

Надзор за ротавирусной инфекцией по данным госпитализации в отдельных городах РФ за 2005–2007 гг.

А.Т.Подколзин¹, Е.Б.Фенске¹, Н.Ю.Абрамычева¹, Г.А.Шипулин¹, О.И.Сагалова², В.Н.Мазепа³, Г.Н.Иванова⁴, З.Г.Тагирова⁵, М.Н.Алексеева⁶, В.П.Молочный⁷, В.В.Малеев¹, В.И.Покровский¹

¹Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва;

²Челябинская государственная медицинская академия;

³Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н.Блохиной;

⁴Областная инфекционная клиническая больница, Тюмень;

⁵Дагестанская государственная медицинская академия, Махачкала;

⁶Якутская городская клиническая больница;

⁷Дальневосточный медицинский университет, Хабаровск

Для предварительной оценки эффективности применения ротавирусных вакцин на различных территориях РФ изучалась распространенность ротавирусов гр. А и проводилась антигенная характеристика их изолятов. Ротавирусы гр. А выявлялись при проведении работы по изучению этиологии острых кишечных инфекций в различных городах РФ. С 2005 по 2007 годы было обследовано 3208 детей и 1354 взрослых пациентов, госпитализированных в стационары Москвы, Н. Новгорода, Челябинска, Тюмени, Хабаровска, Махачкалы, Якутска. Выявление ротавирусов гр. А, ротавирусов гр. С, норовирусов 1 и 2 генотипов, саповирусов, астровирусов, аденовирусов гр. F, шигелл и EIEC, сальмонелл и термофильных кампилобактерий проводилось с применением ПЦР. Частота выявления ротавирусов гр. А среди детей составила 40,1%, в том числе у детей до 5 лет – 43,3% и среди взрослых пациентов – 8,2%. Были установлены [P]G генотипы 589 штаммов. Частота выявления наиболее распространенных генотипов составила P[8]G1 – 46%, P[8]G4 – 38%, P[8]G3 – 6%, P[4]G2 – 10%. В связи с большой географической удаленностью регионов, в которых проводилось исследование, выявлены существенные различия в распределении генотипов ротавирусов гр. А на территории РФ.

Ключевые слова: ротавирус, дети, взрослые

Rotavirus infection control according to hospitalization data in several cities of the Russian Federation in 2005–2007

A.T.Podkolzin¹, E.B.Fenske¹, N.Yu.Abramycheva¹, G.A.Shipulin¹, O.I.Sagalova², V.N.Mazepa³, G.N.Ivanova⁴, Z.G.Tagirova⁵, M.N.Alekseyeva⁶, V.P.Molochny⁷, V.V.Maleyev¹, V.I.Pokrovskiy¹

¹Central Research Institute of Epidemiology, Federal Supervision Service for Control of Consumer Rights and People's Welfare, Moscow;

²Chelyabinsk State Medical Academy;

³Nizhny Novgorod Academician I.N.Blokhin Research Institute of Epidemiology and Microbiology;

⁴Regional Infectious Clinical Hospital, Tyumen;

⁵Dagestan State Medical Academy, Makhachkala;

⁶Yakutsk Municipal Clinical Hospital;

⁷Far Eastern Medical University, Khabarovsk

For a preliminary evaluation of the efficacy of using rotavirus vaccines at different territories of the Russian Federation the incidence of group A rotaviruses was studied and an antigenic identification of their isolates was performed. Group A rotaviruses were detected when studying the etiology of acute enteric infections at several cities of Russia. From 2005 to 2007, 3208 children and 1354 adults admitted to hospitals of Moscow, Nizhny Novgorod, Chelyabinsk, Tyumen, Khabarovsk, Makhachkala, Yakutsk were examined. Group A rotaviruses, group C rotaviruses, noroviruses genotypes 1 and 2, sapoviruses, astroviruses, group F adenoviruses, Shigella and EIEC, Salmonella and thermophilic Campylobacteria were detected by PCR. The incidence rate of gr.A rotaviruses among children was 40.1%, including among children younger than 5 years – 43.3% and among adult patients – 8.2%. [P]G genotypes of 589 strains were detected. The incidence rate of the most common genotypes was as follows: P[8]G1 – 46%, P[8]G4 – 38%, P[8]G3 – 6%, P[4]G2 – 10%. Due to a great geographic distance between the regions where the study was carried out considerable differences in the distribution of group A rotaviruses genotypes on the territory of the Russian Federation were found.

