0,511$) (grafikon 2-23).

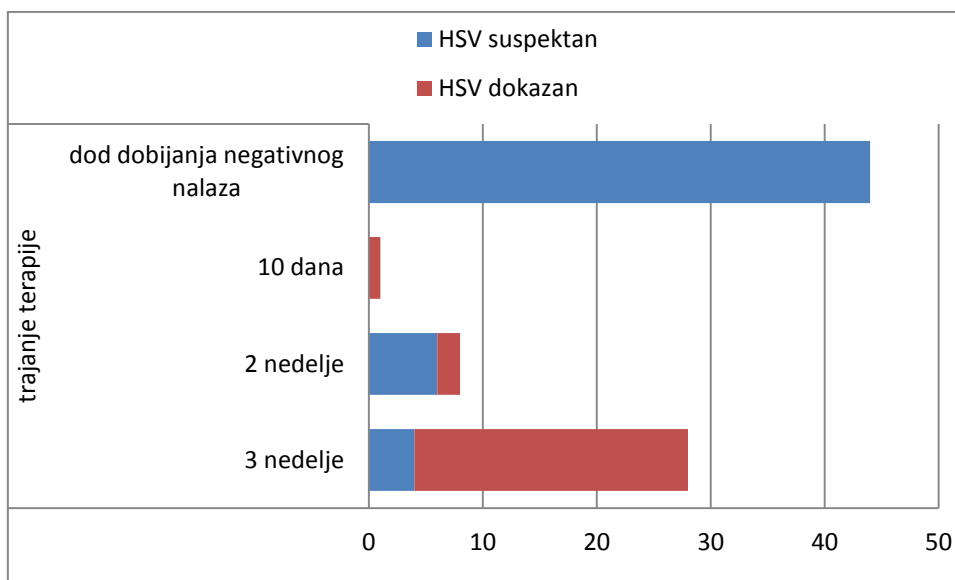


Grafikon 4-23. Postojanje usporenog psihomotornog razvoja i konvulzija kod novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom infekcijom i sekvelama

4.4.9. Poređenje primene terapije kod novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom HSV infekcijom

Antivirusnu terapiju, aciklovir, za lečenje HSV infekcije je dobijalo 39,85% sa suspektnom infekcijom. Kod 81,48% novorođenčadi sa suspektnom infekcijom koji su dobijali terapiju, terapija je sprovedena do dobijanja negativnih analiza na HSV. Kod 11,11% terapija je sprovedena tokom 2 nedelje a kod 7,41% tokom 3 nedelje. Kod 84,91% ove novorođenčadi terapija je data u adekvatnoj dozi od 60 mg/kgTM/24h.

U grupi sa dokazanom infekcijom 93,1% novorođenčadi je dobijalo terapiju, od toga 85,19% u adekvatnoj dozi. Kod 88,89% novorođenčadi s dokazanom infekcijom terapija je sprovedena tokom 3 nedelje, 7,41% tokom 2 nedelje i kod samo 1 novorođenčeta (3,7%) tokom 10 dana (grafikon 4-24).



Grafikon 4-8 Trajanje antivirusne terapije kod novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom infekcijom i sekvelama

Supresivnu terapiju aciklovirom dobijalo je 2 od 25 preživelih sa dokazanom HSV infekcijom.

4.4.10. Poređenje skorova SNAP II i SNAPPE II između novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom HSV infekcijom

Vrednosti SNAP II skora ispitanika kretale se su u opsegu od 0 do 67. Srednja vrednost SNAP II skora određena za grupu ispitanika sa suspektnom HSV infekcijom iznosila je $13,89 \pm 14,51$, dok je u grupi sa dokazanom infekcijom iznosila $21,45 \pm 22,74$. Poređenjem ovih grupa Mann Whitney testom nije utvrđena statistički značajna razlika za SNAP II skor ($p 0,210$).

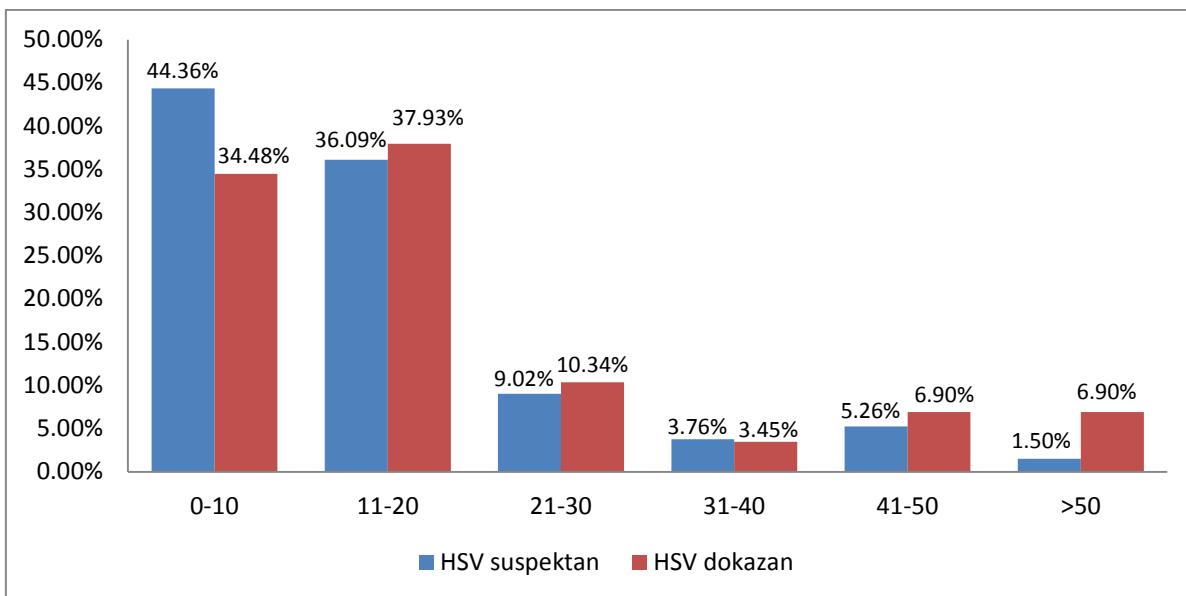
Vrednosti SNAPPE II skora ispitanika kretale se su u opsegu od 0 do 85. Srednja vrednost SNAPPE II skora određena za grupu ispitanika sa suspektnom HSV infekcijom iznosila je $17,37 \pm 18,61$, dok je u grupi sa dokazanom infekcijom iznosila $18,14 \pm 16,9$. Poređenjem ovih grupa Mann Whitney testom nije utvrđena statistički značajna razlika za SNAPPE II skor ($p 0,416$) (tabela 4-8).

Tabela 4-8. Vrednosti SNAP II i SNAPPE II skora kod novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom infekcijom

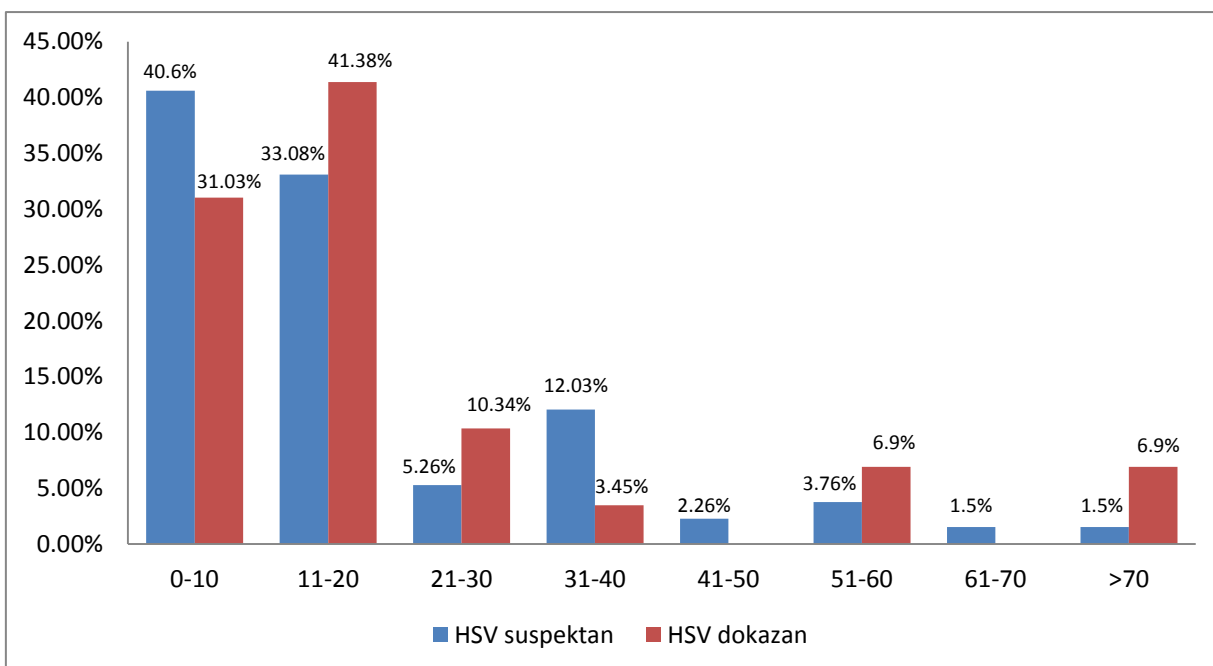
Parametar		Vrednosti						p
		\bar{x}	SD	Med	P ₂₅	P ₇₅	Uzorak (n)	
SNAP II	HSV suspektan	13.89	14.51	19.00	.00	19.00	133	0.210
	HSV dokazan	18.14	16.90	19.00	.00	23.00	29	
SNAPPE II	HSV suspektan	17.37	18.61	19.00	.00	23.00	133	0.416
	HSV dokazan	21.45	22.74	19.00	.00	23.00	29	

Vrednosti SNAP II skora ispitanika prikazane su kroz kategorije: 0-10, 11-20, 21-30, 31-40, 41-50 i >50. Najveći broj ispitanika 59 (44,36%) sa suspektnom infekcijom imalo je vrednost skora od 0-10. U grupi sa dokazanom infekcijom najveći broj ispitanika je imao vrednost skora od 11-20, 11 (37,93%) (grafikon 4-25).

Vrednosti SNAPPE II skora ispitanika prikazane su kroz kategorije: 0-10, 11-20, 21-30, 31-40, 41-50, 51-60, 61-70 i >70. Najveći broj ispitanika 54 (40,6%) sa suspektnom infekcijom imalo je vrednost skora od 0-10. U grupi sa dokazanom infekcijom najveći broj ispitanika je imao vrednost skora od 11-20, 12 ili 41,38% (grafikon 4-26).



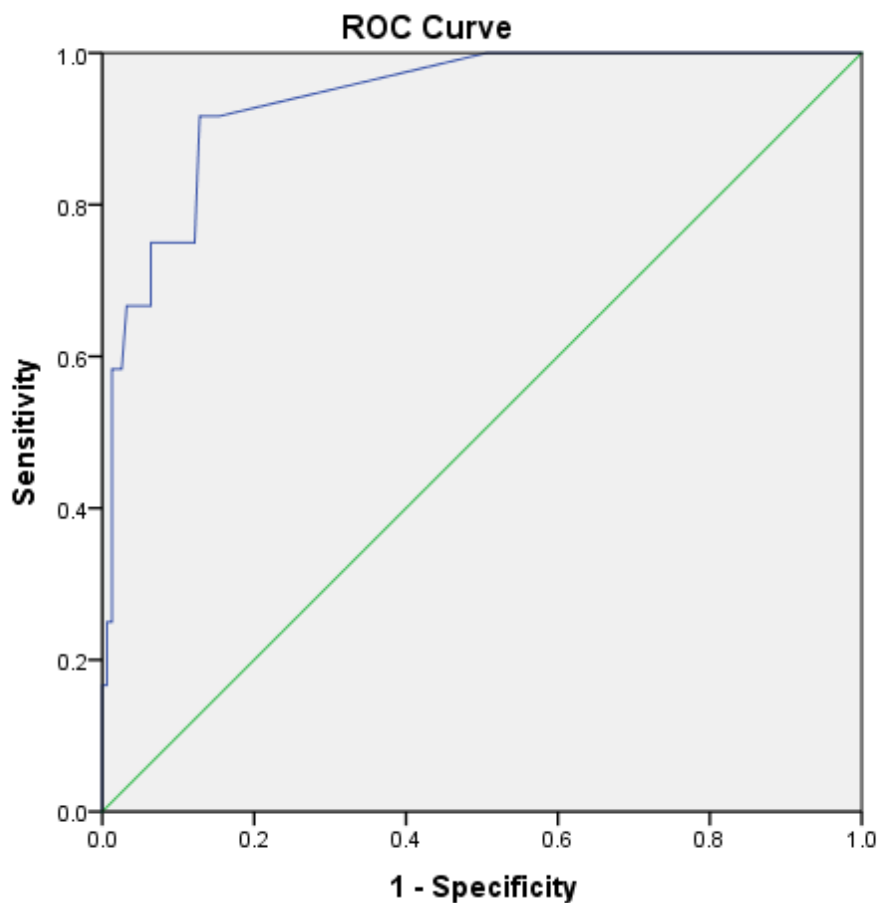
Grafikon 4-25. Vrednosti SNAP II skora po kategorijama za novorođenčad sa suspektnom i dokazanom infekcijom



Grafikon 4-26. Vrednosti SNAPPE II skora po kategorijama za novorođenčad sa suspektnom i dokazanom infekcijom

Ispitivanjem prediktivne moći SNAP II i SNAPPE II skora za ishod lečenja pokazana je njihova visoka diskriminativna sposobnost u identifikaciji novorođenčadi sa visokim rizikom za smrtni ishod.

Površina ispod ROC krive za SNAP II iznosi 0,939, čime je potvrđena statistički značajna ($p < 0,001$) diskriminativna sposobnost SNAP II skora u predikciji smrtnog ishoda novorođenčadi (slika 4-9).



Slika 4-9. ROC kriva za SNAP II

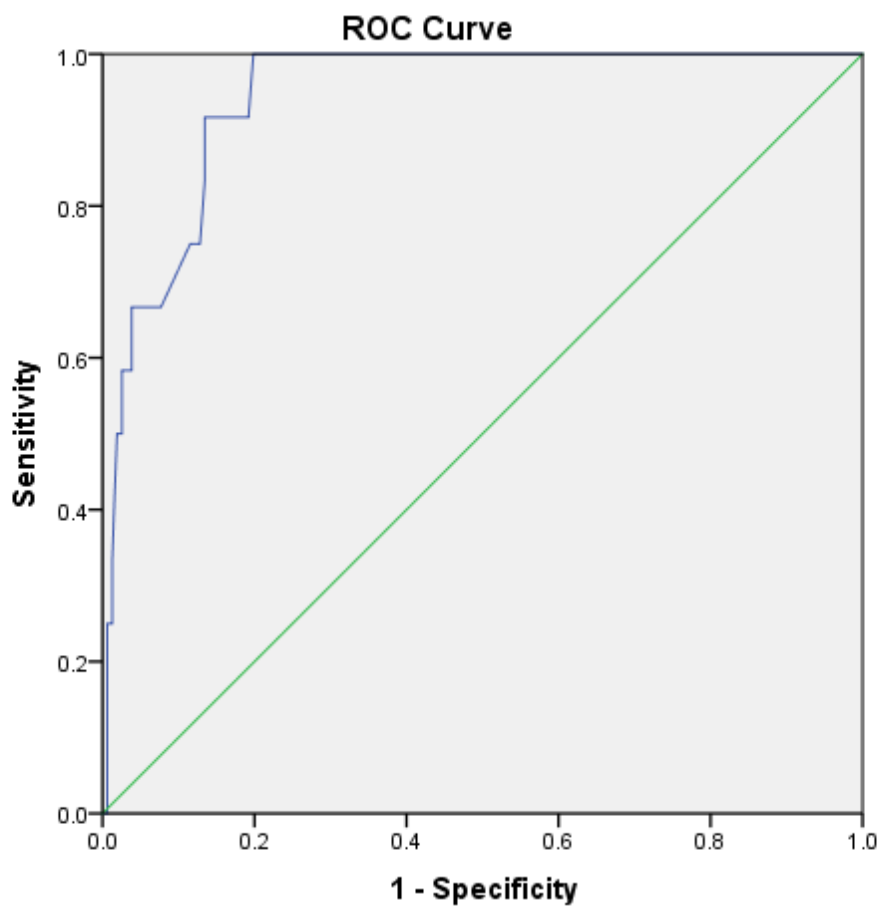
Površina ispod ROC krive - AUC 93,9%

Interval poverenja - CI 95%: 88 – 99,8

Standardna greška - SE: 3

$p < 0,001$

Površina ispod ROC krive za SNAPPE II iznosi 0,943, čime je potvrđena statistički značajna ($p < 0,001$) diskriminativna sposobnost SNAPPE II skora u predikciji smrtnog ishoda novorođenčadi (slika 4-10).



Slika 4-10. ROC kriva za SNAPPE II

Površina ispod ROC krive - AUC 94,3%

Interval poverenja - CI 95%: 90 – 98,6

Standardna greška - SE: 2,2

$p < 0,001$

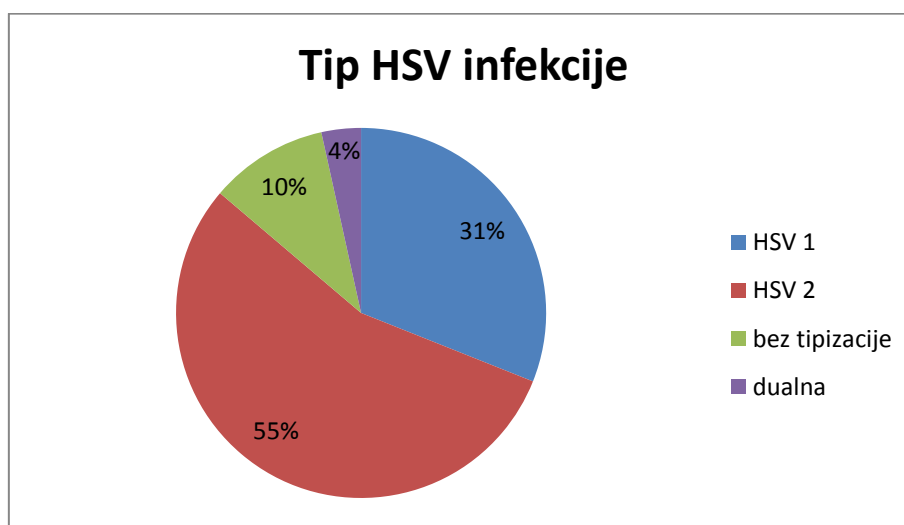
Na osnovu najpovoljnijeg odnosa senzitivnosti i specifičnosti skorova za predviđanje smrtnog ishoda, određene su granične vrednosti (cut-off) skorova. Dobijena vrednost za SNAP II skor iznosi 22, a za SNAPPE II je 30,5. Na tabeli 4-9 prikazane su ove vrednosti kao i njima odgovarajući procenti senzitivnosti, specifičnosti ovih skorova za predikciju mortaliteta.

Tabela 4-9. Granične (cut-off) vrednosti za SNAP II i SNAPPE II

	Cut-off	Senzitivnost (%)	Specifičnost (%)
SNAP II	22	91,7	87,2
SNAPPE II	30,5	91,7	86,5

4.5. Rezultati poređenja HSV-1, HSV-2 i netipizovanog oblika HSV infekcije kod novorođenčadi

Kod 29 novorođenčadi sa dokazanom HSV infekcijom, infekciju izazvanu HSV-1 imalo je 9 (31%) a HSV-2 16 (55,2%) novorođenčadi. Tipizacija nije urađena kod 3 novorođenčadi (10,3%). Kod jednog novorođenčeta utvrđena je dualna infekcija izazvana s oba tipa virusa, HSV-1 i HSV-2 (grafikon 4-27).



Grafikon 4-27. Podela HSV infekcije prema tipu virusa

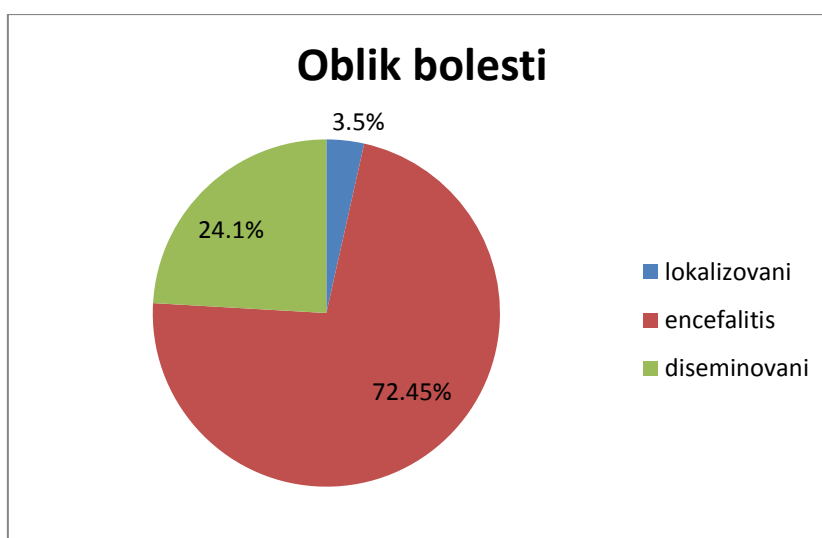
4.5.1. Analiza oblika bolezni kod novorođenčadi s dokazanom HSV infekcijom i poređenje između grupa sa HSV-1, HSV-2 i netipizovanom HSV infekcijom

Samo 1 (3.5%) od 29 novorođenčadi sa dokazanom infekcijom je imalo lokalizovani oblik bolesti (bolesnik 18 u tabeli 4. 2).

Kod 21 novorođenčeta (72.45%) dokazan je encefalitis, koji je kod tri bolesnika bio udružen sa promenama na koži.

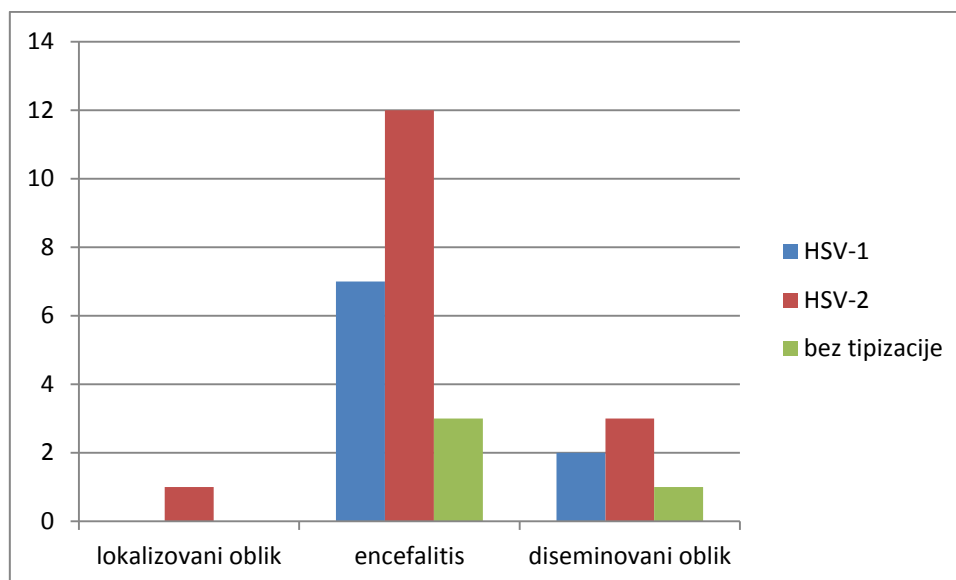
Sedmoro novorođenčadi je imalo diseminovani oblik infekcije (24.1%). Kod njih nisu registrovane herpetične lezije, dok je dvoje novorođenčadi imalo udružen encefalitis (bolesnici 20 i 21 u tabeli 4.2).

Na grafikonu 4-28, prikazana je zastupljenost pojedinih oblika bolesti kod novorođenčadi sa dokazanom infekcijom.



Grafikon 4-28. Oblici bolesti kod novorođenčadi sa HSV infekcijom

Lokalizovani oblik je imalo novorođenče sa HSV-2 infekcijom. Herpesni encefalitis je imalo 7 novorođenčadi sa HSV-1 infekcijom (77,78%), 12 sa HSV-2 (75%) i 2 sa infekcijom netipiziranom (66,67%). Diseminovani oblik je imalo 2 novorođenčadi sa HSV-1, 3 sa HSV-2, jedno sa netipiziranom infekcijom i 1 sa dualnom infekcijom. Poređenjem oblika infekcije prema tipu, Fisherovim testom nije utvrđena statistički značajna razlika ni za jedan oblik ($p > 1,00$ za sva tri oblika) (grafikon 4-29).



Grafikon 4-29. Oblici bolesti kod novorođenčadi sa HSV-1, HSV-2 i netipizovanom infekcijom

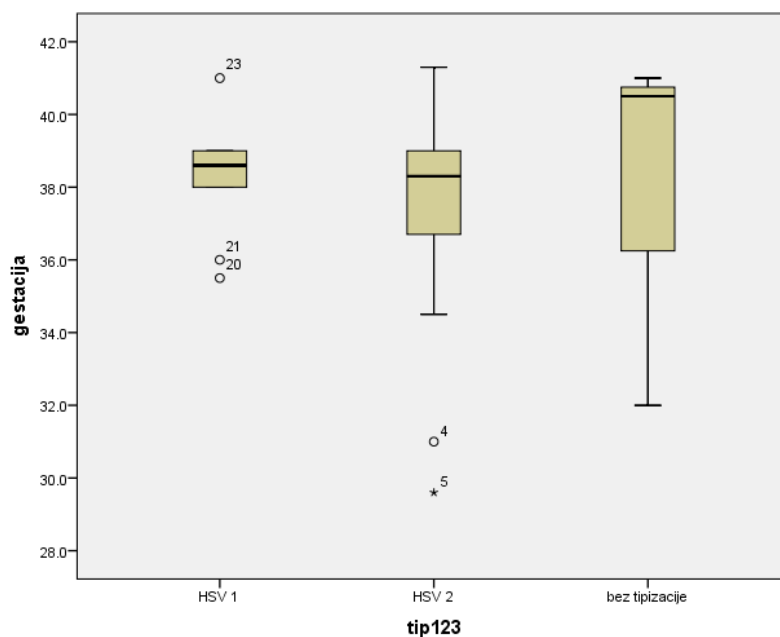
4.5.2. Porodjenje osnovnih karakteristika novorođenčadi s HSV-1, HSV-2 i netipizovanom infekcijom

Ispitanik s dualnom infekcijom isključen je iz analize karakteristika prema tipu infekcije, a njegove karakteristike prikazane su odvojeno.

