

# СЕЗОННЫЙ ПОДЪЕМ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ЭНТЕРОВИРУСНЫМ МЕНИНГИТОМ В НОВГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ

М.А. Бичурина<sup>1</sup>, В.А. Пьяных<sup>2</sup>, Н.А. Новикова<sup>4</sup>, Н.П. Леонова<sup>2</sup>,  
Г.А. Клевцова<sup>3</sup>, Н.И. Романенкова<sup>1</sup>, Т.Г. Иванова<sup>3</sup>, Л.Н. Голицына<sup>4</sup>,  
Л.Б. Фомина<sup>4</sup>, Н.Р. Розаева<sup>1</sup>, О.Е. Цейц<sup>2</sup>, Л.Б. Луковникова<sup>4</sup>,  
О.И. Канаева<sup>1</sup>, Н.В. Епифанова<sup>4</sup>

<sup>1</sup>ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

<sup>2</sup>Управление Роспотребнадзора по Новгородской области, г. Великий Новгород

<sup>3</sup>ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Новгородской области, г. Великий Новгород

<sup>4</sup>ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной, г. Нижний Новгород

**Резюме.** Проведен анализ эпидемического процесса и расшифрована этиология сезонного подъема заболеваемости серозным менингитом в Новгородской области в сентябре–ноябре 2008 г. Показано, что в этот период энтеровирусным менингитом (ЭВМ) заболело 73 человека. Среди больных 89,9% составили дети до 17 лет. Вирусологическими и молекулярно-биологическими методами доказано, что основными этиологическими агентами, вызвавшими заболевания, были энтеровирусы ECHO 6 и ECHO 30. Установлено, что в Великом Новгороде циркулировали два генетических варианта вируса ECHO 6 и один генетический вариант вируса ECHO 30. Последний был родственен штаммам, выделенным от больных ЭВМ в Нижнем Новгороде в 2007 г. Полученные данные свидетельствуют о необходимости систематического эпидемиологического и вирусологического надзора за энтеровирусной инфекцией в целях получения новой информации о циркуляции неполиомиелитных энтеровирусов среди населения и установления закономерностей развития эпидемического процесса при этой инфекции.

**Ключевые слова:** энтеровирусная инфекция, эпидемиологический надзор, вирусологический надзор, энтеровирусы.

## THE SEASONAL INCREASE OF ENTEROVIRAL INFECTION INCIDENCE IN THE NOVGOROD OBLAST

Bichurina M.A., Pinykh V.A., Novikova N.A., Leonova N.P., Klevtsova G.A., Romanenkova N.I.,  
Ivanova T.G., Golitsina L.N., Fomina L.B., Rozaeva N.R., Tseits O.E., Lukovnikova L.B., Kanaeva O.I.,  
Epifanova N.V.

**Abstract.** The analysis of epidemic process and definition of the etiology of the seasonal increase of serosal meningitis incidence in the Novgorod oblast in September–November, 2008 has been carried out. It was shown that in the specified period 73 persons had enteroviral meningitis. The proportion of children under 17 years old in the group of patients was 89.9%. The etiological agents of disease (enteroviruses ECHO 6 and ECHO 30) were detected by the virological and molecular-biological methods. It was established that two genetic variants of ECHO 6 and one variant of ECHO 30 co-circulated in the Novgorod oblast. The last virus variant was closely related to the strain isolated from enteroviral meningitis patients in Nizhny Novgorod in 2007. The obtained data support the idea about necessity of systematic epidemiological and virological surveillance on enteroviral infection to get new information about circulation of non-poliomyelitis enteroviruses in the population and to define peculiarities of epidemic process development. (*Infekc. immun.*, 2012, vol. 2, N 4, p. 747–752)

*Key words:* enteroviral infection, epidemiological surveillance, virological monitoring, enteroviruses.

поступила в редакцию 02.07.2012  
принята к печати 16.08.2012

### Адрес для переписки:

Бичурина Маина Александровна,  
д.м.н., зав. лабораторией этиологии  
и контроля вирусных инфекций  
ФБУН НИИЭМ имени Пастера

197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,  
ФБУН НИИЭМ имени Пастера.  
Тел.: (812) 233-21-56.  
Факс: (812) 232-17-92.  
E-mail: poliospb@nr3854.spb.edu

© Бичурина М.А. и соавт., 2012

## Введение

Энтеровирусы (ЭВ) являются одними из наиболее широко встречающихся вирусных патогенов человека. Ежегодно по всему миру регистрируются сотни тысяч случаев энтеровирусной инфекции (ЭВИ) различной степени тяжести от легких лихорадочных форм до тяжелых заболеваний, таких как серозный менингит, энцефалит, сепсисоподобные заболевания новорожденных, увеит и другие заболевания [2, 3, 5, 8, 9, 13, 15, 16].