Key words: rotavirus, children, adults

Ротавирусная инфекция во всем мире является наиболее распространенной причиной острых гастроэнтеритов у детей [1–3]. Особенно большой социально-экономический ущерб приносит ротавирусная инфекция в государствах с ограниченными возможностями предоставления своевременной медицинской помощи детям [4, 5]. Существующие в различных государствах различия в особенностях регистрации случаев ротавирусной инфекции среди амбулаторных и госпитализированных пациентов затрудняют объективную оценку бремени данной инфекции. По этой причине ряд государств принимает участие в программе по оценке бремени ротавирусной инфекции, разработанной ВОЗ [6]. С 2005 г. Центральный институт эпидемиологии (Москва) принимал участие в реализации международного проекта, посвященного изучению эпидемиологии вирусных гастроэнтеритов на территории РФ. Данное исследование имело формат, который отличался от рекомендуемых ВОЗ алгоритмов оценки бремени ротавирусной инфекции. Эти различия прежде всего отражались в критериях выбора стационаров, на базе которых проводилось исследование, а также в обследовании только госпитализированных пациентов. Однако результаты, полученные в ходе его выполнения, могут представлять определенный интерес, особенно в связи с небольшим количеством публикаций, посвященных изучению ротавирусной инфекции с применением современных методов на различных территориях РФ.

Пациенты и методы

Регионы наблюдений. В исследование были включены пациенты, госпитализированные в инфекционные стационары различных городов РФ с острыми кишечными инфекциями. Для получения более полного представления об особенностях ротавирусной инфекции на протяженной территории РФ исследование проводилось в удаленных друг от друга городах – Москве, Махачкале, Санкт-Петербурге, Н. Новгороде, Тюмени, Челябинске, Хабаровске и Якутске. Почти во всех указанных городах существовало несколько крупных стационаров, обслуживающих население на одной территории. Проводился круглогодичный сбор материала от госпитализированных пациентов.

Критерии включения в исследование. В исследование были включены пациенты, госпитализированные в инфекционные стационары при наличии любых случаев диареи > 3 раз и/или рвоты за 24 ч до госпитализации. По всем пациентам собиралась эпидемиологическая информация, данные клинических и лабораторных исследований. Группу сравнения (379 человек) составили лица, не имевшие в анамнезе на протяжении двух недель повышения температуры, диарейной симптоматики и рвоты.

Сбор клинического материала. Фекалии пациентов собирали в первый день госпитализации. Хранение образ-

цов фекалий проводилось в буфере с добавлением 20% глицерола. В условиях стационаров материал сохранялся при T –15–20°C. Максимальная длительность хранения образцов в этих условиях составляла 30–40 дней. Для проведения лабораторных исследований материал транспортировался в условиях холодной цепи с последующим хранением при T –70°C.

Лабораторная диагностика ротавирусной инфекции. Для проведения скрининговых исследований использовались комплекты реагентов АмплиСенс (ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, РФ). Образцы, собранные в 2005–2006 гг. в Москве и Челябинске, исследовались с применением ПЦР тест-систем с электрофоретической детекцией для выявления ротавирусов гр. А, норовирусов 1 и 2 генотипов, астро-вирусов, аденовирусов, сальмонелл, шигелл и EIEC и термофильных кампилобактерий. Образцы, собранные в эти годы других городах, а также все образцы, собранные с 2007 года, исследовались с применением ПЦР тест-системы «АмплиСенс®ОК1 скрин» (ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, РФ) для мультиплексной детекции ротавирусов гр. А, норовирусов 2 генотипа, астровирусов, аденовирусов гр. F, сальмонелл, шигелл и EIEC и термофильных кампилобактерий с флуоресцентной *end-point* детекцией с применением специфических зондов в формате *TaqMan beacons*. Второй раунд тестирования использовался при отрицательных результатах скрининга и включал выявление ротавирусов гр С и саповирусов [7, 8].

