

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

**Государственное учреждение «Республиканский
научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии»**

**СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ
ИНФЕКЦИОННОЙ ПАТОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА**

Сборник научных трудов

выпуск 9

Минск

2016

ROLE OF HUMAN BOCAVIRUS IN DEVELOPMENT OF SEVERE ACUTE RESPIRATORY TRACT INFECTION IN CHILDREN

Sivets N.V., Shmialiova N.P., Gribkova N.V., Lapo T.P.

*State Institution "Republican Scientific & Practical Center of Epidemiology & Microbiology",
Minsk, Republic of Belarus*

In the paper we show the role of human bocavirus in the development of severe acute respiratory infections in young children. It was found the correlation between the viremia development and severity of the disease associated with bocavirus.

Keywords: human bocavirus, viremia, severe acute respiratory infections, children.

Поступила 06.09.2016

КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ И ВИРУСОЛОГИЧЕСКОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ ДЕТЕЙ С СИНДРОМОМ ОСТРОГО ВЯЛОГО ПАРАЛИЧА В БЕЛАРУСИ В 2015 г.

Ухова И.Ф.¹, Самойлович Е.О.¹, Ермолович М.А.¹, Свирчевская Е.Ю.¹, Ясинская Л.А.²

¹Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии», Минск, Республика Беларусь;

²Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Республика Беларусь

Реферат. В 2015 г. в Беларуси регистрация случаев острого вялого паралича (ОВП) и обследование 61 ребенка с этим синдромом проводились в соответствии с критериями ВОЗ. У 2 (3,3%) детей были обнаружены аденовирусы, от 1 (1,6%) ребенка — ПВ серотипа 2. Молекулярно-генетическое исследование изолированных ПВ показало, что они являлись вакцинными штаммами с гомотипичной организацией генома. Все случаи ОВП были классифицированы как ОВП неполиомиелитной этиологии.

Ключевые слова: полиовирус, острый вялый паралич, Беларусь.

Введение. По данным ВОЗ, в 2015 г. ареал распространения дикого полиовируса (ПВ) был ограничен территориями двух стран мира — Афганистана и Пакистана. По сравнению с 2014 г. число зарегистрированных случаев паралитического полиомиелита уменьшилось с 359 до 74. Все выделенные в этих странах ПВ по-прежнему относились к серотипу 1. В то же время ВОЗ подчеркивает, что передача дикого ПВ даже между двумя странами создает потенциальную угрозу их мирового распространения [1].

На фоне снижения ареала циркуляции диких ПВ серьезную проблему представляет тенденция по распространению вакцино-родственных ПВ (ВРПВ), которые в результате длительного размножения вакцинных штаммов Себина в организме иммунодефицитных лиц или длительной циркуляции в популяции с низким уровнем охвата вакцинацией против полиомиелита способны значительно дивергировать от вакцинных штаммов и приобретать нейровирулентные свойства, а следовательно, вызывать вспышки паралитического полиомиелита. Так, в 2015 г. вспышки полиомиелита, вызванные такого рода вирусами, произошли в 7 странах мира, причем в Пакистане, Гвинее, Лаосе и Мьянме возбудителем явился ВРПВ серотипа 2, а в Нигерии, на Мадагаскаре и Украине — серотипа 1. Особую настороженность вызвали данные о выделении циркулирующих ВРПВ серотипа 1 в Закарпатской области на юго-западе Украины, полученные в июле 2015 г. Как известно, уровень охвата вакцинацией среди детей в возрасте до 1 года в стране в 2014 г. составлял около 50%, в 2015 г. — около 14%. ВРПВ были изолированы от 2 непривитых против полиомиелита детей в возрасте 10 мес. и 4 лет [1, 2].

В Республике Беларусь позднее 2007 г., когда ВРПВ серотипа 2 с уровнем дивергенции от оригинального вакцинного вируса 1,88% был выявлен от ребенка с иммунодефицитом, ВРПВ изолированы не были [3].

