

койко-дни $14 \pm 0,5$; в группе сравнения — $5 \pm 0,1$, $13 \pm 0,6$, $18 \pm 0,6$ дня соответственно). Доказательства патогенетической роли эндогенных токсинов (ЭТ) в генезе МИ явились основанием для рекомендаций обязательной пролонгированной инфузионной терапии при генерализованных формах МИ. Совершенствование инфузионной терапии проводилось у 19 пациентов с менингококковым менингитом путем применения внутривенно капельно физиологического раствора в сочетании с 5% раствором мексидола в дозе 5 мг/кг в сутки (ампула 2 мл—100 мг) в течение 5 дней. Группу сравнения составили 44 ребенка, сопоставимых по возрасту, клиническим формам и тяжести МИ, получавших физиологический раствор, рассчитываемый по возрасту и физиологической потребности. Наиболее оптимальная динамика ЭТ отмечена при назначении физиологического раствора и антигипоксанта мексидола, что объясняется комплексным протективным действием современных антигипоксантов, в том числе за счет активации метаболических процессов. Благодаря инфузионной терапии происходит быстрая элиминация ЭТ, что коррелирует с динамикой клинических проявлений МИ. Авторами установлен как ранний, так и поздний эффект усовершенствованной интенсивной терапии. Ранний эффект проявлялся достоверно более быстрой нормализацией сознания ($1,8 \pm 0,7$ сут), ускорением в 2,1 раза регресса очаговой неврологической симптоматики, сокращением в 1,6 раза продолжительности судорожно-коматозного статуса и сроков пребывания в реанимации до 4 ± 2 сут (группа сравнения 6 ± 2 сут). Поздний эффект характеризовался ускорением нормализации клинического анализа крови (8 ± 4 сут) и санации ЦСЖ (10 ± 2 сут) в отличие от группы сравнения (12 ± 4 и 16 ± 7 сут соответственно), а также снижением частоты неврологического дефицита при наблюдении в катамнезе через 3 мес на 28% (с 54% в группе сравнения до 26% в основной группе), что определяет перспективы совершенствования интенсивной терапии бактериальных гнойных менингитов у детей.

Выводы

1. МИ у детей отличается разнообразием клинических форм с преобладанием смешанных (до 40%), высокой частотой среди заболевших дошкольников и подростков, развитием атипичных вариантов течения, что связано с появлением редких серогрупп возбудителя.

2. В патогенезе МИ у детей важное значение имеют факторы эндогенной интоксикации, протеолиза и воспалительной реакции, коррелирующие с тяжестью основного заболевания и развитием шока и ОГМ, что предполагает их ключевую роль в поражении сосудистой стенки и повышении проницаемости ГЭБ с развитием интратекального воспаления.

3. В лечении МИ большое значение имеет как этиотропная, так и патогенетическая терапия, направленная на уменьшение эндотоксиновой агрессии и системной воспалительной реакции, в том числе и интратекальной, а также оптимизацию протеолитических процессов, что определяет пути совершенствования терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеева Л. А. Значение белков и пептидов цереброспинальной жидкости в клинической лабораторной диагностике и патогенезе нейроинфекционных заболеваний у детей: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — СПб., 2003.
2. Ветров В. В. // Эфферент. тер. — 2001. — Т. 7, № 1. — С. 4—7.
3. Дмитриев В. А., Ощепкова Е. В., Титов В. Н. // Тер. арх. — 2006. — № 5. — С. 86—89.
4. Зорин Н. А., Архипова С. В., Зорина В. Н. // Клин. мед. — 2006. — № 1. — С. 17—21.
5. Литвицкий П. Ф. // Вопр. соврем. педиатр. — 2006. — Т. 5, № 4. — С. 75—81.
6. Скрипченко Н. В. и др. // Педиатрия. — 2007. — № 1. — С. 101—115.
7. Сорокина М. Н., Иванова В. В., Скрипченко Н. В. Бактериальные гнойные менингиты у детей. — М., 2003.
8. Таболин В. А. и др. // Педиатрия. — 2001. — № 5. — С. 80—83.
9. Титов В. Н. // Клин. лаб. диагн. — 2004. — № 5. — С. 3—9.
10. Титов В. Н. // Клин. лаб. диагн. — 2008. — № 2. — С. 3—14.