Для проведения [P]G генотипирования ротавирусов гр. А использовалась методика с флуоресцентной *end-point* детекцией, позволяющая выявлять наиболее распространенные [P] 4,8 и G 1,2,3,4 генотипы ротавирусов гр. А. В данной методике были использованы типоспецифические *revers* праймеры 2T1, 1-T1, 9T4, 9T2, 9T3P, описанные ранее и дополненные оригинальными *forward* праймерами и спе-

Таблица 1. Нуклеотидные последовательности праймеров и зондов

Праймер/ зонд	Последовательность а (5' to 3')	[P]G тип	
4P385	GAG AAT AAG CAG TTT AAC GTA GA	P[4]	379-401 (M32559)
2T1	CTA TTG TTA GAG GTT AGA GTC	P[4]	494-474 (M32559)
P4z	(R6G) CAC TCT GAC TAC TAC CTT TAA ACA GAG CG (BHQ1)	P[4]	456-428 (M32559)
8P214	CCT TAT CAR CCT ACT ACA TTT AC	P[8]	210-232 (M21014)
1-T1m	GTA TCT ACT GGA TTA ACG TGC	P[8]	336-356 (M21014)
P8z	(Fam) GGA CTG CAG TCR TTG CTG TTG AAC AGT CC (RTQ)	P[8]	314-342 (M21014)
1G86	GAT ATC AAT CAT TCT ACT CAA C	G1	87-108(M21843)
1G310	GAT TTG AGT ACT TGC TTC AGT	G1	327-307(M21843)
G1z	(R6G) CTG AGC TTT AGT YAA GGC AAA TAA TGC TCA G (BHQ1)	G1	201-171(M21843)
9T4	GGG TCG ATG GAA AAT TCT	G4	423-440(D86284)
4G319	CCA ACT CAA ATT AGT GAC AC	G4	707-726(D86284)
G4z	(Fam) CTG AAC YTG TCG GCC ATC CTT TGG TTC A (RTQ)	G4	395-368(D86284)
9T2	GTT AGA AAT GAT TCT CCA CT	G2	281-262 (U73947)
2G170	CTC TGA TAT CAC CAT TTG TG	G2	173-192(U73947)
G2z	(Fam) CAG CGT CTA GTG ATC CCG TTA TTG GCG CTG (RTQ)	G2	244-213(U73947)
9T3P	GTC CAG TTG CAG TGT AGC	G3	501-484(AF161823)
3G276	CCT AAC TTC GAC TTT ATG TT	G3	276-295(AF161823)
G3z	(R6G) TAC CCA ACT GAA GCA GCA ACA GGG TA (BHQ1)	G3	300-325(AF161823)

а Обозначения нуклеотидов соответствуют системе номенклатуры IUPAC: R. A_G; Y. C_T; H. A_C_T; S. C_G; N. A_C_G_T; I. инозин.

Для корреспонденции:

Подколзин Александр Тихонович, кандидат медицинских наук, руководитель лаборатории эпидемиологии кишечных инфекций Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора

Адрес: 111123, Москва, ул. Новогиреевская, 3а
Телефон: (495) 672-1158

Статья поступила 02.09.2008 г., принята к печати 12.12.2008 г.

цифическими зондами в формате *TaqMan beacons* [9, 10]. В некоторых случаях для достижения лучших аналитических характеристик зондов при их синтезе использовались LNA модифицированные нуклеотиды. Нуклеотидные последовательности праймеров и зондов представлены в табл. 1.

При использовании данной методики [P]G типирования ротавирусов использовались генноинженерные положительные контроли, представлявшие клонированные в MS2 фаг участки VP4 и VP7 сегментов генома ротавирусов различных [P] и G типов.

Статистический анализ проводился с использованием программы SPSS для Windows (version 11.5; SPSS). Выбор олигонуклеотидов для [P]G типирования ротавирусов проводился с применением программы «Sarani» (Strand Genomics).