В 2015 г. Глобальной комиссией по сертификации искоренения полиомиелита было объявлено о достижении эрадикации дикого ПВ серотипа 2. Последний случай полиомиелита, обусловленный этим серотипом, был зарегистрирован в 1999 г. В резолюции 68-й сессии Всемирной Ассамблеи Здравоохранения на 2016 г. был запланирован ряд мероприятий, направленных на разработку национальных планов по замене трехвалентной оральной полиомиелитной вакцины (тОПВ) на бивалентную с содержанием вакцинных штаммов серотипов 1 и 3, а также на проведение национальной политики по уничтожению остающихся запасов тОПВ, завершение внедрения в национальные календари стран прививок трехвалентной инактивированной полиомиелитной вакциной (ИПВ) и поддержание высокого уровня охвата детей плановой иммунизацией. Всем странам рекомендовано максимально усилить надзорные мероприятия с целью получения убедительных доказательств приостановления выделения вакцинного штамма Себина серотипа 2 как из образцов стула людей, так и из окружающей среды.

Одним из ключевых моментов надзора за полиомиелитом по-прежнему является надзор за заболеваниями с синдромом острого вялого паралича у детей в возрасте до 15 лет. Для обеспечения адекватного надзора ВОЗ разработаны основные критерии оценки качества проводимых мероприятий: выявление и регистрация случаев, сбор двух образцов стула в течение 14 дней от момента паралича, транспортировка образцов в аккредитованную ВОЗ лабораторию в течении 72 ч, изолирование и идентификация вирусов, молекулярно-генетическое исследование ПВ с целью определения их происхождения — вакцинный, дикий или ВРПВ.

В данном исследовании отражены результаты клинико-эпидемиологического и вирусологического обследования случаев ОВП у детей до 15 лет, выявленных в Беларуси в 2015 г. при выполнении надзора за полиомиелитом, проводимого в соответствии с планом мероприятий по поддержанию статуса страны, свободной от полиомиелита.

Материалы и методы. Все исследования по выделению, идентификации и молекулярно-генетическому изучению вирусов от детей с ОВП были проведены в аккредитованном ВОЗ Национальном референс-центре по полиомиелиту (НРЦП), созданном на базе РНПЦ эпидемиологии и микробиологии. Образцы стула детей с синдромом ОВП вирусологически исследованы с помощью перевиваемых культур клеток человека RD, HEp2C и линии мышечных клеток L20B. Суточный монослой клеток первоначально заражали 10% фекальной суспензией каждой из проб, а затем проводили пассирование в течении 7 дней с ежедневным микроскопированием монослоя.

Идентификацию ПВ осуществляли в реакции нейтрализации с гипериммунными сыворотками к трем серотипам ПВ (ПВ1, ПВ2, ПВ3), неполиомиелитных энтеровирусов — в реакции нейтрализации с использованием типоспецифических сывороток к энтеровирусам (Институт общественного здравоохранения, Билтховен, Нидерланды), аденовирусов — в ПЦР с использованием диагностической тест-системы «Adenovirus-EPh» («АмплиСенс», РФ) [4, 5].

Молекулярно-генетическая характеристика ПВ была выполнена на основании анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ) двух значимых областей генома вируса, кодирующих N-концевую часть структурного белка VP1 (ПДРФ-1) и фрагмент неструктурного белка вирусной 3D-полимеразы (ПДРФ-3D1). Рестрикционное картирование амплифицированных фрагментов длиной 480 и 291 п.о. проводили с использованием эндонуклеаз («Promega», США) *HpaII*, *HaeIII*, *DdeI* и *RsaI*, *HaeIII*, *DdeI* соответственно для ПДРФ-1 и для ПДРФ-3D1. Принадлежность исследуемых штаммов к вакцинным или диким определяли в агарозном геле путем сравнения их рестрикционных профилей, полученных после обработки каждой из эндонуклеаз, с профилями рестрикции эталонных штаммов [6].

Результаты и их обсуждение. В 2015 г. в стране был официально зарегистрирован 61 случай заболевания с синдромом ОВП у детей до 15 лет. Еще у одного ребенка в возрасте 23 мес. после подачи экстренного донесения был диагностирован закрытый перелом локтевой кости и случай был исключен из регистрации.

