

Оценка уровня вируснейтрализующих антител к энтеровирусу 71 у детей в г. Екатеринбурге (2010–2017 гг.)

О. М. Оленькова*, Н. С. Субботина, В. В. Нечаева, Я. Б. Бейкин

МАУ «Клинико-диагностический центр», г. Екатеринбург

Резюме

Цель исследования: провести анализ результатов обследования детей с диагнозом «ЭВИ, менингеальная форма», поставленном в 2010–2017 гг. и оценить уровень выработки у детей вируснейтрализующих антител к энтеровирусу 71 (ЭВ 71) на фоне увеличения эпидемиологической значимости данного возбудителя. **Материалы и методы.** Материалом для вирусологического исследования служили носоглоточные смывы и пробы фекалий (2–3 пробы). Всего с 2010 по 2017 г. в работу были взяты клинические материалы от 3558 человек, госпитализированных в инфекционные отделения больниц г. Екатеринбурга. Энтеровирусы выделяли, используя метод заражения перевиваемых клеточных линий (RD, Нер-2 и L20B). Для серологических исследований (PH с эталонным штаммом ЭВ 71) были использованы парные пробы сывороток крови этих же пациентов ($n = 3336$), взятые с интервалом 14–21 день. **Результаты и обсуждение.** Процент положительных результатов (наличие специфических антител в титре 1:8 и выше) среди всех обследованных лиц в целом составил 35,5%. Удельный вес пациентов с наличием титров специфических антител к ЭВ 71 колебался от 41,9% (2013 г.) до 24,4% (2015 г.). Среди обследованных большинство было в возрасте от 1 до 14 лет ($n = 2634$). Наибольшее количество детей с наличием вируснейтрализующих антител к ЭВ 71 входило в возрастную группу 12 лет и старше (45,6%). У детей младшего возраста (3–7 лет) доля лиц, у которых в сыворотке крови выявлены антитела, составила 28,9%. **Выводы.** Результаты проведенных исследований подтверждают наличие циркуляции энтеровируса 71 типа на территории г. Екатеринбурга. Максимальный риск возможного инфицирования присутствует в возрастной группе детей от 1 года до 7 лет.

Ключевые слова: энтеровирусы, дети, вируснейтрализующие антитела, защитные титры

Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: Оленькова О. М., Субботина Н. С., Нечаева В. В. и др. Оценка уровня вируснейтрализующих антител к энтеровирусу 71 у детей в г. Екатеринбурге (2010–2017 гг.). Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2019; 18 (2): 84–88. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-2-84-88>.

Assessment of the Level of Virus Neutralizing Antibodies to Enterovirus 71 in Children in Ekaterinburg (2010–2017)

O. M. Olenkova**, N. S. Subbotina, V. V. Nechaeva, J. B. Beykin

Municipal autonomous institution «Clinical and diagnostic center», Ekaterinburg

Abstract

Aim of research. To analyze the results of the examination of children diagnosed with EVI, meningeal form in the period 2010–2017 and to assess the level of production of viral neutralizing antibodies to enterovirus 71 in children against the background of increasing epidemiological significance of this pathogen. **Materials and methods.** Nasopharyngeal flushes and faecal samples (2–3 samples) served as the material for virological research. In total for the period 2010–2017 into work were taken the clinical materials from 3558 people hospitalized in infectious diseases departments of hospitals of the city of Ekaterinburg. Enteroviruses were isolated using the method of infection of transplanted cell lines (RD, ner-2 and L20B). For serological studies (PH with reference strain EV71) were used paired serum samples of the same patients ($n = 3336$), taken at intervals of 14–21 days. **Results and discussion.** The percentage of positive results (the presence of specific antibodies in the titer 1:8 and above) among all the examined persons as a whole was 35.5%. Proportion of patients with of titers of specific antibodies to EV71 in the annual section ranged from 41.9% (2013) to 24.4% (2015). The maximum number among the examined patients ($n = 2634$) was children aged 1–14 years. The largest number of children with the viral neutralizing antibodies to EV-71 was in the group of patients 12 years and older (45.6%). In young children (3–7 years), the proportion of persons with serum antibodies was 28.9%. **Conclusion.** The results of our studies confirm the presence

* Для переписки: Оленькова Ольга Михайловна, к.м.н., заведующая лабораторией вирусологии Муниципального автономного учреждения «Клинико-диагностический центр», г. Екатеринбург, ул. 8-Марта-78-В, 620144. 8 (343)-205-82-59, 8-902-87-18174, oom@kdc-lab.ru. и др.

