

Самойлович Е.О., Логунова Н.В., Семейко Г.В., Ключко Н.Л., Астапов А.А.,
Лисицкая Т.И., Канашкова Т.А., Бискина Н.М.

**РОТАВИРУСНЫЕ ГАСТРОЭНТЕРИТЫ У ДЕТЕЙ
В Г. МИНСКЕ В 2012 Г.: РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ,
СЕЗОННОСТЬ, ВОЗРАСТНОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ,
ГЕНОТИПИЧЕСКИЙ ПЕЙЗАЖ ВОЗБУДИТЕЛЯ**

¹*РНПЦ эпидемиологии и микробиологии*

²*Городская детская инфекционная клиническая больница, г. Минск*

³*Белорусский государственный медицинский университет*

⁴*Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья*

Ротавирус является важнейшим этиологическим агентом острых гастроэнтеритов у детей. В течение первых 5 лет жизни практически каждый ребенок вне зависимости от социально-экономического статуса семьи инфицируется этим опасным патогеном. По данным проведенного ВОЗ обзора исследований в области ротавирусов, 20-70% всех случаев госпитализации и 20% случаев диарей с летальным исходом вследствие значительной дегидратации были связаны с этой инфекцией [5]. В мире каждый год ротавирус вызывает примерно 11 млн случаев инфекционного гастроэнтерита у детей и примерно 600 000 смертей [12].

Заболевание распространено как в развивающихся, так и в развитых странах мира [10]. Основная часть (82%) летальных исходов приходится на развивающиеся страны Юго-Восточной Азии, Африки и Латинской Америки, что обусловлено не только худшими санитарно-гигиеническими условиями проживания населения, но и ограниченным доступом к квалифицированной медицинской помощи. В развитых странах мира доля ротавирусных поражений в летальности относительно невелика, однако экономическая нагрузка, обусловленная высокой заболеваемостью и нередкой госпитализацией, существенна [6].

Лабораторная диагностика ротавирусной инфекции в Республике Беларусь осуществляется с 1993 г. Согласно данным официальной регистрации, в Республике Беларусь ежегодно выявляется от нескольких сотен до несколько тысяч заболевших ротавирусной инфекцией (от 637 в 1995 г. (год начала регистрации заболеваемости) до 5203 в 2011 г.). Из них число случаев инфекции, выявленных в г. Минске, составляло от 547 в 1995 г. до 2725 в 2011 г. Подавляющее большинство заболевших – это дети в возрасте от 0 до 14 лет. Доля лиц старше 15 лет в общей структуре заболеваемости колебалась от 1,6% (1995 г.) до 5,6% (2001 г.)

Целью настоящего исследования являлось определение частоты госпитализаций, обусловленных острыми гастроэнтеритами (ОГЭ) ротавирусной этиологии в г. Минске в 2012 г., и изучение генотипического пейзажа ротавирусов – этиологических агентов ОГЭ.

Материалы и методы

По данным лаборатории УЗ «Городская детская инфекционная клиническая больница» г. Минска (ГДИКБ), в 2012 г. на ротавирусную инфекцию обследовано 8195 детей с ОГЭ.

Диагностику ротавирусной инфекции осуществляли на основании определения антигена ротавируса в образцах стула с использованием иммуноферментной тест-системы «РОТА-АГ» производства РНПЦ эпидемиологии и микробиологии.

Для определения генотипа ротавирусов, вызвавших ОГЭ, для исследования были отобраны образцы стула пропорционально количеству случаев заболевания, зарегистрированных в каждом месяце. Всего отобрано и исследовано в мультиплексной ОТ-ПЦР 65 образцов стула: январь - 11, февраль - 10, март - 9, апрель - 8, май - 6, июнь - 4, июль - 2, август - 5, сентябрь - 4, октябрь - 2, ноябрь - 1, декабрь - 3.

Выделение РНК ротавирусов из 10%-ной суспензии стула проводили с помощью автоматической системы для выделения нуклеиновых кислот на магнитных частицах MagMAX Express (Applied Biosystems, США) с наборами 5X MagMAX-96 Viral Isolation kit (Ambion, США). Генотипирование ротавирусов осуществляли на основании анализа поверхностных белков VP4 (Р-генотип) и VP7 (G-генотип) с использованием мультиплексной полугнездовой ОТ-ПЦР. Для амплификации фрагмента гена VP7 с целью последующего G-генотипирования использовали праймеры 9con1L и VP7-R [7]. Для амплификации фрагмента гена VP4 с целью последующего Р-генотипирования использовали праймеры con3 и con2 [4]. ОТ-ПЦР проводили в один раунд с использованием набора QIAGEN OneStep RT-PCR kit, QIAGEN (Германия), содержащего смесь ферментов: обратные транскриптазы Omniscript и Sensiscript и HotStarTaq ДНК полимеразу. Реакцию проводили в следующих условиях: обратная транскрипция – 30 мин при 42⁰С, денатурация смеси обратных транскриптаз и активация полимеразы – 15 мин при 95⁰С и 40 циклов амплификации. Каждый цикл включал: денатурацию при 94⁰С – 30 секунд, отжиг праймеров при 42⁰С – 30 секунд, элонгацию при 72⁰С – 45 секунд. Для второго раунда использовали набор специфических праймеров для определения G и Р генотипов [7, 8]. Синтез ПЦР-продуктов анализировали методом электрофореза в 3% агарозном геле с добавлением красителя Gelstar 10000X, Lonza (США) для визуализации ДНК.

