

Т. Ю. Кондратьева, С. Б. Яцышина, Е. А. Демченко, А. В. Горелов, Г. А. Шипулин, В. В. Малеев, Н. А. Семина

ПЕРВЫЙ ОПЫТ ИЗУЧЕНИЯ МЕТАПНЕВМОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

ФГУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

Предпринята попытка изучения метапневмовирусной инфекции. Обследованы 1259 детей в возрасте от 1 мес до 14 лет, госпитализированных в стационары Москвы по поводу ОРЗ в течение 3 осенне-зимних сезонов. Установлена циркуляция метапневмовируса на территории Москвы, доля которого среди возбудителей ОРВИ составила 12,6% в осенне-зимний период 2002—2003 гг.

Ключевые слова: метапневмовирусная инфекция, дети

An attempt was made to study metapneumovirus infection. A total of 1259 children aged 1 month to 14 years, admitted to Moscow hospitals for acute respiratory disease (ARD) during three autumn-winter seasons, were examined. Circulation of metapneumovirus was established on the territory of Moscow. Its proportion among the causative agents of ARD was 12.6% in the autumn-winter period of 2002-2003.

Key words: metapneumovirus infection, children.

Острые респираторные заболевания (ОРЗ) по-прежнему остаются актуальной проблемой здравоохранения во всем мире, в том числе и в России. ОРЗ лидируют по уровню летальных исходов среди всех инфекционных болезней и ежегодно наносят огромный социальный и экономический ущерб [1]. Однако до настоящего времени этиология заболевания устанавливается лишь в небольшом числе случаев. В связи со вспышкой эпидемии SARS в 2002—2003 гг., а также с опасностью возникновения штаммов гриппа, высокопатогенных для человека, внимание исследователей к выяснению этиологии ОРЗ становится все более пристальным. Особый интерес вызывают возбудители, открытые в последние годы. К ним относятся метапневмовирус — hMPV (семейство Paramyxoviridae), коронавирусы человека HKU1 и NL63 (семейство Coronaviridae), бокавирус (семейство Parvoviridae).

hMPV был изолирован в Нидерландах в 2001 г. [15]. hMPV является членом семейства Paramyxoviridae, единственным представителем подсемейства Pneumovirinae, вызывающим заболевания у людей. Ближайшим родственником hMPV является пневмовирус птиц (Avian pneumovirus). Наиболее близким к hMPV представителем семейства Paramyxoviridae после пневмовируса птиц является респираторно-синцитиальный вирус.

В настоящий момент имеются публикации о повсеместном обнаружении hMPV (страны Европы и Азии, Северной и Южной Америки, Австралия). Данные серологических исследований, выполненных в Нидерландах, показывают, что почти каждый ребенок по достижении 5 лет хотя бы единожды был инфицирован hMPV; в результате исследования коллекции сывороток, собранных начиная с 1958 г., авторы предполагают, что вирус циркулирует в популяции по крайней мере 48 лет [15].

hMPV вызывает заболевания верхних и нижних дыхательных путей и встречается во всех возрастных группах. У взрослых практически здоровых людей вирус вызывает ОРЗ в легкой форме [3, 5, 17]. Тяжелые и среднетяжелые формы заболеваний, вызванных hMPV, отмечены преимущественно у детей первых лет жизни, у пожилых и у пациентов с иммунодефицитом. По данным разных авторов, hMPV обнаруживается в мазках из носа у детей с симптомами ОРЗ с частотой от 3 до 16% [4, 9, 10—13, 17]. В масштабном 25-летнем (1976—2001) ретроспективном исследовании детей, обратившихся за медицинской помощью с симптомами ОРЗ, проведенном в США, сообщается о круглогодичном выявлении hMPV с пиком в январе—марте [17].

Данные филогенетического анализа изолятов hMPV свидетельствуют о том, что существуют 2 основные генетические группы hMPV, условно названные А и В, каждая из которых в свою очередь разделяется на подгруппы 1 и 2 [10, 13, 16]. Такая закономерность сохраняется при анализе всех генов с большей или меньшей гомологией в зависимости от анализируемого гена [2, 7]. Деление на генетические группы А и В совпадает с делением на серогруппы А и В (по аналогии с RSV), однако различий по тяжести и форме течения заболеваний, вызванных разными серогруппами вируса, не установлено [3, 17].