** For correspondence: Olenkova Olga Mikhailovna, Cand. Sci. (Med.), head of laboratory of Virology of Municipal Autonomous institution «Clinical diagnostic center», str. 8-Mar-78-V, Ekaterinburg 620144, Russia. +7 (343) 205-82-59, +7-902-87-18174, oom@kdc-lab.ru. ©Olenkova O. M. et al.

of type 71 Enterovirus circulation in the territory of Ekaterinburg. The maximum risk of possible infection is in the group of children in the age of 1–7 years.

Key word: enteroviruses, children, virus neutralizing antibodies, protective titers

No conflict of interest to declare.

For citation: Olenkova O. M., Subbotina N. S., Nechaeva V. V. et al. Assessment of the Level of Virus Neutralizing Antibodies to Enterovirus 71 in Children in Ekaterinburg (2010–2017). *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2019; 18 (2): 84–88 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-2-84-88>.

Введение

Энтеровирус 71 типа (ЭВ71, EV71) – нейротропный энтеровирус человека. Впервые ЭВ 71 выявлен в Калифорнии (США) в 1969 г. Он относится к роду *Enterovirus*, сем. *Picornaviridae*. Согласно современной классификации ЭВ 71 является энтеровирусом А человека (HEV-A). На основе сравнительного анализа нуклеотидной последовательности гена основного капсидного белка VP1 среди ЭВ 71 выделены четыре генотипа вируса (четыре независимых генетических линии) – А, В, С и D. Прототипный штамм ЭВ 71 *BrCr* отнесен к генотипу А, который представлен двумя субгенотипами А-1 и А-2. ЭВ 71А-1 был идентифицирован на территориях США, Японии, Болгарии, Венгрии в период до 1978 г. [1]. Начиная с 1980 г. на о. Тайвань, в Японии и Малазии стал циркулировать ЭВ 71А-2. Штаммы, изолированные в США и Австралии в 1972–1988 гг., в Колумбии в 1994 г., в Малазии и Японии в 1997 г., на Тайване в 1998 г. имели генотип В. Генотип С ЭВ 71 впервые был идентифицирован в США, Австралии и Китае в 1985 г. В Индии в 2003 г. впервые выделен генотип D от больного с HFMD (синдром рука – нога – рот – англ. hand, foot and mouth disease) [2].

На сегодняшний день большая часть существующих диагностических сывороток для идентификации ЭВ 71 изготовлена к прототипному штамму ЭВ 71 *BrCr*. Этот штамм антигенно несколько отличается от современных штаммов ЭВ 71. Сыворотки к штамму *BrCr* нейтрализуют современные штаммы ЭВ 71 и могут быть использованы для их идентификации в РН инфекционности, но их титр к циркулирующим штаммам может быть в 2–8 раз ниже, чем к штамму *BrCr*, вследствие антигенных различий прототипного и современных штаммов [3].

В России надзор за энтеровирусами осуществляется в рамках программы ВОЗ по ликвидации полиомиелита и энтеровирусного надзора в РФ и странах СНГ. ЭВ 71 выявляется наряду со всеми остальными энтеровирусами, т.е. непосредственный надзор за циркуляцией именно ЭВ 71 не ведется. Тем не менее, существуют данные, что в с 2000 по 2013 г. на территории РФ циркулировали субгенотипы С1 и С2 ЭВ 71, а в 2009 г. впервые выделен и с 2011 г. доминирует субгенотип С4. По данным молекулярно-эпидемиологического исследования, известно, что были случаи многократного заноса ЭВ 71 в Российскую

Федерацию. Наиболее близкородственные российским изолятам вирусы субгенотипов С1 и С2 выделены в Европе, субгенотип С4 – в Китае [4].