Analiza osnovnih demografskih, kliničkih i laboratorijskih karakteristika, kao i osnovni podaci o majkama novorođenčadi prikazani se za tri grupe ispitanika: novorođenčad s HSV-1 infekcijom, HSV-2 i grupa novorođenčadi kod kojih tipizacija nije urađena.

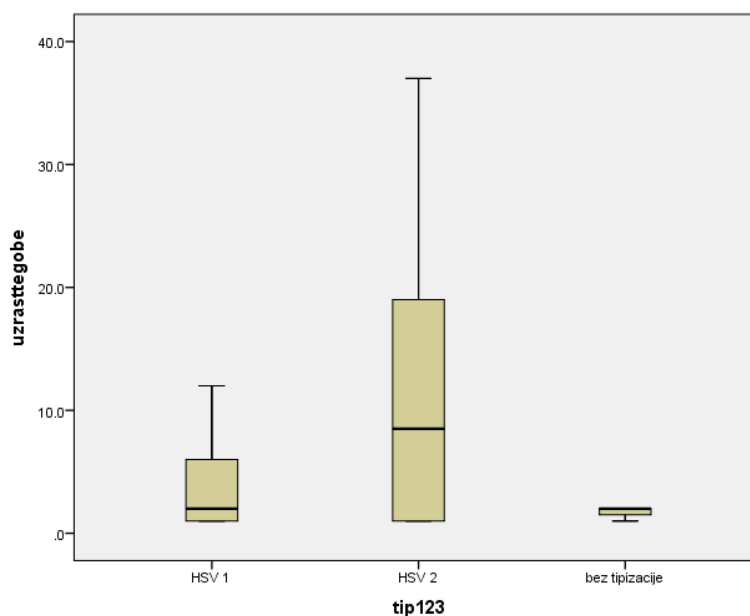
Aritmetička sredina gestacije je iznosila 38.2 ± 1.65 u grupi HSV-1, $37,34 \pm 3,15$ u grupi HSV-2 i $37,83 \pm 5,06$ u grupi bez tipizacije. Poređenjem srednjih vrednosti gestacije vršeno je T testom, nije bilo statistički značajne razlike između ove tri grupe ispitanika ($p=0.456$) (slika 4-11).

Srednja vrednost telesne mase na rođenju je iznosila $3313 \pm 692,8$ u grupi HSV-1, $2938,1 \pm 747.95$ u grupi HSV-2 i $2666,67 \pm 929,16$ u grupi bez tipizacije. Poređenjem srednjih vrednosti gestacije vršeno je T testom, nije bilo statistički značajne razlike između ove dve grupe ispitanika ($p=0,229$).



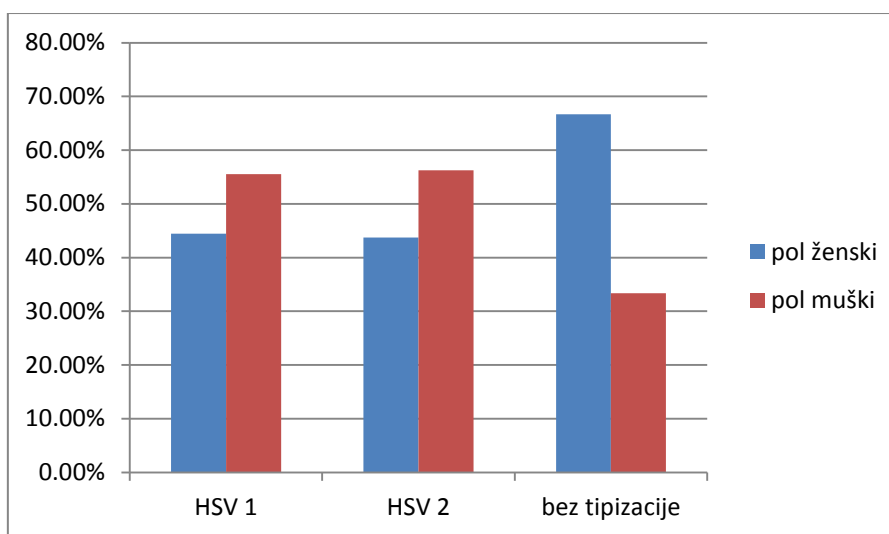
Slika 4-11. Poređenje srednjih vrednosti gestacije novorođenčadi sa HSV-1, HSV-2 i netipizovanom infekcijom

Medijana uzrasta novorođenčadi u vreme pojave tegoba u grupi sa HSV-1 infekcijom je 2.00 (1.00-6.00), u grupi sa HSV-2 infekcijom 8.50 (1.00-19.00) i u grupi bez tipizacije 2 (1.00-2.00) dana. Poređenje je vršeno Mann Whitney testom, nije bilo statistički značajne razlike u uzrastu pojave tegoba između ove dve grupe ($p=0,104$)(slika 4-12).



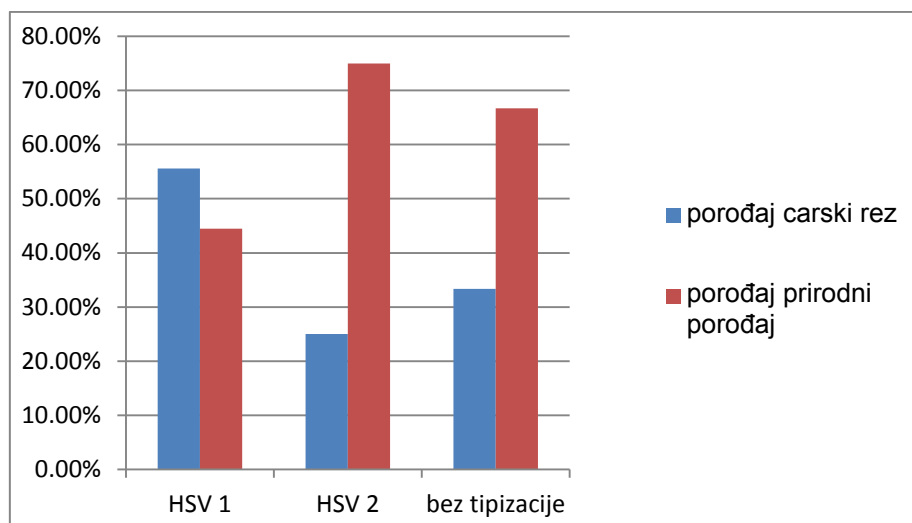
Slika 4-12. Poređenje medijana uzrasta u vreme pojave tegoba novorođenčadi sa HSV-1, HSV-2 i netipizovanom infekcijom

Broj bolesnika ženskog pola u grupi sa HSV-1 infekcijom je bio 4 (44,44%), u grupi sa HSV-2 infekcijom 7 (43,75%) i u grupi bez tipizacije 2 (66,67%). Bolesnika muškog pola u grupi sa HSV-1 infekcijom je bilo 5 (55,56%), u grupi sa HSV-2 infekcijom 9 (56,25%) i u grupi bez tipizacije 1 (33,33%). Poređenjem distribucije pola između HSV-1 i HSV-2 Fisherovim testom nije utvrđena statistički značajna razlika u distribuciji pola između dve grupe ispitanika ($p = 1,00$) (grafikon 4-30).



Grafikon 4-30. Distribucija po polu u grupama novorođenčadi s HSV-1, HSV-2 i netipizovanom infekcijom

U grupi ispitanika sa HSV-1 infekcijom carskim rezom je rođeno 5, odnosno 55,56% novorođenčadi, normalnim, vaginalnim porođajem rođeno je 4 (44,44%) novorođenčadi a instrumentalno dovršen porođaj nije registrovan u ovoj grupi ispitanika. U grupi sa HSV-2 infekcijom takođe nije bilo instrumentalno dovršenih porođaja, carskim rezom je rođeno 4, odnosno 25% novorođenčadi, dok je preostalih 12 (75%) rođeno prirodnim putem. U grupi bez tipizacije, carskim rezom je rođeno jedno novorođenče (33,33%), dok je dvoje rođeno prirodnim putem (66,67%). Analizom Fisherovim testom, nije utvrđena statistički značajna razlika u načinu porođaja između grupa ispitanika sa HSV-1 i HSV-2 infekcijom ($p = 0,200$) (grafikon 4-31).



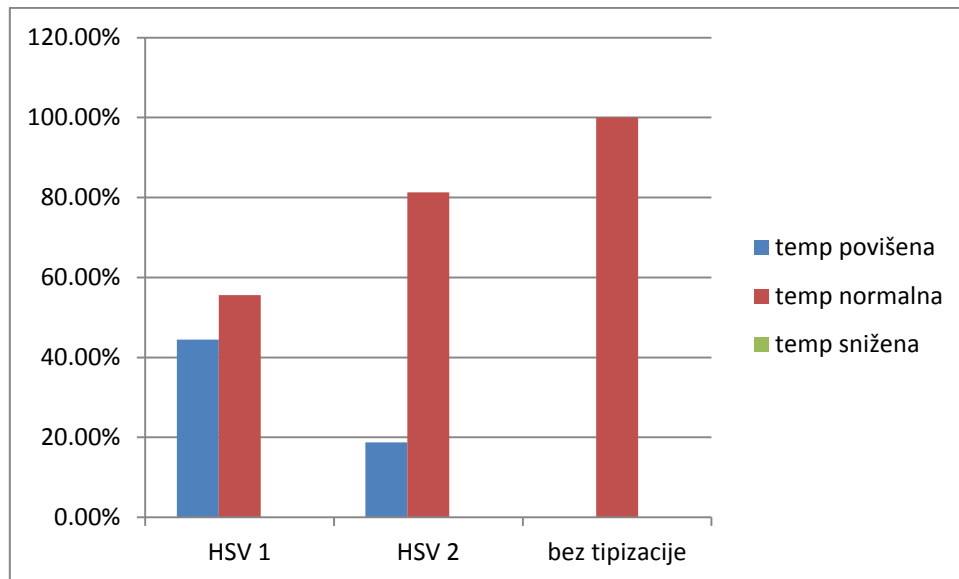
Grafikon 4-31. Način porođaja kod novorođenčadi sa HSV-1, HSV-2 i netipizovanom infekcijom

Od faktora rizika za nastanak HSV infekcije kod novorođenčeta, ispitani su prevremena ruptura plodovih ovojaka i korišćenje elektroda za monitoring aplikovanih intrauterusno na poglavinu ploda (fetalne “skapl” elektrode). Ni u jednoj grupi nisu registrovani navedeni faktori rizika.

4.5.3. Poređenje znakova i simptoma bolesti novorođenčadi HSV-1, HSV-2 i netipizovanom infekcijom

Telesna temperatura

Povišenu telesnu temperature je imalo 4 novorođenčadi s HSV-1 infekcijom (44,44%), 3 (18,75%) sa HSV-2 infekcijom. Ni u jednoj grupi nije registrovana hipotermija. U grupi novorođenčadi kod koje uzročnik infekcije nije tipiziran, svi su imali normlanu telesnu temperature. Poređenjem ovih grupa Fisherovim testom nije nađena statistički značajna razlika u pojavi povišene temperature u ovim grupama ($p > 0,205$) (grafikon 4-32).

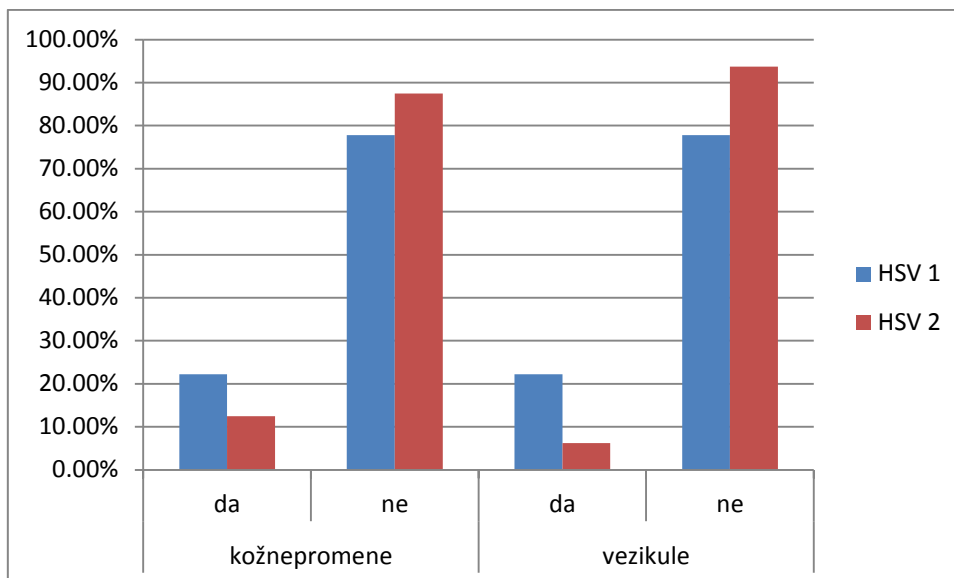


Grafikon 4-32. Telesna temperature kod novorođenčadi sa HSV-1, HSV-2 i netipizovanom infekcijom

Kožne promene i vezikule

Kožne promene je imalo 2 novorođenčadi (22,22%) sa HSV-1 infekcijom, kao i 2 (12,5%) u grupi sa HSV-2 infekcijom. U grupi bez tipizacije nijedno novorođenče nije imalo kožne promene. Poređenjem Hi kvadrat testom nije nađena statistički značajna razlika u pojavi kožnih promena u ispitivanim grupama (p 0,602).

Specifično posmatrana pojava vezikula registrovana je kod 2 novorođenčadi (22,22%) sa HSV-1 infekcijom i kod 1 (6,25%) u grupi sa HSV-2 infekcijom. Poređenjem Hi kvadrat testom nije nađena statistički značajna razlika u pojavi vezikula u ispitivanim grupama (p 0,530) (grafikon 4-33).

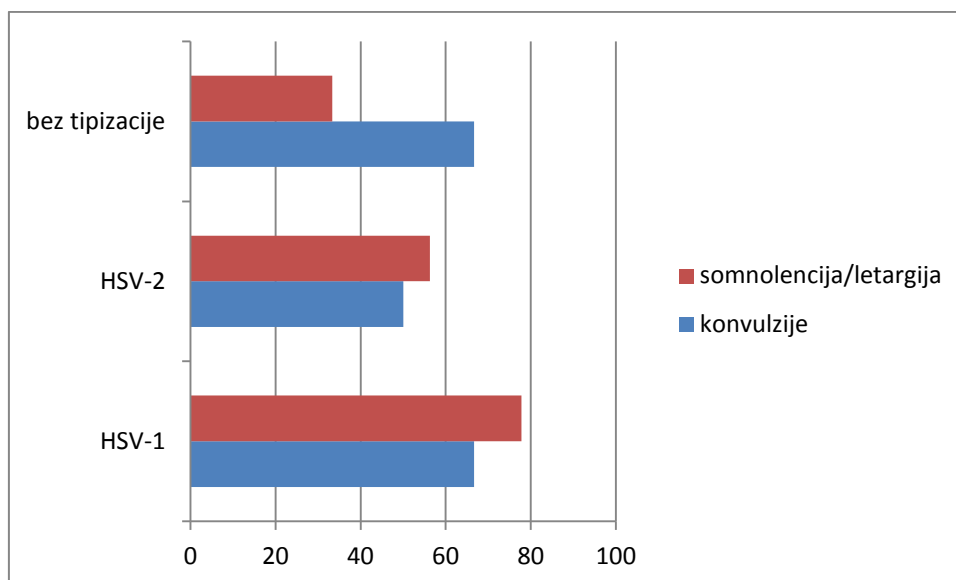


Grafikon 4-33. Pojava vezikula i drugih kožnih promena kod novorođenčadi sa HSV-1, HSV-2 i netipizovanom infekcijom

Konvulzije i somnolencija/letargija

Konvulzije je imalo 6 novorođenčadi (66,67%) u grupi sa HSV-1 i 8 (50%) u HSV-2 grupi. U grupi bez tipizacije konvulzije je imalo 2 (66,67%) novorođenčadi. Poređenjem Hi kvadrat testom nije nađena statistički značajna razlika u pojavi konvulzija u ispitivanim grupama (p 0,677).

Na prijemu somnolenciju je imalo 7 novorođenčadi (77,78%) u grupi sa HSV-1 i 9 novorođenčadi (56,25%) u HSV-2 grupi. U grupi bez tipizacije somnolenciju je imalo 1 (33,33%) novorođenče. Poređenjem Hi kvadrat testom nije nađena statistički značajna razlika u pojavi somnolencije u ispitivanim grupama (p 0,401) (grafikon 4-34).



Grafikon 4-34. Znaci neurološke izmenjenosti kod novorođenčadi sa HSV-1, HSV-2 i netipizovanom infekcijom

Tremor i iritabilnost

Tremor je imalo 2 novorođenčadi (22,22%) u grupi sa HSV-1 i 4 novorođenčadi (25%) u HSV-2 grupi. Poređenjem Hi kvadrat testom nije nađena statistički značajna razlika u pojavi termora u ispitivanim grupama (p 1,00).

Iritabilnost je ispoljilo 2 novorođenčadi (22,22%) u grupi sa HSV-1 i 4 novorođenčadi (25%) u HSV-2 grupi. Poređenjem Hi kvadrat testom nije nađena statistički značajna razlika u pojavi iritabilnosti u ispitivanim grupama (p 1,00).

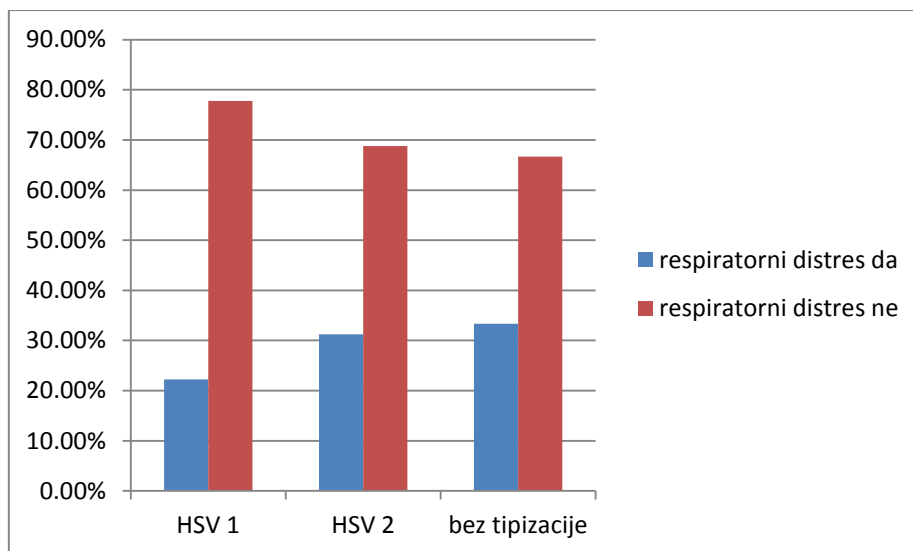
U grupi bez tipizacije nisu registrovani tremor i iritabilnost.

Pneumonija i respiratorni distres

Pneumonija je utvrđena kod 1 novorođenčeta (6,77%) sa HSV-1 i kod 1 novorođenčeta sa nepoznatim tipom. U grupi sa HSV-2 nije registrovana pneumonija. Poređenjem Hi kvadrat testom nije nađena statistički značajna razlika u pojavi pneumonije u ispitivanim grupama (p 0,306).

Znake respiratornog distresa je ispoljilo 2 novorođenčadi (22,22%) sa HSV-1 infekcijom i 5 novorođenčadi sa HSV-2 infekcijom (31,25%). U grupi bez

tipizacije 1 novorođenče (33,33%) je imalo respiratorni distress. Poređenjem Hi kvadrat testom nije nađena statistički značajna razlika u pojavi respiratornog distresa u ispitivanim grupama (p 1,00) (grafikon 4-35).



Grafikon 4-35. Pojava respiratornog distresa kod novorođenčadi s HSV-1, HSV-2 i netipizovanom infekcijom

Odbijanje obroka

Odbijanje obroka je postojalo kod 7 novorođenčadi (77,78%) sa HSV-1 infekcijom i 8 novorođenčadi sa HSV-2 infekcijom (50%). U grupi bez tipizacije nije registrovano odbijanje obroka. Poređenjem Hi kvadrat testom nije nađena statistički značajna razlika u pojavi odbijanja obroka u ispitivanim grupama (p 0,229).

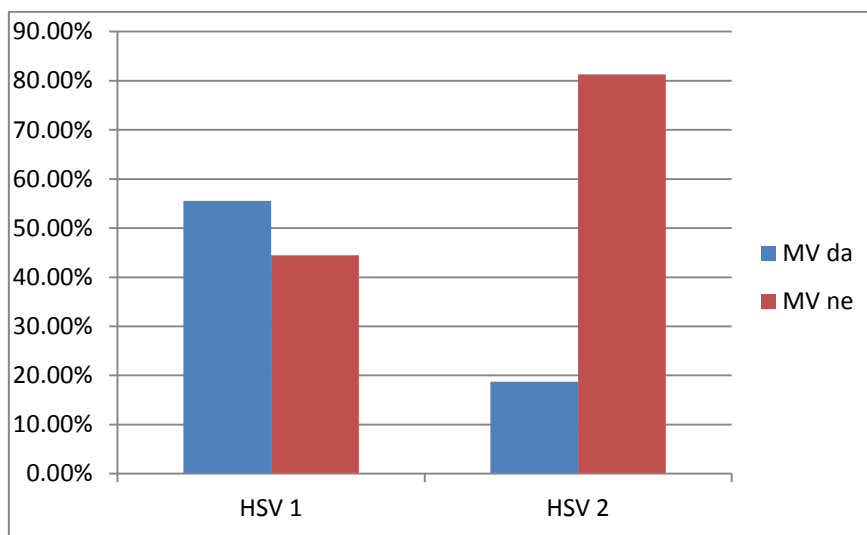
Hepatomegalija

Hepatosplenomegalija nije registrovana ni u jednoj grupi ispitanika.

Potreba za mehaničkom ventilacijom

Mehanička ventilacija je sprovedena kod 5 novorođenčadi (55,56%) sa HSV-1 infekcijom i 3 novorođenčadi sa HSV-2 infekcijom (18,75%). U grupi bez tipizacije nijedno novorođenče nije imalo potrebu za mehaničkom ventilacijom.

Poređenjem Hi kvadrat testom nije nađena statistički značajna razlika u potrebi za mehaničkom ventilacijom u ispitivanim grupama (p 0,087) (grafikon 4-36).

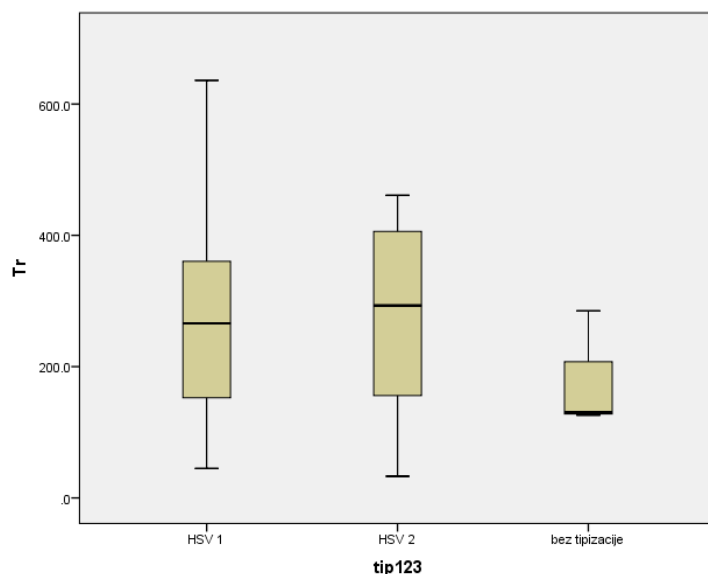


Grafikon 4-36. Potreba za mehaničkom ventilacijom kod novorođenčadi sa HSV-1 i HSV-2

4.5.4. Poređenje laboratorijskih parametara novorođenčadi sa HSV-1, HSV-2 i netipizovanom infekcijom

Parametrijskim testom za ispitivanje statističkih značajnosti ispitivani su sledeći laboratorijski parametri: broj trombocita, koncentracija C-reaktivnog proteina, transaminase (AST i ALT) i broj leukocita.

Aritmetička sredina broja trombocita je iznosila $302,11 \pm 187,32$ u grupi HSV-1, $295,56 \pm 161,71$ u grupi HSV-2 i $180,33 \pm 90,67$ u grupi bez tipizacije. Poređenje srednjih vrednosti broja trombocita vršeno je T testom, nije bilo statistički značajne razlike između ovih grupa ispitanika ($p=0.928$) (slika 4-13).