В России отсутствуют какие-либо сведения о циркуляции, эпидемиологии и клинических проявлениях hMPV-инфекции, поэтому нами была предпринята попытка изучения этих вопросов.

Целью настоящей работы явилось определение вклада hMPV в структуру заболеваемости острыми респираторными вирусными инфекциями (ОРВИ) в период подъема заболеваемости.

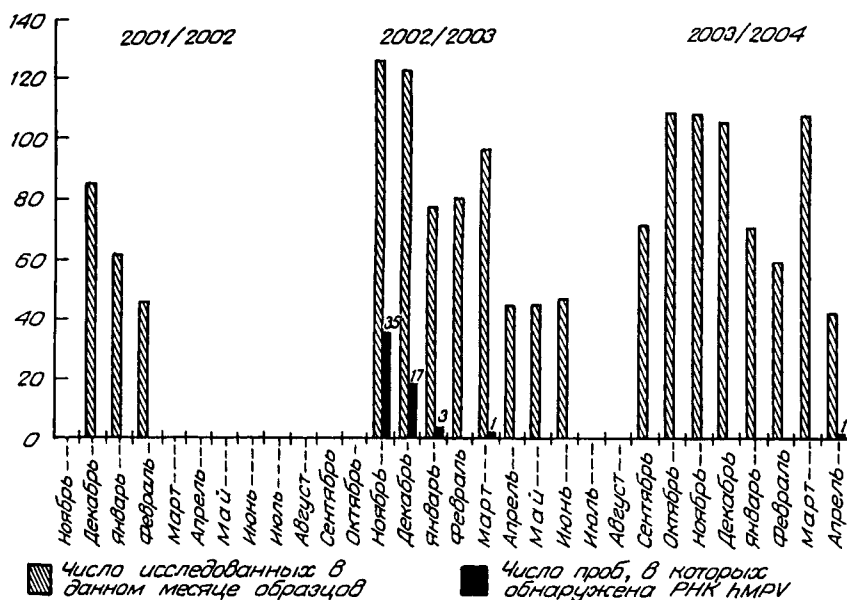


Рис. 1. Распределение hMPV-положительных проб по месяцам 2001–2004 гг. относительно числа исследованных образцов.

Материалы и методы

Всего были обследованы 1259 детей в возрасте от 1 мес до 14 лет, госпитализированных в стационары Москвы по поводу ОРЗ (отделение крупив и obstructивных бронхитов инфекционной клинической больницы № 1; отделение ОРВИ детской инфекционной больницы № 5). Клинический материал (мазки из носоглотки и ротоглотки) был собран в 1-е сутки пребывания пациентов в стационаре. Сбор материала проводили в следующие осенне-зимние периоды: декабрь 2001 г. — февраль 2002 г. (191 ребенок), ноябрь 2002 г. — март 2003 г. (446 детей), сентябрь 2003 г. — апрель 2004 г. (622 ребенка). Группу сравнения составили 59 детей без симптомов ОРЗ, находившихся в других отделениях этих же стационаров в ноябре 2003 г., январе и апреле 2004 г. Клинический материал хранился при -70°C.

Для выявления РНК hMPV человека была разработана методика на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизацией и детекцией флуоресценции в режиме реального времени (ПЦР-ФРВ). Экстракцию РНК и реакцию обратной транскрипции проводили с использованием наборов Рибо-сорб и Реверта-L производства ФГУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора. На основе последовательностей, представленных в GeneBank, были выбраны праймеры для амплификации участка генома hMPV. Мишенью для выявления hMPV являлся наиболее консервативный район — ген N, кодирующий нуклеопротеин. Предложенные праймеры образуют фрагмент длиной 320 пар нуклеотидов, в реакции использованы 2 олигонуклеотидных зонда типа TaqMan, модифицированные FAM-BHQ1. Используемая комбинация праймеров и зондов позволяла выявлять все представленные в настоящее время в GeneBank изоляты hMPV и не давала перекрестной реакции

с другими возбудителями ОРВИ (вирусы гриппа А и В, парагриппа типов 1–4, коронавирусы OC43 и 229E, риновирусы, аденовирусы). Аналитическая чувствительность ПЦР была определена методом лимитирующих разведений [14] плазмидной ДНК, содержащей фрагмент гена N hMPV, и составила 6 геномных эквивалентов в реакции ПЦР. ПЦР-ФРВ проводили на приборе Rotor Gene-3000 ("Corbett Research", Австралия).

