

## Особенности циркуляции энтеровирусов в г. Екатеринбурге (1992–2005 гг.)

Л. Г. Беседина, Н. С. Субботина, Н. Н. Сбитнева, Я. Б. Бейкин

Диагностический Центр (лабораторной диагностики ВИЧ, инфекционной патологии и болезней матери и ребенка), г. Екатеринбург.  
Кафедра детских инфекционных болезней и клинической иммунологии Уральской государственной медицинской академии

Проблема энтеровирусных инфекций (ЭВИ) вызывает определенный интерес, так как до настоящего момента ЭВИ не утратили лидирующих позиций в инфекционной патологии человека [3, 6]. ЭВИ характеризуются значительным полиморфизмом клинической картины, проявляют тенденцию к нарастающему развитию и являются частыми заболеваниями, особенно в детском возрасте, встречаются в виде спорадической заболеваемости и вспышек [1, 2, 6, 9].

По мнению ряда авторов широкая активизация непوليوмиелитных энтеровирусов связана с мероприятиями, проводимыми ВОЗ по ликвидации полиомиелита [4, 8]. На фоне отсутствия заболеваемости полиомиелитом возникает вопрос о тех ЭВИ, причиной которых являются вирусы Коксаки и ЕСНО [1, 2, 4, 7–9].

На базе лаборатории вирусологии Центра лабораторной диагностики (ДЦЛД) с 1992 г. проводится вирусологическая диагностика энтеровирусных инфекций [5]. Ежегодно мы отмечаем летне-осенние подъемы заболеваемости энтеровирусными инфекциями.

Цель исследования — оценка особенностей циркуляции энтеровирусов среди пациентов с диагнозами «энтеровирусная инфекция», «серозный менингит» в 1992–2005 гг.

### Материалы и методы исследования

За период 1992–2005 гг. обследован 3 721 больной ребенок с диагнозами: ЭВИ, спинальная или менингеальная формы, острый вялый парез (ОВП), серозный менингит. Подавляющее большинство из этого количества составили дети, госпитализированные в профильный стационар (4 ГДИБ и 40 ГКБ). Всего было изучено 3 007 носоглоточных смывов, 9 429 проб фекалий, 378 проб спинномозговой жидкости.

Вирусологическая диагностика ЭВИ базировалась на выделении из исследуемого материала (носоглоточные смывы, пробы фекалий, спинномозговой жидкости) энтеровирусов и их идентификации.

Для индикации возбудителя использовали метод заражения перевиваемых клеточных культур НЕр-2, RD, L20В в двух последовательных пассажах, при котором присутствие вируса в пробе инфекционного материала вызывало цитопатический эффект.

Для идентификации выделенных цитопатогенных агентов (ЦПА) использовали микрометод реакции нейтрализации (РН) в культуре ткани, принцип которой заключался в подавлении моновалентной диагностической сыровотки (производства Института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М. П. Чумакова РАМН) цитопатогенного действия вируса.

Определение вируснейтрализующих антител микрометодом РН основывалось на подавлении цитопатического действия аутоштамма, вакцинных полиовирусов, взятых в дозе 100ТЦД<sub>50</sub>, последовательными разведениями сыровотки обследуемого, содержащей антитела к этому вирусу. Вакцинные штаммы были получены из Института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М. П. Чумакова РАМН.

Вирусологическое обследование больных и интерпретацию полученных результатов проводили в соответствии с методическими рекомендациями 1987 г., а затем руководством по вирусологическим исследованиям полиомиелита 1998 г.

Молекулярнобиологическую диагностику (с 2004 г.) проводили стандартными методами: выделение РНК ЭВ в пробах ликвора; постановка ОТ ПЦР и учет результатов методом геле-электрофореза в агарозном геле (аппарат для горизонтального электрофореза «SE-2») с применением диагностического набора «Амп-лиСенс Энтеровирусы» (ЦНИИЭ).

### Результаты исследования и их обсуждение

По данным таблицы, количество лиц, выделявших энтеровирусы или РНК ЭВ колебалось от 7 до 57% в разные годы. Такие колебания

Таблица. Результаты вирусологического обследования больных ЭВИ

Годы	Количество обследованных	Количество лиц, выделявших энтеровирусы или РНК ЭВ	
		абс.	%
1992	365	133	36,4
1993	252	64	25,4
1994	248	47	19,0
1995	197	50	25,4
1996	407	77	18,9
1997	144	23	16,0
1998	328	83	25,3
1999	191	14	7,3
2000	315	48	15,2
2001	158	23	14,6
2002	122	22	18,0
2003	333	54	16,2
2004	391	56	14,3
2005	270	155	57,4
<b>ИТОГО</b>	<b>3721</b>	<b>849</b>	<b>22,8</b>

связаны с ежегодными подъемами заболеваемости ЭВИ разными по интенсивности, вызванными вирусами Коксаки В и ЕСНО, а так же активным внедрением ПЦР-диагностики ЭВИ (в 2005 г.)