К сожалению, в России не изучены бессимптомная циркуляция ЭВ 71 и формирующийся в результате коллективный иммунитет. На основании имеющихся данных изучения энтеровирусных инфекций можно полагать, что ЭВ 71 циркулирует на территории нашей страны и вызывает спорадические случаи заболеваний, возможно даже с тяжелым течением и летальным исходом [1,3,5]. Есть данные, что связанных с ЭВ 71 вспышек на территории нашей страны зафиксировано не было [3]. Однако в мае–июне 2013 г. в Ростове-на-Дону произошла первая в России вспышка инфекции, вызванная энтеровирусом 71 типа. Молекулярно-эпидемиологическое изучение показало, что возбудителем данной вспышки был ЭВ 71 субгенотипа С4, отличавшийся на 1,8–2% нуклеотидной последовательности в области генома VP1 от вирусов, выделенных в Китае в 2010–2011 гг. [2]. В 2014 г. ЭВ 71-инфекция была диагностирована у 153 жителей Ростовской области, что связано с попаданием возбудителя в окружающую среду и формированием носительства [6].

В 2009–2011 гг. в ИПВЭ им. М. П. Чумакова была изучена сероэпидемиология ЭВ 71 в шести регионах Российской Федерации. Антитела к энтеровирусу 71 типа были выявлены у 5–20% детей в возрасте 1–2 лет и у 27–80% детей 3–5 лет. Доля серопозитивных лиц среди здоровых детей 1–2 лет в регионах России колебалась от 5% (Ростовская область) до 20% (Республика Тыва). Удельный вес серопозитивных лиц среди детей от 3 до 5 лет варьировал от 22–25% (Московская, Свердловская и Ростовская области) до 41–45% (Республика Саха (Якутия), Хабаровский край) и 83% (Республика Тыва) [2].

Первые исследования по определению антител к ЭВ 71 среди детского населения в г. Свердловске были проведены в 1983–1985 гг. (Власова Л. В. с соавт., 1986). Динамическое наблюдение выявило тенденцию к возрастанию проэпидемичивания этим вирусом. Аналогичная работа была проведена в г. Екатеринбурге (бывший Свердловск) в 1995–1996 гг. и также была зафиксирована циркуляция ЭВ 71 среди детского населения города.

Цель работы – проанализировать результаты обследования детей с диагнозом «ЭВИ,

менингеальная форма» в г. Екатеринбурге за восьмилетний период (2010–2017 гг.) и оценить уровень выработки вируснейтрализующих антител к энтеровирусу 71 на фоне увеличения его эпидемиологической значимости.

Материалы и методы

В лабораторию вирусологии МАУ «Клинико-диагностический центр» в 2010–2017 гг. для проведения вирусологических исследований поступили клинические образцы от 3558 человек, госпитализированных в инфекционные отделения больниц г. Екатеринбурга с диагнозом «ЭВИ, менингеальная форма». Сыворотки от 3336 пациентов были исследованы в РН с эталонным штаммом ЭВ 71 (2634 – от детей, 702 – от взрослых).

Лабораторное исследование и интерпретацию результатов проводили согласно методическим указаниям «Эпидемиологический надзор и профилактика энтеровирусных (неполио) инфекций» [7]. Материалом для вирусологического исследования служили носоглоточные смывы, пробы фекалий (2–3 пробы), для серологического изучения – парные пробы сывороток крови, взятые с интервалом 14–21 день.

Энтеровирусы выделяли, используя метод заражения перевиваемых клеточных линий, при котором присутствие вируса в пробе инфекционного материала вызывает дегенерацию клеток или цитопатогенное действие (ЦПД). Работа велась на трех видах клеточных культур: RD (линия клеток, полученная из рабдомиосаркомы человека), Нер-2 (культура клеток, полученная из эпидермоидной карциномы человека) и L20В (культура клеток, созданная на основе мышинной линии L-клеток). Все ткани были получены из Регионального центра эпидемиологического надзора за ПОЛИО/ОВП (ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Свердловской области», Роспотребнадзора).

Изоляты были идентифицированы с помощью стандартных специфических сывороток производства ФГБУН «ФНЦИРИП им. М.П.Чумакова РАН». Вируснейтрализующие антитела определяли в реакции нейтрализации (микрометод) с аутоштаммами и эталонным штаммом ЭВ 71 (тип штамма BrCr).