Поступила 27.08.09

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2010

УДК 616.34-002-022.6-053.3-078

С. А. Боднев¹, В. В. Малеев², Е. В. Жираковская¹, Т. Э. Юн¹, А. Ю. Тикун¹, Н. А. Никифорова³, Т. Г. Корсакова³, В. В. Клемешева³, А. В. Качко¹, А. Т. Подколзин², Н. В. Тикун¹

НОРОВИРУСЫ КАК ЭТИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКТОР ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА В НОВОСИБИРСКЕ

¹ФГУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии "Вектор" Роспотребнадзора, пос. Кольцово, Новосибирская обл.; ²Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва; ³МУЗ Детская городская клиническая больница № 3, Новосибирск

С января по декабрь 2006 г. на наличие норовирусов 1-го и 2-го генотипов исследовано 1007 образцов фекалий у детей раннего возраста, госпитализированных в отделение кишечных инфекций ДГКБ № 3 Новосибирска. Установлено, что 12,4% проб содержали норовирусы, причем большинство из обнаруженных вирусов являлись норовирусами 2-й геногруппы (94,4%), при этом в 7,2% проб норовирусы были выявлены совместно с другими вирусными патогенами. Наблюдалась возрастная зависимость — 70% норовирусов были выделены от детей в возрасте от 6 мес до 15 лет. Зафиксирован подъем заболеваемости в декабре 2006 г., когда норовирусы

выявлялись в 39% проб, что позволило им выйти на первое место, опередив традиционно более распространенную ротавирусную инфекцию. У 20 изолятов норовирусов проведено определение нуклеотидной последовательности 5'-области гена, кодирующего белок капсида. Показано, что исследованные изоляты оказались очень близкими и различались не более чем на 4,5% нуклеотидной последовательности.

Ключевые слова: кишечные инфекции, острые гастроэнтериты, норовирусы, ротавирусы, генотипирование

S. A. Bodnev¹, V. V. Maleyev², Ye. V. Zhirakovskaya¹, T. E. Yun¹, A. Yu. Tikunov¹, N. A. Nikiforova³, T. G. Korsakova³, V. V. Klemesheva³, A. V. Kachko¹, A. T. Podkolzin², N. V. Tikunova¹

NOROVIRUSES AS AN ETIOLOGICAL FACTOR OF ACUTE ENTERIC INFECTIONS IN NOVOSIBIRSK INFANTS

¹"Vektor" State Research Center of Virology and Biotechnology, Russian Inspectorate for the Protection of Consumer Rights and Human Welfare, Settlement of Koltsovo, Novosibirsk Region; ²Central Research Institute of Epidemiology, Russian Inspectorate for the Protection of Consumer Rights and Human Welfare, Moscow; ³Children's City Clinical Hospital Three, Novosibirsk

A total of 1007 fecal samples from the infants admitted to the unit of enteric infections, Children's City Clinical Hospital Three, Novosibirsk, were tested for genotypes 1 and 2 noroviruses in January to December 2006. It was ascertained that 12.4% of the samples contained noroviruses, most of the detected viruses being genotype 2 noroviruses (94.4%); noroviruses along with other viral pathogens were found in 7.2% of the samples. There was an age-related association - 70% of the noroviruses were isolated from infants aged 6 to 18 months. There was a morbidity rise in December 2006 when noroviruses were identified in 39% of the samples, which allowed them to hold the lead, by ousting the traditionally more common rotavirus infection. Twenty norovirus isolates of noroviruses were tested for nucleotide sequence in the 5'-region of the gene encoding the capsid protein. The study isolates were shown to be very close and different in nucleotide sequence by not more than 4.5%.

Key words: enteric infections, acute gastroenteritis, noroviruses, rotaviruses, genotyping.