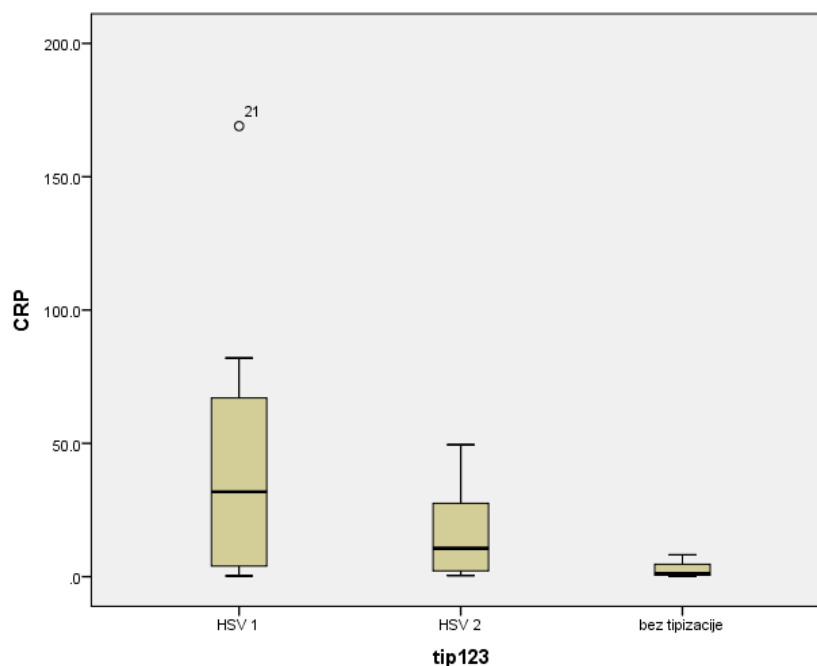


Slika 4-13. Poređenje broja trombocita novorođenčadi s HSV-1, HSV-2 i netipizovanom infekcijom

Srednja vrednost koncentracije C-reaktivnog proteina je iznosila $41,71 \pm 55,24$ u grupi HSV-1, $18,48 \pm 18,14$ u grupi HSV-2 i $3,1 \pm 4,45$ u grupi bez tipizacije. Poređenjem srednjih vrednosti koncentracije CRP je vršeno Mann Whitney testom i nije utvrđena je statistički značajna razlika između grupa ispitanika ($p=0,571$) (slika 4-14).

Srednja vrednost AST je iznosila $59,38 \pm 46,26$ u grupi HSV-1, $47,18 \pm 29,36$ u grupi HSV-2 i $67 \pm 60,22$ u grupi bez tipizacije. Poređenje srednjih vrednosti AST je vršeno Mann Whitney testom, nije utvrđena statistički značajna razlika u koncentraciji AST između grupa ispitanika ($p=0,590$).

Srednja vrednost ALT je iznosila $39,13 \pm 33,62$ u grupi HSV-1, $36 \pm 34,22$ u grupi HSV-2 i $51,33 \pm 55,14$ u grupi bez tipizacije. Poređenje srednjih vrednosti ALT je vršeno Mann Whitney testom nije utvrđena je statistički značajna razlika između grupa ispitanika ($p=0,571$).



Slika 4-54. Poređenje koncentracija C-reaktivnog proteina novorođenčadi s HSV-1, HSV-2 i netipizovanom infekcijom

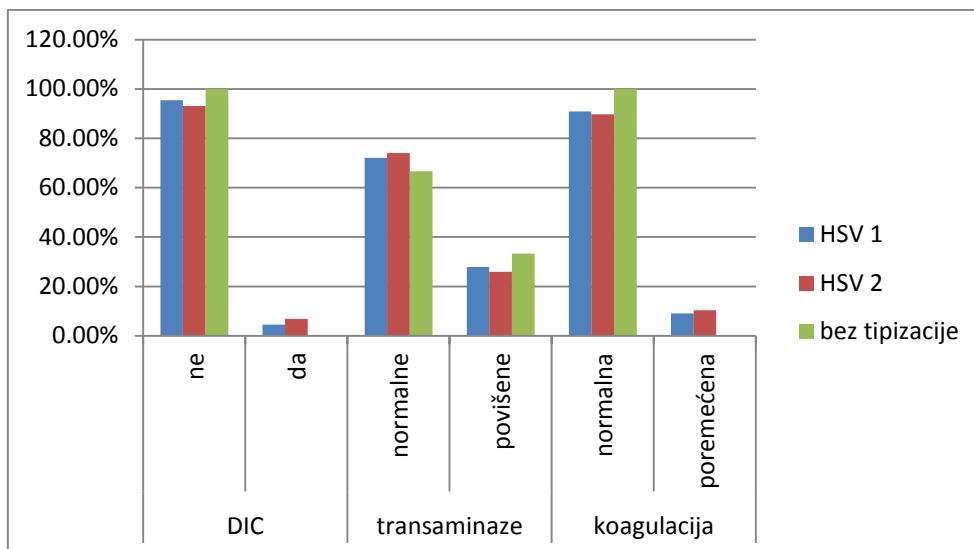
Aritmetička sredina broja leukocita je iznosila $12,10 \times 10^9 \pm 4,81 \times 10^9$ u grupi HSV-1, $16,31 \times 10^9 \pm 9,52$ u grupi HSV-2 i $12,60 \times 10^9 \pm 5,02$ u grupi bez tipizacije. Poređenje aritmetičkih sredina broja leukocita vršeno je T testom i nije utvrđena statistički značajna razlika između grupa ispitanika ($p=0,231$).

Neparametrijskim testom za ispitivanje statističkih značajnosti razlika (Hi kvadrat test) nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike u grupi ispitanika sa HSV-1 infekcijom, HSV-2 infekcijom, kao i u grupi bez tipizacije za postojanje diseminovane intravaskularne koagulacije, povišenih vrednosti transaminaza, poremećaja koagulacije i postojanje leukopenije odnosno leukocitoze ($p>0,05$). (tabela 4-10, grafikon 4-37).

Tabela 4-10. Poređenje učestalosti diseminovane intravaskularne koagulacije, povišenih transaminaza, poremećaja koagulacije i poremećaja broja leukocita kod novorođenčadi s HSV-1, HSV-2 i netipizovanom infekcijom

	HSV-1		HSV-2		bez tipizacije		p
	N	%	N	%	N	%	
DIK							
ne	8.00	88.89	16.00	100.00	3.00	100.00	0.360
da	1.00	11.11	.00	0.00	.00	0.00	
Transaminaze							
normalne	7.00	77.78	11.00	78.57	2.00	66.67	1.00
povišene	2.00	22.22	3.00	21.43	1.00	33.33	
Koagulacija							
normalna	7.00	77.78	16.00	100.00	3.00	100.00	0.120
poremećena	2.00	22.22	.00	0.00	.00	0.00	
Leukociti							
normalni	7.00	77.78	13.00	81.25	3.00	100.00	0.369
leukocitoza	1.00	11.11	3.00	18.75	.00	0.00	
leukopenija	1.00	11.11	.00	0.00	.00	0.00	

DIK- diseminovana intravaskularna koagulacija



Grafikon 4-37. Grafički prikaz učestalosti diseminovane intravaskularne koagulacije, povišenih transaminaza i poremećaja koagulacije kod novorođenčadi s HSV-1, HSV-2 i netipizovanom infekcijom

4.5.5. Poređenje elektroencefalografskih, oftalmoloških i neuroradioloških ispitivanja novorođenčadi s HSV-1, HSV-2 i netipizovanom HSV infekcijom

Neparametrijskim testovima za ispitivanje statističkih značajnosti razlika (Hi kvadrat test i Fisherov test) nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike u grupi novorođenčadi sa HSV-1, HSV-2 i netipizovanom infekcijom za postojanje izmenjenih elektroencefalografskih, oftalmoloških i neuroradioloških nalaza (CT i MR glave) ($p > 0,05$) (tabela 4-11).

Tabela 4-11. Poređenje elektroencefalografskih, oftalmoloških i neuroradioloških ispitivanja novorođenčadi sa HSV-1, HSV-2 i netipizovanom infekcijom

		HSV-1		HSV-2		bez tipizacije		p
		N	%	N	%	N	%	
EEG	uredan	.00	0.00	3.00	25.00	.00	0.00	0.242
	izmenjen	8.00	100.00	9.00	75.00	3.00	100.00	
FOU	uredan nalaz	8.00	100.00	14.00	100.00	2.00	66.67	/
	izmenjen	.00	0.00	.00	0.00	1.00	33.33	
UZ CNS	uredan	8.00	88.89	11.00	73.33	2.00	66.67	0.615
	izmenjen	1.00	11.11	4.00	26.67	1.00	33.33	
CT glave	uredna	3.00	75.00	1.00	16.67	1.00	50.00	0.190
	izmenjen	1.00	25.00	5.00	83.33	1.00	50.00	
MR glave	uredan	1.00	100.00	.00	0.00	1.00	50.00	/
	izmenjen	.00	0.00	.00	0.00	1.00	50.00	

4.5.6. Poređenje analiza cerebrospinalne tečnosti kod novorođenčadi sa HSV-1, HSV-2 i netipizovanom HSV infekcijom

Lumbalna punkcija je rađena kod 24 novorođenčadi sa dokazanom infekcijom HSV, od toga kod 7 sa HSV-1 (77,77%), 13 sa HSV-2 (81,25%) i 3 sa netipizovanom HSV infekcijom (100%). Prosečan broj elemenata u cerebrospinalnoj tečnosti kod bolesnika sa HSV-1 infekcijom iznosio je 65±156,6, 173,64±221,38 u grupi sa HSV-2 i 5±7,81 u grupi bez tipizacije. Poređenjem medijana broja elemenata Mann Whitney testom nije utvrđena statistički značajna razlika u broju elemenata u cerebrospinalnoj tečnosti kod bolesnika ovih grupa (p=0,135) (tabela 4-12).

Tabela 4-12. Poređenje broja elemenata u cerebrospinalnoj tečnosti novorođenčadi sa HSV-1, HSV-2 i netipizovanom HSV infekcijom

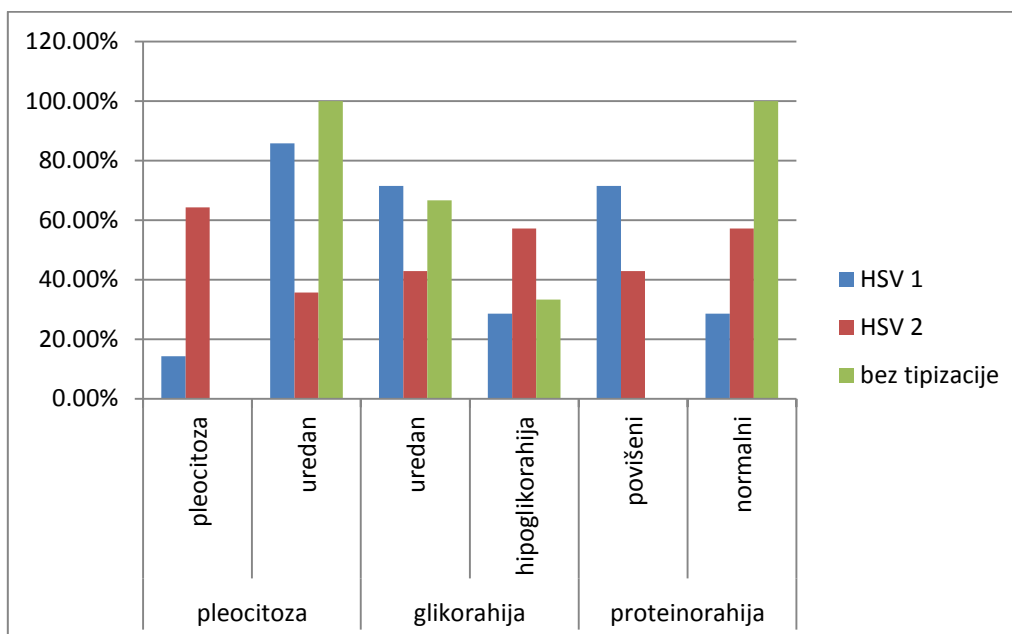
	Broj elemenata u cerebrospinalnoj tečnosti					
	\bar{X}	SD	Med	P ₂₅	P ₇₅	p
HSV-1	65.0	156.60	6.00	2.00	11.00	
HSV-2	173.64	221.38	96.50	5.00	270.00	0.135
HSV netipizovan	5.00	7.81	1.00	.00	14.00	

Neparametrijskim testom za ispitivanje statističkih značajnosti razlika (Hi kvadrat test) nije utvrđena statistički značajna razlika u grupama ispitanika sa HSV-1 i HSV-2 infekcijom za postojanje pleocitoze, definisane kao >25 elemenata /ml CST, iako je vrednost p blizu granice statističke značajnosti (p 0.063). Ispitivanje postojanja hipoglikorahije nije potvrdilo statistički značajnu razliku, (p 0,361), kao ni za postojanje hiperprotenorahije (p 0,361) (tabela 4-13 i grafikon 4-38).

Tabela 4-13. Poređenje parametara ispitivanih u cerebrospinalnoj tečnosti novorođenčadi sa HSV-1, HSV-2 i netipizovanom HSV infekcijom

		HSV 1		HSV 2		bez tipizacije		p*
		N	%	N	%	N	%	
Pleocitoza	da	1.00	14.29	9.00	64.29	.00	0.00	0.063
	ne	6.00	85.71	5.00	35.71	3.00	100.00	
Hipoglikorahija	da	2.00	28.57	8.00	57.14	1.00	33.33	0.361
	ne	5.00	71.43	6.00	42.86	2.00	66.67	
Hiperproteorahija	da	5.00	71.43	6.00	42.86	.00	0.00	0.361
	ne	2.00	28.57	8.00	57.14	3.00	100.00	

*poređeni su parametri za HSV-1 i + HSV-2



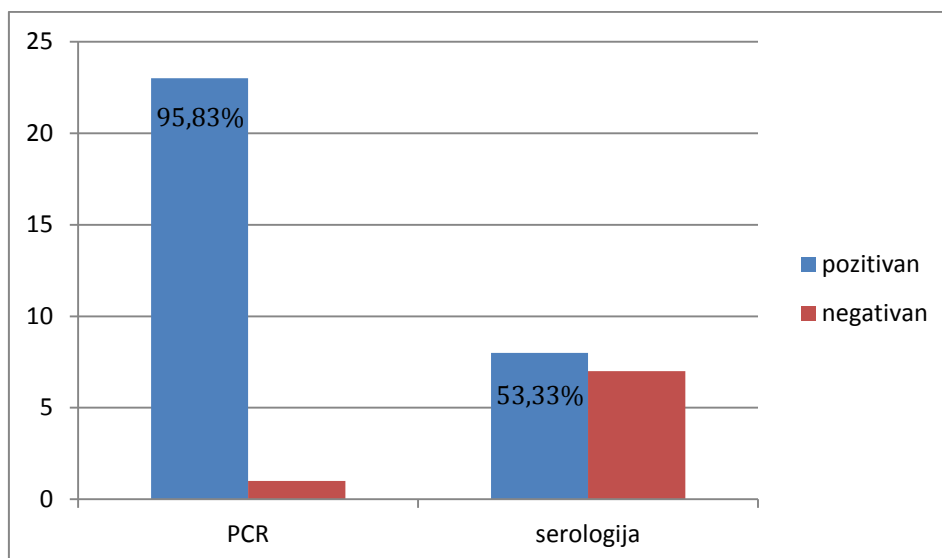
Grafikon 4-38. Učestalost pleocitoze, hipoglikorahije i hiperproteinatorahije kod novorođenčadi s HSV-1, HSV-2 i netipizovanom HSV infekcijom

4.5.7. Poređenje seroloških i PCR testova kod novorođenčadi sa HSV-1, HSV-2 i netipizovanom HSV infekcijom

Dijagnoza HSV infekcije postavljena je samo serološkim ispitivanjem kod 5 od 29 novorođenčadi sa HSV infekcijom (17,24%). Oba pozitivna testa dobijana su kod 2 novorođenčadi (6,9%), dok je kod preostalih 22 novorođenčadi dijagnoza postavljena PCR metodom (75,86%).

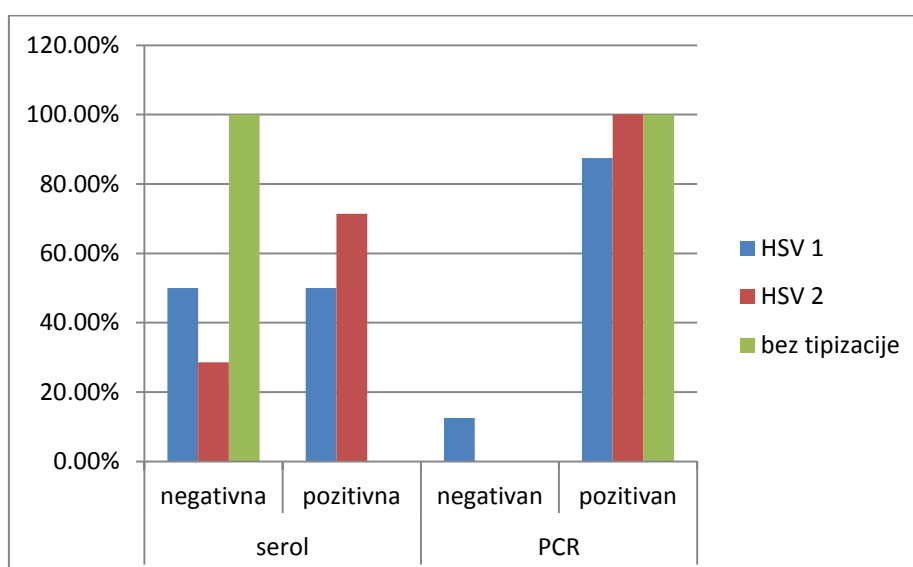
Serološko testiranje vršeno je kod 15 novorođenčadi sa dokazanom infekcijom, a pozitivan nalaz serologije dobijen je kod 8 od 15 novorođenčadi sa dokazanom infekcijom (53,33%).

Dijagnostika PCR metodom je rađena kod 24 novorođenčadi sa dokazanom infekcijom. Pozitivan nalaz imalo je 23 novorođenčadi (95,83%) (grafikon 4-39).



Grafikon 4-39. PCR i serološka ispitivanja kod novorođenčadi sa dokazanom infekcijom

Pozitivan nalaz serologije je zabeležen kod 3 novorođenčadi sa HSV-1 infekcijom (50%) i kod 5 novorođenčadi sa HSV-2 infekcijom (71,43%). Fisherovim testom nije dobijena je statistički značajna razlika u pozitivnim serološkim nalazima između grupa ispitanika (p 0,592). Pozitivan PCR test imalo je 23 novorođenčadi (95,83%), od toga 7 novorođenčadi sa HSV-1 (87,50%), 13 novorođenčadi sa HSV-2 (100%) i 3 novorođenčadi iz grupe bez tipizacije (100%). Fisherovim testom nije dobijena je statistički značajna razlika u pozitivnim PCR testovima između grupa ispitanika (p 0,381) (grafikon 4-40).



Grafikon 4-40. Dijagnostičke metode kod novorođenčadi sa HSV-1, HSV-2 i netipizovanom infekcijom

Pozitivan nalaz PCR u krvi imalo je 5 novorođenčadi sa HSV-1 infekcijom (71,43%), 10 novorođenčadi sa HSV-2 infekcijom (90,91%) i 32 novorođenčadi sa netipizovanom infekcijom (66,67%). Ispitivanje statističke značajnosti Fisherovim testom nije pokazalo postojanje statistički značajne razlike između grupa ispitanika (p 0,528).

Pozitivan nalaz PCR u likvoru imalo je 5 novorođenčadi sa HSV-1 infekcijom (100%), 7 novorođenčadi sa HSV-2 infekcijom (58,33%) i 3 novorođenčadi sa netipizovanom infekcijom (100%). Ispitivanje statističke značajnosti Fisherovim testom nije pokazalo postojanje statistički značajne razlike između grupa ispitanika (p 0,245).

4.5.8. Poređenje anamnestičkih podataka o izvoru infekcije između novorođenčadi s HSV-1, HSV-2 i netipizovanom infekcijom

Pozitivna anamneza o herpesnoj infekciji kod majke registrovana je kod 2 (22,22%) novorođenčadi sa HSV-1 infekcijom, 4 (25%) novorođenčadi sa HSV-2 infekcijom, dok nije bila pozitivna ni kod jednog novorođenčeta iz grupe bez tipizacije. Nije utvrđena statistički značajna razlika u pozitivnoj anamnezi majke za pojavu HSV infekcije (p 1,00).

Anamnestički podatak o genitalnom herpesu je dala jedna majka u grupi sa HSV-1 (11,11%) i 3 majke (18,75%) iz grupe sa HSV-2 infekcijom. Nije bilo pozitivnih anamnestičkih podataka u grupi bez tipizacije. Fisherovim testom nije utvrđena statistički značajna razlika u prisustvu anamnestičkog podatka o genitalnom herpesu kod majke između dve grupe ispitanika (p 1,00).

Analizom oblika genitalnog herpesa majke, kod novorođenčata sa HSV-1 infekcijom majka je imala primarni oblik GH, a u grupi sa HSV-2 infekcijom, primarni oblik genitalnog herpesa su imale 2 majke (66,67%). Fisherovim testom nije utvrđena statistički značajna razlika u prisustvu anamnestičkog podatka o genitalnom herpesu kod majki između dve grupe ispitanika (p 1,00).

Prikaz osnovnih karakteristika majki novorođenčadi sa dokazanom infekcijom kod kojih su postojali pozitivni anamnestički podaci za infekciju herpesom dat je u tabeli 4-14.

Tabela 4-14. Osnovne karakteristike majki novorođenčadi sa dokazanom infekciom u odnosu na tip infekcije

	HSV-1	HSV-2	Bez tipizacije	Ukupno
Godine majke				
< 20	-	1	-	1
20-24	2	4	-	6
25-29	2	6	1	9
30-34	3	1	1	5
≥ 35	1	1	-	2
nepoznate	1	3	1	5
Paritet				
1	4	7	2	13
2	2	6	-	8
≥ 3	2	3	-	5
nepoznat	1	-	1	2
Pozitivna anamneza za GH				
primarni	1	2	-	3
rekurenti	-	1	-	1
Pozitivne analize za GH				
serologija	1	1		2
PCR	1	2	1	4

GH-genitalni herpes

Bolničko osoblje je bilo izvor infekcije kod jednog novorođenčeta sa klinički ispoljenim vezikulama po koži i encefalitisom.

Pozitivnu anamnezu o labijalnom herpesu je imalo 2 novorođenčadi sa HSV-2 infekcijom. U ostalim grupama ovaj anamnestički podatak je bio negativan. Poređenjem Fisherovim testom nije dokazana statistički značajna razlika u prisustvu labijalnog herpes kod majke, kao uzročnika NH (p 0,520).

U grupi sa HSV-1 infekcijom kao prvo dete rodilo se 4 novorođenčadi (50%), kao drugo 2 (25%) i kao treće i više 2 (25%). U grupi sa HSV-2 infekcijom kao prvo dete rodilo se 7 (43,75 %) novorođenčadi, kao drugo 6 (37,50%) i kao treće i više 3 (18,75%). U grupi sa netipizovanom infekcijom dvoje novorođenčadi je rođeno kao prvo dete, dok podatak za 1 novorođenče nedostaje. Poređenjem Hi kvadrat testom nije utvrđena statistički značajna razlika (p 0,821).

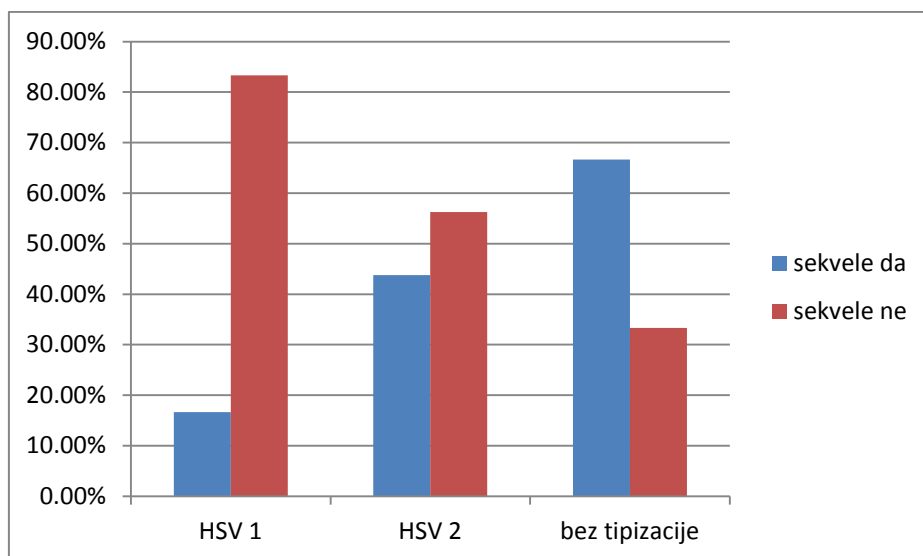
Ni u jednom slučaju nije prenatalno sprovedena terapija majke zbog genitalnog herpesa, dok je prenatalno postavljena dijagnoza postojala kod majke 1 novorođenčeta (6,25%) sa HSV-2 infekcijom.

Aritmetička sredina godina majke je iznosila $30 \pm 56,5$ u grupi HSV-1, $26,08 \pm 5,78$ u grupi HSV-2 i $28 \pm 2,8$ u grupi bez tipizacije. Poređenjem srednjih vrednosti gestacije vršeno je T testom, nije bilo statistički značajne razlike između ovih grupa ispitanika (p=0,166).

4.5.9. Poređenje ishoda bolesti novorođenčadi sa HSV-1, HSV-2 i netipizovanom HSV infekcijom

Mortalitet za novorođenčad sa dokazanom HSV infekcijom iznosio je 13,8% (4 od 29 novorođenčadi). Letalan ishod zabeležen je kod 3 novorođenčadi sa HSV-1 infekcijom (33,33% od broja novorođenčadi sa HSV-1 infekcijom). Takođe letalan ishod je bio i kod pacijenta sa dualnom infekcijom. Poređenjem Fisherovim testom dokazana statistički značajna razlika u smrtnosti između grupa bolesnika (p 0,037).

U grupi preživele novorođenčadi sa dokazanom HSV infekcijom sekvele je imalo 10 novorođenčadi od 25 (40%). U grupi preživelih, sekvele je imalo 1 novorođenče sa HSV-1 infekcijom (16,67%), 7 novorođenčadi sa HSV-2 infekcijom (43,75%) i 2 (66,67%) novorođenčadi sa netipizovanom infekcijom. Poređenjem grupa Hi kvadrat testom nije dokazana statistički značajna razlika (p 0,351) (grafikon 4-41).