Результаты и обсуждение

Проведенное в 2012 г. лабораторное обследованное 8195 детей с ОГЭ, госпитализированных в ГДИКБ, позволило обнаружить антиген ротавируса в образцах стула 1556 (19,0%) из них.

Подавляющее большинство детей с ОГЭ были в возрасте 0-5 лет (7372, 90,0%). Ротавирусная инфекция была лабораторно подтверждена у 1496

(20,3%) детей этого возраста. Поскольку, в соответствии с рекомендациями ВОЗ [13], эпидемиологический надзор за ротавирусной инфекцией должен быть в основном сосредоточен на лицах этой возрастной группы, дальнейший анализ эпидемиологических характеристик инфекции был выполнен в отношении детей в возрасте 0-5 лет.

Позитивные на ротавирус образцы регистрировались в течение всего года, однако наиболее высокий их удельный вес был выявлен в январе – мае (январь – 32,6%, февраль – 27,8%, март – 30,8%, апрель – 29,3%, май – 22,5%). В течение этого периода было выявлено 1052 из 1496 (70,0%) случаев ротавирусной диареи. Выявление ротавирусопозитивных образцов в межсезонный период составляло от 7,5% (октябрь) до 18,3% (июнь).

Возрастное распределение позитивных на ротавирус образцов представлено на рис. 1. Как следует из представленных данных, на долю детей в возрасте 6-23 месяца пришлось 884 (60,0%) от всех ротавирусных гастроэнтеритов, выявленных у детей 0-5 лет. Среди лиц первого года жизни инфекция достоверно реже регистрировалась у детей 0-5 месяцев (174 случая ротавирусного гастроэнтерита было выявлено в возрастной группе 0-5 мес., и 308 случаев в возрастной группе 6-11 месяцев). Начиная с 2 лет заболеваемость постепенно снижалась. Удельный вес детей от 2 до 3 лет составил 15,1% (227 случаев), от 3 до 4 лет – 8,2% (123 случая), от 4 до 6 лет – 5,9% (88 случаев).

Выполненное генотипирование 65 ротавирусов, обнаруженных в образцах стула детей, по генам, кодирующим структурные белки VP7 и VP4, показало, что они относились к пяти G-типам (G4, G3, G2, G1, G9), двум P-типам (P8, P4) и формировали 5 различных G-P сочетаний (Рис. 2). Преимущественное распространение получил ротавирус генотипа G4P[8], к этому генотипу относилось 36 из 65 исследованных образцов. Генотип G3P[8] находился на втором месте по частоте встречаемости. Генотипы G1P[8] и G2P[4] занимали третье и четвертое место по частоте встречаемости, соответственно. В трех образцах стула был выявлен ротавирус генотипа G9P[8].

G4P[8] – 36 (55,4%)

G3P[8] – 36 (21,5%)

G1P[8] – 8 (12,3%)

G2P[4] – 4 (6,2%)

G9P[8] – 3 (4,6%)