Результаты исследования и их обсуждение

За трехлетний период был исследован материал от 3208 детей и 1354 взрослых пациентов, госпитализированных в стационары [6]. Общая частота выявления различных патогенов представлена в табл. 2.

Среди госпитализированных детей, дети в возрасте до 6 мес составили 14,8%, от 6 мес до 2 лет – 50,8%, от 2 до 5 лет – 23,1% и от 5 до 14 лет – 11,3%. Возрастное распределение случаев ротавирусной инфекции среди пациентов представлено в табл. 3.

Максимальная доля госпитализированных пациентов с ротавирусной инфекцией наблюдалась в период с декабря по май, составляя в этот период от 40 до 60% (суммированные данные по всем возрастам за 2005–2007 гг.).

Таблица 2. Частота выявления патогенов у детей до 14 лет и взрослых пациентов

Патоген	Дети % (n = 3208)	Взрослые % (n = 1354)
Rotavirus гр. А	30,5	6,6
Norovirus 2	12,1	10,3
Norovirus 1	0,6	1,6
Astrovirus	1,2	2,2
Adenovirus	3,7	1,8
Shigella spp + EIEC	3,8	8,4
Salmonella spp.	5,0	11,4
Campylobacter spp	4,8	4,8
>1pathogens*	13,9	5,0
Неуточненный	23,5	46,7
Rotavirus гр. С**	0,6	0,7
Sapovirus**	0,2	0,6

* В данной группе пациентов ротавирусы среди детей выявлялись еще у 9,5% и у взрослых пациентов в 1,6%. Таким образом общая частота выявления ротавирусов у детей составила 40% и у взрослых – 8,5%.

** Выявление ротавирусов гр. С и саповирусов проводилось только в тех образцах фекалий, в которых не были выявлены другие патогены.

В группе сравнения из 379 пациентов были выявлены два образца фекалий, содержавших ротавирусы (один ребенок и один взрослый пациент).

Генотипы ротавирусов группы А. Было проведено исследование [P]G генотипов ротавирусов, циркулировавших в различных городах РФ с 2005 по 2006 гг. При использовании методики в таблице 4 приведены данные о распространенности четырех наиболее часто выявлявшихся [P]G генотипов ротавирусов в отдельных городах РФ. Доля изолятов с неопределенным [P] типом составила 1,4% и с неопределенным G типом – 2,8%.

Проведенная работа позволила получить интересные данные о роли ротавирусов группы А в развитии клинически выраженных, требующих госпитализации форм гастроэнтеритов на территории РФ не только среди детей, но и среди взрослых пациентов.

Проведенное исследование показало, что ротавирусы группы А в различных городах РФ выявлялись у детей в возрасте до 5 лет с частотой 43,3%. Эти данные близки к результатам, полученным в ряде работ, выполненных на территориях других стран [11].

При этом мы могли сопоставить частоту выявления ротавирусов группы А среди пациентов в Москве в 2005–2007 гг. с результатами нашей более ранней работы, выполненной в 2002–2003 гг. [7]. У детей в возрасте до 5 лет в 2002–2003 гг. ротавирусы гр. А выявлялись в 45,9% (740 из 1613 обследованных) за период 2005–2007гг. – в 42,7% (518 из 1212 обследованных) (данные не показаны).

При анализе возрастной структуры заболевших, отмечался довольно высокий кумулятивный процент в группе детей до одного года – 42%. Этот факт позволяет предполагать высокую интенсивность циркуляции ротавирусов, особенно с учетом выраженной сезонности этой инфекции на территории РФ. Однако на этот показатель могло оказать влияние включение в исследование только стационаров крупных городов.

Основная масса детей с ротавирусной инфекцией попадала в стационары на второй день болезни (среднее значение – 2,3, медиана – 2). На этот показатель также могло оказать существенное влияние проведение исследования в городских стационарах. Однако учитывая достаточно высокий процент городского населения в РФ (по данным 2002 г. – 72,9% с тенденцией к росту этого показателя) полученные данные достаточно репрезентативны для страны в целом.