Полиовирусы (ПВ) в течение периода наблюдений были обнаружены в среднем у 1,6% обследованных пациентов (рис. 1). За период 1992–2005 гг. от 47 больных было изолировано 107 штаммов полиовирусов, в том числе I типа — 48 штаммов, II типа — 9 штаммов, III типа — 50 штаммов. Кроме того, 4 ребенка выделяли смеси различных типов полиовируса, у 7 детей были изолированы смеси полиовируса с вирусами ЕСНО тип 16 и 30. В 1997–1998 гг. удельный вес выделения полиовирусов был максимальным и составил 4–5% от числа обследованных. При изучении антигенных свойств полиовирусов, выделенных от 29 больных, установлена их принадлежность к вакцинными вариантам (данные ИПВЭ им. М. П. Чумакова, РАМН). Учитывая результаты антигенного анализа полиовирусов и сроки возникновения заболеваний в зависимости от полученной прививки ЖВС, часть случаев (29 чел.) по классификации ВОЗ могла быть отнесена к острому паралитическому полиомиелиту, ассоциированному с вакциной у реципиента.

С 2000 г. весь объем вирусологических исследований по Программе ликвидации полиомиелита проводился в Региональной лаборатории ОблСЭС. В связи с этим мы отмечали единичные находки ПВ в 2002, 2004 и 2005 гг.

Большинство штаммов ПВ было изолировано от реципиентов вакцины с диагнозами

ЭВИ, спинальная форма, ОВП (42 чел.). По данным анамнеза эти дети заболели в течение 30 дней после последней прививки. 24 ребенка этой группы имели парные пробы сыворотки крови и были обследованы в РН с аутоштаммом или вакцинными штаммами ПВ. Так, у 7 обследованных, выделение вируса сопровождалось 4-кратным увеличением титра вируснейтрализующих антител к аутоштамму, средний геометрический титр антител в парных сыворотках крови был равен 2,7 и 5,7  $\log_2$  соответственно. В дополнение к этому у 5 детей были определены диагностические титры антител к вакцинному штамму полиовируса, одноименному с идентифицированным.

Однако вирусы полиомиелита были изолированы и от пациентов с клиническими проявлениями серозного менингита (7 чел.), у которых этиологическая роль ПВ была подтверждена диагностическим нарастанием титров антител в РН с аутоштаммом (средний геометрический титр антител составил 1,3 и 5,5  $\log_2$  соответственно). Причем возраст этих детей колебался в пределах 4–10 лет. Кроме этого, у 9 детей с различными клиническими диагнозами выделение полиовируса не сопровождалось серологическими изменениями.

Наряду с выделением ПВ проводили изучение роли неполиомиелитных энтеровирусов (НПЭВ) в циркуляции и возникновении ЭВИ (рис. 2). За весь период наблюдений установлены годы повышенной циркуляции определенных групп энтеровирусов среди популяции больных ЭВИ детей. В период 1992–2000 гг. отмечена четкая цикличность появления НПЭВ.

Рисунок 1. Удельный вес выделения полиовирусов у больных ЭВИ в период 1992–2005 гг.