Национальный показатель регистрации ОВП в 2015 г. составил 4,0 на 100 тыс. детей в возрасте до 15 лет, что полностью соответствует показателю, рекомендованному ВОЗ, а именно не менее 1 на 100 тыс. Уровень выявления случаев ОВП в регионах республики колебался от 2,9 в Брестской и Гродненской областях до 5,3 — в Могилевской области (таблица 1).

Таблица 1. — Заболеваемость ОВП и показатели сбора двух образцов стула от детей в регионах страны в 2015 г.

Регионы	Случаи ОВП		С двумя образцами стула, собранными в течение 14 дней от начала паралича	
	абс.	0/000	абс.	0/000
Брестская область	7	2,9	6	85,7
Витебская область	8	4,6	8	100,0
Гомельская область	11	4,7	9	81,8
Гродненская область	5	2,9	2	40,0
г. Минск	14	4,8	14	100,0
Минская область	7	3,0	6	85,7
Могилевская область	9	5,3	9	100,0
Всего	61	4,0	54	88,5

Эпидемиологическое расследование всех случаев было проведено в течении первых 24 ч после регистрации. Все заболевшие дети были осмотрены врачами-неврологами как при госпитализации, так и через 60 дней после начала паралича для выявления остаточных неврологических симптомов.

Важным критерием качества надзора за ОВП является показатель своевременного сбора проб стула от пациентов — не менее чем у 80% пациентов должны быть собраны по 2 образца стула в течение первых 14 дней от начала паралича с интервалом в 24–48 ч.

В течение анализируемого периода времени от всех 61 заболевших детей были собраны по два образца стула с интервалом 24–48 ч между пробами. Все 122 образца стула были доставлены в НРЦП в трехдневный срок в соответствии с режимом доставки инфекционного материала и соблюдением условий холодовой цепи.

В то же время рекомендованные сроки сбора образцов от начала паралича были соблюдены не у всех пациентов. Так, у 7 детей из Гродненской (3), Гомельской (2), Брестской (1) и Минской (1) областей по ряду причин образцы стула были забраны в сроки позднее 14 дней от начала развития заболевания. Основной причиной несоблюдения сроков явилось позднее обращение родителей заболевших детей за медицинской помощью и, как следствие, позднее установление диагноза ОВП. Другой причиной несвоевременного сбора материала являлась неправильная постановка диагноза при первичном обращении в медицинское учреждение и поздняя последующая консультация детей с параличом врачами-неврологами.

В соответствии с критериями ВОЗ адекватно обследованными считались 54 ребенка, что составляет 88,5% от выявленных случаев ОВП (таблица 1).

Возрастное распределение случаев показало, что все заболевшие дети были старше 5 мес. и должны были получить курс первичной вакцинации против полиомиелита (три дозы вакцины); 7 (44,3%) обследованных детей были в возрасте от 6 мес. до 5 лет и 34 (55,7%) ребенка в возрасте от 6 до 14 лет. Однако только 57 из 61 ребенка получили полный курс вакцинации. Один ребенок вакцинирован не был, двое детей получили 1–2 дозы вакцины и еще у одного ребенка сведения о вакцинации отсутствовали. В соответствии с критериями ВОЗ эти 4 случая ОВП у детей, получивших менее трех доз вакцины или не имеющих информации о вакцинации против полиомиелита, были отнесены к «горячим» случаям, что потребовало особо тщательного внимания к клинико-эпидемиологическому и вирусологическому их обследованию.

В 3 из 4 «горячих» случаев отсутствие необходимой по возрасту вакцинации было обусловлено состоянием здоровья детей. Двое детей из Гродненской и Минской областей в соответствии с медицинскими показаниями прививались по индивидуальным календарям и не успели получить пол-

ный курс вакцинации, а непривитой ребенок из Гомельской области имел длительный медотвод от вакцинации.