С января по декабрь 2006 г. на наличие норовирусов 1-го и 2-го генотипов исследовано 1007 образцов фекалий у детей раннего возраста, госпитализированных в отделение кишечных инфекций МУЗ Детской Городской клинической больницы (ДГКБ) № 3 Новосибирска. Установлено, что 12,4% проб содержали норовирусы, причем большинство из обнаруженных вирусов являлись норовирусами 2-й геногруппы (94,4%), при этом в 7,2% проб норовирусы были выявлены совместно с другими вирусными патогенами, наиболее часто норовирусы сочетались с ротавирусами, в 10 (1%) пробах совместно с норовирусами обнаружены бактериальные патогены, в 13 (1,3%) — как вирусные патогены, так и бактериальные. Наблюдалась возрастная зависимость — 70% норовирусов были выделены от детей в возрасте от 6 мес до 1,5 лет жизни. Зафиксирован подъем заболеваемости в декабре 2006 г., когда норовирусы выявлялись в 39% проб, что позволило им выйти на первое место, опередив традиционно более распространенную ротавирусную инфекцию, У 20 изолятов норовирусов проведено определение нуклеотидной последовательности 5'-области гена, кодирующего белок капсида. Показано, что исследованные изоляты оказались очень близки и различались не более чем на 4,5% нуклеотидной последовательности.

Острые кишечные инфекции (ОКИ) представляют одну из важных проблем современного здравоохранения как в развитых, так и в развивающихся странах [5, 7]. Спектр возбудителей, вызывающих развитие ОКИ, довольно широк: патогенные и условно-патогенные бактерии, простейшие, вирусы. Основными симптомами ОКИ, кроме сим-

птомов интоксикации, являются, как правило, тошнота, рвота и диарея, сопровождающиеся обезвоживанием. Данные симптомы наиболее выражены у детей раннего возраста, у которых вследствие незрелости системы гомеостаза наиболее часто возникают угрожающие жизни состояния. Прежде всего в фекальных пробах от детей с симптомами ОКИ выявляют ротавирусы, норовирусы, астровирусы, аденовирусы [2]. Однако в России ОКИ вирусной этиологии изучены недостаточно хорошо в связи с тем, что обследование пациентов с симптомами гастроэнтеритов проводится только на наличие бактериальных патогенов с использованием стандартных микробиологических методов, а также ротавирусов с помощью иммуноферментного анализа. В результате, по данным Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора (<http://www.fcgsen.ru/>), в 2004—2005 гг. в 69% проб от детей до 14 лет этиологический фактор заболевания не выявляется, и такие случаи относят к кишечным инфекциям неустановленной этиологии (КИНЭ).

Особое значение в этиологии ОКИ имеют норовирусы, входящие в состав семейства калицивирусов. Частота спорадических случаев ОКИ, вызванных норовирусами, невелика — 8—12% [9], однако, по данным зарубежных исследователей, более 80% вспышек ОКИ, зарегистрированных на территории Северной Америки, Юго-Восточной Азии и Европы, обусловлены этим патогеном [2]. Результаты исследований также показали, что норовирусы отличаются высокой генетической вариабельностью и способны формировать отдельные геногруппы и подгруппы. К настоящему времени описано пять геногрупп норовирусов [7, 8]. Для человека патогенными являются 1-я и 2-я геногруппы, причем 2-я геногруппа преобладает при вспышках ОКИ [6].

До недавнего времени проведение в России широких эпидемиологических исследований было затруднено из-за отсутствия простого чувствительно-го метода детекции норовирусов в клинических об-

Для корреспонденции:

Тикунова Нина Викторовна, д-р биологических наук, доц., зав. лаб. разработки средств экстренной профилактики ФГУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии "Вектор" Роспотребнадзора

Адрес: 630559 Новосибирская обл., пос. Кольцово
Телефон: (383) 336-51-50, e-mail: vector@vector.nsc.ru