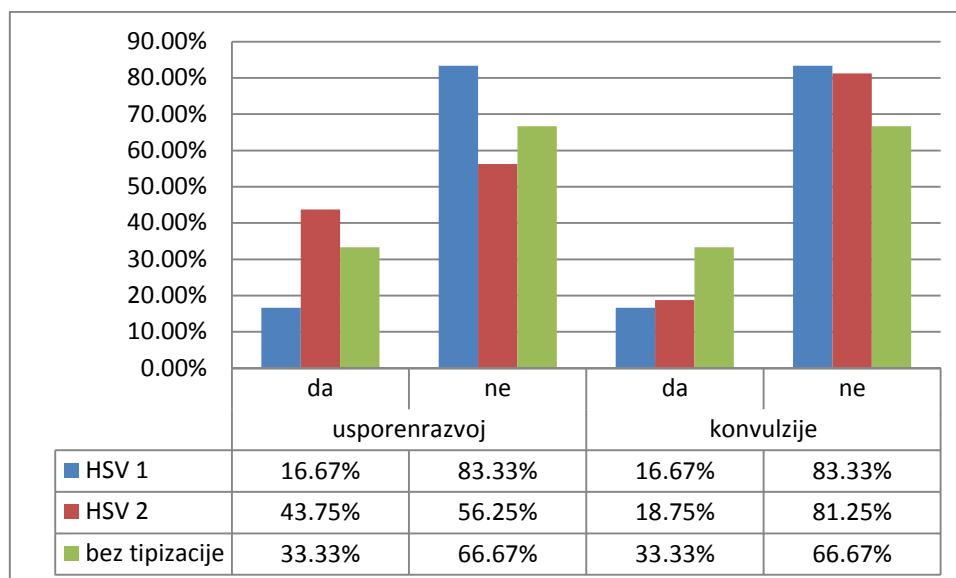
Grafikon 4-41. Sekvele kod preživjele novorođenčadi sa HSV-1, HSV-2 i netipizovanom HSV infekcijom

U grupi novorođenčadi s dokazanom infekcijom i prisutnim sekvelama, usporen psihomotorni razvoj je bio prisutan kod 36%, a konvulzije kod 20% bolesnika.

U grupi preživjele novorođenčadi sa sekvelama usporen psihomotorni razvoj je bio prisutan kod 1 novorođenčeta sa HSV-1 infekcijom (16,67%), 7 novorođenčadi sa HSV-2 infekcijom (43,75%) i 1 (33.33%) novorođenčeta sa netipizovanom infekcijom.

Sekvele u vidu konvulzija registrovane su kod 1 novorođenčeta sa HSV-1 infekcijom (16,67%), 3 novorođenčadi sa HSV-2 infekcijom (18,75%) i 1 (33.33%) novorođenčeta sa netipizovanom infekcijom.

Poređenjem grupa Fisherovim testom nije dokazana statistički značajna razlika u pojavi usporenog psihomotornog razvoja ($p = 0,351$), kao ni u pojavi konvulzija ($p = 1,00$) (grafikon 4-42).



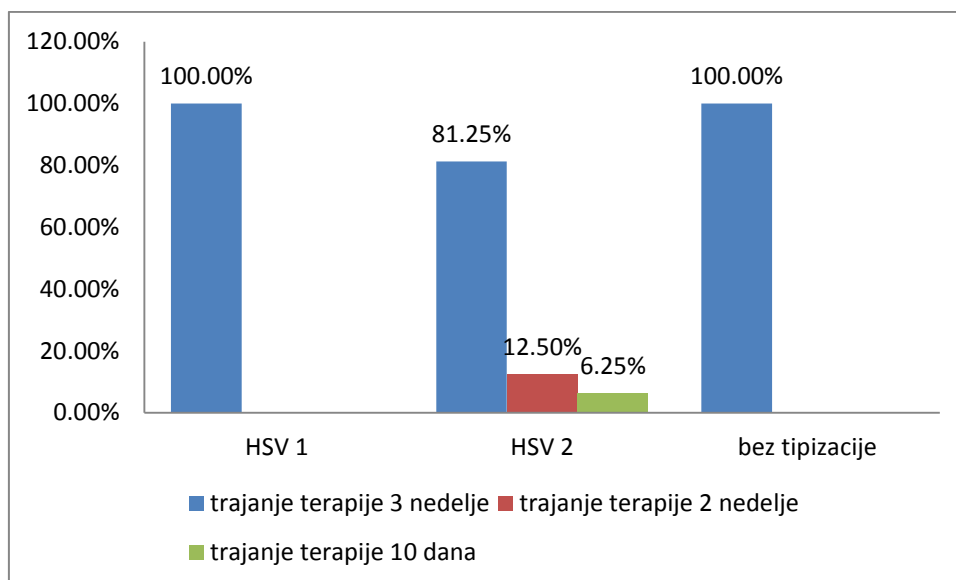
Grafikon 4-42. Usporen razvoj i konvulzije kod preživjele novorođenčadi sa HSV-1, HSV-2 i netipizovanom HSV infekcijom

4.5.10. Poređenje primene terapije kod novorođenčadi sa HSV-1, HSV-2 i netipizovanom HSV infekcijom

Od ukupno 29 novorođenčadi sa dokazanom infekcijom, antivirusnu terapiju, aciklovir, nije dobilo dvoje (6,7%) novorođenčadi (bolesnici 2 i 17 u tabeli 4. 2), jedan sa HSV-1 i drugi sa dualnom infekcijom.

Dozu manju od 60mg/kgTM/24h, dobilo je 4 od 27 novorođenčadi (14,81%), svi sa HSV-2 infekcijom. Fisherovim testom nije dokazana statistički značajna razlika između grupa za primljenu terapiju (p 0,360), kao i u dozi leka između grupa (p 0,262).

Tokom 3 nedelje terapiju je primalo 24 od 27 novorođenčadi (88,89%) i to 8 novorođenčadi sa HSV-1 infekcijom (100%), 13 sa HSV-2 (81,25%) i 3 (100%) novorođenčadi iz grupe bez tipizacije. Tokom 2 nedelje terapiju je dobijalo 2 novorođenčadi sa HSV-2 (12,50%). Tokom 10 dana terapiju je dobijalo samo jedno novorođenče koje je imalo HSV-2 infekciju. Hi kvadrat testom nije dokazana statistički značajna razlika u dozi leka između grupa (p 0,424) (grafikon 4-43).

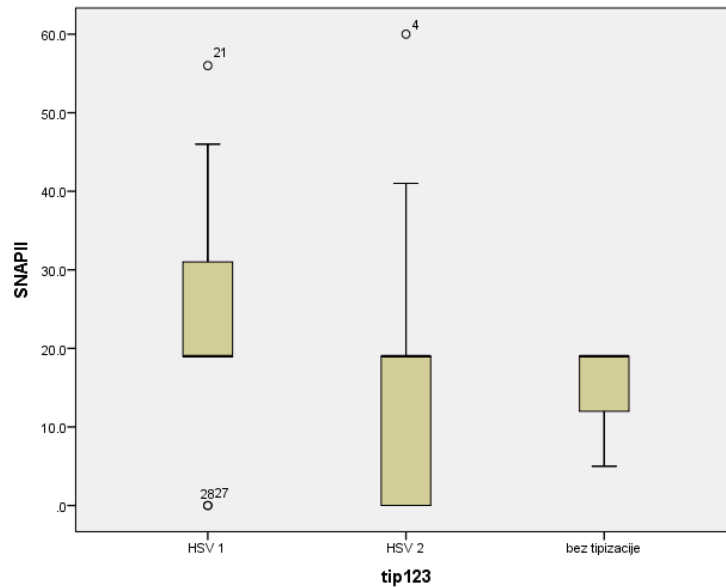


Grafikon 4-43. Trajanje antivirusne terapije kod novorođenčadi sa HSV-1, HSV-2 i netipizovanom HSV infekcijom

Supresivnu terapiju aciklovirom dobijalo je 2 novorođenčadi sa dokazanom HSV infekcijom, 1 sa HSV-2 i jedno iz grupe bez tipizacije.

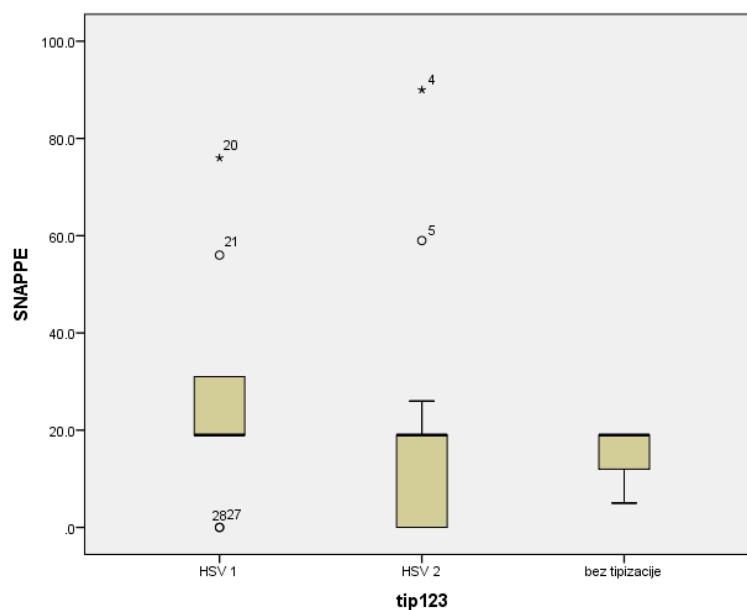
4.5.11. Poređenje skorova SNAP II i SNAPPE II između novorođenčadi s HSV-1, HSV-2 i netipizovanom HSV infekcijom

Vrednosti SNAP II skora ispitanika kretale se su u opsegu od 0 do 67. Srednja vrednost SNAP II skora određena za grupu ispitanika sa HSV-1 infekcijom iznosila je $24,33 \pm 18,73$, sa HSV-2 infekcijom $15,06 \pm 17,31$ dok je u grupi bez tipizacije iznosila $14,33 \pm 8,08$. Poređenjem ovih grupa Mann Whitney testom nije utvrđena statistički značajna razlika za SNAPPE II skor ($p 0,172$) (slika 4-15).



Slika 4-65. Srednje vrednosti SNAP II skora kod novorođenčadi sa HSV-1, HSV-2 i netipizovanom HSV infekcijom

Vrednosti SNAPPE II skora ispitanika kretale su se u opsegu od 0 do 85. Srednja vrednost SNAP II skora određena za grupu ispitanika sa HSV-1 infekcijom iznosila je $27,67 \pm 24,77$, sa HSV-2 infekcijom $19,19 \pm 24,30$ dok je u grupi bez tipizacije iznosila $14,33 \pm 8,08$. Poređenjem ovih grupa Mann Whitney testom nije utvrđena statistički značajna razlika za SNAP II skor ($p 0,216$) (slika 4-16).



Slika 4-167. Srednje vrednosti SNAP II skora kod novorođenčadi sa HSV-1, HSV-2 i netipizovanom HSV infekcijom

Vrednosti SNAP II skora novorođenčadi sa HSV-1, HSV-2 i netipizovan HSV infekcijom, prikazane su kroz kategorije: 0-10, 11-20, 21-30, 31-40, 41-50 i >50. Najveći broj ispitanika 3 (33,33%) u grupi sa HSV-1 infekcijom imao je vrednost skora od 11-20, kao i u grupi novorođenčadi sa netipizovanom HSV infekcijom, gde je 2 novorođenčadi (66,67%) pripadalo ovoj grupi. Najviše novorođenčadi u grupi sa HSV-2 infekcijom je imalo skor od 0-10, sedmoro (43,75%) (tabela 4-15).

Vrednosti SNAPPE II skora novorođenčadi sa HSV-1, HSV-2 i netipizovan HSV infekcijom, prikazane su kroz kategorije: 0-10, 11-20, 21-30, 31-40, 41-50, 51-60, 61-70 i >70. U sve tri grupe ispitanika, najviše je ih je imalo vrednosti skora od 11-20 i to grupi sa HSV-1 infekcijom 3 (33,33%), u grupi sa HSV-2 infekcijom 7 (43,75%) i u grupi novorođenčadi sa netipizovanom HSV infekcijom 2 (66,67%) novorođenčadi (tabela 4-16).

Tabela 4-15. Vrednosti SNAP II skora po kategorijama za novorođenčad sa HSV-1, HSV-2 i netipizovanom HSV infekcijom

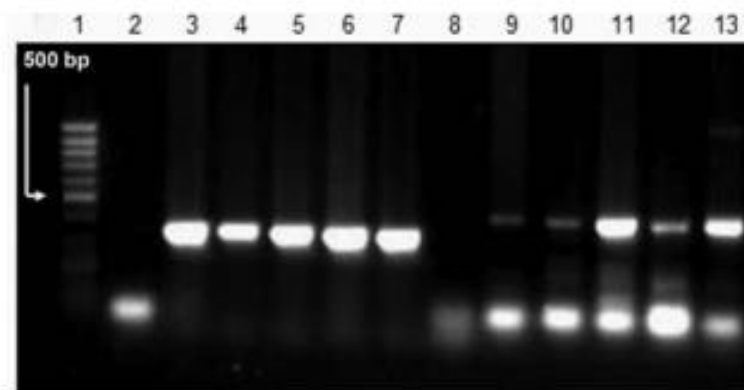
SNAP II	HSV-1		HSV-2		bez tipizacije	
	N	%	N	%	N	%
0-10	2.00	22.22	7.00	43.75	1.00	33.33
11-20	3.00	33.33	6.00	37.50	2.00	66.67
21-30	1.00	11.11	1.00	6.25	.00	0.00
31-40	1.00	11.11	.00	0.00	.00	0.00
41-50	1.00	11.11	1.00	6.25	.00	0.00
>50	1.00	11.11	1.00	6.25	.00	0.00

Tabela 4-16. Vrednosti SNAPPE II skora po kategorijama za novorođenčad sa HSV-1, HSV-2 i netipizovanom HSV infekcijom

SNAPPE II	HSV-1		HSV-2		bez tipizacije	
	N	%	N	%	N	%
0-10	2.00	22.22	6.00	37.50	1.00	33.33
11-20	3.00	33.33	7.00	43.75	2.00	66.67
21-30	1.00	11.11	1.00	6.25	.00	0.00
31-40	1.00	11.11	.00	0.00	.00	0.00
41-50						
51-60	1.00	11.11	1.00	6.25	.00	0.00
61-70						
>70	1.00	11.11	1.00	6.25	.00	0.00

4.6. Prikaz novorođenčeta sa dualnom Herpes simpleks virus infekcijom

Kod novorođenčeta lečenog 2004. godine (bolesnik 2 u tabeli 4. 2), utvrđena je infekcija s oba tipa virusa HSV-1 i HSV-2. Dete je rođeno u terminu, vaginalnim putem. Od faktora rizika za nastanak infekcije postojala je prevremena ruptura plodovih ovojaka. Bolest se prezentovala u trećem danu života, u vidu sepsi slične bolesti, sa znacima pneumonije i insuficijencije jetre fulminantnog toka. Smrtni ishod u 9. danu života nastao je zbog multiorganske disfunkcije. Serološka ispitivanja na HSV nisu pokazala prisustvo HSV -1 i HSV-2 IgM i IgG antitela. Bolesnik nije dobio antivirusnu terapiju (aciklovir). Retrospektivnom analizom uzoraka tkiva uzetih na autopsiji (trahealni aspirat, crevo, jetra, pluća) registrovan je porast virusa u kulturama, a PCR metodom je utvrđena HSV DNK. Daljom analizom, metodom direktnog sekvencioniranja utvrđeno je prisustvo DNK HSV-1 i HSV-2. (slika 4-17).



Slika 4-87. Rezultati PCR analiza na HSV-1 i HSV-2 iz postmortem uzoraka

Serološkim ispitivanjem majke i merenjem aviditeta u ponavljanim vremenskim intervalima utvrđeno je da je do primarne infekcije majke došlo u kraćem vremenu pre porođaja (tabela 4-17).

Tabela 4-17. Analiza serološkog statusa i aviditeta antitela majke

Vreme od porođaja (meseci)	HSV-1		HSV-2	
	IgM (IU/ml)	IgG (IU/ml)	IgM (IU/ml)	IgG (IU/ml)
2	170	836 aviditet 57%	35	-
6	145	1019, aviditet 90%	50	135, aviditet 50%
9	57	550	-	55, aviditet 77%

4.7. Poređenje novorođenčadi s herpes encefalitisom i diseminovanom HSV infekcijom

4.7.1. Poređenje karakteristika novorođenčadi s herpes encefalitisom i diseminovanom HSV infekcijom

Poređenjem osnovnih karakteristika novorođenčadi s herpes encefalitisom i diseminovanim oblikom, utvrđeno je da prevremeno rođena deca dominiraju u grupi s diseminovanom infekcijom u odnosu na encephalitis. Fisherovim testom

potvrđena je statistički značajna razlika u gestaciji između dve grupe ispitanika ($p < 0,000$).

Poređenjem karakteristika pol, način porođaja i prevremena ruptura plodovih ovojaka nije utvrđena statistički značajna razlika ($p > 0,05$) (tabela 4-18).

Tabela 4-18. Poređenje osnovnih karakteristika novorođenčadi sa HSV encefalitisom i diseminovanim oblikom bolesti

		CNS		Diseminovani		p
		Nº	%	Nº	%	
Pol	ženski	8	38.1%	6	85.7%	0,077
	muški	13	61.9%	1	14.3%	
Gestacija	<37 nedelje gestacije	1	4.8%	6	85.7%	0,000
	>37 nedelje gestacije	20	95.2%	1	14.3%	
Porođaj	carski rez	6	28.6%	4	57.1%	0,207
	prirodni porođaj	15	71.4%	3	42.9%	
	VE/forceps	0	0.0%	0	0.0%	
PROM	da	0	0.0%	1	14.3%	0,250
	ne	21	100.0%	6	85.7%	

VE- vakuum ekstrakcija; PROM-prevremena rupture plodovih ovojaka

Poređenjem srednje vrednosti gestacije, telesne mase na rođenju i uzrasta u vreme pojave tegoba vršeno je T testom, odnosno Mann Witney testom i dobijene su statistički značajne razlike ($p < 0,05$). Za godine majke u vreme rađanja novorođenčeta sa HSV infekcijom nije utvrđena statistički značajna razlika ($p = 0,802$) (tabela 4-19).

Tabela 4-19. Srednje vrednosti i medijane gestacije, telesne mase na rođenju, uzrasta u vreme pojave znakova i simptoma bolesti kao i godina majke u trenutku porođaja u grupama sa HSV encefalitisom i diseminovanom HSV infekcijom

Parametar	Vrednost					Uzorak (n)	p
	\bar{X}	SD	Med	P ₂₅	P ₇₅		
Gestacija							
Encefalitis	38.95	1.28	39.00	38.00	39.00	21	0.006
Diseminovani oblik	33.94	3.26	34.50	31.00	36.00	7	
Telesna masa							
Encefalitis	3346.1	446.19	3300.0	2950.0	3650.0	21	0.0018
Diseminovani oblik	2200.0	948.68	1750.0	1600.0	2750.0	7	
Uzrast u vreme tegoba							
Encefalitis	10.71	10.51	7.00	2.00	14.00	21	0.003
Diseminovani oblik	1.29	.76	1.00	1.00	1.00	7	
Godine majke							
Encefalitis	27.53	6.87	26.00	22.00	31.00	17	0,802
Diseminovani oblik	28.00	2.00	28.00	26.00	29.00	6	

4.7.2. Poređenje znakova i simptoma bolesti između novorođenčadi sa herpes encefalitisom i diseminovanom HSV infekcijom

Poređenjem osnovnim kliničkih simptoma i znakova bolesti Fisherovim testom, statistički značajna razlika utvrđena je za pojavu pneumonije (p 0,011), respiratornog distresa (p 0,000) i potrebe za sprovođenjem mehaničke ventilacije (p 0,020). Svi parametri prikazani su u tabeli 4-20.

Tabela 4-20. Kliničke manifestacije bolesti kod novorođenčadi sa grupama sa HSV encefalitisom i diseminovanom HSV infekcijom

		CNS		diseminovani		p
		N	%	N	%	
Temperatura	povišena	7	33.3	1	14.3	0,633
	normalna	14	66.7	6	85.7	
	snižena	0	0.0	0	0.0	
Kožne promene	ne	18	85.7	7	100.0	0,551
	da	3	14.3	0	0.0	
Vezikule	ne	19	90.5	7	100.0	1,000
	da	2	9.5	0	0.0	
Pneumonija	ne	21	100.0	4	57.1	0,011
	da	0	0.0	3	42.9	
Konvulzije	ne	8	38.1	4	57.1	0,418
	da	13	61.9	3	42.9	
Somnolencija/letargija	ne	9	42.9	1	14.3	0,364
	da	12	57.1	6	85.7	
Odbijanje obroka	ne	10	47.6	2	28.6	0,662
	da	11	52.4	5	71.4	
Tremor	ne	15	71.4	7	100.0	0,288
	da	6	28.6	0	0.0	
Iritabilnost	ne	15	71.4	7	100.0	0,288
	da	6	28.6	0	0.0	
RD	ne	19	90.5	0	0.0	0,000
	da	2	9.5	7	100.0	
MV	ne	17	81.0	2	28.6	0,020
	da	4	19.0	5	71.4	
Hepatosplenomegalija	ne	21	100.0	7	100.0	/
	da	0	0.0	0	0.0	

4.7.3. Poređenje laboratorijskih parametara između novorođenčadi s herpes encefalitisom i diseminovanom HSV infekcijom

Parametrijskim testom za ispitivanje statističkih značajnosti, Mann Whitney test, ispitivani su sledeći laboratorijski parametri: broj trombocita, koncentracija C-reaktivnog proteina, transaminaze (AST i ALT) i broj leukocita. Statistički značajna razlika utvrđena je u broju trombocita ($p < 0,000$), dok za ostale laboratorijske parametre nije utvrđena ($p > 0,05$) (tabela 4-21).

Tabela 4-21. Poređenje broja trombocita, koncentracija C-reaktivnog proteina, transaminaze (AST i ALT) i broj leukocita kod novorođenčadi sa herpes encefalitisom i diseminovanom infekcijom

Parametar	Vrednosti				p
	\bar{x}	SD	Med	Uzorak (n)	
Trombociti					
Encephalitis	334.76	154.46	338.00	21	0,000
Diseminovani oblik	102.86	54.28	83.00	7	
CRP					
Encephalitis	22.49	22.96	13.00	21	0,484
Diseminovani oblik	35.55	66.45	6.00	6	
AST					
Encephalitis	53.19	34.58	39.50	16	0,712
Diseminovani oblik	2342.17	5584.01	49.50	6	
ALT					
Encephalitis	45.44	39.52	28.50	16	0,825
Diseminovani oblik	548.83	1289.05	28.00	6	
Leukociti					
Encephalitis	13.69	4.54	12.50	21	0,669
Diseminovani oblik	16.24	14.90	11.70	7	

Neparametrijskim testom za ispitivanje statističkih značajnosti razlika (Fisherov test) vršeno je poređenje postojanja diseminovane intravaskularne koagulacije, povišenih vrednosti transaminaza, poremećaja koagulacije i postojanje leukopenije odnosno leukocitoze. Za parametar DIK nije utvrđena statistički značajna razlika, iako je dobijena vrednost „p“ blizu konvencionalnog nivoa statističke značajnosti. S obzirom na mali broj ispitanika, ne možemo sa sigurnošću reći da je DIK faktor koji ukazuje na diseminovani oblik NH. Za poremećaje koagulacionog skrininga potvrđena je statistički značajna razlika (p 0,011) (tabela 4-22).

Tabela 4-22. Poređenje učestalosti diseminovane intravaskularne koagulacije, povišenih transaminaza, poremećaja koagulacije i poremećaja broja leukocita kod novorođenčadi sa herpes encefalitisom i diseminovanom infekcijom

		Encefalitis		Diseminovani oblik		p
		N	%	N	%	
DIK	da	0	0.0	2	28.6	0,056
	ne	21	100.0	5	71.4	
Koagulacija	normalna	21	100.0	4	57.1	0,011
	poremećena	0	0.0	3	42.9	
Transaminaze	normalne	15	75.0	4	66.7	1,00
	povišene	5	25.0	2	33.3	
Leukociti	normalani	18	85.7	5	71.4	0,281
	leukocitoza	3	14.3	1	14.3	
	leukopenija	0	0.0	1	14.3	

DIK-diseminovana intravaskularna koagulacija

4.7.4. Poređenje nalaza u cerebrospinalnoj tečnosti kod novorođenčadi s herpes encefalitisom i diseminovanom HSV infekcijom

Prosečan broj elemenata u CST kod novorođenčadi sa HSV encefalitisom iznosio je $137,14 \pm 205,06$, dok je u grupi sa diseminovanim oblikom iznosio $7 \pm 6,08$ elemenata/ml. Poređenjem medijana broja elemenata u CST Mann Whitney testom, nije utvrđena statistički značajna razlika ($p = 0,359$) (tabela 4-23).

Tabela 4-23. Prosečan broj elemenata u cerebrospinalnoj tečnosti novorođenčadi sa diseminovanom infekcijom i encefalitisom

	Broj elemenata u cerebrospinalnoj tečnosti						p
	\bar{x}	SD	Med	P ₂₅	P ₇₅	Uzorak (n)	
Encephalitis	137.14	205.06	11.00	5.00	145.00	21	0.359
Diseminovani oblik	7.00	6.08	4.00	3.00	14.00	3	

Neparametrijskim testom za ispitivanje statističkih značajnosti razlika (Fisherov test) nije utvrđena statistički značajna razlika u grupama ispitanika s encefalitisom i diseminovanim oblikom za postojanje pleocitoze, definisane kao >25 elemenata /ml CST. hipoglikorahije i hiperprotenorahije (tabela 4-24).

Tabela 4-24. Poređenje elektroencefalografskih, oftalmoloških i neuroradioloških ispitivanja kod novorođenčadi sa HSV-1, HSV-2 i netipizovanom infekcijom

		Encefalitis		Diseminovani oblik		p
		N	%	N	%	
Pleocitoza	pleocitoza	10	47.6	0	0.0	0.239
	uredan	11	52.4	3	100.0	
Glikorahija	uredan	11	52.4	2	66.7	1.00
	hipoglikorahija	10	47.6	1	33.3	
Proteinorahija	povišeni	10	47.6	1	33.3	1.00
	normalni	11	52.4	2	66.7	

4.7.5. Poređenje elektroencefalografskih, oftalmoloških i neuroradioloških ispitivanja kod novorođenčadi s herpes encefalitisom i diseminovanom HSV infekcijom

Neparametrijskim testovima za ispitivanje statističkih značajnosti razlika (Fisherov test) nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike u grupi novorođenčadi s encefalitisom i diseminovanom infekcijom za postojanje izmenjenih elektroencefalografskih, oftalmoloških i neuroradioloških nalaza (CT i MR glave) ($p > 0,05$) (tabela 4-25).