Секвенирование продуктов ПЦР проводили с использованием набора ABI PRISM Big Dye™ Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction kit v.1.1 ("Applied Biosystems", США) согласно инструкции изготовителя с использованием ABI-3100 PRISM™ Genetic Analyzer ("Applied Biosystems", США).

Результаты и обсуждение

hMPV был обнаружен в 57 образцах (4,5% от всех протестированных). Пик циркуляции был зарегистрирован только в один осенне-зимний сезон — с ноября 2002 г. по март 2003 г. (рис. 1). Частота обнаружения hMPV у госпитализированных в осенне-зимний период 2002–2003 гг. детей была наибольшей и составила 12,6%. Единичный случай выявления hMPV был зарегистрирован в апреле 2004 г., что составляет 2,4% от всех образцов, протестированных за этот месяц.

hMPV был обнаружен у детей в возрасте от 1 мес до 11 лет (рис. 2). В 46 (80,7%) образцах из 57 положительных по hMPV была зарегистрирована моноинфекция, в 11 образцах (19,3%) наблюдалось одновременное выявление других возбудителей ОРВИ — респираторно-синциального вируса (4 образца), риновирусов (2 образца), аденовирусов (4 образца), коронавируса E229 (1 образец).

Клиническую картину заболевания удалось проследить у 51 пациента. Среди симптомов, отмечен-



Рис. 2. Частота обнаружения hMPV в разных возрастных группах (в процентах от числа детей данной возрастной группы, принявших участие в исследовании).

ных у детей с hMPV-инфекцией при поступлении в стационар, преобладали гиперемия зева (100%), фебрильная температура (66,7%), ринорея (82,4%), сухой кашель (82,4%). Физикальные изменения (хрипы в легких и жесткое дыхание) были отмечены у 64,7% детей. В некоторых случаях (15,7%) температура тела не повышалась, однако основанием для госпитализации являлась выраженная дыхательная недостаточность вследствие бронхообструкции. Большинство таких больных были пациентами отделения кругов и обструктивных бронхитов инфекционной клинической больницы № 1.

По тяжести течения подавляющее большинство случаев hMPV-инфекции (92,2%) было отнесено к ОРВИ средней тяжести.

У детей с hMPV-инфекцией выявлены следующие осложнения: обструктивный бронхит у 13 (25,5%), острый бронхит у 7 (13,7%), пневмония у 1 (2%) из 51 пациента, отит у 2 (3,9%) больных.

В группе сравнения у пациентов без катаральных явлений hMPV обнаружен у 1 из 59 детей.

Проведено секвенирование продуктов ПЦР, полученных при амплификации 10 образцов, собранных на протяжении ноября—декабря 2002 г. из двух разных стационаров, и образца, полученного в апреле 2004 г. Изоляты, обнаруженные в ноябре—декабре 2002 г., вошли в генетическую группу А, подгруппу 1, при этом уровень их генетической гомологии варьировал от 99,3 до 100%. Изолят апреля 2004 г. относится к подгруппе А2. Уровень гомологии между изолятами, относящимися к подгруппам А1 и А2, варьировал от 93,6 до 95,4%.

Проведено исследование фарингеальных и назофарингеальных мазков, собранных на протяжении 3 осенне-зимних периодов 2001/2002, 2002/2003 и 2003/2004 гг. Пик циркуляции hMPV был зарегистрирован только в I осенне-зимний сезон 2002/2003 гг. В осенне-зимний период 2001/2002 гг. циркуляция hMPV не наблюдалась, а в 2003/2004 гг. имелась единичная находка hMPV. Вероятно, данное обстоятельство было связано с преждевременным прекращением сбора материала в марте, тогда как по данным зарубежных публикаций пик циркуляции hMPV может приходиться на апрель—май [6, 9]. В то же время уровень заболеваемости hMPV-инфекцией может варьировать в разные годы [17].