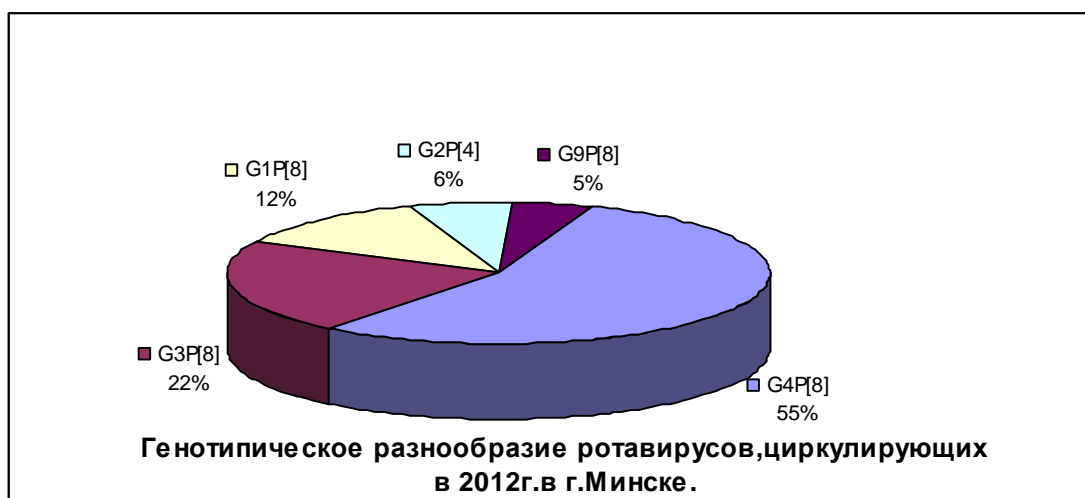


Рис. 2. Генетическое разнообразие ротавирусов, вызвавших острый гастроэнтерит у детей в г. Минске в 2012 г.

Как известно, основное бремя заболеваемости ротавирусной инфекцией определяют тяжелые и среднетяжелые случаи диарей. Именно поэтому, в соответствии с рекомендациями ВОЗ, эпидемиологический надзор за ротавирусной инфекцией в первую очередь должен быть направлен на мониторинг потребовавших госпитализации случаев ОГЭ у детей до 5 лет [13]. В г. Минске единственным стационаром, куда госпитализируются дети с острой диареей, является ГДИКБ. Согласно клиническим данным, в подавляющем большинстве (90%) госпитализированных случаев ротавирусная инфекция протекает как ОГЭ средней степени тяжести [2].

Как показали результаты лабораторного обследования, в 2012 г. ротавирусная инфекция являлась достаточно частой причиной госпитализации. Антиген ротавируса был выявлен у 1496 детей в возрасте 0-5 лет. Частота встречаемости ОГЭ ротавирусной этиологии среди других госпитализированных диарейных заболеваний у детей этого возраста составила 20,3%, что несколько ниже в сравнении со странами Европейского региона ВОЗ, в которых при поддержке Европейского регионального бюро ВОЗ осуществляется дозорный эпидемиологический надзор за ротавирусами (Армения, Азербайджан, Грузия, Молдова, Таджикистан, Украина). Средняя частота встречаемости ротавирусных диарей в этих странах в 2011-2012 гг. составила 41% [14]. По данным ВОЗ, наиболее высокая частота ротавирусных ОГЭ отмечалась в странах Западно-Тихоокеанского региона (43%) и региона Юго-Восточной Азии (43%), самая низкая – в странах Американского региона (24%).

Ротавирусный ОГЭ в г. Минске характеризовался зимне-весенней сезонностью и преимущественным вовлечением в эпидемический процесс детей в возрасте 1-2 года. Зимне-весенняя сезонность ротавирусной

инфекции в Беларуси отмечалась и другими авторами [1]. Полученные в Беларуси данные согласуются с данными литературы, согласно которым заболеваемость ротавирусной инфекцией носит сезонный характер, и частота ротавирусных гастроэнтеритов увеличивается в период низкой температуры, с небольшим количеством случаев или без таковых в межсезонный период [3,11]. В зонах с умеренным климатом более высокая заболеваемость ротавирусной инфекцией регистрируется в зимне-весенний период, а в тропических и субтропических областях – в период сезона дождей [9].

Генотипический полиморфизм ротавирусов, периодическая смена доминирующих штаммов возбудителя обуславливают необходимость систематического молекулярно-эпидемиологического мониторинга популяции ротавирусов. Такой мониторинг позволяет определить спектр циркулирующих штаммов, доминирующие генотипы, своевременно отслеживать их смену, осуществлять прогнозирование эпидемической ситуации.

Изучение генетического разнообразия ротавирусов, циркулировавших в г. Минске в 2012 г., показало, что в этот период вклад в заболеваемость внесли пять генотипов ротавирусов – G4P[8] (55,4%), G3P[8] (21,5%), G1P[8] (12,3%), G2P[4] (6,2%) и G9P[8] (4,6%). Сравнение пейзажа ротавирусов 2012 г. с предыдущими годами показывает, что ротавирус G4P[8], являвшийся доминирующим в Республике Беларусь в 2008-2009 г. и несколько утративший свои позиции в 2010-2011 г., в 2012 г. опять вышел на первое место в структуре заболеваемости. Удельный вес генотипа G3P[8], доминировавшего в 2011 г., снизился с 66,7% до 21,5%. Доля генотипа G1P[8], который считается наиболее широко распространенным в мире, в 2012 г. в сравнении с 2011 г. несколько выросла (с 4,4% до 12,3%), однако по-прежнему в Республике Беларусь удельный вес этого генотипа продолжает оставаться невысоким. Следует отметить, что ротавирусы генотипа G9P[8] встречаются в Республике Беларусь редко (по одному образцу было выявлено в 2008 и 2010 г., 3 образца – в 2012 г), хотя частота обнаружения этого генотипа вируса в мире растет [14].