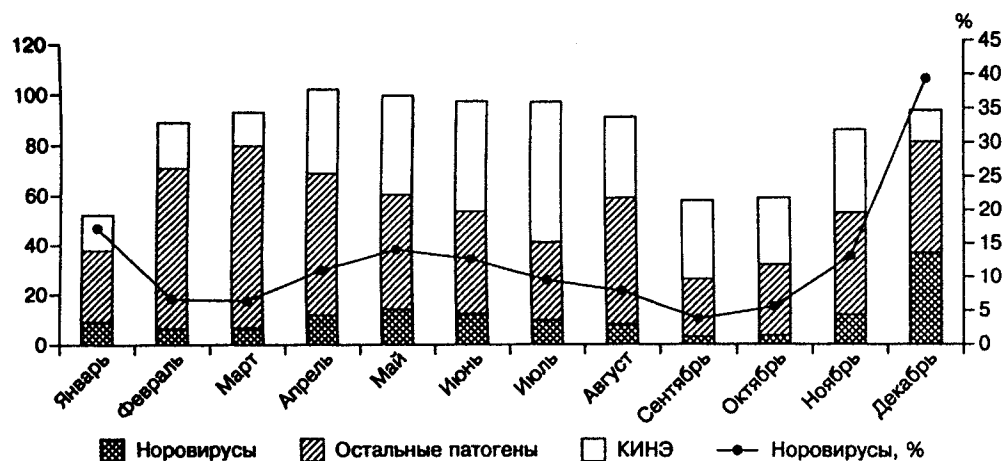


Рис. 1. Сезонная выявляемость норовирусов в пробах от детей до 3 лет, госпитализированных в ДГКБ № 3 Новосибирска с диагнозом ОКИ.

Здесь и на рис. 2: по оси ординат слева — количество исследованных проб, справа — процент выявленных норовирусов.

разцах. Разработанные в нашей стране молекулярно-биологические подходы, включая реакцию обратной транскрипции (ОТ) ПЦР, позволяют получить большое количество новой информации, касающейся эпидемиологии этих вирусов [1, 4].

Цель данного исследования — оценить вклад норовирусов в спорадическую заболеваемость ОКИ у детей раннего возраста в Новосибирске в 2006 г., а также определить генетическую вариативность циркулирующих вариантов возбудителя.

Материалы и методы

У детей до 3 лет, госпитализированных с диагнозом ОКИ в ДГКБ № 3 Новосибирска с января по декабрь 2006 г. включительно, при поступлении в стационар собирали образцы фекалий. Пробы хранили при -20°C , транспортировку проводили в условиях холодной цепи, длительное хранение осуществляли при -70°C . Всего было собрано 1007 проб.

Для установления этиологии ОКИ образцы тестировали на наличие норовирусов 1-го и 2-го генотипов, ротавирусов, астровирусов, аденовирусов, а также бактериальных (*Campylobacter spp.*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*) и энтеропатогенных (*Escherichia coli*) патогенов. Выделение РНК вирусов, реакцию ОТ и определение наличия патогенных вирусов и бактерий в образцах проводили с помощью наборов для ПЦР-диагностики производства ФГУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора согласно приложенной инструкции. В работе использовали амплификаторы "Терцик" производства НПО "ДНК-Технология". Детекцию продуктов амплификации осуществляли методом горизонтального электрофореза в 1,5% агарозном геле в трис-боратном буфере с бромидом этидия.

Генотипирование выявленных изолятов норовирусов проводили путем определения нуклеотидной последовательности 5'-области гена капсида длиной 400 н., расположенного на геноме в районе 5085—5485 н. Нуклеотидные последовательности определяли на секвенаторе Biogad. Дальнейший

анализ (выравнивание полученных последовательностей и филогенетический анализ) проходил с использованием программного обеспечения Vector NTI v.9 (<http://www.informaxinc.com/>) и Mega3 (<http://www.megasoftware.net/>). Праймеры для генотипирования были рассчитаны и синтезированы в Центральном НИИ эпидемиологии. В качестве референсных последовательностей из базы данных GenBank выбрали соответствующие нуклеотидные последовательности норовирусов, относящихся к определенным кластерам внутри геногруппы GI1 (X76716, AJ277608, AF195848, AY038599, AY130761).

На проведение данного исследования было получено одобрение этического комитета ФГУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии "Вектор" (регистрационный номер IRB0001360).

Результаты и обсуждение

Несмотря на то что в России практически отсутствуют данные о распространенности кишечных инфекций норовирусной этиологии, данный патоген, как показывают результаты наших исследований, является важным этиологическим фактором ОКИ у детей раннего возраста. Следует отметить, что все исследованные случаи госпитализации не были связаны эпидемически и, таким образом, рассматривались как случаи спорадических заболеваний.