При выявлении доминирующих [P]G типов ротавирусов доля редких типов оказалась небольшой. Детекция наиболее распространенных 4, 8 [P] типов и 1,2,3 и 4 G типов позволяла проводить типирование 98,6 и 97,2% изолятов соот-

Таблица 3. Возрастное распределение случаев ротавирусной инфекции у пациентов различных возрастных групп

Возраст (месяцы/годы)	Кол-во пациентов с диареей любой этиологии	Кол-во пациентов с ротавирусной диареей	% пациентов с ротавирусной диареей (все возраста)		% пациентов с ротавирусной диареей (дети до 5 лет)	
			% в возрастной группе	накопительный %	% в возрастной группе	накопительный %
<6 м	473	153	10,9	10,8	12,4	12,4
7–12 м	834	376	26,9	37,8	30,5	42,9
13–24 м	800	387	27,7	65,5	31,4	74,2
25–36 м	405	184	13,2	78,7	14,9	89,1
37–60 м	335	134	9,6	88,3	10,9	100
5–14 г	363	53	3,8	92,1	-	-
14–20 г	203	18	1,3	93,3	-	-
20–40 г	678	47	3,4	96,7	-	-
>40 г	471	46	3,3	100	-	-

Таблица 4. Распространение генотипов ротавирусов, циркулировавших в различных городах РФ

	Москва	Челябинск	Челябинск	Тюмень	Махачкала	Хабаровск	Всего
	(дети)	(дети)	(взрослые)	(дети)	(дети)	(дети)	
	<i>n</i>	<i>n</i>	<i>n</i>	<i>n</i>	<i>n</i>	<i>n</i>	<i>n</i>
2005							
P[8]G1	7	22	3				32
P[8]G4	42	0	3				45
P[8]G3	10	0	0				10
P[4]G2	4	5	13				22
2006							
P[8]G1	3	17	2	64	1	9	96
P[8]G4	15	3	3	5	24	12	62
P[8]G3	1	0	0	9	0	4	14
P[4]G2	4	0	3	3	2	17	29
2007							
P[8]G1	38	18	36	36	4	12	144
P[8]G4	34	8	10	2	27	34	115
P[8]G3	8	0	0	1	0	1	10
P[4]G2	6	1	1	1	1	0	10
Всего (<i>n</i>)	172	74	74	121	59	89	589

ответственно. Однако сообщаемые в литературе данные о выявлении в различных регионах мира типов ротавирусов, не имевших ранее широкого распространения, требуют постоянного мониторинга доли таких изолятов среди циркулирующих штаммов ротавирусов. Особенного внимания требует проведение данной работы на тех территориях, где уже проводится активное применение ротавирусных вакцин.

Анализ результатов типирования позволяет говорить о существенных территориальных различиях в распространении антигенных типов ротавирусов (табл. 4). Для Москвы (2005–2006 гг.) и Махачкалы доминирующим типом являлся P[8]G4. Для регионов, расположенных восточнее (Уральский регион – Челябинск, Тюмень) – P[8]G1. Даже на протяжении короткого периода наблюдений можно отметить динамическое изменение доли ведущих типов ротавирусов в Москве, Хабаровске и Челябинске (взрослые пациенты). Интересен также факт одновременной независимой циркуляции на территории Челябинска штаммов, вызывавших преимущественно заболевания у детей (P[8]G1) и взрослых P[4]G2 в 2005 г.

Полученные результаты подтверждают необходимость дальнейшего продолжения исследований по изучению циркуляции различных типов ротавирусов гр А в РФ.

Благодарности

Данная работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта ISTC2935/BTEP58.

Никто из авторов не имеет конфликтов интересов или коммерческих ассоциаций, которые могли их вызвать.