Результаты и обсуждение

Процент положительных результатов (наличие специфических антител в титре 1:8 и выше) среди всех исследованных сывороток крови в целом составил 35,5%. Удельный вес сывороток с титром специфических антител к ЭВ 71 в ежегодном разрезе колебался от 41,9% (2013 г.) до 24,4% (2015 г.) (рис. 1).

Регистрируется в последние годы заболеваемость ЭВИ преимущественно среди детей дошкольного, школьного и юношеского возраста [6, 8, 9]. В связи с этим, максимальное количество среди обследованных в нашем исследовании составили пациенты в возрасте от 1 до 14 лет (n = 2634). Все дети ретроспективно были разделены на возрастные группы: 0–3 года, 3–7 лет, 7–12 лет и 12 лет и старше.

Показано, что наибольшее количество детей с наличием вируснейтрализующих антител к ЭВ 71 было в группе пациентов 12 лет и старше – 45,6% (рис. 2). При этом доля детей с титрами антител 1:8 – 1:16 составила 24,4%, с титрами 1:32 и выше – 21,3%. Сероконверсия отмечена лишь в 3,4% случаев (рис. 3). В возрастной группе – 3–7 лет были получены следующие результаты: доля лиц, у которых в сыворотке крови выявлены антитела – 28,9%, из них с титрами 1:8 – 1:16 – 10,0%, с титрами 1:32 и выше – 18,9% (рис. 2, 3). Диагностически значимый прирост титра антител в парных сыворотках крови у детей этой возрастной группы (т.е. наличие косвенного подтверждения присутствия инфекции) – отмечен у 4,6% лиц.

Рисунок 1. Количество обследованных лиц и результаты серологических исследований в 2010–2017 гг.
Figure 1. The number of examined persons and the results of serological studies in 2010–2017

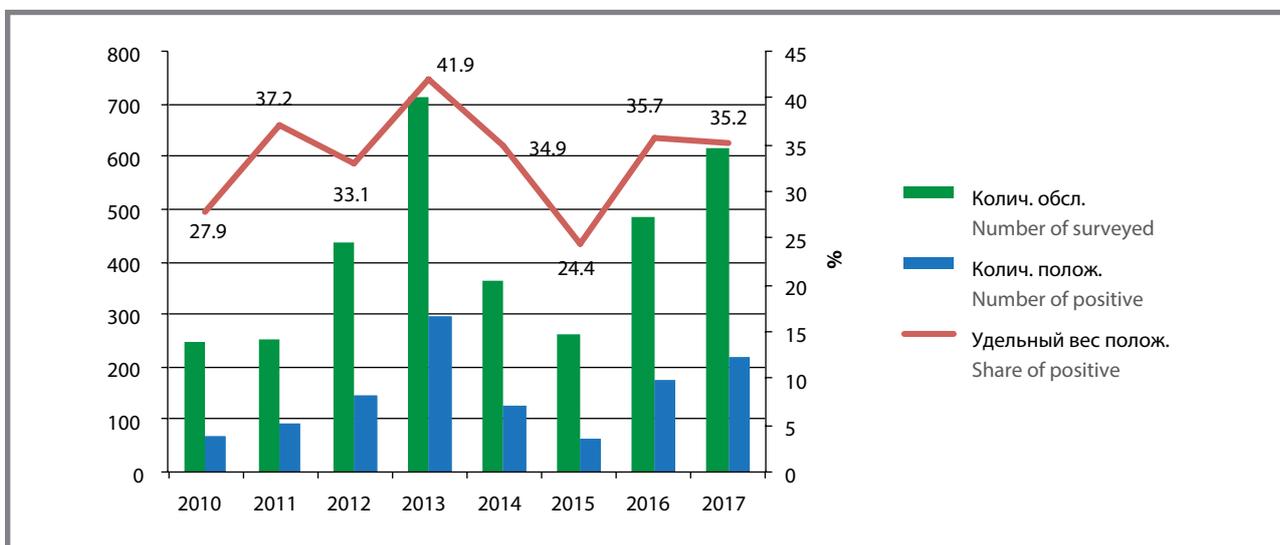


Рисунок 2. Количество детей разных возрастных групп с наличием вируснейтрализующих антител к ЭВ 71 (2010–2017 гг.)