Высокий уровень генотипической изменчивости РНК-содержащих энтеровирусов является основой формирования «новых» эпидемических штаммов с выраженными патогенными свойствами [10]. Эпидемический процесс ЭВИ проявляется спорадической заболеваемостью, сезонными подъемами (в летне-осенние периоды) и вспышками (в течение всего года).

Основную роль в поддержании циркуляции ЭВ среди населения играет ряд факторов: высокая восприимчивость людей, возможность длительного вирусонительства, способность вирусов долго сохраняться в объектах окружающей среды. Разные серотипы ЭВ могут вызывать заболевания со сходными клиническими проявлениями, в то же время представители одного серотипа могут провоцировать разные заболевания. Наиболее часто возбудителями серозного менингита являются энтеровирусы ЕСНО 6 и ЕСНО 30. В России и странах СНГ в последние годы вспышки серозного менингита, вызванные ЭВ ЕСНО 6, были зарегистрированы в Хабаровском крае [3, 5], Нижнем Новгороде [4], в Республике Беларусь [1], Молдове и на других территориях [6, 7].

В Новгородской области в сентябре–ноябре 2008 г. имел место сезонный подъем заболеваемости энтеровирусным серозным менингитом. В работе проведен анализ эпидемического процесса и расшифрована этиология серозного менингита, в том числе с использованием молекулярно-генетических методов исследования.

## Материалы и методы

Анализ заболеваемости ЭВИ и энтеровирусным менингитом (ЭВМ) проводили на основе сведений, полученных из формы государственной статистической отчетности № 2 и оперативной еженедельной информации.

Выделение энтеровирусов от больных ЭВИ из проб фекалий и ликвора проводили на двух культурах клеток Her2 и RD. Принадлежность

штаммов к отдельным серотипам ЭВ определяли в реакции микронейтрализации в соответствии со стандартным протоколом ВОЗ [17]. При этом использовали специфические энтеровирусные сыворотки производства института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова и RIVM (Bilthoven, Нидерланды).

Обнаружение РНК энтеровирусов в пробах фекалий и ликвора осуществляли методом ОТ-ПЦР с помощью диагностической тест-системы «АмплиСенсЭнтеровирус-207» (ЦНИИЭ, Россия). Продукты ПЦР анализировали методом электрофореза в 1,5% агарозном геле и трис-боратной буферной системе. Результаты регистрировали с помощью видеосистемы «Vitran» (Биоком, Россия). Идентификацию типа энтеровируса проводили путем определения нуклеотидной последовательности области генома VP1 [4, 14]. Определение нуклеотидной последовательности проводили в автоматическом режиме на секвенаторе ABI Prism 3100. Филогенетический анализ осуществляли по алгоритму Neighbor-joining при помощи программы MEGA v. 4.0 [12].

## Результаты

В Новгородской области в 2008 г. зарегистрировано 105 случаев энтеровирусной инфекции, в том числе 73 случая лабораторно подтвержденного энтеровирусного менингита. Сезонный подъем ЭВМ начался с конца сентября и продолжался до середины ноября. За этот период переболело 69 человек, показатель заболеваемости составил 10,5 на 100 тыс. населения. Наиболее высокий уровень заболеваемости отмечался на второй и третьей неделях октября. В эпидемический процесс интенсивно были вовлечены жители Великого Новгорода и Новгородского района, на долю которых пришлось 95,6% от всех случаев заболеваний.

Среди заболевших дети до 17 лет составляли 89,9%. Самый высокий показатель заболеваемости (2,6 на 1000 человек) был у детей в возрастной группе 3–6 лет, у детей 7–14 лет он составил 0,66 на 1000. У взрослых зарегистрировано 7 случаев ЭВМ, показатель заболеваемости — 0,1 на 1000. В основном заболевания ЭВМ регистрировались у организованных детей: 36,2% от числа заболевших посещали детские дошкольные учреждения, 47,8% составляли школьники. В целом, случаи ЭВМ были зарегистрированы в 17 дошкольных учреждениях, 23 школах и 3 средних и высших учебных заведениях.