В целом клиническая картина hMPV-инфекции, наблюдаемая у пациентов в ходе данного исследования, согласуется с описанной другими авторами. Различие состоит в том, что по данным других исследователей среди госпитализированных

детей hMPV значительно чаще вызывает заболевания нижних отделов респираторного тракта, в частности пневмонии [3, 8]. Малое число тяжелых форм hMPV-инфекции, обнаруженных в данном исследовании, может быть обусловлено тем, что в выборку нашего исследования не вошли дети, поступавшие в отделения реанимации и интенсивной терапии.

В группе сравнения hMPV обнаружен у 1 из 59 детей, что согласуется с данными литературы. J. V. Williams и соавт. [17] в г. Nashville (США) обнаружили hMPV у 1 из 86 детей без симптомов ОРЗ при исследовании мазков из носоглотки.

Таким образом, впервые была установлена циркуляция hMPV на территории Москвы, доля которого среди возбудителей ОРВИ составила 12,6% в осенне-зимний период 2002/2003 гг. Полученные данные свидетельствуют о значимости hMPV в развитии ОРЗ и о необходимости дальнейшего изучения вызванной им инфекции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Онищенко Г. Г. // Гиг. и сан. — 2003. — № 1. — С. 3—10.
2. Bastien N., Normand S., Taylor T. et al. // Virus Res. — 2003. — Vol. 93. — P. 51—62.
3. Bastien N., Ward D., Caesele P. et al. // J. Clin. Microbiol. — 2003. — Vol. 41, N 10. — P. 4642—4646.
4. Ebihara T., Endo R., Kikuta H. et al. // J. Clin. Microbiol. — 2004. — Vol. 42, N 1. — P. 126—132.
5. Falsey A. R., Criddle M. C., Walsh E. E. // J. Clin. Virol. — 2006. — Vol. 35. — P. 46—50.
6. Hiroshi Kashiva, Hiroyuki Shimozono, Shinichi Takao. // Jpn J. Infect. Dis. — 2004. — Vol. 57. — P. 80—82.
7. Ishiguro N., Ebihara T., Endo R. // J. Clin. Microbiol. — 2004. — Vol. 42, N 8. — P. 3406—3414.
8. König B., König W., Arnold R. et al. // J. Clin. Microbiol. — 2004. — Vol. 42, N 10. — P. 4632—4635.
9. Kuypers J., Wright N., Corey L., Morrow R. // J. Clin. Virol. — 2005. — Vol. 33. — P. 299—305.
10. Maertzdorf J., Wang C. K., Brown J. B. et al. // J. Clin. Microbiol. — 2004. — Vol. 42, N 3. — P. 981—986.
11. Mullins J. A., Erdman D. D., Weinberg G. A. et al. // Emerg. Infect. Dis. — 2004. — Vol. 10, N 4. — P. 700—705.
12. Osterhaus A. B., Fouchier R. // Lancet. — 2003. — Vol. 361. — P. 890—891.
13. Peret T. C., Boivin G., Li Y. et al. // J. Infect. Dis. — 2002. — Vol. 185. — P. 1660—1663.
14. Rodrigo A. G., Goracke P. C., Rowhanian K., Mullins J. I. // AIDS Res. Hum. Retrovirus. — 1997. — Vol. 13, N 9. — P. 737—742.
15. Van den Hoogen B. G., de Jong J. C., Groen J. et al. // Nat. Med. — 2001. — Vol. 7, N 6. — P. 719—724.
16. Van den Hoogen B. G., Herfst S., Sprong L. et al. // Emerg. Infect. Dis. — 2004. — Vol. 10, N 4. — P. 658—666.
17. Williams J. V., Harris P. A., Tollefson S. J. et al. // N. Engl. J. Med. — 2004. — Vol. 350. — P. 443—450.

Поступила 22.06.06