Figure 2. The number of children of different age groups with the presence of viral neutralizing antibodies to EV-71 (2010–2017)

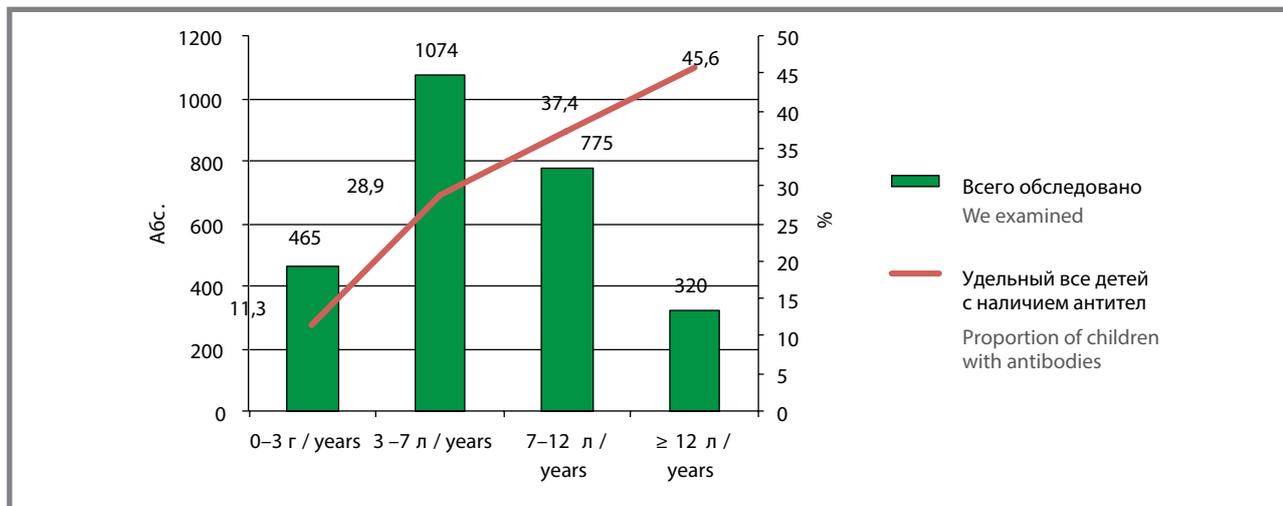


Рисунок 3. Результаты серологического обследования детей разных возрастных групп в 2010–2017 гг.

Figure 3. Results of serological examination of children of different age groups in 2010–2017