Tabela 4-25. Poređenje elektroencefalografskih, oftalmoloških i neuroradiološki nalaza novorođenčadi sa diseminovanom infekcijom i encefalitisom

		Encefalitis		Diseminovani oblik		p
		N	%	N	%	
EEG	uredan	3	16.7	0	0.0	1.00
	izmenjen	15	83.3	5	100.0	
FOU	uredan	20	100.0	4	80.0	0.200
	izmenjen	0	0.0	1	20.0	
UZ CNS	uredan	18	85.7	4	57.1	0.144
	izmenjen	3	14.3	3	42.9	
CTglave	uredna	5	50.0	0	0.0	0.470
	izmenjen	5	50.0	2	100.0	
MR glave	uredan	2	66.7	0	0.0	/
	izmenjen	1	33.3	0	0.0	

4.7.6. Poređenje ishoda bolesti novorođenčadi s herpes encefalitisom i diseminovanom HSV infekcijom

U grupi novorođenčadi sa encefalitisom, smrtni ishod je nastupio kod jednog novorođenčeta (4,8%), dok je u grupi sa diseminovanom bolešću do smrtnog ishoda došlo kod 4 (42,9%) obolelih. Poređenjem ishoda bolesti Fisherovim testom, utvrđena je statistički značajna razlika u broju umrlih u grupi sa diseminovanim oblikom u odnosu na HSV encephalitis ($p = 0,038$). Takođe je utvrđen i značajno veći broj sekvela, specifično usporenog psihomotornog razvoja. Za pojavu perzistiranja konvulzija, nije postojala statistički značajna razlika (tabela 4-26).

Tabela 4-26. Ishod bolesti i sekvele kod novorođenčadi s herpes encefalitisom i diseminovanom infekcijom

		Encefalitis		Diseminovani oblik		p
		N	%	N	%	
Ishod	umrli	1	4.8	3	42.9	0,038
	preživeli	20	95.2	4	57.1	
Sekvele	ne	14	70.0	0	0.0	0,020
	da	6	30.0	4	100.0	
Usporen razvoj	ne	15	75.0	0	0.0	0,012
	da	5	25.0	4	100.0	
Konvulzije	ne	15	75.0	4	100.0	0,544
	da	5	25.0	0	0.0	

4.7.7. Poređenje vrednosti SNAP II i SNAPPE II skora novorođenčadi s herpes encefalitisom i diseminovanom HSV infekcijom

Srednja vrednost SNAP II skora određena za grupu ispitanika sa herpes encefalitisom iznosila je $14,05 \pm 10,74$, dok je u grupi sa diseminovanom infekcijom iznosila $33,00 \pm 24,03$. Poređenjem ovih grupa Mann Whitney testom utvrđena je statistički značajna razlika za SNAP II skor ($p 0,031$).

Srednja vrednost SNAPPE II skora određena za grupu ispitanika sa herpes encefalitisom iznosila je $14,05 \pm 10,74$, dok je u grupi sa diseminovanom infekcijom iznosila $46,71 \pm 31,87$. Poređenjem ovih grupa Mann Whitney testom utvrđena je statistički značajna razlika za SNAPPE II skor ($p 0,019$) (tabela 4-27).

Tabela 4-27. Vrednosti SNAP II i SNAPPE II skora kod novorođenčadi s herpes encefalitisom i diseminovanom infekcijom

Parametar	Vrednosti						Uzorak (n)	p
	\bar{x}	SD	Med	P ₂₅	P ₇₅			
SNAP II	Encefalitis	14.05	10.74	19.00	.00	19.00	21	0,031
	Diseminovani oblik	33.00	24.03	41.00	5.00	56.00	7	
SNAPPE II	Encefalitis	14.05	10.74	19.00	.00	19.00	21	0,019
	Diseminovani oblik	46.71	31.87	56.00	18.00	76.00	7	

4.8. Karakteristike novorođenčadi s asimptomskom HSV infekcijom

U ispitivanom periodu, kod 6 novorođenčadi utvrđena je HSV infekcija bez postojanja znakova bolesti. Tipizacija je urađena kod dvoje novorođenčadi s HSV-1 i HSV-2 infekcijom. U asimptomskoj grupi su predominirali muški pol i termenska novorođenčad. Porođaj je završen carskim rezom kod 2 (33,33%). Sva novorođenčad su lečena intravenskom primenom aciklovira u dozi od 60mg/kgTM/24h, tokom 10 dana 2 novorođenčadi (33,33%), 2 nedelje 3 (50%) i 3 nedelje 1 (16,67%) (tabela 4-28).

Tabela 4-28. Osnovne karakteristike novorođenčadi s asimptomskom HSV infekcijom

Karakteristika		Nº	%
Tip infekcije	HSV-1	1.00	16.67
	HSV-2	1.00	16.67
Pol	bez tipizacije	4.00	66.67
	ženski	2.00	33.33
	muški	4.00	66.67
Gestacija	< 37 nedelje gestacije	1.00	16.67
	> 37 nedelje gestacije	5.00	83.33
Porođaj	carski rez	2.00	33.33
	prirodni porođaj	4.00	66.67
	VE/forceps	.00	0.00
PROM	da	.00	0.00
	ne	6.00	100.00
Terapija aciklovirom	da	6.00	100.00
	ne	.00	0.00
Doza aciklovira	60mg/kg/24h	6.00	100.00
	<60mg/kg/24h	.00	0.00
Trajanje terapije	3 nedelje	1.00	16.67
	2 nedelje	3.00	50.00
	10 dana	2.00	33.33

VE- vakuum ekstrakcija; PROM-prevremena rupture plodovih ovojaka

Pozitivan anamnestički podatak o herpes infekciji postojao je kod 5 majki. Kod 1 novorođenčeta podatak o preležanoj genitalnoj infekciji majke pre trudnoće dobijen je naknadno, kada je učinjeno ispitivanje novorođenčeta. Jedna majka je imala labijalni herpes, a genitalni herpes je potvrđen kod 2 majke, kod jedne primarni, druge rekurentni (tabela 4-29).

Anamnestički podatak o genitalnom herpesu kod oca bio je pozitivan kod 1 (16,67%) novorođenčeta.

Tabela 4-29. Osobnosti infekcije majki novorođenčadi s asimptomskom HSV infekcijom

Karakteristika		Nº	%
Anamneza majke	negativna	1.00*	16.67
	pozitivna	5.00	83.33
Majka LH	ne	5.00	83.33
	da	1.00	16.67
Potvrđen GH	ne	4.00	66.67
	da	2.00	33.33
Oblik GH	rekurentni	1.00	50.00
	primarni	1.00	50.00
Terapija majke	ne	5.00	83.33
	da	1.00	16.67

*podatak o preležanoj infekciji majke je dobijen naknadno
LH-labijalni herpes; GH-genitalni herpes

5. DISKUSIJA

Uprkos retkoj pojavi, HSV infekcija predstavlja jednu od najtežih bolesti neonatalnog perioda. O rasprostranjenosti neonatalnog herpesa u našoj populaciji do sada nisu objavljivani podaci, a takođe, podaci o učestalosti i karakteristikama NH nedostaju i za čitav region srednje i istočne Evrope. U medicinskoj literaturi, dostupni su podaci uglavnom iz razvijenih zemalja Evrope, Amerike i Australije.

U radu je prikazan dvanestogodišnji period praćenja infekcije izazvane HSV kod novorođene dece. Do značajnog unapređenja u dijagnostici NH došlo je nakon 2010. godine kada je uvedena PCR dijagnostika kao osnovna i dostupna metoda za potvrdu dijagnoze NH. U cilju preciznijeg proračunavanja incidencije NH u našoj populaciji, period praćenja podeljen u je u dva perioda od 2003. do 2010. godine i od 2010. do 2015. godine.

Posmatrajući celokupni period istraživanja u kome je utvrđeno postojanje dokazane HSV infekcije kod 29 novorođenčadi, izračunata incidencija neonatalnog herpesa u Srbiji iznosi 3,01 na 100.000 živorođenih. Dobijeni podaci su u skladu s podacima iz literature o objavljenim incidencijama u većini evropskih zemalja. Najniža incidencija NH zabeležena je u Švajcarskoj i Britaniji, 1,6 i 1,65 na 100.000 živorođenih (45, 100). U ostalim evropskim zemljama, veća učestalost je u Holandiji 4,7 na 100.000 živorođenih i Danskoj 4,56 na 100.000 živorođenih (24, 42). Slične podatke dobijamo i iz Australije, gde učestalost iznosi 3,27 na 100 000 živorođenih i Kanade, 5,9 na 100.000 živorođenih (43, 44). Značajno veća učestalost zabeležena je u SAD, i kreće se od 8,4 do 69 na 100.000 živorođenih (40). Velike razlike u učestalosti zabeležene su u različitim regionima SAD, praćene značajnim fluktuacijama incidencije tokom vremena (1, 15, 97). U periodu od 1980. do 1990. godine u regiji Sijetla incidencija je bila od 31 na 100.000 živorođenih, dok je u Kaliforniji incidencija od 12,1 na 100.000 registrovana u periodu od 1995. do 2003. godine (32, 101). Veća učestalost NH registrovana je i u Izraelu, 8,4 na 100.000 živorođenih, a povezana je sa određenim nacionalnim kulturološkim karakteristikama (ritualna cirkumcizija) (48). Prema navedenim podacima, a globalno posmatrano, Srbija bi spadala u grupu zemalja sa nižom incidencijom neonatalnog herpesa. Podaci o učestalosti NH dostupni su uglavnom

za razvijene zemlje sveta, sa mnogo boljim tehničkim mogućnostima za pravovremenu dijagnozu infekcije i razvijenim merama prevencije ove bolesti.

U našoj zemlji, kao veoma značajan, izdvaja se momenat 2010. godine, kada je PCR dijagnostika postala rutinska i dostupna metoda za utvrđivanje NH. Ova metoda omogućila je precizniju i bržu dijagnostiku, ali i uticala na buđenje svesti pedijatara, a posebno neonatologa o razmerama ovog problema. Zbog toga je u ovoj studiji, izvršena i analiza incidencije u dva perioda, pre i posle uvođenja PCR metode za dijagnostiku NH.

U periodu od 2003. do 2010. godine incidencija neonatalnog herpes u Srbiji iznosila 1,77 na 100.000 živorođenih, a u periodu od 2010. do 2015. godine 4,78 na 100.000 živorođenih. Prikaz incidencije NH u Srbiji tokom godina (tabela 4-1), ukazuje na sve veću učestalost ove infekcije, koja je svakako posledica ne samo preciznije dijagnostike već i fokusiranja lekara na problematiku neonatalne infekcije i uvođenja skrininga na HSV infekciju novorođenčadi čije su majke imale genitalni herpes. Značajne razlike u incidenciji NH u različitim vremenskim periodima su zabeležene i drugim evropskim zemljama. U Holandiji je u periodu od 1999. do 2005. godine učestalost NH iznosila 3,2 na 100.000 živorođenih, dok je u period 2006-2011. registrovan porast na 4,7 na 100.000 živorođenih (24, 41). Takođe, podaci iz Danske pokazuju da se incidencija od 2,36 na 100.000 živorođenih u periodu 1977-1984. povećala na 4,56 na 100.000 živorođenih u periodu 1984-1991. godina (42).

Do sada objavljeni podaci o neonatalnom herpesu u našoj zemlji ograničeni su uglavnom na pojedinačne slučajeve i analize na manjem broju bolesnika, kao što je pilot-studija Knežević i saradnika, sprovedena tokom dvogodišnjeg perioda, koja ukazuje na moguću i značajno veću incidenciju NH u Srbiji od 7,5 na 100.000 živorođenih (10, 47). Na osnovu navedenih podataka mišljenja smo da u narednim godinama, incidencija neonatalnog herpes u Srbiji bi bila približnija dobijenoj incidenciji za period od 2010-2015. godine, od 4,78 na 100.000 živorođenih.

Značajno je istaći, da prema podacima Instituta za javno zdravlje „dr Milan Jovanović Batut“ u našoj zemlji ne postoje podaci o učestalosti neonatalne HSV infekcije, kao ni o učestalosti genitalnog herpesa i da ove bolesti ne podležu obaveznoj prijavi (46). Rezultati ove studije ukazuju i na neophodnost formiranja

nacionalnog registra kako za neonatalni tako i za genitalni herpes radi boljeg sagledavanja razmere problema i organizovanja adekvatne strategije prevencije infekcije.

U radu je analizirano 29 novorođenčadi sa dokazanom HSV infekcijom, koji su činili 17% od ukupne grupe ispitanika kod kojih je postojala sumnja na NH i rađena dijagnostika na HSV. Nije registrovana statistički značajna razlika u polu bolesnika, koja se ne registruje ni u drugim podacima iz literatura (44, 48). Oko jedne četvrtine bolesnika (24,1%) je rođeno pre termina. Sličan procenat prevremeno rođene dece od 31,1% registrovan je u Australijskoj studiji, ukazujući na nešto veću sklonost prevremeno rođene dece ka ovoj infekciji (44). Oko jedne trećine novorođenčadi u našoj studiji je rođeno carskim rezom. Ovaj podatak je u skladu sa prijavljenim procentom carskih rezova u našoj zemlji. Prema savremenim preporukama, porođaj carskim rezom savetuje se kod trudnica kod kojih se u trenutku porođaja ili neposredno pre porođaja ispolje simptomi genitalnog herpesa sa vidljivim lezijama na genitalijama. Međutim, zaštita novorođenčeta od infekcije u ovim slučajevima nije potpuna. Mogući uzrok infekcije u slučaju porođaja završenog carskim rezom je da je ruptura plodovih ovojaka nastupila više od 6 (po nekim autorima dovoljno je i 4 sata) pre porođaja (20). Međutim, ovaj anamnestički podatak bio je pozitivan samo kod jednog našeg bolesnika sa teškom diseminovanom infekcijom, ali koje je rođeno prirodnim putem. Do infekcije novorođenčeta može da dođe i u slučaju carskog reza kada su plodove membrane naizgled intaktne (56, 102). Kao drugi faktori rizika za nastanak infekcije novorođenčeta navode se korišćenje fetalnih „skalp“ elektroda za monitoring ploda, arteficialna ruptura plodovih ovojaka pre i u toku porođaja i horioamnionitis. U našoj ispitavanoj grupi nije bilo podataka o primeni „skalp“ elektroda, kao ni o ostalim navedenim faktorima rizika.

Vreme pojave prvih znakova i simptoma bolesti zavisi od oblika bolesti. Tradicionalno, infekcija HSV kod novorođenčadi se javlja u uzrastu od 7-14 dana kod lokalizovanog i diseminovanog oblika, a u trećoj nedelji kod HSV encefalitisa. U našoj studiji, većina novorođenčadi je imala prve manifestacije bolesti u prvoj nedelji, a njih 44,8% u prva dva dana po rođenju. S obzirom da je period inkubacije

za HSV najmanje dva dana, pojavu znakova bolesti u prvih 48h od rođenja treba razmotriti kao intrauterusnu infekciju. Ukoliko su znaci bolesti prisutni na rođenju, a ruptura plodovih ovojaka je bila kraća od 24h, verovatan način transmisije je transplacentarni put. Ascendentni put prenosa je verovatan kod novorođenčadi koja su bez znakova infekcije na rođenju, ali ih razvijaju u prvih 48h. Kod novorođenčadi kod kojih se znaci bolesti ispolje nakon 48h, infekcija je stečena intrapartalno ili postnatalno (8, 103). Veći procenat novorođenčadi sa ranim znacima bolesti kod naših ispitanika može ukazati na intrauterusno stečenu infekciju. Ovaj podatak treba da skrene pažnju na potrebu unapređenja mera prenatalne prevencije HSV infekcije. Takođe, intrauterusno stečena HSV infekcija novorođenčeta je obično i težeg kliničkog toka. U analizi mortaliteta novorođenčadi sa HSV infekcijom, objavljenoj u vrhunskom međunarodnom časopisu, navodi se da je većina novorođenčadi sa smrtnim ishodom imala prezentaciju bolesti u prvim danima života (103). Međutim, pojava neonatalnog herpesa moguća je i nakon neonatalnog perioda, prema pojedinim autorima u prvih 45, pa čak i 60 dana života (40, 43, 104, 105). U ovom radu, uzeta granica je od 45 dana, kako bi se obuhvatili i slučajevi u kojima je infekcija nastupila nakon dužeg inkubacionog perioda koji može trajati i više od dve nedelje. Nakon neonatalnog uzrasta, infekcija HSV je registrovana kod dva ispitanika, u 31. i 37. danu života. Američka studija je pokazala da učestalost HSV infekcije u populaciji do 42 dana iznosila 12,4 na 100.000 živorođenih, dok je uzrasnoj grupi do 60 dana je iznosila 13,3 na 100.000 živorođenih (40).

Analiza kliničkih i laboratorijskih parametra novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom HSV infekcijom nije pokazala postojanje specifičnog kliničkog parametra koji bi ukazao na NH. Od laboratorijskih parametara, blago povišena koncentracija C-reaktivnog proteina (CRP) se izdvajala kao parametar koji je značajno češće prisutan kod novorođenčadi sa dokazanom HSV infekcijom. Nespecifični parametri inflamacije, ne mogu sa sigurnošću ukazati na postojanje virusne infekcije. Mnoge virusne infekcije novorođenčadi praćene su umerenim porastom koncentracije CRP i u ranim stadijama ne mogu se pouzdano razlikovati od teške bakterijske infekcije (106, 107). Prezentacija NH zavisi od oblika bolesti, stoga je i diferencijalna dijagnoza ove infekcije široka. U

diferencijalnoj dijagnozi lokalizovanog oblika razmatrana su novorođenčad sa vezikopustularnim promenama na koži. Povišena temperatura, odbijanje obroka, somnolencija, letargija, iritabilnost, tremor i pojava konvulzija su klinički znaci koji mogu ukazati na herpesni encefalitis novorođenčeta. Nespecifični znaci sepse, febrilnost ili hipotermija, naročito udruženi sa pneumonijom, znacima oštećenja funkcije jetre i diseminovanom intavaskularnom koagulacijom mogu ukazati na diseminovani NH. Diseminovani NH je naročito suspektan ukoliko posle 48 do 72h od uzimanja kulture uzete za bakteriološki pregled ostanu negativne (59). Kod novorođenčadi sa ovakvim manifestacijama bolesti, pored uzimanja laboratorijskih analiza za dokazivanje HSV infekcije neophodno je i neodložno započinjanje terapije aciklovirom.

Klasična podela kliničke prezentacije NH podrazumeva tri klinička oblika: lokalizovana bolest sa pojavom herpetičnih lezija na koži, sluznicama i promena na očima (najčešće u vidu keratokonjuktivitisa), encefalitis i diseminovana bolest. Ova klasifikacija je pre svega od značaja za procenu težine bolesti, ali i trajanja antivirusne terapije (66). Istorijski posmatrano, u vreme pre uvođenja antivirusne terapije najveći broj pacijenata je imao manifestacije u vidu diseminovane bolesti koja se javljala kod oko jedne polovine do dve trećine obolelih. Bolest je često, kod oko 60 do 75% obolelih, bila udružena sa encefalitisom (1, 15). Uvođenje terapije vidarabinom, a potom i aciklovirom za lečenje HSV infekcije novorođenčadi dovelo je do značajnog smanjenja učestalosti diseminovane bolesti i encefalitisa. U periodu od kada je započeta primena aciklovira za lečenje NH, najveću učestalost ima lokalizovani oblik bolesti, oko 45%, potom encefalitis sa 30%, a najmanja je učestalost diseminovane bolesti 25% (1, 8, 64). Za razliku od ovih podataka, u našoj studiji najveća učestalost je herpes encefalitisa koji je registrovan kod 72,45% novorođenčadi sa HSV infekcijom. Mnogi radovi, u skladu sa prethodno iznetim podacima, prikazuju najveću učestalost lokalizovane bolesti. Jedna od najvećih učestalosti lokalizovanog oblika, 77,2% registrovana je u Izraelu (48). Objašnjenje za ovu pojavu leži u načinu obavljanja ritualne cirkumcizije kod pripadnika jevrejske verske zajednice i prikazan je u većem broju radova (108,109). U našem radu samo jedno novorođenče je imalo lokalizovani oblik HSV infekcije manifestovan pojavom herpetičnih lezija na koži. Herpetične lezije su

registrovane i kod troje novorođenčadi sa HSV encefalitisom. Moguće objašnjenje male učestalosti ovog oblika je smanjeno fokusiranje pažnje pedijataru i neonatologa na herpesnu infekciju kao jednog od brojnih uzročnika pojave vezikulopustularnih eflorescencija kod novorođenčadi. Diferencijalna dijagnoza je danas olakšana bržom i dostupnijom PCR dijagnostikom za HSV, tako da se u budućnosti očekuje ranije postavljenje dijagnoze i započinjanje lečenja u cilju sprečavanja progresije u teže oblike bolesti.

Najzastupljeniji oblik NH kod naših ispitanika, herpes encephalitis je imalo 72,45% novorođenčadi. Slično podacima iz našeg rada, velika učestalost herpes encefalitisa, 71,4%, zabeležena je u švajcarskoj studiji (45). Autori ove studije negiraju mogućnost da je zbog nedijagnostikovanih blažih oblika NH došlo do pregesije boelsti, čime bi se objasnila veća učestalost encefalitisa. U našoj populaciji, mogućnosti za dijagnostiku NH izvan tercijarnih centara i saradnje s Nacionalnom referentnom laboratorijom za dijagnostiku perinatalnih virusnih infekcija (Institut za virusologiju, Medicinski Fakultet, Beograd) su veoma ograničene. Takođe, mogućnost primene antivirusne terapije je ograničena u bolnicama sekundarnog nivoa. Zbog toga ne možemo isključiti kasnije postavljanje dijagnoze i neprepoznate slučajeve lokalizovanog oblika, što ima za posledicu progresiju lokalizovane bolesti u encefalitis.

Kod 21 (72,45%) novorođenčeta sa HSV encefalitisom, bolest je potvrđena serološkim i/ili PCR testom u CST i krvi. Kod 5 novorođenčadi dijagnoza je postavljena na osnovu seroloških analiza uz odgovarajuće kliničke i laboratorijske kriterijume. Ova novorođenčad su lečena u periodu pre uvođenja PCR dijagnostike kao rutinske metode za neonatalnu HSV infekciju. Pozitivan PCR na HSV u CST je imalo 11 novorođenčadi (pozitivan PCR u krvi i CST imalo je 5, a samo u CST 6 bolesnika). Kod 5 novorođenčadi utvrđena je infekcija uprkos negativnom nalazu PCR na HSV u CST, a na osnovu pozitivnog nalaza PCR u krvi uz kliničke i laboratorijske karakteristike encephalitisa. U više radova se navodi da u ranim stadijumima bolesti, PCR na HSV u CST može biti negativan, s obzirom da je u ovom periodu senzitivnost metode oko 70% (67, 68). Analiza najčešćih kliničkih simptoma encefalitisa: konvulzije, povišena temperatura, somnolencija, letargija,

tremor, iritabilnost, odbijanje obroka nije ukazalo na postojanje statistički značajne razlike između encefalitisa i diseminovanog oblika bolesti. Najveći broj novorođenčadi sa HSV encefalitisom je imao konvulzije čija je učestalost 61,9%, potom somnolenciju i/ili letargiju sa 57,1% i odbijanje obroka 52,4%. Povišenu temperaturu je imalo 33,3% novorođenčadi sa encefalitisom. Međutim, statističkim ispitivanjem nije potvrđeno postojanje značajnosti razlike u zastupljenosti ovih simptoma kod novorođenčadi sa diseminovanim herpesom i encefalitisom. Ovim je još jednom potvrđena nespecifičnost kliničkih znakova bolesti u neonatalnom periodu i potreba za daljim, specifičnim ispitivanjem.

Citološki nalaz u CST novorođenčadi sa HSV encefalitisom karakteriše blaga do umerena pleocitoza (50-100 elemenata/ml CST sa predominacijom monocita), umerena hipoglikorahija i povišena koncentracija proteina (1, 37). Prosečan broj elemenata u mililitru CST iznosio je $137,14 \pm 205,06$. Uprkos postojanju upadljive razlike u odnosu na novorođenčad sa diseminovanom infekcijom, kod kojih je prosečan broj elemenata u ml CST bio $7 \pm 6,08$, poređenjem medijana ovih vrednosti nije dobijena statistički značajna razlika. Ovaj rezultat se može tumačiti i malim brojem ispitanika u grupi sa diseminovanom infekcijom, s obzirom da zbog teškog opšteg stanja kod 4 novorođenčadi lumbalna punkcija nije urađena. Pleocitozu, definisanu kao ≥ 25 elemenata po mililitru CST je imalo 10 (47,6%) novorođenčadi sa encefalitisom. Kriterijumi za granicu pleocitoze u neonatalnom periodu su različiti u odnosu na staruju decu i odrasle, i zavise od uzrasta i gestacijske starosti novorođenčeta (110). Slično kao u našem radu, granica za pleocitozu u drugim radovima varira od 20 do 30 elemenata po mililitru CST (96,111-113). Međutim, pleocitoza nije uvek neophodan kriterijum za dijagnozu neonatalnog HSV encefalitisa, jer u toku infekcije CNS virusom herpesa često izostaje inflamacija meningeja, pa broj elemenata može biti veoma blago povišen ili normalan (63, 67, 114). Odsustvo pleocitoze kod 7 od 26 novorođenčadi i odojčadi sa HSV encefalitisom navode i Kotzbauer i saradnici (112). Promene kod HSV encefalitisa novorođenčadi najčešće zahvataju korteks mozga, a znatno ređe i moždano stablo (67). Replikacija HSV u korteksu može biti klinički nemanifestna s obzirom da mnoge funkcije novorođenčeta nisu pod uticajem korteksa (59, 65). Promene na EEG-u imalo je 83,3%, na CT glave 50%, a na MR 33,3%. Procenat

izmenjenih nalaza na EEG je u skladu sa podacima iz literature gde se navodi postojanje promena kod 80-100% novorođenčadi. Najčešće EEG promene podrazumevale su pojavu snižene osnovne aktivnosti, fokalna i multifokalna epileptogena pražnjenja i periodicitet (37, 71). Brojni su razlozi za prednost korišćenja MR u odnosu na CT kod novorođenčadi. Vezani su uglavnom na bolje sagledavanje promena u mozgu s mogućnošću da se detektuju suptilne lezije, ali i na štetne efekte zračenja tokom snimanja CT (72, 73, 115). Na MR glave kod novorođenčadi sa HSV encefalitisom u akutnoj i subakutnoj fazi mogu se videti lezije u korteksu, beloju masi, moždanom stablu, bazalnim ganglijama i cerebelumu, dok se mnogo jasnije promene sagledavaju korišćenjem metode MR sa difuzijom molekula vode (diffusion-weighted imaging–DWI) (116). U našoj sredini mogućnosti za sprovođenje MR u akutnom stadijumu bolesti su ograničene, tako da je MR je urađena kod 3 od 21 novorođenčeta sa encefalitisom po završenom lečenju infekcije, i uredan nalaz je dobijen kod 2 od 3 novorođenadi.