Сведений о прививках не было у одного ребенка в возрасте 12 лет, который являлся гражданином Украины и до появления симптомов ОВП проживал на территории Беларуси около 4 мес.

Все 122 образца стула, полученные от детей с ОВП, были вирусологически исследованы в соответствии с рекомендациями ВОЗ на трех перевиваемых культурах клеток — L20B, RD, HEp2C. В результате вирусы были обнаружены в 3 образцах стула (4,9%) из 61 пациента. У всех детей вирусы выявлялись как в первом, так и во втором образцах.

От 1 (1,6%) ребенка был изолирован ПВ и еще у 2 (3,3%) детей выявленный в культуре клеток HEp2C ЦПА был представлен характерными для аденовируса клетками округлой формы. С помощью диагностической ПЦР к аденовирусам было подтверждено присутствие в данных образцах ДНК аденовируса (таблица 2).

Таблица 2. — Случаи ОВП с выделением кишечных вирусов в 2015 г.

Эпидномер/ возраст	Заключительный диагноз/ дата заболевания/ дата обследования	Вакцинация	№ штамма/ вирус/ год выделения
ВУ501-15-05 1 год 4 мес.	Монопарез нижней конечности/ 12.01.2015/ 13–14.01.2015	V3 ИПВ 02.07.2014	37381/ Аденовирус/2015
			37382/ Аденовирус/2015
ВУ304-15-16 3 года	Нейропатия левого седалищного нерва/ 03.03.2015/ 05–06.03.2015	Не проводилась	37411/ Аденовирус/2015
			37412/ Аденовирус/2015
ВУ501-15-31 2 года 1 мес.	Невропатия правого малоберцо- вого нерва/ 10.06.2015/10–14.06.2015	V5 ОПВ 05.06.2015	37465/ ПВ2/2015
			37466/ ПВ2/2015

Один из аденовирусов был изолирован от ребенка из г. Минска в возрасте 1 год и 4 мес., получившего в первый год жизни 3 дозы ИПВ. Ребенок был госпитализирован в стационар с высокой температурой и нарушением походки. Из образцов стула, собранных на 2 и 3-й дни заболевания, был выделен аденовирус. Обследование заболевшего врачами-неврологами при госпитализации и на 60-й день после появления паралича показало, что у ребенка был легкий монопарез нижней конечности без остаточных неврологических нарушений.

От непривитого ребенка из Гомельской области в возрасте 3 лет из образцов стула, собранных на 3 и 4-й дни заболевания, также был изолирован аденовирус. Клинические проявления ОВП у ребенка развились после стационарного лечения по поводу внегоспитальной очаговой пневмонии. При осмотре ребенка с диагностированной нейропатией левого седалищного нерва через 60 дней от начала заболевания остаточных параличей выявлено не было.

Являлись ли аденовирусы этиологическими агентами вызванных у детей заболеваний в нашем исследовании установлено не было.

В связи с тем, что в последние годы в Беларуси дети прививаются в соответствии с комбинированной ИПВ-ОПВ схемой вакцинации против полиомиелита частота выделения ПВ от детей с ОВП существенно снизилась. Так, в 2014 г. ПВ обнаруживались только у 2 (5,0%) из 40 детей с синдромом ОВП. Все изолированные вирусы относились к серотипу 3 и обнаруживались у детей в обоих образцах стула [7].

Единственный случай с выделением ПВ в 2015 г. был выявлен в г. Минске у ребенка в возрасте 2 года 1 мес. Родители заболевшего обратились за медицинской помощью в связи с появлением у ребенка прихрамывания на правую ногу при ходьбе, после чего ребенок был госпитализирован с ди-

агнозом «невропатия правого малоберцового нерва». В обоих образцах стула, собранных на 3 и 4-й дни от начала заболевания, был обнаружен ПВ (37465/ПВ2/2015 и 37466/ПВ2/2015). Ребенок прививался в соответствии с календарем прививок и получил дозу ОПВ (вторая ревакцинация) за 5 дней до начала развития заболевания. В течение недели от начала паралича все клинические проявления у ребенка исчезли. При осмотре врачами-неврологами через 60 дней никаких неврологических нарушений выявлено не было.