Из 1007 изученных образцов норовирусы, ротавирусы, астровирусы и аденовирусы были выявлены в 437 (40,5%) пробах, бактериальные патогены — в 89 (8%). Норовирусы занимали второе место по встречаемости после ротавирусов и были обнаружены в 125 (12,4%) пробах, из них 117 (94,4%) изолятов являлись норовирусами 2-го генотипа. В 8 пробах от больных ОКИ выявлены норовирусы 1-го генотипа, в 1 пробе — норовирусы обоих генотипов. В 364 (36,2%) пробах ни один из вышеперечисленных патогенов выявить не удалось.

В 55 (5,5%) пробах из 1007 образцов норовирусы определялись как единственный патоген. В 73

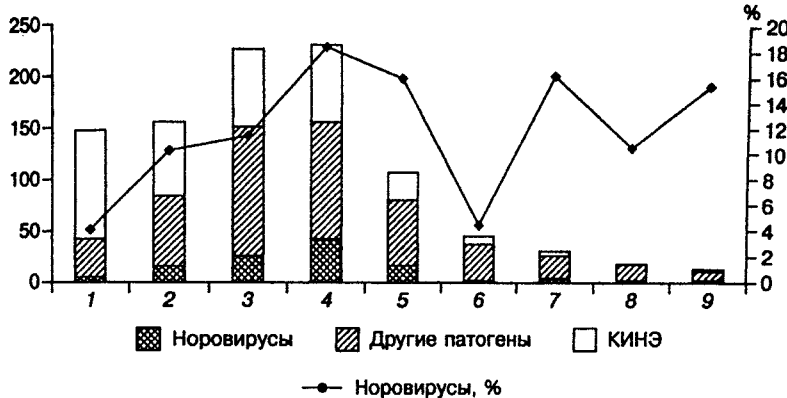


Рис. 2. Количество и процент выявленных норовирусов в разных возрастных группах детей до 3 лет, находившихся в 2006 г. на лечении в ДГКБ № 3. Новосибирска. 1—0—2 мес; 2—3—5 мес; 3—6—8 мес; 4—9—11 мес; 5—1 год—1 год 2 мес; 6—1 год 3 мес—1 год 5 мес; 7—1 год 6 мес—1 год 8 мес; 8—1 год 9 мес—1 год 11 мес; 9—2 года—2 года 11 мес.

(7,2%) пробах норовирусы выявлялись в сочетании с другими вирусами, при этом наиболее часто они сочетались с ротавирусами, видимо, вследствие более частой встречаемости последних. В 10 (1%) пробах совместно с норовирусами обнаружены и бактериальные патогены. В 13 (1,3%) пробах вместе с норовирусами выявлены как вирусные, так бактериальные патогены. Вероятно, при сочетанной инфекции имело место одновременное инфицирование несколькими патогенами, однако нельзя исключить и развитие заболевания одной этиологии на фоне бессимптомного носительства другого возбудителя, например, после перенесенной ранее инфекции. Возможно, что при наличии более 1 патогена в пробе заболевание протекало в более тяжелой форме, требуя госпитализации пациента. Этим может быть объяснено преобладание проб, где норовирусы сочетались с другими инфекционными агентами.

Количество выявленных в пробах норовирусов изменялось в течение всего 2006 г. (рис. 1). Во II квартале наблюдался небольшой подъем, и среднемесячный показатель распространенности норовирусов составил от 10 до 14%. В сентябре доля выявленных норовирусов составила 3,2% (это наиболее низкий показатель в течение всего 2006 г.). Неожиданными оказались данные, согласно которым в ноябре и декабре норовирусы по распространенности заняли первое место, опережая более распространенную, особенно в зимний период, ротавирусную инфекцию. В декабре норовирусы выявлялись в 39,1% проб (это наиболее высокий показатель за весь исследуемый период, более чем в 3 раза превышающий среднее значение за весь 2006 г. (12,4%). Возможно, что увеличение встречаемости норовирусов оказалось началом вспышки норовирусной инфекции, продолжающейся в 2007 г., однако для подтверждения этого предположения необходимы дальнейшие исследования.