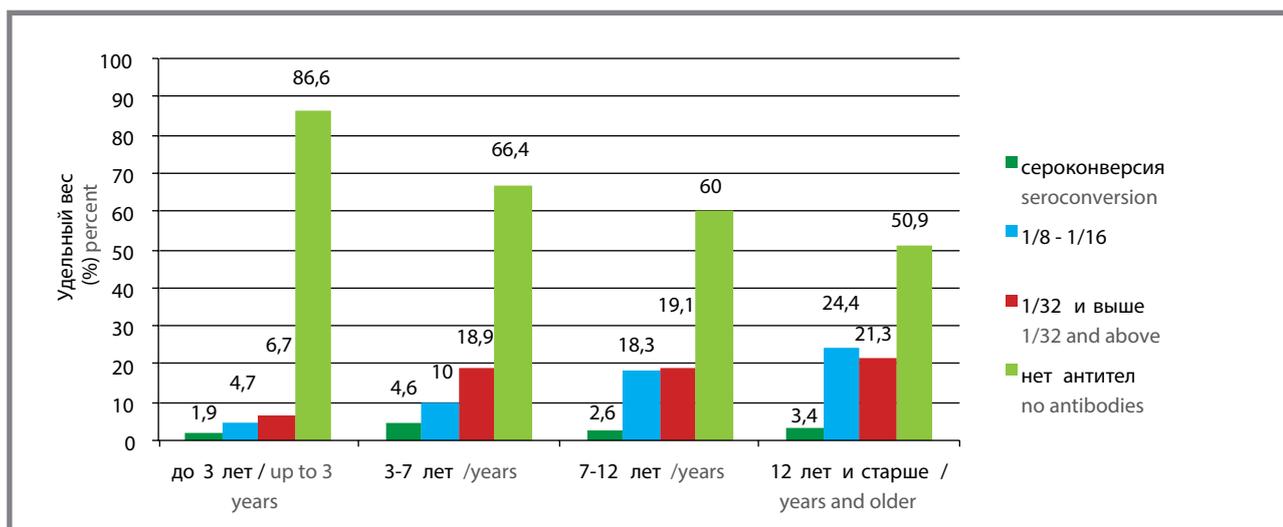
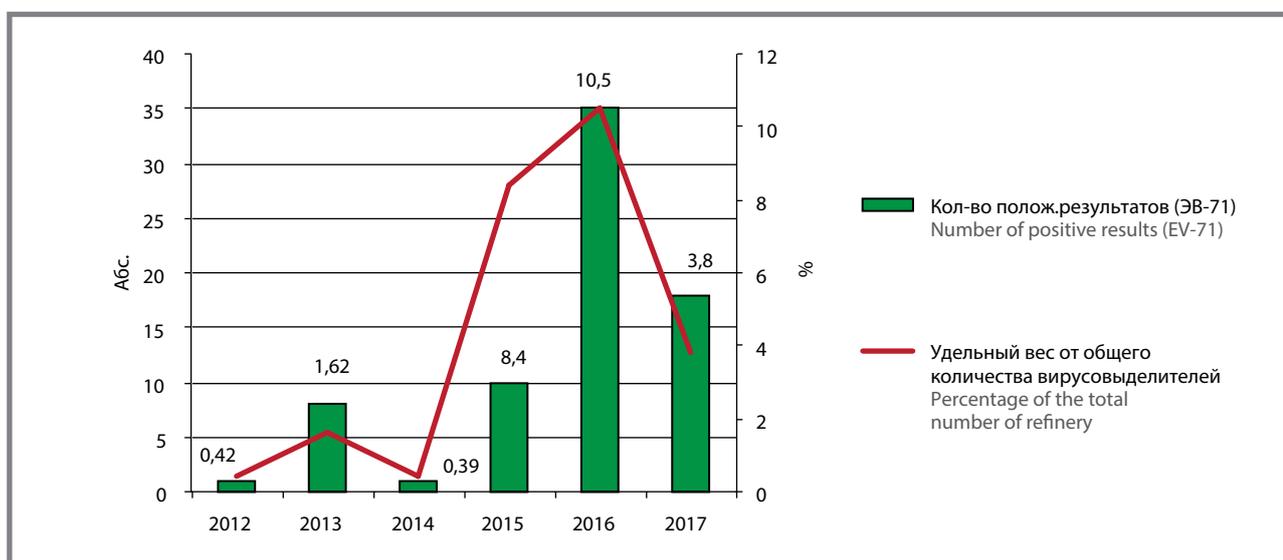


Рисунок 4. Результаты выделения ЭВ 71 из клинического материала заболевших детей в период 2012–2017 гг.

Figure 4. Results of isolation of EV-71 from the clinical material of sick children in the period 2012–2017



За анализируемый период (2010–2017 гг.) при обследовании детей с ЭВ инфекцией были выделены энтеровирусы разных типов (преимущественно вирусы ЕСНО и Коксаки В). Начиная с 2012 г. к спектру идентифицированных энтеровирусов присоединился ЭВ 71. Всего с 2012 г. по 2017 г. ЭВ 71 выделен из клинического материала 73 человек (рис. 4). Максимальное количество лиц-выделителей ЭВ 71 отмечено в 2015 г. и 2016 г. (8,4 и 10,5% соответственно от всего числа положительных результатов). В целом удельный вес вирусов ЭВ 71 в спектре всех установленных энтеровирусов в 2012–2017 гг. составил 3,8%.