При серотипировании обнаруженного ПВ в реакции нейтрализации с гипериммунными сыворотками к ПВ трех серотипов было показано, что данный вирус присутствует в образце в виде мотипа, относящегося к серотипу 2.

Молекулярно-генетическое исследование штаммов 37465/ПВ2/2015 и 37466/ПВ2/2015 с помощью ПДРФ-анализа, основанного на рестрикционном картировании двух дистальных областей генома ПВ, кодирующих основной структурный белок VP1 и белок вирусной 3D-полимеразы, представило убедительные данные о принадлежности выявленных вирусов к вакцинным и их гомотипичной организации генома.

При сравнении рестрикционных профилей штаммов с профилями рестрикции эталонных вакцинных штаммов Себина серотипов 1, 2 и 3 было показано, что профили рестрикции исследуемых штаммов по сайтам рестрикции HpaII, HaeIII и DdeI в области VP1 полностью соответствуют профилям рестрикции эталонных штаммов Себина серотипа 2, что подтверждает их вакцинное происхождение.

Согласно результатам, полученным в ПДРФ-3D1 при рестрикции эндонуклеазами *RsaI*, *HaeIII*, *DdeI*, серотип анализируемых штаммов полностью совпадал, что свидетельствовало о нереккомбинантной природе вирусов.

На основании результатов вирусологического, молекулярно-генетического изучения вирусов и динамического клинического наблюдения случай был классифицирован как ОВП неполиомиелитной этиологии.

Вся информация по результатам вирусологических исследований случаев ОВП в 2015 г. еженедельно представлялась в Европейское региональное бюро ВОЗ в формате базы данных по заболеваниям, сопровождающихся синдромом ОВП (Laboratory Data Management System, LDMS).

В соответствии с МКБ-10 и на основании клинико-лабораторных данных Республиканской комиссией по диагностике полиомиелита была проведена заключительная классификация случаев ОВП.

Все (61) случаи ОВП у детей до 15 лет, зарегистрированные в 2015 г., были классифицированы как паралитические заболевания неполиомиелитной этиологии. Преобладающими нозологическими формами являлись инфекционно-аллергические нейропатии и мононевропатии нижней конечности — 32,8 и 23,0% соответственно. В число других паралитических синдромов вошли поражения нервных сплетений, энцефаломиелиты и нейромиалгический синдром.

Таким образом, в Республике Беларусь в 2015 г. выявление и расследование заболеваний с синдромом ОВП проводилось своевременно и в соответствии с требованиями, определенными ВОЗ. В течении года был зарегистрирован 61 случай ОВП у детей в возрасте до 15 лет. Показатель регистрации случаев составил 4,0 на 100 тыс. детей и был более 1,0 на 100 тыс. во всех регионах страны.

Эпидемиологическое расследование всех случаев было проведено в первые сутки от начала заболевания. Образцы стула у 88,5% заболевших были собраны в первые 14 дней. В нескольких случаях причинами несвоевременного сбора образцов явилось позднее обращение родителей за медицинской помощью.

Все образцы стула от детей были своевременно и в удовлетворительном состоянии доставлены в НРЦП. При вирусологическом исследовании образцов от 1 ребенка из г. Минска были изолированы 2 штамма ПВ, от 2 детей из г. Минска и Гомельской области — 4 штамма аденовирусов. В «горячих» случаях ПВ выделены не были, от 1 непривитого ребенка был выделен аденовирус.

Молекулярно-генетическое исследование штаммов 37465/ПВ2/2015 и 37466/ПВ2/2015 показало, что они являлись вакцинными и не были генетически модифицированы. Ни одного дикого или ВРПВ обнаружено не было.

На основании полученных данных все случаи ОВП были классифицированы как ОВП неполиомиелитной этиологии. Ни в одном из случаев с выделением вирусов остаточных явлений, характерных для полиомиелита, у детей не выявлено.