Литература

1. Glass R.I., Kilgore P.E., Holman R.C., et al. The epidemiology of rotavirus diarrhea in the United States: surveillance and estimates of disease burden. *J Infect Dis* 1996; 174(Suppl 1): S5–11.
2. Glass R.I., Bresee J., Jiang B., Parashar U., Yee E., Gentsch J. Rotavirus and rotavirus vaccines. *Adv Exp Med Biol*. 2006; 582: 45–54. Review.
3. Parashar U.D., Gibson C.J., Bresse J.S., Glass R.I. Rotavirus and severe childhood diarrhea. *Emerg Infect Dis*. 2006; 12(2): 304–6.
4. Parashar U.D., Hummelman E.G., Bresee J.S., et al. Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. *Emerg. Infect. Dis*. 2003; 9: 562–72.
5. Fischer T.K., Viboud C., Parashar U., Malek M., Steiner C., Glass R., Simonsen L. Hospitalizations and deaths from diarrhea and rotavirus among children <5 years of age in the United States, 1993–2003. *J Infect Dis*. 2007; 195(8): 1117–25. Epub 2007 Mar 6.
6. Generic protocols for (i) hospital-based surveillance to estimate the burden of rotavirus gastroenteritis in children and (ii) a community-based survey on utilization of health care services for gastroenteritis in children. World Health Organization 2002.
7. Подколзин А.Т., Мухина А.А., Шипулин Г.А. и др. Изучение этиологии острых кишечных инфекций у детей, госпитализированных в инфекционные отделения стационаров Москвы. *Инфекционные болезни* 4(2): 85–91
8. Подколзин А.Т., Фенске Е.Б., Абрамчычева Н.Ю. и др. Сезонность и возрастная структура заболеваемости острыми кишечными инфекциями на территории РФ. *Терапевтический архив* 11: 10–6.
9. Gentsch J., 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; 30: 1365–73.
10. Gouvea V., Glass R.I., Woods P., Taniguchi K., Clark H.F., Forrester B., Fang Z.Y. Polymerase chain reaction amplification and typing of rotavirus nucleic acid from stool specimens. *J Clin Microbiol*. 1990; 28: 276–82.
11. Bresee J.S., Hummelman E., Nelson E.A.S., Glass R.I. Rotavirus in Asia: The Value of Surveillance for Informing Decisions about the Introduction of New Vaccines *J Infect. Dis*. 2005; 192 (Suppl 1): 1–5.

МЕЖДУНАРОДНАЯ МЕДИЦИНСКАЯ ПЕЧАТЬ

Новый высоковирулентный штамм *Clostridium difficile*

Согласно сообщению, опубликованному в ноябрьском номере журнала *Clinical Infectious Diseases* за 2008 г., в Нидерландах с 2005 г. наблюдается рост распространенности инфекций, вызванных *Clostridium difficile* риботип 078 (с 3 до 13%), в отличие от штаммов типа 027, выделение которых снизилось с 27 до 1%. По сравнению с пациентами, инфицированными *C. difficile* тип 027, пациенты, у которых выделялся штамм 078, были младше (67,4 vs 73,5 лет) и у них *C. difficile*-ассоциированные инфекции чаще расценивались как внебольничные (17,5 vs 6,7%, отношение шансов 2,98). В то же время частота возникновения тяжелой диареи (38,9 vs 40,0%) и атрибутивная летальность (3,8 vs 4,0%) были сопоставимыми между группами. Инфекции, вызванные типом 078, менее часто характеризовались осложненным течением по сравнению с заболеваниями, вызванными типом 027. По сравнению с пациентами, инфицированными другими типами, пациенты, инфицированные типом 078, чаще получали терапию фторхинолонами (29,4% vs 19,8%, отношение шансов 2,17). Штаммы 078 содержали гены токсинов А и В, бинарный токсин и фторхинолонам, регулирующий выработку токсина (tcdC), утративший 39 пар оснований, а также точечную мутацию в позиции 184, приводящей к остановке трансляции полипептидной цепи (т.н. стоп-кодон).

Goorhuis A., Bakker D., Corver J., et al.

Emergence of Clostridium difficile infection due to a new hypervirulent strain, polymerase chain reaction ribotype 078.

Clin Infect Dis. 2008; 47(9): 1162–70.

www.antibiotic.ru