Среди больных лица мужского пола составляли 62,3%, лица женского пола — 37,7%.

Были зафиксированы очаги инфекции в детских дошкольных учреждениях с распространением от 2 до 6 случаев, в школах — от 2 до 4 случаев. Также регистрировались домашние очаги с одним случаем.

По клиническому течению 95,6% случаев были расценены как среднетяжелые, тяжелых случаев заболеваний не зарегистрировано.

Для расшифровки этиологии энтеровирусной инфекции, в том числе сезонного подъема ЭВМ, были проведены комплексные вирусологические и молекулярно-биологические исследования. Их осуществляли три лаборатории: вирусологическая лаборатория ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Новгородской области», вирусологическая лаборатория Санкт-Петербургского регионального центра (СПб РЦ) по надзору за полиомиелитом и референс-центр по мониторингу за энтеровирусными инфекциями в ФБУН «Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной».

При двукратных пассажах материала (фекалии) от больных ЭВМ на клеточных культурах у 31 пациента выделены энтеровирусы. При идентификации энтеровирусных изолятов с помощью моноспецифических энтеровирусных сывороток установлено, что выделенные от 20 больных энтеровирусы относились к ЭВ серотипа ЕСНО 6, у 10 больных были идентифицированы ЭВ серотипа ЕСНО 30 и у одного больного — Coxsackie B5. Эти результаты были подтверждены в вирусологической лаборатории СПб РЦ при исследовании энтеровирусных изолятов от 9 больных.

У 38 больных с ЭВМ (55,0%) диагноз был подтвержден в вирусологической лаборатории ФБУЗ в Новгородской области при исследовании ликвора только методом ПЦР.

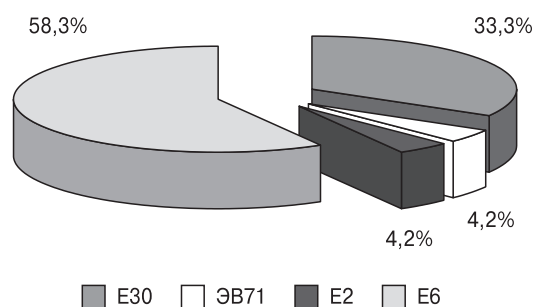
Аналогичные результаты получены в референс-центре по мониторингу за энтеровирусными инфекциями. При исследовании проб от 56 больных ЭВМ присутствие РНК энтеровирусов было обнаружено в 60,7% методом ОТ-ПЦР. У 24 больных установлены серотипы энтеровирусов путем определения нуклеотидной последовательности области генома VP1. Идентифицированные энтеровирусы были отнесены к четырем серотипам. Распределение по серотипам показано на рис. 1. Доминирующее положение имели два серотипа энтеровирусов — ЕСНО 6 и ЕСНО 30, которые были детектированы у 14 и 8 больных соответственно. Вирус ЕСНО 2 был обнаружен у одного ребенка, заболевшего вскоре после приезда

из Молдавии. Еще у одного больного ребенка с диагнозом серозный менингит был идентифицирован энтеровирус 71.