Полученные данные по заболеваемости свидетельствуют о том, что бремя ротавирусной инфекции в г. Минске является существенным. Число госпитализированных случаев ОГЭ ротавирусной этиологии среди детей 0-5 лет составило 1250 на 100000 детей данной возрастной группы. Следует также учитывать, что ротавирусная инфекция может иметь легкое течение и не требовать госпитализации, что чаще наблюдается среди младенцев первых трех месяцев жизни, более старших детей, и взрослых.

Как известно, повышение контроля качества воды и продуктов питания не приводит к существенному снижению заболеваемости, обусловленной ротавирусами. Единственным достаточно эффективным способом контроля этой инфекции является вакцинация. Полученные данные имеют большое значение для оценки потребности Республики Беларусь в ротавирусной вакцине. Следует также подчеркнуть, что надзор за заболеваемостью и

циркулирующими генотипами ротавирусов должен продолжаться и после внедрения вакцинации в целях оценки ее эффективности.

Литература

1. Гудков В.Г., Виринская А.С., Малявко Д.В. и др. Ротавирусная инфекция в Беларуси // *Здравоохранение*. – 2008. – №11. – С.8-13.
2. Лужинский В.С., Кондрашова Л.Н., Раевнев А.Е., Каранкевич Н.В., Пушкина Л.С. Клинические проявления ротавирусной инфекции // *Актуальные вопросы профилактики и лечения инфекционных заболеваний у детей: тезисы Международной научно-практической конференции к 25-летию юбилею УЗ «Городская детская инфекционная клиническая больница»*. 2012. – С. 79-80.
3. D'Souza R.M., Hall G., Becker N.G. Climatic factors associated with hospitalizations for rotavirus diarrhea in children under 5 years of age// *Epidemiol. Infect.* – 2008. – 136. – P.56-64.
4. Das BK, Gentsch JR, Cicirello HG, Woods PA, Gupta A, Ramachandran M, Kumar R, Bhan MK, Glass RI. Characterization of rotavirus strains from newborns in New Delhi, India // *J Clin Microbiol.* – 1994. – Vol. 32. – №7. P.1820-2.
5. de Zoysa I, Feachem RG. Interventions for the control of diarrhoeal disease among young children: rotavirus and cholera immunization // *Bulletin of the World Health Organization*. – 1985: Vol. 63. – P. 569–583.
6. Estes M.K., Kapikian A.Z. Rotaviruses / Knipe D.M., Howley P.M. *Fields Virology* – 5 ed. – Lippincott Williams & Wilkins, 2007. – Ch. 52. – P. 1918-1975.
7. Gentsch J.R., Glass R.I., Woods P., Gouvea V., Gorziglia M., Flores J., Das B.K., Bhan M.K. Identification of group A rotavirus gene 4 types by polymerase chain reaction // *J. Clin. Microbiol.* – 1992. – Vol.30. – №6. – P.1365–1373.
8. Gouvea V, Glass RI, Woods P, Taniguchi K, Clark HF, Forrester B. Polymerase chain reaction amplification and typing of rotavirus nucleic acid from stool specimens. *J Clin Microbiol.* – 1990. – Vol. 28. – P. 276–82.
9. Haaheim L.R., Pattison J.R., Whitely R.J. *A Practical Guide to Clinical Virology*. Second Edition // John Wiley&Sons – 2002. – P.121-126.
10. Haffjee Ismail E. The epidemiology of rotavirus infections: a global perspective // *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. – 1995. – Vol.20. - №3. – P.275-286.
11. LeBaron CW, Lew J, Glass RI, Weber JM, Ruiz-Palacios GM. The Rotavirus Study Group (1990): Annual rotavirus epidemic patterns in North America: results of a five-year retrospective survey of 88 centers in Canada, Mexico,

- and the United States // Journal of the American Medical Association. – 1990. – Vol. 264. – P.983–988.
12. Parashar U., Hummelman E.G., Bresee J.S., Miller M.A., Glass R.I. Global illness and deaths caused by Rotavirus // Emerg. Inf. Dis. – 2003. – Vol.9. - №2. – P.565-540.
 13. World Health Organization. Generic protocol for (i) hospital-based surveillance to estimate the burden of rotavirus gastroenteritis in children and (ii) a community-based surveillance on utilization of health care services for gastroenteritis in children. – 2002. Geneva, WHO – P.67/
 14. World Health Organization. Global Rotavirus Information and Surveillance Bulletin. – 2013. – Vol.7. – P.11