Analiza ishoda bolesti pokazala je 1 smrtni ishod (4,8%) kod novorođenčeta sa HSV-1 encefalitisom. Smrtnost od HSV encefalitisa je značajno redukovana nakon uvođenja terapija visokom dozom aciklovira (60mg/kgTM/24h), kreće se oko 6%, mada u kanadskoj grupi bolesnika sa neonatalnim herpes encefalitisom nije zabeležen smrtni ishod (37, 63). Sekvele je imalo 6 od 20 preživelih (30%). Zastupljenost konvulzija i usporenog psihomotornog razvoja bila je jednaka. Sekvele je imalo 4 novorođenčadi sa HSV-2 i 2 sa HSV-1 infekcijom. Tradicionalno, HSV-2 encefalitis se opisuje kao teži oblik u odnosu na HSV-1 (71, 117). Broj bolesnika u našoj studiji sa sekvelama i tipizacijom uzročnika nije bio dovoljan za ispitivanje statističke značajnosti.

Najteži oblik HSV bolesti, diseminovanu infekciju je imalo sedmoro novorođenčadi (24,1%). Dijagnoza ovog oblika je potvrđena na osnovu pozitivnog nalaza PCR na HSV u krvi ili tkivima uz prisutne kliničke i/ili laboratorijske znake hepatitisa, pneumonije ili diseminovane intravaskularne koagulacije. Podatak o zastupljenosti diseminovane infekcije je u skladu sa podacima iz literature, gde se navodi da u eri terapije aciklovirom učestalost ovog oblika je oko 25% (15, 44, 45, 56).

Analizirajući osnovne kliničke karakteristike, utvrđeno je da se prosečna gestacijska starost novorođenčadi sa diseminovanim NH od $33,94 \pm 3,26$ nedelja značajno razlikovala od prosečne gestacije novorođenčadi sa encefalitisom kod kojih je iznosila $38,95 \pm 1,28$ nedelja. Sklonost prevremeno rođene dece ka nastanku diseminovanog oblika bolesti je u skladu sa saznanjima o nedovoljno razvijenom imunskom sistemu ove novorođenčadi. Među važnim uzrocima nastanka teškog oblika infekcije je nedovoljna funkcija kožne barijere, s obzirom da je tanja koža sklonija mehaničkim oštećenjima koja olakšavaju prodor virusa (118). Ostali imunološki mehanizmi odgovorni za nastanak teških oblika NH kao što su supresija autofagocitoze uzrokovana virusom herpesa, oslabljen ćelijski i humoralni imunski odgovor na HSV, pre svega nedovoljna funkcija „ćelija ubica“ (natural killer-NK ćelije) i oslabljen T-ćelijski odgovor na HSV takođe su zavisni od gestacije i izraženiji ukoliko je novorođenče nezrelije (119–121). Novorođenčad majki koje su preležale HSV infekciju, transplacentarnim putem dobijaju HSV specifična antitela koja im pružaju određen stepen zaštite (27, 122, 123). Transport IgG antitela kroz placentu je zavisan od gestacijske starosti, u najvećoj meri se odvija u trećem trimestru trudnoće i linearno se povećava sa gestacijom (124). Zbog toga, pasivna zaštita prevremeno rođene dece dobijenim maternalnim antitelima je manja u odnosu na terminsku novorođenčad.

S obzirom na značajnu razliku u gestaciji, poređenjem telesne mase na rođenju pokazana je statistički značajna razlika između ove dve grupe. Takođe, uzrast u vreme ispoljavanja, koji za diseminovani oblik iznosi $1,29 \pm 0,76$ dana pokazuje značajnu razliku u odnosu na herpes encephalitis koji se tradicionalno javlja kasnije. Kratak period inkubacije kod diseminovanog NH može se objasniti akutnom viremijom tokom koje dolazi do prodora virusa do svih organa, kao i mogućnošću intrauterusno nastale infekcije o čemu je prethodno pisano.

Od kliničkih simptoma koji su dominirali u kliničkoj slici diseminovanog NH kod naših ispitanika izdvajaju se pojava pneumonije, respiratornog distresa i potrebe za artefijelnom potporom ventilacije. Navedeni simptomi ujedno predstavljaju jedne od najčešće prisutnih simptoma kod diseminovanog NH (125). Ni jedno novorođenče nije imalo kožne promene, što ide u prilogu hematogenom nastanku infekcije. Konvulzije je imalo 4 od 7 novorođenčadi (42,9%). Pojava

konvulzija kod diseminovanog NH može se objasniti činjenicom da je 2 novorođenčadi imalo udružen encefalitis, ali i raznorodnom etiologijom neonatalnih konvulzija, počev od hipoksemije, metaboličkih poremećaja (hipoglikemija, elektrolitni poremećaji itd.) do intrakranijalnih krvarenja (prematurnitet, poremećaji koagulacije) koji se mogu javiti i u skupu deiseminovanog NH (1, 126). Pojava hepatosplenomegalije nije registrovana u našoj grupi ispitanika, što je na prvi pogled neuobičajeno s obzirom da je jetra jedan od najčešće zahvaćenih organa u diseminovanom NH. Izostanak hepatosplenomegalije može se objasniti akutnošću bolesti, njenim ranim ispoljavanjem kao i značajnim brojem ranih smrtnih ishoda unutar ove grupe (3 od 7 novorođenčadi) kod kojih se nije došlo do uvećanja jetre. Slično kao u našem radu, izostanak hepatomegalije registrovan je i u grupi bolesnika sa smrtnim ishodom uzrokovanim NH od kojih je većina (76,92%) imala diseminovani oblik bolesti. Afekcija jetre kod naših bolesnika manifestovala se znacima fulminantnog hepatitisa, kao i u drugim objavljenim radovima (10, 127, 128). Pored ovih uobičajenih manifestacija diseminovanog NH, u literaturi se navode i atipične prezentacije, kao što su supraglotitis ili nekrotizirajući enterokolitis (1, 128).

Od laboratorijskih nalaza izdvajaju se značajno veća učestalost trombocitopenije, sa prosečnim brojem trombocita od 102,86 i poremećaj koagulacije. Oba ova poremećaja mogu se javiti u okviru akutne insuficijencije jetre usled hepatitisa ili mogu predstavljati manifestaciju hemoragijske dijateze u sklopumultiorganske disfunkcije (130). Ni jedno novorođenče sa izolovanim encefalitisom nije imalo diseminovanu intravaskularnu koagulaciju (DIK), dok je registrovana kod 28,6% sa diseminovanim NH. Analizom podataka dobijena je razlika blizu nivoa statističke značajnosti (p 0,056), što je uzrokovano malim brojem ispitanika u grupi sa diseminovanim NH. Jedan od parametara koji može da ukaže na zahvaćenost jetre u okviru diseminovane infekcije, povišena koncentracija alanin aminotransferaze (ALT) u našem radu nije pokazana kao statistički značajan parameter, uprkos velikoj razlici u prosečnim vrednostima između novorođenčadi sa encefalitisom i diseminovanom bolešću. Izostanak porasta ALT kod nekih bolesnika, naročito ukoliko je analiza rađena u prvih 24h od pojave simptoma, nije neuobičajen i može se očekivati kod 3 od 4 bolesnika (103).

Tri od četiri bolesnika sa smrtnim ishodom imali su diseminovani oblik bolesti i smrtnost u grupi sa ovim oblikom bolesti je 42,9%, što je u skladu sa podacima iz literatura (59, 64). Studija u kojoj je analiziran mortalitet kod NH pokazala je da je najveći broj smrtnih slučajeva posledica intrauterusno nastale infekcije sa ranom prezentacijom, obično unutar prva dva dana (103). Kao najčešći uzroci smrtnog ishoda navode se DIK i pneumonija koji su kod naših bolesnika bili među najzastupljenijima. Dvoje od troje naših bolesnika sa diseminovanim NH nije dobijalo terapiju aciklovirom. Kod oba bolesnika tok bolesti je bio fulminantan i smrtni ishod je nastupio brzo po prijemu. Kod jednog bolesnika je postojala negativna serologija na HSV, a dijagnoza je potvrđena PCR dijagnostikom koja je urađena *post mortem*. Kod drugog bolesnika dijagnoza NH nije bila na vreme prepoznata, s obzirom da je klinička slika se razvila u prvim satima po rođenju, a da je do smrtnog ishoda došlo početkom trećeg dana života. Kod većine novorođenčadi sa diseminovanim herpesom i smrtnim ishodom registruje se kašnjenje u započinjanju antivirusne terapije (125). Sekvele u vidu usporenog psihomotornog razvoja su imala sva preživela novorođenčad sa diseminovanim oblikom. Refraktarne konvulzije nisu registrovane kod ovih bolesnika.

Pouzdana laboratorijska dijagnostika predstavlja osnovu za uspešno i pravovremeno postavljanje dijagnoze NH. Definitivna i najpouzdanija dijagnostička metoda je izolacija virusa (1). Ova metoda se sa najvećom pouzdanošću primenjuje za dokazivanje HSV iz brisa vezikule uzetog sa dna promene na koži. Ostali uzorci koji se mogu koristiti za izolaciju virusa su CST, stolica, urin, kao i površinski brisevi ždrela, nazofarinksa ili konjunktiva. Izolacija virusa iz površinskih briseva može predstavljati prolazno prisustvo virusa u sekretima, naročito ukoliko je uzorak uzet u prva 24h po rođenju. U tom slučaju, ovaj nalaz se može tumačiti kao prolazna kontaminacija, a ne infekcija. Takođe problem može da postoji sa tumačenjem nalaza izolacije virusa iz CST, gde kod novorođenčadi sa diseminovanim NH ovaj nalaz može biti pozitivan, dok kod izolovanog encefalitisa često je negativan (1). Zbog toga zlatni standard za dokazivanje HSV u CST predstavlja PCR dijagnostika (68, 131–133). Ova metoda omogućava brzu dijagnozu pretpostavljene infekcije. Velika studija Kimberlina i

saradnika u kojoj je PCR analiza rađena retrospektivno kod 34 novorođenčadi sa HSV encefalitisom, detektovala je virus kod 71% obolelih u CST uzetoj pre započinjanja terapije aciklovirom (68). Slične rezultate je pokazala i švedska studija u kojoj je u toku akutne faze bolesti novorođenčadi sa HSV encefalitisom PCR metodom infekcija potvrđena kod 78% (133). Ukoliko se uzorak CST uzme 4 do 7 dana nakon započinjanja terapije aciklovirom, pozitivnost nalaza se održava kod malog broja obolelih (82). Većina studija pokazala je osetljivost HSV PCR testa u CST 75 do 100% i specifičnost 71 do 100% (1). Pored suverenosti u dijagnostici HSV infekcije CNS, PCR se može koristiti i za utvrđivanje prisustva HSV u serumu i mononuklearnim ćelijama periferne krvi (8, 132). Značaj PCR metode za detekciju HSV iz porvšinskih briseva još uvek nije potvrđena studijama, zbog toga se predlaže njeno korišćenje kao pomoćne metode uz izolaciju virusa (8).

U današnje vreme serološka dijagnostika NH ima ograničen značaj. Zbog velike prokuženosti žena herpes simpleks virusom i transplacentarnog prelaska antitela u cirkulaciju ploda serološka dijagnostika HSV infekcije novorođenčeta nije dovoljno pouzdana.

U našoj sredini, mogućnosti za izolaciju virusa su ograničene, tako da laboratorijska dijagnostika infekcija HSV kod novorođenčadi je sprovođenja serološkim i PCR metodama. U periodu do 2010. godine, mogućnost za molekularnu dijagnostiku je takođe bila ograničena, uglavnom je sprovedena u cilju potvrde dijagnoze u situacijama kada dobijeni serološki nalazi nisu bili dovoljno pouzdani za potvrdu dijagnoze. Kao kriterijum za pozitivan serološki nalaz uziman je pozitivan IgM kod novorođenčeta ili višestruki porast (više od četiri puta) titra IgG antitela na HSV u uzorku seruma ponovljenom nakon dve do tri nedelje. Serijsko praćenje titra IgG antitela na HSV kod novorođenčeta povećava mogućnost dijagnostike infekcije, naročito u slučaju primarne infekcije majke (15). Pozitivan nalaz serologije u našoj studiji zabeležen je kod 8 novorođenčadi od 15 testiranih sa dokazanom HSV infekcijom (53,33%), ali i kod dvoje novorođenčadi sa suspektom infekcijom (3,28%). Uprkos statistički značajnoj razlici serološka metoda se ne može smatrati pouzdanom za dokazivanje NH.

Dijagnostika PCR metodom je rađena kod 110 novorođenčadi. Negativan nalaz je imalo 86 novorođenčadi (78,18%) od kojih je 85 svrstano u grupu sa

suspektom infekcijom, dok je kod 24 novorođenčadi (21,82%) nalaz bio pozitivan i oni su svrstani u grupu sa dokazanom infekcijom. Samo jedno novorođenče iz grupe sa dokazanom infekcijom je imalo negativan PCR (4%). Kod ovog novorođenčeta dijagnoza je postavljena na osnovu ubedljivog serološkog nalaza i kliničke slike. Uzorak za analizu za PCR na HSV kod ovog novorođenčeta je uzet nekoliko dana po započinjanju terapije aciklovirom, čime se može objasniti negativnost nalaza uz pozitivne ostale kriterijume. Dobijeni podaci su u skladu sa prethodno navedenim podacima iz literature o visokoj pouzdanosti PCR metode u dijagnostici NH (8, 68, 133).

Kod diseminovane infekcije uobičajeno postoji viremija i ovaj oblik NH je gotovo uvek praćen pozitivnim nalazom PCR u krvi. Lokalizovani oblik i izolovani encefalitis mogu biti praćeni pozitivnim nalazom PCR u krvi. Zbog toga se pozitivnost PCR u krvi ne može uzeti kao kriterijum za klasifikaciju oblika NH. Kod naših ispitanika sa HSV infekcijom, pozitivan nalaz u krvi imalo je 17 novorođenčadi od 21 analiziranog. Četvoro novorođenčadi kod koje je rađeno ispitivanje PCR u krvi i dobijen negativan nalaz imali su izolovan encephalitis, što je u skladu sa patogenetskim objašnjenjem nastanka infekcije CNS retrogradnim aksonalnim transportom (1). Nalaz pozitivnog PCR u krvi može se sresti i kod asimptomskih bolesnika. Ovi bolesnici su u radu prikazani kao posebna kategorija koja će biti diskutovana u posebnom poglavlju.

Nasuprot prethodno iznetom stavu, pozitivan PCR na HSV u cerebrospinalnoj tečnosti uvek je znak infekcije CNS. Postoje retki slučajevi kada u ranim stadijumima bolesti, PCR na HSV u CST može biti negativan. Od velikog značaja u ovim situacijama je ponavljanje testiranja, čime se povećava verovatnoća dobijanja pozitivnog nalaza (67). Kod naših ispitanika sa dokazanom infekcijom, pozitivan nalaz u CST je imalo 15 od 20 bolesnika kod kojih je analiza rađena (75%). Negativan PCR u CST je imalo 5 od 21 novorođenčeta sa izolovanim encefalitisom (23,81%), kod kojih je dijagnoza postavljena na osnovu kliničke slike, pregleda citoloških i biohemijskih karakteristika CST i pozitivnog PCR na HSV u krvi. Analiza PCR kod ove novorođenčadi rađena je u prvim danima bolesti kada je i senzitivnost ove metode manja, približno 70% (67, 68). Testiranje PCR u CST nije standardizovano i postoje varijacije u praksi između ustanova u kojima se vrši

analiziranje (1). Na senzitivnost metode utiču način uzimanja uzorka i laboratorijske dijagnostike, a lažno negativni nalazi dobijaju se ukoliko je u CST prisutan hemoragičan sadržaj (67). Zbog toga se u slučaju dobijenih negativnih nalaza PCR u CST kod visoko suspektnih slučajeva savetuje ponavljanje lumbalne punkcije posle nekoliko dana (6, 67, 72, 134). Poslednjih godina, dostupna je mnogo senzitivnija PCR metoda kojom se može kvantifikovati količina virusnih partikula u CST (84).

Rezultati dobijeni ovim ispitivanjem potvrdili su da se serološka dijagnostika ne može koristiti kao pouzdana metoda za potvrdu NH. U slučajevima kada se ne može uraditi tipski specifična PCR dijagnostika, serološka analiza kod novorođenčeta može biti pomoćna metoda za utvrđivanje tipa infekcije.

Od 2010. godine, PCR je postala dostupna i zvanična metoda za dijagnostiku NH u našoj zemlji. Značaj uvođenja PCR u našoj sredini, ilustrovan je porastom incidencije NH u periodu pre i posle uvođenja ove metode.

Jedno od ograničenja u našem radu svakako predstavlja činjenica da laboratorijska dijagnostika nije podrazumevala i izolaciju virusa iz kultura. S obzirom na aktuelne okolnosti, za sada se PCR na HSV, preporučuje kao metoda izbora za postavljanje dijagnoze NH u našoj sredini.

Istorijski posmatrano, HSV-2 je dominantni uzročnik neonatalnog herpesa, što je u skladu sa činjenicom da je infekcija novorođenčeta u najvećem broju slučajeva posledica genitalne infekcije majke (1,15). Međutim, poslednjih godina sve češće infekcije novorođenčeta su uzrokovane HSV-1 tipom (41, 44, 48). U ovom radu, HSV-1 infekcija je utvrđena kod 9 (31%) novorođenčadi, dok je infekcija HSV-2 potvrđena kod 16 (55.2%). Kod tri bolesnika nije izvršena tipizacija uzročnika, a kod jednog bolesnika infekcija je bila uzrokovana s oba tipa virusa. Veća učestalost NH uzrokovane HSV-1 registrovana je u visokorazvijenim zemljama, a jedna od najvećih, 88% registrovana je u Holandiji u periodu od 2006-2011. godine (41, 44, 45, 48). Posebnu pažnju medicinske javnosti privukla je pojava veće učestalosti HSV-1 infekcije (77,2%) u Izraelu, koja je uzrok lokalizovanog oblika bolesti kod muške novorođenčadi kod koje je obavljena ritualna cirkumcizija (48). Ovaj način cirkumcizije predstavlja verski obred koji

obavlja sveštenik, a krvarenje zaustavlja usisavanjem krvi sa rane ustima, pri čemu herpetične lezije na ustima sveštenika predstavljaju izvor infekcije (108, 109, 135). Ravnomerna zastupljenost HSV-1 (40,5%) i HSV-2 (39,1%) oblika dobijena je analizom NH u Njujorku koja je objašnjena većom prevalencijom HSV-2 kod žena afro-američkog porekla (40). Učestalost HSV-2 infekcije u našem radu je u skladu sa ranije objavljenim podacima o tipu HSV infekcije novorođenčadi (59). Veća zastupljenost HSV-2 u našoj sredini može se objasniti nižim socioekonomskim statusom ali treba razmotriti i tradicionalne kulturološke karakteristike naše populacije. Jedini dostupni podaci o serološkom statusa na HSV kod žena u Srbiji mogu se naći nagrađenom studentskom radu, autorke Đorđević H. (Medicinski pregled, 2006), u kome je analiziran serološki status kod 81 žene u generativnom periodu (37 trudnica) i kojim je dobijena relativno niska seroprevalencija HSV-2 od 12,35% (136). S obzirom na mali uzorak, ovaj rad ne može pružiti sliku prave razmere problema genitalne HSV infekcije kod nas. Detaljna analiza ove problematike zahteva sprovođenje veće epidemiološke studije i uvođenje registra genitalnog herpesa kod žena, koji prema podacima Instituta za javno zdravlje „Milan Jovanović Batut” ne podleže obaveznoj prijavi (46).

Kod oba novorođenčeta sa prezentacijom posle 28 dana života (granica neonatalnog perioda) utvrđena je infekcija HSV-2 tipom virusa, što opravdava metodološku postavku studije i potvrđuje činjenicu da NH može da se prvi put prezentuje i nakon neonatalnog perioda. U radu Handela i saradnika, 10,5% NH imalo je prezentaciju u uzrastu od 30 do 60 dana. Većina ove odojčadi imala je infekciju izazvanu HSV-2 virusom, a njihove majke nisu davale podatak o prethodnoj genitalnoj infekciji (40).

Analizom osnovnih karakteristika novorođenčadi (pol, gestacija, telesna masa na rođenju, uzrast u vreme prezentacije, način porođaja), kliničkih znakova bolesti i laboratorijskih ispitivanja, nije utvrđena razlika između HSV-1 i HSV-2 tipa.

Kao poseban prikaz u okviru ovog rada dat je redak primer ukrštene infekcije s oba tipa virusa. Bolesnik s dualnom HSV-1 i HSV-2 infekcijom imao je težak oblik diseminovane bolesti prezentovan u prvim danima života nespecifičnim simptomima, zahvaćenošću jetre i pluća. Bolest je imala letalan

ishod. Dijagnoza je postavljena postmortem analizom tkiva uzetih na autopsiji PCR testom i sekvencioniranjem. Analizom serološkog statusa i aviditeta antitela kod majke, praćenim kroz duži vremenski period, potvrđena je primarna genitalna infekcija majke sa oba tipa virusa (10).

Neonatalni herpes se uopšteno smatra posledicom genitalnog herpesa majke. Najveći broj infekcija nastaje peripartalno, prolaskom kod inficirani porođajni kanal, kada plod dolazi u kontakt sa virusom. U nekim slučajevima do infekcije dolazi intrauterusno, bilo transplacentarnim prelaskom virusa u slučaju viremije majke ili acsednetnim putem (103). Činjenica koja otežava postavljanje dijagnoze NH je da kod 70 do 80% majki sa genitalnim herpesom infekcija protiče asimptomski (9, 56). Veliki broj majki, čak i kada oseća određene simptome, ne prepoznaje ih kao herpes infekciju i često ne traži medicinsku pomoć.

Pozitivna anamneza o herpesnoj infekciji kod majke registrovana je kod 16,54% novorođenčadi sa suspektnom i 20,69% novorođenčadi sa dokazanom HSV infekcijom, čime nije potvrđena statistički značajna razlika u postojanju pozitivne anamneze majke za pojavu NH. Pozitivna anamneza za genitalni herpes postojala je kod 4 od 7 majki kod kojih je ova infekcija potvrđena. Podatak o mogućem genitalnom herpesu dobijen je ciljanom anamnezom, a nakon pojave simptoma bolesti i hospitalizacije novorođenčeta. Samo jedna majka sa rekurentnim genitalnim herpesom je znala da ima ovu bolest. Genitalni herpes je potvrđen serološki kod 2 majke, a PCR testom kod 6 majki. Četiri od 6 majki imalo je genitalni herpes uzrokovan HSV-2 virusom, dok je HSV-1 bio uzročnik kod 2 majke. Ukrštena infekcija sa oba tipa virusa potvrđena je kod majke novorođenčeta sa dualnom infekcijom naknadnom PCR analizom cervikalnog brisa i serološkog statusa. Mali broj majki koje su bile dostupne i prihvatile sprovođenje laboratorijske dijagnostike za genitalni herpes, ograničava značaj ovih podataka u radu. Prema podacima kanadskih autora, samo 1,7% majki je imalo prisutne genitalne lezije u trenutku porođaja (43). Još jednom je potvrđen podatak da skoro tri četvrtine majki novorođenčadi sa NH nema saznanje o postojanju genitalnog herpesa kao i o nerelevantnosti negativne anamneze u razmatranju dijagnoze NH (1, 8, 15, 36). Antivirusna terapija nije sprovedena ni u jednom

slučaju utvrđenog genitalnog herpesa, ali i potvrda dijagnoze ove infekcije kod majki naših bolesnika dobijena je nakon saznanja o mogućem NH kod novorođenčeta. Dobijeni podaci treba da pobude pažnju za veći oprez pri kontroli trudnih žena u cilju identifikacije genitalnog herpesa. Rutinski serološki skrining trudnica na genitalni herpes nije finansijski opravdan ni u ekonomski razvijenijim sredinama (70). Pozitivne anamnestičke podatke o pojavi genitalnih lezija u trudnoći treba razmotriti u skladu sa kliničkim nalazom pre porođaja. Prema preporukama ACOG trudnicama sa rekurentnim genitalnim herpesom savetuje od 36 nedelje gestacije analiza cervikalnog brisa da bi se utvrdilo postoji li izlučivanje virusa i započela antivirusna terapija (8). Prisustvo aktivnih lezija u trenutku ili neposredno pre porođaja, zahteva sprovođenje određenih terapijskih i dijagnostičkih mera opisanih u uvodnom delu (20). Analiza godina majke i pariteta posmatrana za novorođenčad sa suspektom i dokazanom infekcijom nije ukazala na značajnost ovih podataka u postavljanju dijagnoze NH. Procenat majki novorođenčadi sa herpesom koje su mlađe od 20 godina (3,45%) ne razlikuje se od procenta ovih žena u populaciji porodilja (4,01%) (137). Prema podacima u godišnjem izveštaju Instituta za javno zdravlje i zastupljenost u ostalim uzrasnim kategorijama majki ne razlikuju se bitno od dobijenih u radu.