При изучении возрастного распределения пациентов, у которых были обнаружены норовирусы, также выявлены свои особенности (рис. 2). Так, 92,8% проб, в которых определялись норовирусы, получены от детей в возрасте до 1,5 лет (108 образцов).

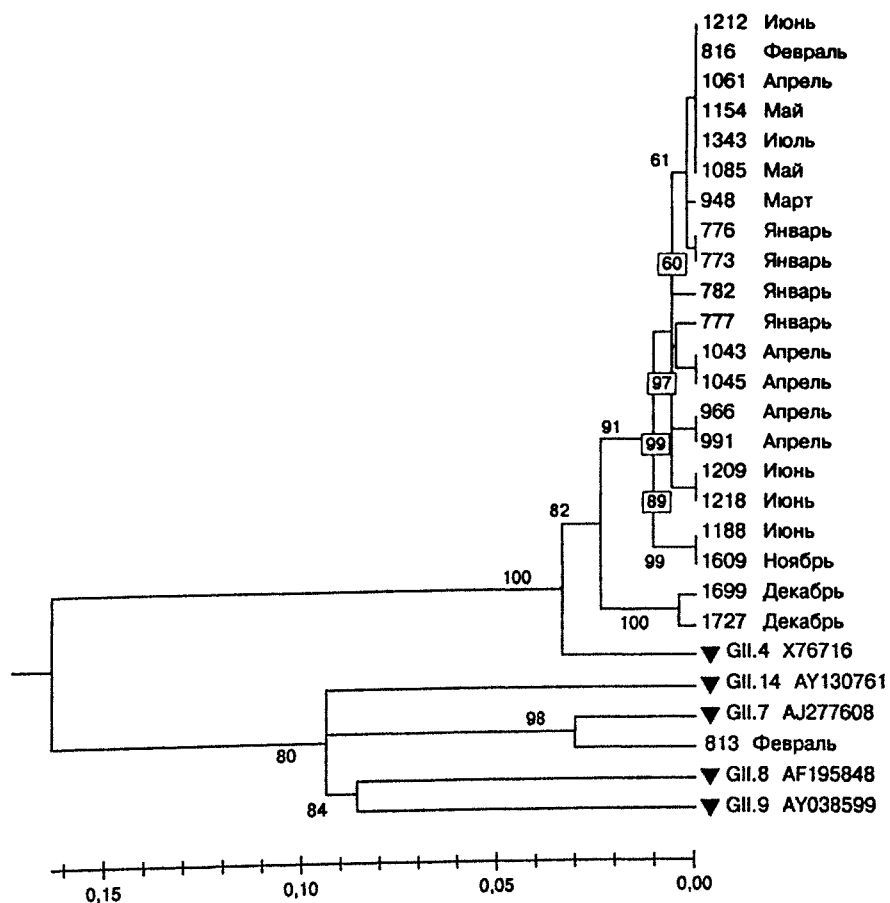


Рис. 3. Филогенетическое древо, построенное методом ближайших соседей с бутстреп-индексом 1000 на основе 27 нуклеотидных последовательностей 5'-участка гена капсида норовирусов 2-й геногруппы (400 н.). Приведены наиболее близкие филогенетически к исследованным изолятам референсные последовательности. На рисунке указаны номер изолята в базе данных, а также индекс доступа в GenBank для референсных последовательностей; внизу — шкала дивергенции, отражающая количество замен на сайт.

В этот возрастной период встречаемость норовирусов составила 12%, что практически соответствует средневозрастным показателям за исследуемый период. Показанная на рис. 2 тенденция увеличения доли норовирусов у детей от 1,5 до 3 лет также требует интерпретации с учетом того, что этих детей значительно меньше, чем детей более раннего возраста (6,3%), и госпитализированы были те, кто находился в среднетяжелом или тяжелом состоянии. В этой группе пациентов норовирусы были обнаружены в 14,3% проб, причем в большинстве случаев ОКИ выявлялись совместно с другими патогенами, что свидетельствовало о наличии сочетанной инфекции и, возможно, усугублении степени тяжести заболевания по сравнению с таковой при моноинфекции.