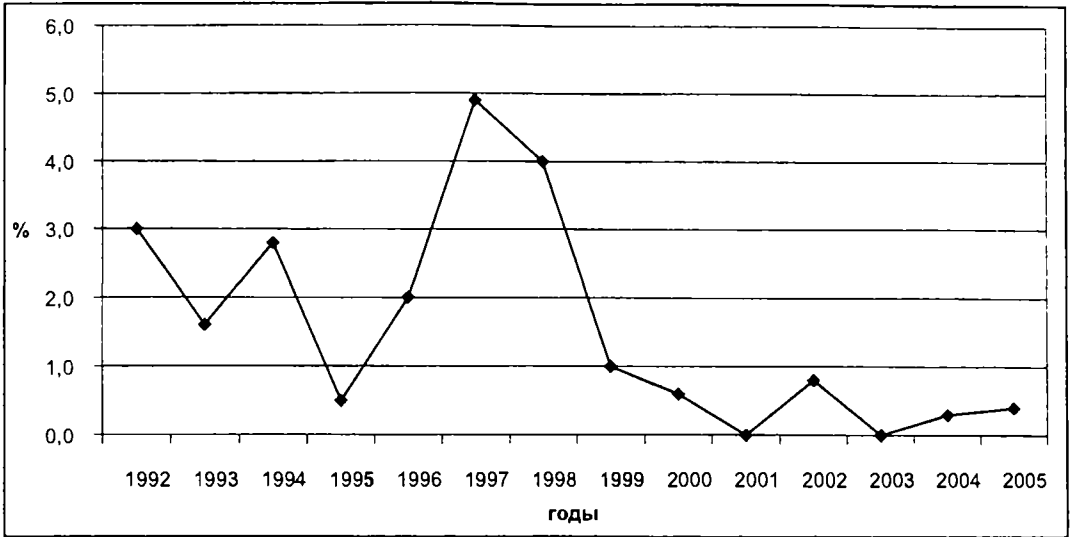
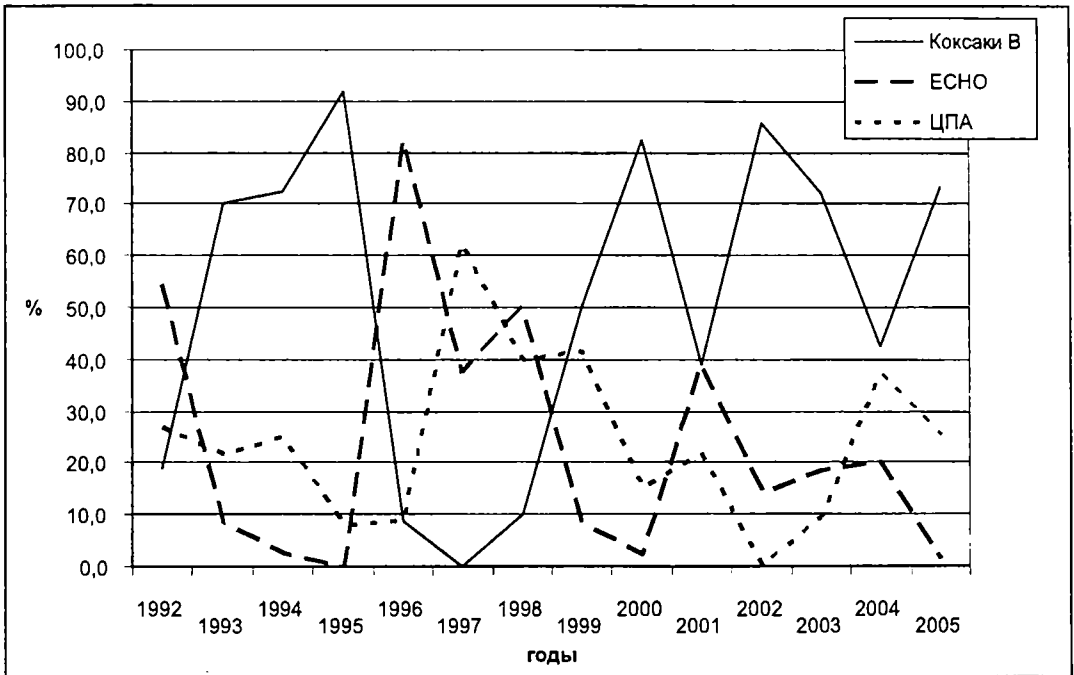


Рисунок 2. Частота выделения НПЭВ от больных ЭВИ 1992–2005 гг.



В 1992, 1996 и 1998 гг. преобладали вирусы ЕСНО тип 30, удельный вес которых среди выделенных серотипов составлял 54,1, 82,6 и 50,0% соответственно. При этом средний геометрический титр антител к аутоштамму в парных сыворотках крови в 1992 г. был равен 2,8 и 5,4  $\log_2$ , а в 1996, 1998 гг. — 2,2 и 5,4  $\log_2$ .

В 1993–95 гг. среди изолятов преобладали вирусы Коксаки группы В, частота выделения

которых в среднем составляла 78,1%. Выделение вирусов сопровождалось диагностическим нарастанием титра антител лишь у 1/3 пациентов с Коксаки В-инфекцией. Средний геометрический титр антител в парных пробах крови соответствовал 2,2 и 5,4  $\log_2$ .

Далее, начиная с 2000 г. сероварианты Коксаки В вирусов, сменяя друг друга, вызывали подъемы заболеваемости ЭВИ. Так, в 2000 г.