Podatak o postojanju prevremene rupture plodovih ovojaka, kao značajnom faktoru rizika za nastanak NH dobijen je samo kod jednog novorođenčeta. U većini izveštaja o porođaju majki kod nas naglašava se postojanje ruptura plodovih ovojaka duže od 12h, jer period od 12-24h predstavlja rizik za nastanak bakterijske infekcije ploda. Za etiopatogenezu NH period ruptura plodovih ovojaka koji traje duže od 6h (po nekim autorima i 4h) predstavlja značaja rizik za ascedentnu transmisiju (8, 15, 20).

Labijalni herpes kod majke neposredno pre ili u trenutku porođaja prijavljen je kod dvoje novorođenčadi sa HSV infekcijom. Kod većine žena, labijalni herpes je recidiv infekcije stečene u ranijem životnom dobu i ne predstavlja rizik za NH. U retkim slučajevima primarne infekcije majke koja je praćena viremijom ili kod imunokompromitovanih osoba, labijalni herpes može biti uzrok NH. Međutim, u našem radu, novorođenčad majki sa labijalnim herpesom su imala infekciju izazvanu HSV-2. U literaturi postaje podaci o pojavi labijalnog herpes uzrokovanog

HSV-2, najčešće u sklopu primarne genitalne infekcije sa viremijom ili rekurentne genitalne infekcije (133).

Labijalni herpes roditelja ili staratelja, znatno češće predstavlja uzrok postnatalno stečene infekcije (138). Izvor postnatalne infekcije pored osoba koje neguju novorođenče može biti i bolničko osoblje. Kod jednog našeg bolesnika sa dokazanom HSV-1 infekcijom bolest je nastala postnatalno, tokom boravka u porodilištu, a najverovatniji izvor infekcije je osoba sa herpetičnim lezijama na usnama koja je negovala novorođenče.

Kod sve novorođenčadi sa kliničkim znacima koji mogu da ukažu na NH, pored uzimanja materijala za dokazivanje HSV infekcije neophodno je i neodložno započinjanje antivirusne terapije (139). Prema već dobro utvrđenim preporukama za lečenje NH, Kimberlina i saradnika, primenjuje se intravenski aciklovir u dozi od 60 mg/kg/TM/24h podeljeno u tri doze. Lokalizovani oblik se leči 14, a diseminovani NH i encephalitis tokom 21 dana. U slučaju održavanja pozitivnog nalaza PCR u CST posle tronedeljne terapije savetuje se nastavak intravenske primene aciklovira još 7 dana do kontrolne punkcije (8, 20, 64).

Antivirusnu terapiju aciklovir, dobilo je 39,85% novorođenčadi sa suspektnom HSV infekcijom, koja je kod preko 80% sprovedena do dobijanja negativnih nalaza PCR testova. U slučaju visoke sumnje na infekciju, terapija je nastavljena do 14 ili 21 dan.

Aciklovir je dobijalo 93,1% novorođenčadi sa dokazanom infekcijom, od toga više od 85% u adekvatnoj dozi od 60mg/kg/24h. Terapija nije primenjena kod 2 novorođenčadi sa dokazanom infekcijom (bolesnik 2 i 17 u tabeli 4.2), sa fudroajantnom diseminovanom infekcijom, ranom prezentacijom unutar 72h života i ranim smrtnim ishodom.

Oralnu supresivnu terapiju aciklovirom po završenom lečenju dobilo je dvoje novorođenčadi, oboje sa encefalitisom. Uvođenje ove terapije je u svetu je praksa još od 2011. kada su Kimberlin i saradnici objavili značaj ove terapije za decu sa preležanim NH (62). U našoj sredini, ova terapija se tek uvodi, a jedan od ograničavajućih faktora je i nedostatak preparata aciklovira u obliku sirupa na našem tržištu.

Do letalnog ishoda došlo je kod četvero od 29 novorođenčadi sa dokazanom HSV infekcijom, što ukazuje da je mortalitet od NH 13,8%. Smrtnost u našoj grupi ispitanika je u skladu sa podacima iz Kanade i SAD, kao i iz većine evropskih zemalja (40, 43, 45). U švajcarskoj studiji, od 7 novorođenčadi sa NH dijagnostikovanih u šestogodišnjem periodu, letalan ishod je nastupio kod 1 novorođenčeta (14,3%), dok u Holandiji mortalitet od NH prema najnovijim podacima je 13,2% (41, 45).

U zavisnosti od oblika bolesti, najveća smrtnost kod naših ispitanika je zabeležena u grupi novorođenčadi sa diseminovanim NH (42,9%), dok je u grupi sa encefalitisom iznosila (4,8%), čime je potvrđena statistički značajna razlika. Podaci o smrtnosti u ovim oblicima bolesti u skladu sa literaturnim podacima, po kojima uprkos terapiji aciklovirom smrtnost kod diseminovnog NH je visoka i iznosi 25-57%, kod encefalitisa 6-15% (15, 59, 64). Rana prezentacija bolesti, u prvih 48h po rođenju kod naših bolesnika bila je povezana sa većom stopom smrtnosti (23,1%) u odnosu na bolesnike koji su razvili simptome bolesti nakon drugog dana života.

Za razliku od podataka iz literature, u kojima se teži oblici bolesti sa smrtnim ishodom povezuju sa HSV-2 infekcijom, u našoj grupi smrtnost je bila veća za novorođenčad sa HSV-1 infekcijom. Analiza mortaliteta 13 novorođenčadi sa NH i smrtnim ishodom pokazala je dvostruku veću zastupljenost HSV-2 infekcije (103). Troje novorođenčadi u našoj grupi imalo je infekciju uzorkovanu HSV-1 virusom (dvoje sa diseminovanim NH i jedno sa encefalitisom), dok je četvrti bolesnik imao dualnu infekciju. Smrtnost kod ovih bolesnika povezana je sa fudroajantnim tokom bolesti kod dvoje i udruženim komplikacijama kod preostala dva bolesnika. Zbog malog broja smrtnih ishoda, ne može se doneti zaključak o razlozima dominacije HSV-1 infekcije u grupi umrlih.

U grupi preživеле novorođenčadi sa HSV infekcijom sekvele je imalo 40% ispitanika. Veća učestalost sekvela registrovana je kod obolelih od HSV-2 43,72%, za razliku od HSV-1 gde je iznosila 16,67%, što je u skladu sa podatkom o težem obliku infekcije uzrokovane HSV-2 tipom (103). Veći procenat sekvela zabeležen je u švajcarskoj studiji koja je imala sličnu distribuciju bolesnika po obliku bolesti (približno 70% encefalitisa), što je značajno zbog činjenice da su neurološke sekvele češće kod bolesnika sa encefalitisom. Od sekvela, praćeni su usporen

psihomotorni razvoj i perzistiranje konvulzija koji su bili prisutni kod 36%, odnosno 20% bolesnika sa HSV infekcijom. Analizom ovih podataka nije utvrđena statistička značajnost u pojavi konvulzija odnosno zaostajanja u psihomotornom razvoju između bolesnika sa HSV-1 i HSV-2 infekcijom, iako je usporen psihomotorni razvoj imalo 2,5 puta više novorođenčadi sa HSV-2 infekcijom.

Učestalost sekvela je bila veća kod novorođenčadi sa diseminovanim oblikom (100%) u odnosu na encefalitis. Kod sve ove novorođenčadi sekvele su se manifestovale u vidu usporenog psihomotornog razvoja, dok perzistiranje konvulzija nije zabeleženo u grupi sa diseminovanim NH. Ovaj podatak značajno odstupa od podataka iz literatura po kojima i do 80% preživelih sa diseminovanim NH ima normalan ishod u uzrastu od 12 meseci (15, 64). Postojanje sekvela kod preživelih sa diseminovanim NH može se povezati i sa većom učestalošću konvulzija, kao jedne od manifestacija bolesti u ovoj grupi. S obzirom na mali broj preživelih sa diseminovanim NH (4 bolesnika), ne može se doneti adekvatan zaključak o dobijenom podatku. Ograničenje za ovaj deo ispitivanja predstavlja i činjenica da je za potrebe ovoga rada vršeno je samo kratkoročno praćenje bolesnika tokom 3 do 6 meseci, s obzirom da je većim delom studija bila retrospektivnog karaktera. Značajno precizniji podaci mogu se dobiti praćenjem ispitanika u periodu od 18 do 36 meseci.

Kod novorođenčadi sa encefalitisom rane sekvele su registrovane kod svega 30% obolelih, sa podjednakom zastupljenošću usporenog psihomotornog razvoja i perzistiranja konvulzija. Najmanji napredak u lečenju NH postignut je u prevenciji morbiditeta encefalitisa. Podaci o prisustvu sekvela kod novorođenčadi sa encefalitisom ne razlikuju se značajno u periodu pre i posle uvođenja terapije visokom dozom aciklovira (64). Normalan psihomotorni razvoj i odsustvo konvulzija u kasnijem dobu prema ovim podacima ima 31-33% preživelih. Kao što je istaknuto za diseminovani oblik, i kod ovih bolesnika treba sprovesti produženo praćenje u cilju preciznije procene psihomotornog razvoja i pojave kasnih sekvela.

Ričardson je 2001. godine u časopisu *Journal of Pediatrics* predstavio skor za predikciju mortaliteta novorođenčadi SNAP II (*Score for neonatal acute physiology II*), koji je proizašao od prethodne kompleksnije verzije SNAP skora

(99). Ovaj skor ocenjuje šest parametara: srednji arterijski pritisak, najnižu telesnu temperaturu, odnos parcijalnog pritiska kiseonika u arterijskoj krvi i inspiratorne frakcije kiseonika, najniži pH krvi, pojavu multiplih konvulzija i diurezu. Precizno je definisan i jednostavan je za svakodnevnu primenu. Skor SNAP II je dokazan kao odličan pokazatelj težine bolesti i smrtnog ishoda kod novorođenčadi u odeljenjima intenzivne nege (99, 140). Takođe, primenjiv je na sve kategorije novorođene dece, bez obzira na telesnu masu i gestaciju. Parametri kojima se ocenjuju perinatalni faktori (nizak Apgar skor, telesna masa i težina mala za gestaciju) dodati SNAP II skoru predstavljaju SNAPPE II (*Score for neonatal acute physiology-perinatal extension II*) i dodatno povećavaju prediktivnu vrednost ovoga skora, naročito za kategoriju prevremeno rođene dece. Zbog svoje jednostavnosti i pouzdanosti SNAP II I SNAP II-PE se danas sve više koriste u kliničkoj praksi.

Prva analiza ovih skorova podrazumevala je poređenje srednjih vrednosti skorova između grupe sa suspektom i dokazanom HSV infekcijom. Dobijene su srednje vrednosti za SNAP II skor od $13,89 \pm 14,51$ za ispitanike sa suspektom HSV infekcijom, dok je u grupi sa dokazanom infekcijom iznosila $21,45 \pm 22,74$. Srednja vrednost SNAPPE II skora određena za grupu ispitanika sa suspektom HSV infekcijom iznosila je $17,37 \pm 18,61$, dok je u grupi sa dokazanom infekcijom iznosila $18,14 \pm 16,9$. Poređenjem srednjih vrednosti ovih skorova između novorođenčadi sa suspektom i dokazanom infekcijom nije utvrđena statistički značajna razlika. Na ovaj način dokazali smo da su grupe ispitanika međusobno uporedive i da ne postoji značajna razlika u težini bolesti između grupa. Nešto viša srednja vrednost SNAP II je svakako očekivana obzirom na činjenicu da infekcija novorođenčeta HSV spada u jednu od najtežih perinatalnih infekcija.

U celokupnoj grupi naših ispitanika izvršena je provera prediktivne sposobnosti skorova za smrtni ishod. Dobijena površina ispod ROC krive za SNAP II iznosi 0,939, a za SNAPPE II od 0,943, čime je potvrđena statistički značajna diskriminativna sposobnost ovih skorova u predikciji smrtnog ishoda novorođenčadi. Ovi podaci su u skladu sa dosadašnjim ispitivanjima ovih skorova u različitim populacijama novorođenčadi (140, 141).

Na osnovu najpovoljnijeg odnosa senzitivnosti i specifičnosti skorova za predviđanje smrtnog ishoda, određene su granične vrednosti (cut-off). Dobijena

vrednost za SNAP II skor iznosi 22, a za SNAPPE II je 30,5. U literaturu se navode i više granične vrednosti ovih skorova, koje zavise od osnovne bolesti u ispitivanoj grupi i gestacije. Tako u grupi bolesnika sa perzistentnom plućnom hipertenzijom, granična vrednost skora za predikciju smrtnog ishoda je iznosila 43 (140). Granične vrednosti skora za smrtni ishod variraju od u zavisnosti od gestacije i sa povećanjem gestacijske starosti vrednosti granične vrednosti skora opadaju (141).

Srednja vrednost SNAP II skora određena za grupu ispitanika sa HSV-1 infekcijom iznosila je $24,33 \pm 18,73$, dok je u grupi sa HSV-2 $15,06 \pm 17,31$ i bez tipizacije iznosila $14,33 \pm 8,08$. Uprkos činjenici da statističkom analizom nije dokazana značajnost razlike, srednja vrednost skora za grupu sa HSV-1 infekcijom je svakako iznad granične vrednosti za SNAP II (cut-off 22), što ilustruje i značajno veći mortaliti u HSV-1 grupi.

Značajne razlike u srednjim vrednostima ovih skorova zapažene su između diseminovanog oblika i herpes encefalitisa. Prosečna vrednost SNAP II i SNAPPE II skora bila je ista za novorođenčad sa encephalitisom i iznosila je $14,05 \pm 10,74$. Ovaj podatak nam ukazuje da perinatalni faktori rizika (Apgar skor, TM na rođenju i SGA) nemaju uticaja na težinu ovoga oblika bolesti. Kod diseminovanog oblika srednja vrednost SNAP je iznosila $33 \pm 24,03$, a SNAPPE II $46,71 \pm 31,87$. Značajna razlika u gestacijskog starosti i telesnoj masi na rođenju kod diseminovanog NH u odnosu na encefalitis može da objasni razliku u SNAPPE II skor. Podaci su u skladu sa zabeleženom smrtnošću u ove dve grupe novorođenčadi.

Kod 6 novorođenčadi je utvrđena asimptomatska infekcija, na osnovu prethodnog podatka o mogućem genitalnom herpesu kod majke. S obzirom na mali broj novorođenčadi statistička obrada podataka nije rađena. Zbog ograničenja u dijagnostici, tipizacija je dobijena kod dvoje novorođenčadi, sa HSV-1 i HSV-2 infekcijom. Sva deca su dobijalu terapiju aciklovirom u trajanju od 10 do 21 dana. Genitalni herpes je potvrđen kod 2 od 6 majki, u jednom slučaju primarni, drugi rekurentni. Prenatalna antivirusna terapija je sprovedena kod jedne majke.

Prevenција NH u našoj zemlji još uvek nije na zadovoljavajućem nivou. Osnovni preduslov za prevenciju NH je značajno unapređenje dijagnostike genitalnog herpesa sa mogućnošću brze serotipizacije radi razlikovanja rekurentne

od primarne i naknadne infekcije. U ovom trenutku, preporuke AAP ne mogu se primeniti u našoj sredini, s obzirom na neadekvatnu dijagnostiku genitalnog herpesa, ograničenu mogućnost izolacije virusa i nedovoljnu brzinu dobijanja PCR nalaza. Takođe, potrebno je fokusiranje pažnje i povećanje svesti pedijatara-neonatologa o razmerama ovog problema. Uvođenje obavezne prijave bolesti za genitalni i neonatalni herpes jedan je od prvih koraka ka razvijanju adekvatne strategije prevencije NH u našoj zemlji.

6. ZAKLJUČCI

Na osnovu sprovedenog istraživanja mogu se doneti sledeći zaključci:

1. Učestalost infekcije izazvane Herpes simpleks virusom kod novorođene dece u našoj populaciji u periodu od 2003-2015. godine se iznosi 3,01 na 100.000 živorođenih.
Zabeležen je porast učestalosti sa 1,77 na 100.000 živorođenih u periodu od 2003-2010 . godine na 4,78 na 100.000 živorođenih u periodu 2010-2015. godine kada je uvedena PCR metoda kao rutinska dijagnostika za NH. S obzirom na ograničenja u dijagnostici u periodu do 2010. godine, smatramo da je realna učestalost približnija incidenciji izračunatoj za period 2010-2015. godine koja iznosi 4,78 na 100.000 živorođenih.
2. Herpes simpleks virus infekcija kod novorođene dece u našoj populaciji je češće izazvana HSV-2 tipom virusa. Teži oblici bolesti i veća smrtnost zabeleženi kod novorođenčadi sa HSV-1 infekcijom.
3. Najčešći klinički oblik HSV infekcije novorođenčadi je encefalitis (72,45%), potom diseminovani NH (24,1%), dok je kod samo jednog novorođenčeta utvrđen je izolovan oblik lokalizovane bolesti (3,5%).
4. Herpesni encefalitis novorođenčeta se češlje javlja kod terminske novorođenčadi, prosečno u drugoj nedelji života. Konvulzije nisu izdvojene kao specifičan pokazatelj ovog oblika.
5. Klinički parametri udruženi sa diseminovanim NH su manja gestacijska starost, manja telesnom masom na rođenju i značajno ranije ispoljavanje znakova bolesti. U odnosu na druge oblike, diseminovana infekcija se značajno češće manifestuje pneumonijom, znacima respiratornog distresa i potrebom za sprovođenjem mehaničke ventilacije. Laboratorijski parametri udruženi sa diseminovanim oblikom su trombocitopenija i poremećaj koagulacije.

6. Serološka dijagnostika nije pokazana kao pouzdana metoda za dijagnozu NH. Molekularna dijagnostika-PCR je dokazana kao značajno pouzdanija metoda za dijagnozu NH. Ograničenje PCR metode pokazano ovim radom je mogućnost dobijanja negativnog nalaza u CST ukoliko se analiza radi u prvim danima bolesti.
7. Smrtnost kod novorođenčadi sa HSV infekcijom 13,8%. Nepovoljan ishod udružen je sa HSV-1 tipom, diseminovanim oblikom infekcije i ranom prezentacijom bolesti u prvih 72h po rođenju.
8. Na osnovu analiziranih kliničkih i laboratorijskih parametara novorođenčadi sa suspektnom i dokazanom HSV infekcijom, ne mogu se izdvojiti nalazi koji sa sigurnošću ukazuju na NH. Kod sve novorođenčadi sa sumnjom na NH potrebno je uzeti uzorke površinskih briseva i krvi, a u zavisnosti od kliničke slike i dobijenih nalaza i CST radi sprovođenja PCR testa na HSV. Neophodno je neodložno započeti terapiju aciklovir 60 mg/kgTM/24h koja se sprovodi 14 do 21 dana ili duže u zavisnosti od oblika bolesti.

7. LITERATURA

1. Arvin AM, Whitley R GK. Herpes simplex virus infection. In: Remington JS, Klein JO, editor. *Infectious diseases of fetus and newborn infant*. 7th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders; 2011. p. 845–65.
2. History Of Herpes Simplex Virus [Internet]. [cited 2016 Mar 16]. Available from: <https://www.hellolife.net/sexual-dysfunction/b/history-of-herpes-simplex-virus/>
3. Jovanović T, Marković Lj. Herpesviridae. U: Jovanović T, Marković Lj, urednici. *Mikrobiologija-udžbenik za studente medicine*. Beograd: Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu. 2010. s. 211-27.
4. Roizman B, Knipe DM WR. Herpes simplex viruses. In: Knipe DM HP, editor. *Field Virology*. 6th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2013. p. 1823–97.
5. Jovanovic T, Knezevic A. Savremene mogućnosti laboratorijske dijagnostike herpes simplex virusnih infekcija. U: Zdravkovic D, urednik. *Problemi u pedijatriji 2007*. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 2008. s. 56–62.
6. Cinque P, Bossolasco S, Lundkvist A. Molecular analysis of cerebrospinal fluid in viral diseases of the central nervous system. *J Clin Virol*. 2003;26(1):1–28.
7. Thompson RL, Sawtell NM. The herpes simplex virus type 1 latency-associated transcript gene regulates the establishment of latency. *J Virol*. 1997;71(7):5432–40.
8. American Academy of Pediatrics. Herpes simplex. In: Kimberlin DW, Brady MT, Jackson MA, Long SS, editors. *Red Book: 2015 Report of the Committee on Infectious Disease*. 30th ed. Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics; 2015. p. 432–45.
9. Janković B, Martić J. Epidemiološki aspekti neonatalne herpes simplex infekcije. U: Zdravkovic D, urednik. *Problemi u pedijatriji 2007*. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 2008. s. 48–55.
10. Knezevic A, Martic J, Stanojevic M, Jankovic S, Nedeljko J, Nikolic L, et al. Disseminated neonatal herpes caused by herpes simplex virus types 1 and 2. *Emerg Infect Dis*. 2007;13(2):302–4.

11. Perkins D, Chong H, Irvine B, Domagalski J. Genital co-infection with herpes simplex viruses type 1 and 2: comparison of real-time PCR assay and traditional viral isolation methods. *J Cell Mol Med.* 2007;11(3):581–4.
12. Hass M. Hepatoadrenal necrosis with intranuclear inclusion bodies: report of a case. *Am J Pathol.* 1935;11:127.
13. Batignani A. Conjunctive da virus erpetico in neonato. *Boll Ocul.* 1934;13:1217.
14. Boston Interhospital Virus Study Group the NIAID-Sponsored Cooperative Antiviral Clinical Study. Failure of high dose 5-iodo-2'-deoxyuridine in the therapy of herpes simplex virus encephalitis. Evidence of unacceptable toxicity. *N Engl J Med.* 1975;292:599–603.
15. Kimberlin DW. Neonatal Herpes Simplex Infection Neonatal Herpes Simplex Infection. *Clin Microbiol Rev.* 2004;17(1):1–13.
16. Gardella C, Handsfield HH, Whitley R. Neonatal herpes - the forgotten perinatal infection. *Sex Transm Dis.* 2008;35(1):22–4.
17. Kimberlin DW. Herpes simplex virus infections in neonates and early childhood. *Semin Pediatr Infect Dis.* 2005;16(4):271–81.
18. Kulhanjian JA, Soroush V, Au DS, Bronzan RN, Yasukawa LL, Weylman LE, et al. Identification of women at unsuspected risk of primary infection with herpes simplex virus type 2 during pregnancy. *N Engl J Med.* 1992;326(14):916–20.
19. Kucera P, Gerber S, Marques-Vidal P, Meylan PRA. Seroepidemiology of herpes simplex virus type 1 and 2 in pregnant women in Switzerland: an obstetric clinic based study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2012;160(1):13–7.
20. Kimberlin DW, Baley J. Guidance on management of asymptomatic neonates born to women with active genital herpes lesions. *Pediatrics.* 2013;131(2):e635–46.
21. Brown Z. Preventing herpes simplex virus transmission to the neonate. *Herpes.* 2004;11 Suppl 3:175A – 186A.

22. Frenkel LM, Garratty EM, Shen JP, Wheeler N, Clark O, Bryson YJ. Clinical reactivation of herpes simplex virus type 2 infection in seropositive pregnant women with no history of genital herpes. *Ann Intern Med.* 1993;118(6):414–8.
23. ACOG Practice Bulletin. Clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists. No. 82 June 2007. Management of herpes in pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2007;109(6):1489–98.
24. Poeran J, Wildschut H, Gaytant M, Galama J, Steegers E, van der Meijden W. The incidence of neonatal herpes in The Netherlands. *J Clin Virol.* 2008;42(4):321–5.
25. Looker KJ, Magaret AS, May MT, Turner KME, Vickerman P, Gottlieb SL, et al. Global and regional estimates of prevalent and incident herpes simplex virus type 1 infections in 2012. *PLoS One.* 2015;10(10):1–17.
26. James SH, Kimberlin DW. Neonatal Herpes Simplex Virus Infection. *Infect Dis Clin North Am.* 2015;55(4):938–44.
27. Brown ZA, Selke S, Zeh J, Kopelman J, Maslow A, Ashley RL, et al. The acquisition of herpes simplex virus during pregnancy. *N Engl J Med.* 1997;337(8):509–15.
28. Yeager AS AA. Reasens of a absence of a history of reccurent genital infections in mothers of neonates infected with herpes simplex virus. *Pediatrics.* 1984;73:188–93.
29. Whitley RJ, Nahmias AJ, Visintine AM, Fleming CL, Alford CA. The natural history of herpes simplex virus infection of mother and newborn. *Pediatrics.* 1980;66(4):489–94.
30. Meylan P. Swiss recommendations for the management of genital herpers and herpes simplex virus infection of the neonate. *Rev Med Suisse.* 2005;1(36):2315–6, 2318–22, 2324–6.
31. Baker D a. Consequences of herpes simplex virus in pregnancy and their prevention. *Curr Opin Infect Dis.* 2007;20(1):73–6.
32. Brown ZA, Wald A, Morrow RA, SelkeS, Zeh J CL. Effect of serolocig status and cesrean delivery on transmission rates of herpes simplex virus from mother to infant. *JAMA.* 2003;289:203–9.

33. Rudnick CM, Hoekzema GS. Neonatal herpes simplex virus infections. *Am Fam Physician*. 2002;65(6):1138-42.
34. Jones C a, Cunningham AL. Vaccination strategies to prevent genital herpes and neonatal herpes simplex virus (HSV) disease. *Herpes*. 2004;11(1):12-7.
35. Freedman E, Mindel A, Jones C a. Epidemiological, clinical and laboratory aids for the diagnosis of neonatal herpes - an Australian perspective. *Herpes*. 2004;11(2):38-44.
36. Kimberlin DW. Neonatal HSV infections: the Global Picture. *Herpes*. 2004;31-2.
37. Toth C, Harder S, Yager J. Neonatal herpes encephalitis: a case series and review of clinical presentation. *Can J Neurol Sci*. 2003;30(1):36-40.
38. Nahmias AJ. Neonatal HSV infection Part I: continuing challenges. *Herpes* [Internet]. 2004 Aug [cited 2016 Mar 17];11(2):33-7.
39. Nahmias AJ, Josey WE, Naib ZM, Freeman MG, Fernandez RJ WJ. Perinatal risk associated with maternal genital herpes simplex virus infection. *Am J Obstet Gynecol*. 1971;110:825-37.
40. Handel S, Klingler EJ, Washburn K, Blank S, Schillinger J a. Population-based surveillance for neonatal herpes in new york city, april 2006-september 2010. *Sex Transm Dis*. 2011;38(8):705-11.
41. Hemelaar SJ a. L, Poeran J, Steegers E a. P, van der Meijden WI. Neonatal herpes infections in The Netherlands in the period 2006-2011. *J Matern Neonatal Med*. 2014; 28(8):905-9
42. Fonnest G, de la FFI, Weber T. Neonatal herpes in Denmark 1977-1991. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1997;76(4):355-8.
43. Kropp RY, Wong T, Cormier L, Ringrose A, Burton S, Embree JE, et al. Neonatal herpes simplex virus infections in Canada: results of a 3-year national prospective study. *Pediatrics*. 2006;117(6):1955-62.
44. Jones CA, Raynes-Greenow C, Isaacs D. Population-Based Surveillance of Neonatal Herpes Simplex Virus Infection in Australia, 1997-2011. *Clin Infect Dis*. 2014;59(4):525-31.