Минимальный возраст детей, у которых этиологическим агентом ЭВИ был ЭВ 71, соответствовал 7 месяцам, максимальный – 14 лет. Большую часть заболевших ЭВ 71-инфекцией составили дети в возрасте от 3 до 7 лет – 44 человека из 73 вирусывыделителей, дети в возрасте от 1 до 3 лет – 18 человек.

Выводы

1. Результаты проведенных нами исследований подтверждают наличие циркуляции энтеровируса 71 типа на территории г. Екатеринбурга.

2. Известно, что энтеровирусной инфекции в большей степени подвержены дети в возрасте 3–7 лет (Злобин В.И., Львов Д.К., 2008; Тимченко В. Н., Чернова Т. М., 2012; Мартынова Г. П., 2017). В нашем исследовании максимальное количество из числа обследованных также составили пациенты 3–7 лет (40,8%); удельный вес детей данной возрастной группы, у которых причиной развития заболевания был ЭВ71, соответствовал 60,3%.

3. Показано, что дети младшего возраста (от 1 до 3 лет) имеют высокий риск инфицирования ЭВ 71: доля вирусывыделителей составила 24,7%; 86,6% детей указанного возраста не имеют вируснейтрализующих антител.

4. Обследование детей 12 лет и старше показало, что они в большей степени защищены от развития ЭВ 71-инфекции, о чем свидетельствует высокий удельный вес лиц с наличием титров вируснейтрализующих антител (титры 1:8–1:16 – 24,4%, 1:35 и выше – 21,3%). Вместе с тем, риск развития ЭВИ, вызванной ЭВ 71 все же существует, что подтверждается наличием сероконверсии у 3,4% обследованных.

Литература

1. Ахмадишина Л.В., Иванова О.Е., Еремеева Т.П. и др. Сероэпидемиология энтеровируса 71 типа на территории Хабаровского края // *Современные проблемы науки и образования*. 2013. № 5. (Электронный журнал).
2. Ахмадишина Л.В. Молекулярная эволюция и сероэпидемиология энтеровируса 71 типа на территории Российской Федерации: Автореферат дис. ... канд. мед. наук. Москва; 2013.
3. Лукашев А.Н., Королева Г.А., Лашкевич В.А., Михайлов М.И. Энтеровирус 71: эпидемиология и диагностика // *Журнал микробиологии*. 2009. № 3. С. 110–116.
4. Ахмадишина Л.В., Иванова О.Е., Королева Г.А. и др. Молекулярная эпидемиология и сероэпидемиология энтеровируса 71 типа в Российской Федерации // *Инфекция и иммунитет*. 2013. Т. 3, № 2, С. 111–112.
5. Письмо Главного государственного санитарного врача России Г.Г. Онищенко от 15.05.2008 г. № 01/5023-8-32 «О рекомендациях по эпидемиологии, клинике, диагностике и профилактике заболеваний, вызванных энтеровирусом 71 типа // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2008. № 3.
6. Симовоньян Э.Н., Денисенко В.Б., Бовтало Л.Ф. и др. Патология ЦНС у детей с энтеровирусной-71 инфекцией в эпидемический и межэпидемический периоды // *Детские инфекции*. 2015. № 3. С. 11–17.
7. МУ 3.1.1.2363-08 Эпидемиологический надзор и профилактика энтеровирусной (неполио) инфекции. М.; 2008.
8. Петрова И.С., Шишов А.С., Базарова М.В. и др. Особенности течения энтеровирусных инфекций с менингитом у взрослых в эпидемическом сезоне 2013 г. // *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2014. № 3. С. 15–22.
9. Лукашевич В.А., Королева Г.А., Лукашев А.Н. и др. Энтеровирус типа 71: ящуроподобное заболевание, энцефаломиелит, острый отек легких // *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2011. № 6. С. 38–48.