Литература

1. ВОЗ. Полиомиелит [Электронный ресурс]: информ. бюлл. — 2016. — № 114. — Режим доступа: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs114/ru/>. — Дата доступа: 01.09.2016.
2. Global Polio Eradication Initiative. Data and monitoring [Electronic resource]. — Mode of access: <http://www.polioeradication.org/dataandmonitoring/poliothisweek.aspx>. — Date of access: 01.09.2016.
3. Изоляция полио- и неполиомиелитных вирусов от детей с синдромом острого вялого паралича при различных схемах иммунизации против полиомиелита / И.Ф. Ухова [и др.] // Современные проблемы инфекционной патологии человека: сб. науч. тр. / М-во здравоохран. Респ. Беларусь, НИИ эпидемиологии и микробиологии. — Минск: ГУ РНМБ, 2008. — Вып. 1. — С. 319–322.
4. Руководство по лабораторным исследованиям полиомиелита / ВОЗ. — Женева, 2005. — 112 с.
5. Adenovirus isolation rates in acute flaccid paralysis patients / О.Е. Ivanova [et al.] // J. Med. Virol. — 2012. — Vol. 84, № 1. — P. 75–80.
6. The natural genomic variability of poliovirus analyzed by a restriction fragment length polymorphism assay / J. Balanant [et al.] // Virology. — 1991. — Vol. 184, № 2. — P. 645–654.
7. Молекулярно-генетическая характеристика вирусов, изолированных от детей с синдромом острого вялого паралича в Беларуси в 2012–2015 гг. / И.Ф. Ухова [и др.] // Современные проблемы инфекционной патологии человека: сб. науч. тр. / М-во здравоохран. Респ. Беларусь, РНПЦ эпидемиологии и микробиологии. — Минск: ГУ РНМБ Минск, 2015. — Вып. 8. — С. 25–30. — 1 электрон. опт. диск (DVD-ROM).

CLINICAL EPIDEMIOLOGICAL AND VIROLOGICAL EXAMINATION OF CHILDREN WITH A SYNDROME OF ACUTE FLACCID PARALYSIS IN BELARUS IN 2015

Uhava I.F.¹, Samoilovich E.O.¹, Yermalovich M.A.¹, Svirchevskaya E.Yu.¹, Yasinskaya L.A.²

*¹State Institution “Republican Scientific & Practical Center of Epidemiology & Microbiology”,
Minsk, Republic of Belarus;*

²Educational Establishment “The Belarusian State Medical University”, Minsk, Republic of Belarus

In 2015 in Belarus registration of children with acute flaccid paralysis (AFP) syndrome and examination of 61 children with this syndrome were done with according to indicators of WHO. From two (3.3%) children were isolated adenoviruses, from a (1.6%) child — PV2. According to RFLP analysis polioviruses were vaccine strain with gomotypical genome organization. All AFP cases were classified as AFP of non-polio etiology.

Keywords: poliovirus, acute flaccid paralysis syndrome.

Поступила 06.09.2016

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ СЛЕЖЕНИЕ ЗА ЛЕГИОНЕЛЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

Ханенко О.Н.¹, Коломиец Н.Д.¹, Тонко О.В.¹, Романова О.Н.², Каранкевич М.В.³, Красько А.Г.⁴

¹Государственное учреждение образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования», Минск, Республика Беларусь;

*²Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь;*

*³Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр детской онкологии,
гематологии и иммунологии», Минск, Республика Беларусь;*

*⁴Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии
и микробиологии», Минск, Республика Беларусь*

Реферат. Сформулированы подходы по осуществлению эпидемиологического слежения за легионеллезной инфекцией с использованием научно обоснованной концепции предэпидемической диагностики, основанной на своевременном распознавании предпосылок и предвестников возникновения легионеллеза. Определены допустимые показатели уровней контаминации *Legionella pneumophila* водных систем. Представлена методология анализа эпидемиологических рисков, связанных с развитием нозокомиального легионеллеза.

Ключевые слова: легионеллезная инфекция, эпидемиологическое слежение, лабораторная диагностика, эпидемиологические риски.