активно циркулировали Коксаки В4 и В5, в 2002 г. — Коксаки В3, 2003 г. — Коксаки В1, а в 2004–2005 гг. — Коксаки В5. Всплеска ЕСНО-вирусной инфекции отмечено не было, несмотря на то обстоятельство, что мы выделяли ЕСНО типы 7, 11, 19, 24 и 30, как в преддверье эпидемического подъема, так и разгаре «сезона» ЭВИ. По данным НИИ им. Габричевского в г. Екатеринбурге в 2004 г. у больных серозным менингитом были определены РНК вирусов ЕСНО типов 4 и 30 из носоглоточных смывов и проб фекалий. К сожалению, используя метод индикации ЭВ на клеточных культурах в 2004 г., нам не удалось зафиксировать этого.

Кроме вирусов Коксаки В и ЕСНО, четко идентифицированных в нейтрализационном тесте, выделяли так называемые нетипирующиеся цитопатогенные агенты (Н/Т ЦПА). Н/Т ЦПА вызывали типичную энтеровирусную дегенерацию на культурах клеток Нер-2 и RD, но не поддавались типированию при помощи моновалентных сывороток производства ИПВЭ им. М. П. Чумакова РАМН.

Для оптимизации лабораторной диагностики ЭВИ с 2004 г. в лаборатории молекулярно-биологических исследований ДЦЛД был внедрен метод ОТ ПЦР для определения РНК ЭВ. При помощи ПЦР-диагностики и классических методов индикации ЭВ, были обследованы 150 детей с серозными менингитами. При анализе результатов исследования в 10% случаев были выде-

лены ЭВ, в 54% — РНК ЭВ и в 30% — получены положительные результаты в первом и втором тестах. Следовательно, эффективность ПЦР-метода составила 84%, а вирусологического — 40%. Однако, метод ОТ-ПЦР, в наших условиях, не позволял определить тип этиологического агента, вызвавшего клинические проявления инфекции. Используя комплекс вирусологических и молекулярно-биологических методов, нам удалось сократить период получения результатов исследований и расшифровать этиологию серозных менингитов в 2005 г. более чем у половины обследованных пациентов.

## Выводы

1. За весь период наблюдений (1992–2005 гг.) полиовирусы были выделены от детей с разными клиническими диагнозами (в том числе и серозным менингитом), у реципиентов вакцины и пациентов старшего возраста, не подлежащих вакцинации.

2. При оценке особенностей циркуляции ЭВ среди пациентов с серозными менингитами установлены периоды доминирования вирусов ЕСНО в 1992 г., 1996–1998 гг. и Коксаки группы В в 1993–1995 гг. и 2000–2005 гг.

3. Использование классических вирусологических и молекулярно-биологических методов в обследовании детей с энтеровирусными инфекциями позволяет решать вопросы экспресс-диагностики и постановки окончательного этиологического диагноза.

## Литература

1. Амвросьева Т. В. Вспышка энтеровирусной инфекции в Витебске в условиях загрязнения питьевой воды энтеровирусами / Т. В. Амвросьева, З. Ф. Фогуш, О. Н. Козицкая // Вопросы вирусологии. — 2002. — №1. — С. 30–34.
2. Амвросьева Т. В. Водная вспышка серозного менингита, вызванная вирусом ЕСНО 30, в Беларуси / Журн. микробиологии. — 2001. — №1. — С. 21–25.
3. Бадалян Л. О. Детская неврология / Л. О. Бадалян. — М.: Медицина, 1984. — 576 с.
4. Бондаренко В. И., Экология энтеровирусов / В. И. Бондаренко, В. Н. Гирич, Л. В. Григорьева. — Киев.: Здоровье, 1988. — 168 с.
5. Власова Л. В. Опыт работы по расшифровке этиологии энтеровирусных инфекций в г. Екатеринбурге / Л. В. Власова, Г. П. Степанова, Л. Г. Беседина // Внедрение лабораторно-диагностических технологий

в практику здравоохранения: Сборник научных трудов. — Екатеринбург. — 2000. — С.25–30.

6. Ворошилова М. К. Энтеровирусные инфекции человека / М. К. Ворошилова. — М. — 1979. — 359 с.
7. Мурина Е. А. Мониторинг энтеровирусов в Северо-Западном регионе России / Е. А. Мурина, О. А. Аксенов, Н. В. Скрипченко, Н. Ф. Пульман // Детские инфекции. — 2006. — №1. — С. 11–16.
8. Сейбиль В. Б. Две проблемы, возникающие на завершающем этапе ликвидации полиомиелита / В. Б. Сейбиль // Вопросы вирусологии. — 2000. — №5. — С.45–47.
9. Учайкин Г. Ф. Энтеровирусный менингит у детей Хабаровска в конце XX столетия / Г. Ф. Учайкин, И. И. Протосеня, В. И. Резник // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2003. — №2. — С. 42–46.