References

1. Akhmadishina LV, Ivanova OE, Ereemeeva TP, et al. Seroepidemiologia enterovirus 71 type on the territory of Khabarovsk Krai. *Modern problems of science and education*. 2013;5. (E-journal). (In Russ.)
2. Akhmadishina LV. Molecular evolution and seroepidemiology of type 71 enterovirus in the Russian Federation: Doc. of med. sci. diss. Moscow; 2013. (In Russ.)
3. Lukashev AN, Koroleva GA, Lashkevich VA, Mikhailov MI. Enterovirus 71: epidemiology and diagnosis. *Journal of Microbiology*. 2009;3:110–116.
4. Akhmadishina LV, Ivanova OE, Koroleva GA, et al. Molecular epidemiology and seroepidemiology of type 71 enterovirus in the Russian Federation. *Infection and immunity*. 2013;3(2):111–112. (In Russ.)
5. Letter of the Chief state sanitary doctor Of Russia GG Onishchenko from 15.05.2008 g. № 01/5023-8-32 «On the recommendations on epidemiology, clinic, diagnosis and prevention of diseases caused by enterovirus type 71». *Epidemiology and vaccinal prevention*. 2008;3. (In Russ.)
6. Shimovonyan EN, Denisenko VB, Butala LF, et al. Pathology of the Central nervous system in children with enterovirus-71 infection in the epidemic and interepidemic periods. *Childhood infections*. 2015;3:11–17. (In Russ.)
7. МУ 3.1.1.2363-08 Epidemiological surveillance and prevention of enterovirus (Napoli) infection. M.; 2008. (In Russ.)
8. Petrov SI, Shishov AS, Bazarova MV, et al. Features of the course of enterovirus infections with meningitis in adults in the epidemic season of 2013. *Epidemiology and infectious diseases*. 2014;3:15–22. (In Russ.)
9. Lukashevich VA, Koroleva GA, Lukashev AN, et al. Enterovirus type 71: FMD-like disease, encephalomyelitis, acute pulmonary edema. *Epidemiology and infectious diseases*. 2011;6:38–48.

Об авторах

- **Ольга Михайловна Оленькова** – к.м.н., заведующая лабораторией вирусологии Муниципального автономного учреждения «Клинико-диагностический центр», г. Екатеринбург, ул. 8-Марта-78-В, 620144. 8 (343)-205-82-59, 8-902-87-18174, oom@kdc-lab.ru.
- **Наталья Стасиславовна Субботина** – врач лаборатории вирусологии Муниципального автономного учреждения «Клинико-диагностический центр», г. Екатеринбург, ул. 8-Марта-78-В, 620144. 8 (343) 205-82-59, dcldevir@mail.ru.
- **Валерия Вячеславовна Нечаева** – врач лаборатории вирусологии Муниципального автономного учреждения «Клинико-диагностический центр», г. Екатеринбург, ул. 8-Марта-78-В, 620144. 8 (343) 205-82-59, dcldevir@mail.ru.
- **Яков Борисович Бейкин** – д.м.н., профессор, главный врач Муниципального автономного учреждения «Клинико-диагностический центр», г. Екатеринбург, ул. 8-Марта-78-В, 620144. 8 (343) 204-71-34, inbox@kdc-lab.ru.

Поступила: 1.10.2018. Принята к печати: 21.03.2019.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Authors

- **Olga M. Olenkova** – Cand. Sci. (Med.), head of laboratory of Virology of Municipal Autonomous institution «Clinical diagnostic center», str. 8-Mar-78-V, Ekaterinburg 620144, Russia. +7 (343) 205-82-59, +7-902-87-18174, oom@kdc-lab.ru.
- **Natalia S. Subbotina** – doctor of Virology laboratory of Municipal Autonomous institution «Clinical diagnostic center», str. 8-Mar-78-V, Ekaterinburg 620144, Russia. +7(343) 205-82-59, dcldevir@mail.ru.
- **Valeria V. Nechayev** – doctor of Virology laboratory of Municipal Autonomous institution «Clinical diagnostic center», str. 8-Mar-78-V, Ekaterinburg 620144, Russia. +7(343) 205-82-59, dcldevir@mail.ru.
- **Yakov B. Beykin** – Dr. Sci. (Med.), professor, head physician of Municipal Autonomous institution «Clinical diagnostic centers», str. 8-Mar-78-V, Ekaterinburg 620144, Russia. +7(343) 204-71-34, inbox@kdc-lab.ru.

Received: 1.10.2018. Accepted: 21.03.2019.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.