В возрастной группе до 3 мес включительно, состоящей из 186 (18,5% всех госпитализированных детей за 2006 г.) больных, норовирусы обнаружили всего в 4,1% проб. Следует отметить, что у этих детей вирусные и бактериальные патогены были выявлены методом ПЦР только в 64 (35,5%) пробах, а в остальных 122 пробах этиологический фактор определить не удалось. При анализе данных бактериологических посевов, проведенных в клинической лаборатории стационара, установили, что из 122 отрицательных проб в 40 (21,5%) образцах высеивались представители условно-патогенной микрофлоры с преобладанием *Staphylococcus aureus* и *Enterobacter cloacae*, а также миксткультуры, включавшие *E. cloacae*, *E. agglomerans*, *Enterococcus durans*. В 82 (44%) случаях при наличии клинической картины ОКИ этиологический агент не выявлен ни одним из используемых диагностических методов. Возможно, что причиной заболевания в этих случаях являлись другие, неидентифицированные в данном исследовании патогены. Кроме того, у детей данного возраста диарея может быть спровоцирована неустановленными в настоящее время патогенами, состоянием дисбактериоза или нерациональным вскармливанием. Таким образом, в группе пациентов до 3 мес с симптомами ОКИ заболевание носит многофакторный характер и может быть вызвано различными причинами инфекционного и неинфекционного генеза.

Наибольшее распространение имели норовирусы 2-го генотипа, поэтому анализ нуклеотидных последовательностей провели для изолята 21 этого генотипа. Филогенетическое древо, построенное

методом объединения ближайших соседей при анализе нуклеотидных последовательностей 5'-области гена капсидного белка эталонных штаммов, которые описаны в литературе, и соответствующих последовательностей 20 исследованных норовирусов 2-го генотипа, полученных в данной работе, приведено на рис. 3. Исследуемые изоляты оказались очень близкими и различались не более чем на 4,5% нуклеотидной последовательности (получено путем ручного расчета средних значений). Исключение составил изолят 813 (см. рис. 3), который был наиболее близок к кластеру GII.7. Остальные 19 изолятов формировали разнородную ветку, наиболее близкую к кластеру GII.4, являющемуся, по данным зарубежных исследователей [3, 8], основным источником вспышек норовирусной инфекции. Следует отметить, что 2 исследованных изолята, 1699 и 1727, выделенных в декабре, когда встречаемость норовирусов превысила 40%, наиболее отличались от 19 изолятов общего кластера (см. рис. 3).

Таким образом, результаты проведенного исследования показывают, что норовирусы являются одной из значимых этиологических причин в развитии ОКИ у детей раннего возраста при спорадической заболеваемости. При этом наиболее уязвимыми оказались дети в возрасте от 5 мес до 1,5 лет. Наибольшее распространение имели норовирусы 2-го генотипа. Большинство исследованных изолятов оказались очень близкими и различались не более чем на 4,5% нуклеотидной последовательности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каджаева Э. П., Горелов А. В., Усенко Д. В. и др. // Инфекц. бол. — 2006. — Т. 3, № 2. — С. 34–36.
2. Fankhauser R., Monroe S., Noel J. et al. // J. Infect. Dis. — 2002. — Vol. 186. — P. 1–7.
3. Ho E., Cheng P., Wong D. et al. // J. Med. Virol. — 2006. — Vol. 78. — P. 1473–1479.
4. Jiang X., Wang J., Graham D. et al. // J. Clin. Microbiol. — 1992. — Vol. 30. — P. 2529–2534.
5. Lopman B., Reacher M., Duijnhoven Y. et al. // Emerg. Infect. Dis. — 2003. — Vol. 9. — P. 90–96.
6. Maunula L., Von Bonsdorff C. // J. Clin. Virol. — 2005. — Vol. 34. — P. 186–194.
7. Mead P., Slutsker L., Dietz V. et al. // Emerg. Infect. Dis. — 1999. — Vol. 5. — P. 607–625.
8. Medici M., Martinelli M., Abelli L. et al. // J. Med. Virol. — 2006. — Vol. 78. — P. 1486–1492.
9. O'Ryan M., Mamani N., Gaggero A. et al. // J. Infect. Dis. — 2000. — Vol. 182. — P. 1519–1522.

Поступила 07.08.08