45. Pascual A, Moessinger A, Gerber S, Meylan P. Neonatal herpes simplex virus infections in Switzerland: Results of a 6-year national prospective surveillance study. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17(12):1907–10.
46. Institut za javno zdravlje Srbije "dr Milan Jovanović Batut". Zarazne bolesti. U: Ilić D, urednik. Zdravstveno-statistički godišnjak Republike Srbije 2014. Beograd; 2015. s.401-19.
47. Knezevic A, Martic J, Stanojevic M, Jankovic B, Jovanovic T. Neonatal herpes in Serbia: Is it a problem or not? *Arch Biol Sci.* 2014;66(2):517–21.
48. Koren A, Tasher D, Stein M, Yossepowitch O, Somekh E. Neonatal herpes simplex virus infections in Israel. *Pediatr Infect Dis J.* 2013;32(2):120–3.
49. Swiss Herpes Management Forum. Swiss recommendations for the management of genital herpes and herpes simplex virus infection in neonate. *Swiss Med Wkly.* 2004;134(15-16):205-141–17.
50. Sauerbrei A., Wutzler P. Herpes simplex and varicella-zoster virus infections during pregnancy: Current concepts of prevention, diagnosis and therapy. Part 1: Herpes simplex virus infections. *Med Microbiol Immunol.* 2007;196(2):89–94.
51. Mendelson E, Aboudy Y, Smetana Z, Tepperberg M, Grossman Z. Laboratory assessment and diagnosis of congenital viral infections: Rubella, cytomegalovirus (CMV), varicella-zoster virus (VZV), herpes simplex virus (HSV), parvovirus B19 and human immunodeficiency virus (HIV). *Reprod Toxicol.* 2006;21(4):350–82.
52. Hill J, Roberts S. Herpes simplex virus in pregnancy: New concepts in prevention and management. *Clin Perinatol.* 2005;32(3):657–70.
53. Avgil M, Ornoy A. Herpes simplex virus and Epstein-Barr virus infections in pregnancy: consequences of neonatal or intrauterine infection. *Reprod Toxicol.* 2006;21(4):436–45.
54. Martić J, Janković B, Minić A, Milena Đ. Klinička slika i terapija infekcije novorođenčeta herpes simpleks virusom. U: Zdravkovic D, urednik. Problemi u pedijatriji 2007. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 2008. s. 63–74.

55. Hutto C, Arvin A, Jacobs R, Steele R, Stagno S, Lyrene R, et al. Intrauterine herpes simplex virus infections. *J Pediatr*. 1987;110(1):97–101.
56. Whitley, R. J., L. Corey, A. Arvin, F. D. Lakeman, C. V. Sumaya, P. F. Wright, L. M. Dunkle, R. W. Steele, S. J. Soong and AJN. Changing presentation of herpes simplex virus infection in neonates. *J Infect Dis*. 1988;158:109–16e.
57. Enright AM, Prober CG. Herpesviridae infections in newborns: varicella zoster virus, herpes simplex virus, and cytomegalovirus. *Pediatr Clin North Am*. 2004;51(4):889–908.
58. Nahmias AJ. Neonatal HSV infection Part II: Obstetric considerations—a tale of hospitals in two cities (Seattle and Atlanta, USA). *Herpes*. 2004;11(2):41–4.
59. Kimberlin DW, Lin C-Y, Jacobs RF, Powell D a., Frenkel LM, Gruber WC, et al. Natural History of Neonatal Herpes Simplex Virus Infections in the Acyclovir Era. *Pediatrics*. 2001;108(2):223–9.
60. Nahmias A HW. Ocular manifestations of herpes simplex in newborn. *Int Ophthalmol Clin*. 1972;12:191/213.
61. Mrvic T D V. Vesicopustular dermatoses in the neonatal period. *Slov Pediatr*. 2003;11:13–9.
62. Kimberlin DW, Whitley RJ, Wan W, Powell D a., Storch G, Ahmed A, et al. Oral Acyclovir Suppression and Neurodevelopment after Neonatal Herpes. *N Engl J Med*. 2011;365(14):1284–92.
63. Kimberlin D. Herpes simplex virus, meningitis and encephalitis in neonates. *Herpes*. 2004;11(2):65–76.
64. Kimberlin DW, Lin C-Y, Jacobs RF, Powell D a., Corey L, Gruber WC, et al. Safety and Efficacy of High-Dose Intravenous Acyclovir in the Management of Neonatal Herpes Simplex Virus Infections. *Pediatrics*. 2001;108(2):230–8.
65. Koskiniemi M, Happonen JM, Järvenpää AL, Pettay O, Vaheri A. Neonatal herpes simplex virus infection: a report of 43 patients. *Pediatr Infect Dis J*. 1989;8(1):30–5.
66. Whitley R, Arvin A, Prober C, Corey L, Burchett S, Plotkin S, et al. The National Institute of Allergy and Infectious Diseases Collaborative Antiviral Study Group. Predictors of morbidity and mortality in neonates with herpes simplex virus infections. *N Engl J Med*. 1991;324(7):450–4.

67. Frenkel LM. Challenges in the diagnosis and management of neonatal herpes simplex virus encephalitis. *Pediatrics*. 2005;115(3):795–7.
68. Kimberlin DW, Lakeman FD, Arvin AM, Prober CG, Corey L, Powell DA, et al. Application of the polymerase chain reaction to the diagnosis and management of neonatal herpes simplex virus disease. National Institute of Allergy and Infectious Diseases Collaborative Antiviral Study Group. *J Infect Dis*. 1996;174(6):1162–7.
69. Pinninti SG, Kimberlin DW. Preventing Herpes Simplex Virus in the Newborn. *Clin Perinatol*. 2014;41(4):945–55.
70. Enright AM, Prober CG. Neonatal herpes infection: Diagnosis, treatment and prevention. *Semin Neonatol*. 2002;7(4):283–91.
71. Mikati MA, Feraru E, Krishnamoorthy K, Lombroso CT. Neonatal herpes simplex meningoencephalitis: EEG investigations and clinical correlates. *Neurology*. 1990;40:1433-7.
72. Coren ME, Buchdahl RM, Cowan FM, Riches PG, Miles K, Thompson EJ. Imaging and laboratory investigation in herpes simplex encephalitis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1999;67(2):243–5.
73. Vossough A, Zimmerman R a., Bilaniuk LT, Schwartz EM. Imaging findings of neonatal herpes simplex virus type 2 encephalitis. *Neuroradiology*. 2008;50:355–66.
74. Fidler KJ, Pierce CM, Cubitt WD, Novelli V, Peters MJ. Could neonatal disseminated herpes simplex virus infections be treated earlier? *J Infect* . 2004;49(2):141–6.
75. Kawada J, Kimura H, Ito Y, Ando Y, Tanaka-Kitajima N, Hayakawa M, et al. Evaluation of systemic inflammatory responses in neonates with herpes simplex virus infection. *J Infect Dis*. 2004;190(3):494–8.
76. Meyer S, Enders G, Baghai A, Löffler G, Gortner L, Gottschling S. Fulminant hepatic failure in a newborn with herpes simplex virus 2 infection. *Eur J Pediatr*. 2005;164(11):708–9.
77. Meerbach A, Sauerbrei A, Meerbach W, Bittrich HJ, Wutzler P. Fatal outcome of herpes simplex virus type 1-induced necrotic hepatitis in a neonate. *Med Microbiol Immunol*. 2006;195(2):101–5.

78. Bennett RE, Barnett DW. Perinatal herpes simplex infection presenting with pneumonia and pleural effusions. *Pediatr Infect Dis J*. 2001;20(2):228–30.
79. Ashley RL. Laboratory techniques in the diagnosis of herpes simplex infection. *Genitourin Med*. 1993;69(3):174–83.
80. Ashly RL. Herpes simplex virus type 1 and 2. In: Lennette EH ST, editor. *Laboratory diagnosis of viral infections*. Marcel Dekker Inc; 1999. p. 489–515.
81. Singh A, Preiksaitis J, Ferenczy A, Romanowski B. The laboratory diagnosis of herpes simplex virus infections. *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 2005;16(2):92–8.
82. Weil AA, Glaser CA, Amad Z FB. Patients with suspected herpes simplex encephalitis: rethinking an initial negative polymerase chain reaction result. *Clin Infect Dis*. 2002;34:1154–7.
83. Melvin AJ, Mohan KM, Schiffer JT, Drolette LM, Magaret A, Corey L, et al. Plasma and Cerebrospinal Fluid Herpes Simplex Virus Levels at Diagnosis and Outcome of Neonatal Infection. *J Pediatr*. 2015;166(4):827–33.
84. James SH, Kimberlin DW. Quantitative Herpes Simplex Virus Concentrations in Neonatal Infection. *J Pediatr*. 2015;166:793–5.
85. Whitley, R. J., Arvin A RC. A control trial comparin vidarabin with acyclovir in neonatal herpes simplex virus infection. *N Engl J Med*. 1991;324:444–9.
86. Kakiuchi S, Nonoyama S, Wakamatsu H, Kogawa K, Wang L, Kinoshita-Yamaguchi H, et al. Neonatal herpes encephalitis caused by a virologically confirmed acyclovir-resistant herpes simplex virus 1 strain. *J Clin Microbiol*. 2013;51(1):356–9.
87. Levin MJ, Weinberg A, Leary JJ SR. Development of acyclovir-resistant herpes simplex virus early during the treatment of herpes neonatorum. *Pediatr Infect Dis J*. 2001;20:1094–7.
88. Nyquist AC, Rotbart HA, Cotton M, Robinson C, Weinberg A, Hayward AR, Berens RL LM. Acyclovir-resistant neonatal herpes simplex virus infection of the larynx. *J Pediatr*. 1994;124:967–71.
89. Whitley RJ. The use of antiviral drugs during the neonatal period. *Clin Perinatol*. 2012;39(1):69–81.

90. Wang Y SK. Safety of Alternative Antiviral Agents for Neonatal Herpes Simplex Virus Encephalitis and Disseminated Infection. *J Ped Pharmacol Ther.* 2014;19(2):72–82.
91. RJ W. Neonatal herpes simplex virus infections: is there a role for immunoglobulin in disease prevention and therapy? *Pediatr Infect Dis J.* 1994;13:432–8.
92. Braig S, Luton D, Sibony O, Edlinger C BC et al. Acyclovir prophylaxis in late pregnancy prevents recurrent genital herpes and viral shedding. *Eur J Obs Gynecol Reprod Biol.* 2001;96:55–8.
93. Pinninti SG, Angara R, Feja KN, Kimberlin DW, Leach CT, Conrad D a., et al. Neonatal herpes disease following maternal antenatal antiviral suppressive therapy: A multicenter case series. *J Pediatr.* 2012;161(1):134–8.e3.
94. Malm G. Neonatal herpes simplex virus infection. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2009;14(4):204–8.
95. Zavod za Statistiku RSR. Vitalna statistika [Internet]. [cited 2016 Mar 18]. Available from: <http://webrzs.stat.gov.rs/WebSite/>
96. Caviness a C, Demmler GJ, Selwyn BJ. Clinical and laboratory features of neonatal herpes simplex virus infection: a case-control study. *Pediatr Infect Dis J.* 2008;27(5):425–30.
97. Volpe J. intracranial haemorrhage. In: JJ Volpe, editor. *Neurology of the newborn.* 5th ed. Philadelphia, PA: Saunders, Elsevier; 2008. p. 483–588.
98. Mullany LC. Neonatal hypothermia in low-resource settings. *Semin Perinatol.* 2010; 34(6):426–33.
99. Richardson DK, Corcoran JD, Escobar GJ, Lee SK. SNAP-II and SNAPPE-II: Simplified newborn illness severity and mortality risk scores. *J Pediatr.* 2001; 138(1):92–100.
100. Tookey P, Peckham CS. Neonatal herpes simplex virus infection in the British Isles. *Paediatr Perinat Epidemiol* [Internet]. 1996 Oct [cited 2016 Mar 19];10(4):432–42.
101. Morris SR, Bauer HM, Samuel MC, Gallagher D, Bolan G. Neonatal herpes morbidity and mortality in California, 1995-2003. *Sex Transm Dis.* 2008;35(1):14–8.

102. Peng J, Krause PJ, Kresch M. Neonatal herpes simplex virus infection after cesarean section with intact amniotic membranes. *J Perinatol* [Internet]. Jan [cited 2016 Mar 20];16(5):397–9.
103. Lopez-Medina E, Cantey JB, Sánchez PJ. The Mortality of Neonatal Herpes Simplex Virus Infection. *J Pediatr* [Internet]. 2015;166(6):1529–32.e1.
104. Flagg EW, Weinstock H. Incidence of neonatal herpes simplex virus infections in the United States, 2006. *Pediatrics* [Internet]. 2011 Jan [cited 2016 Mar 20];127(1):e1–8.
105. Ambroggio L, Lorch SA, Mohamad Z, Mossey J, Shah SS. Congenital anomalies and resource utilization in neonates infected with herpes simplex virus. *Sex Transm Dis* [Internet]. 2009 Nov [cited 2016 Mar 20];36(11):680–5.
106. Janković B. Značaj određivanja koncentracije C reaktivnog proteina u serumu novorođenčadi sa teškim bakterijskim i enterovirusnim infekcijama (doktorska disertacija). Medicinski fakultet Univerzitet u Beogradu; 1993.
107. Korppi M, Kröger L. C-reactive protein in viral and bacterial respiratory infection in children. *Scand J Infect Dis* [Internet]. 1993 Jan [cited 2016 Mar 27];25(2):207–13.
108. Leas BF, Umscheid CA. Neonatal Herpes Simplex Virus Type 1 Infection and Jewish Ritual Circumcision With Oral Suction: A Systematic Review. *J Pediatric Infect Dis Soc*. 2015;4(2):126–31.
109. Gesundheit B, Grisaru-Soen G, Greenberg D, Levtzion-Korach O, Malkin D, Petric M, et al. Neonatal genital herpes simplex virus type 1 infection after Jewish ritual circumcision: modern medicine and religious tradition. *Pediatrics*. 2004;114(2):e259–63.
110. Kestenbaum LA, Ebberson J, Zorc JJ, Hodinka RL, Shah SS. Defining cerebrospinal fluid white blood cell count reference values in neonates and young infants. *Pediatrics*. 2010;125(2):257–64.
111. Caviness a C, Demmler GJ, Swint JM, Cantor SB. Cost-effectiveness analysis of herpes simplex virus testing and treatment strategies in febrile neonates. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2008;162(7):665–74.

112. Kotzbauer D, Andresen D, Doelling N, Shore S. Clinical And Laboratory Characteristics Of Central Nervous System Herpes Simplex Virus Infection In Neonates And Young Infants. *Pediatr Infect Dis J.* 2014;33(11):1187-9.
113. Wolfert SIM, de Jong EP, Vossen a CTM, Zwaveling J, Te Pas a B, Walther FJ, et al. Diagnostic and therapeutic management for suspected neonatal herpes simplex virus infection. *J Clin Virol.* 2011;51(1):8-11.
114. Whitley RJ, Kimberlin DW, Roizman B. Herpes simplex viruses. *Clin Infect Dis.* 1998;26(3):541-53; quiz 554-5.
115. Hall P, Adami H-O, Trichopoulos D, Pedersen NL, Lagiou P, Ekblom A, et al. Effect of low doses of ionising radiation in infancy on cognitive function in adulthood: Swedish population based cohort study. *BMJ.* 2004;328(7430):19.
116. Okanishi T, Yamamoto H, Hosokawa T, Ando N, Nagayama Y, Hashimoto Y, et al. Diffusion-weighted MRI for early diagnosis of neonatal herpes simplex encephalitis. *Brain Dev [Internet]. The Japanese Society of Child Neurology;* 2015;37(4):423-31.
117. Corey L, Whitley RJ, Stone EF, Mohan K. Difference between herpes simplex virus type 1 and type 2 neonatal encephalitis in neurological outcome. *Lancet.* 1999;1(8575-6):1-4.
118. Fluhr JW, Darlenski R, Taieb A, Hachem J-P, Baudouin C, Msika P, et al. Functional skin adaptation in infancy - almost complete but not fully competent. *Exp Dermatol.* 2010;19(6):483-92.
119. Delgado MA, Deretic V. Toll-like receptors in control of immunological autophagy. *Cell Death Differ.* 2009;16(7):976-83.
120. Kohl S, Loo LS, Gonik B. Analysis in human neonates of defective antibody-dependent cellular cytotoxicity and natural killer cytotoxicity to herpes simplex virus-infected cells. *J Infect Dis.* 1984;150(1):14-9.
121. Gantt S, Muller WJ. The immunologic basis for severe neonatal herpes disease and potential strategies for therapeutic intervention. *Clin Dev Immunol.* 2013;2013.

122. Brown EL, Morrow R, Krantz EM, Arvin AM, Prober CG, Yasukawa LL, et al. Maternal herpes simplex virus antibody avidity and risk of neonatal herpes. *Am J Obstet Gynecol.* 2006;195(1):115–20.
123. Ashley RL, Dalessio J, Burchett S, Brown Z, Berry S, Mohan K, et al. Herpes simplex virus-2 (HSV-2) type-specific antibody correlates of protection in infants exposed to HSV-2 at birth. *J Clin Invest* 1992;90(2):511–4.
124. Palmeira P, Quinello C, Silveira-Lessa AL, Zago CA, Carneiro-Sampaio M. IgG placental transfer in healthy and pathological pregnancies. *Clin Dev Immunol.* 2012;2012: 985646.
125. Kotzbauer D, Frank G, Dong W, Shore S. Clinical and laboratory characteristics of disseminated herpes simplex virus infection in neonates. *Hosp Pediatr. American Academy of Pediatrics;* 2014 May 1;4(3):167–71.
126. Pisani F, Spagnoli C. Neonatal Seizures: A Review of Outcomes and Outcome Predictors. *Neuropediatrics.* 2016;47(1):12–9.
127. Abuhasna SD, Shihab ZM, Al Niyadi SM, Tatari HM, Al Jundi AH, Atwa KH. Neonatal herpes simplex fulminant hepatitis successfully treated with acyclovir. *J Clin Neonatol* 2012;1(2):87–90.
128. Bal A, Zandotti C, Nougairède A, Ninove L, Roquelaure B, Charrel RN. Fulminant Hepatitis Due to Father-to-Newborn Transmission of Herpes Simplex Virus type 1. *Open Virol J.* 2013;7:96–7.
129. Machin NW, Morgan D, Turner AJ, Lipshen G, Arkwright PD. Neonatal herpes simplex 2 infection presenting with supraglottitis. *Arch Dis Child.* 2013; 98(8):611–2.
130. McGoogan KE, Haafiz AB, González Peralta RP. Herpes simplex virus hepatitis in infants: clinical outcomes and correlates of disease severity. *J Pediatr.* 2011; 159(4):608–11.
131. Whitley RJ, Lakeman F. Herpes simplex virus infections of the central nervous system: therapeutic and diagnostic considerations. *Clin Infect Dis* [Internet]. 1995 Feb [cited 2016 Mar 23];20(2):414–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7742450>

132. Troendle-Atkins J, Demmler GJ, Buffone GJ. Rapid diagnosis of herpes simplex virus encephalitis by using the polymerase chain reaction. *J Pediatr* [Internet]. 1993 Sep [cited 2016 Mar 23];123(3):376–80.
133. Malm G, Forsgren M. Neonatal herpes simplex virus infections: HSV DNA in cerebrospinal fluid and serum. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 1999; 81(1):F24–9.
134. Cinque P, Cleator GM, Weber T, Monteyne P, Sindic CJ, van Loon AM. The role of laboratory investigation in the diagnosis and management of patients with suspected herpes simplex encephalitis: a consensus report. The EU Concerted Action on Virus Meningitis and Encephalitis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* [Internet]. 1996 Oct [cited 2016 Mar 25];61(4):339–45.
135. Rubin LG, Lanzkowsky P. Cutaneous neonatal herpes simplex infection associated with ritual circumcision. *Pediatr Infect Dis J.* 2000 19(3):266–8.
136. Đorđević H. Serološki odgovor na herpes virus tip 1 i herpes virus tip 2 infekciju kod žena reproduktivnog perioda. *Med Pregld.* 2006;11-12:591–7.
137. Institut za javno zdravlje Srbije "dr Milan Jovanović Batut". Porođaji i prekidi trudnoće. U: Ilić D, urednik. *Zdravstveno-statistički godišnjak Republike Srbije* 2014. Beograd; 2015. p. 441–75.
138. van der Wiel H, Weiland HT, van Doornum GJ, van der Straaten PJ, Berger HM. Disseminated neonatal herpes simplex virus infection acquired from the father. *Eur J Pediatr* [Internet]. 1985 May [cited 2016 Mar 24];144(1):56–7.
139. Vanderpluym C, Tawfik G, Hervas-Malo M, Lacaze-Masmonteil T, Kellner J, Robinson JL. Empiric acyclovir for neonatal herpes simplex virus infection. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2012;25(8):1278–82.
140. Nakwan N, Nakwan N, Wannaro J. Predicting mortality in infants with persistent pulmonary hypertension of the newborn with the Score for Neonatal Acute Physiology-Version II (SNAP-II) in Thai neonates. *J Perinat Med* [Internet]. 2011 May [cited 2016 Mar 22];39(3):311–5.
141. Dammann O, Shah B, Naples M, Bednarek F, Zupancic J, Allred EN, et al. Interinstitutional variation in prediction of death by SNAP-II and SNAPPE-II among extremely preterm infants. *Pediatrics* [Internet]. 2009 Nov [cited 2016 Mar 22];124(5):e1001–6.

8. PRILOG

LISTA SKRAĆENICA:

AAP – Američka akademija za pedijatriju

ABN – apsolutni broj neutrofila

ACOG - *American College of Obstetricians and Gynecologists*

ALT- alanin aminotransferaza

AST - aspartat aminotransferaza

CT – kompjuterizovana tomografija

CASG- *Collaborative Antiviral Study Group*

CNS – centralni nervni sistem

CRP - C-reaktivni protein

CST – cerebrospinalna tečnost

DIK – diseminovana intravaskularna koagulacija

DNK- dezoksiribonukleinska kiselina

EEG – elektroencefalogram

ELISA - *enzyme-linked immunosorbent assay*

GH- genitalni herpes

HSV – Herpes simpleks virus

HSV-1- Herpes simpleks virus tip 1

HSV-2 - Herpes simpleks virus tip 2

RNK - ribonukleinska kiselina

HELLP - *hemolysis, elevated liver enzymes, low platelet count*

ICD-9- Deveta internacionalna klasifikacija bolesti

ICD-10 - Deseta internacionalna klasifikacija bolesti

IgG – imunoglobulin G

IgM – imunoglobulin M

IMD – Institut za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije “ dr Vukan Čupić”

LH - labijalni herpes

Med – medijana

MR – magnetna rezonancija

NAID - *National Institute of Allergy and Infectious Diseases*

NH – neonatalni herpes

PCR – polymerase chain reaction- reakcija lančane polimeraze

P₂₅- percentil 25

P₇₅ – percentil 75

RNK - ribonukleinska kiselina

ROC - *Receiver Operating Characteristic*

RZS – Republički zavod za statistiku

RNK - ribonukleinska kiselina

SAD – Sjedinjene američke države

SC – *Sectio Caesarea*

SD – standardna devijacija

SNAP II - *Score for neonatal acute physiology II*

SNAPPE II - *Score for neonatal acute physiology perinatal extension II*

UZ - ultrazvuk

\bar{x} - srednja vrednost

Biografija

Jelena Martić je rođena u Čačku 1971. godine. Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu je završila 1995. godine sa srednjom ocenom 9,17. Od 1999. godine zaposlena je u Institutu za zdravstvenu zaštitu majke i deteta „Dr Vukan Čupić“. Specijalistički ispit iz pedijatrije je položila 2002. godine sa odličnim uspehom. Od 2003. godine radi u službi za ispitivanje i lečenje novorođenčadi Instituta za majku i dete. Magistarski rad pod nazivom „Procena složenosti i efikasnosti neonatalne intenzivne terapije“ je odbranila 2010. godine. Na užoj je specijalizaciji iz neonatologije. Obavlja dužnost šefa odseka neonatalne intenzivne nege od 2015. godine. U zvanje kliničkog asistenta na Katedri pedijatrije Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu izabrana je 2011. godine. Obavlja dužnost sekretara katedre neonatologije od 2011. godine. Član je redakcije udžbenika „Problemi u pedijatriji“. Dr Martić je autor preko 80 bibliografskih jedinica u stranim i domaćim publikacijama.

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisani-a Jelena Martić

broj upisa Kliničke i laboratorijske osobnosti infekcije izazvane herpes simpleks virusom kod novorođene dece

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

Kliničke i laboratorijske osobnosti infekcije izazvane herpes simpleks virusom kod novorođene dece

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 25.02.2016.

Jelena Martić

Prilog 2.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora Jelena Martić

Broj upisa _____

Studijski program _____

Naslov rada Kliničke i laboratorijske osobenosti infekcije izazvane herpes simpleks virusom kod novorođene dece

Mentor Prof. dr Borisav Janković

Komentor Prof. dr Aleksandra Knežević

Potpisani _____

izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 25.02.2016.

Jelena Martić

Prilog 3.

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

Kliničke i laboratorijske osobenosti infekcije izazvane herpes simpleks virusom kod novorođene dece

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo

2. Autorstvo - nekomercijalno

3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade

4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima

5. Autorstvo – bez prerade

6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poleđini lista).

Potpis doktoranda

U Beogradu, 25.02.2016.