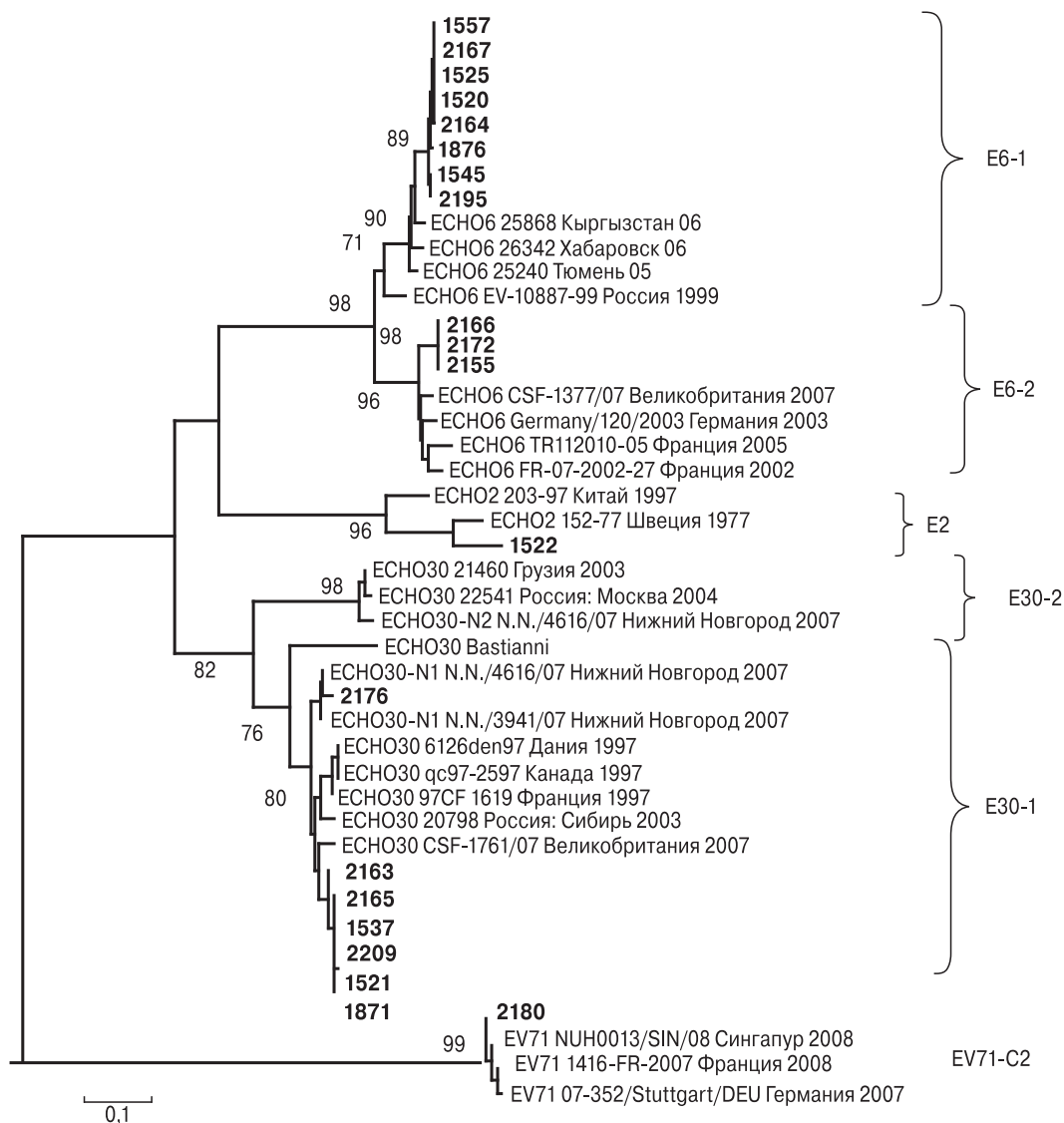
Таким образом, вирусологическим и молекулярно-генетическими методами расшифрована этиология сезонного подъема ЭВМ в Новгородской области. Установлено, что 60 случаев заболевания ЭВИ было вызвано вирусом ЕСНО 6 и 44 случая — вирусом ЕСНО 30.

Сравнение нуклеотидных последовательностей, имеющихся в GenBank, и изученных штаммов вирусов ЕСНО 6, показало, что в Новгороде циркулировали два генетических варианта (субтипа) вирусов (рис. 2) в соотношении 11:3. Различие нуклеотидных и аминокислотных последовательностей фрагмента генома VP1 этих субтипов вируса составило в среднем 10 и 3% соответственно. Штаммы вируса ЕСНО 6 первого субтипа оказались генетически родственными штамму, выделенному в Хабаровске во время вспышки ЭВМ в 2006 г. [3], они обнаружены у лиц, заболевших в Новгородской области в период с августа по октябрь 2008 г. Штаммы вируса ЕСНО 6 второго субтипа, родственные штамму, который был выделен во Франции в 2005 г., были обнаружены у больных с сентября по ноябрь.

Энтеровирусы ЕСНО 30 на территории Новгородской области в предыдущие годы не были обнаружены. Вирусы ЕСНО 30, циркулировавшие в Новгородской области в период сезонного подъема ЭВМ в 2008 г., были родственны штамму ЕСНО 30, выделенному от больного ЭВМ в Великобритании в 2007 г., а также штаммам, идентифицированным в европейских странах в период с 1997 по 2000 гг. (рис. 2). Генетически сходный вирус являлся доминирующим во время эпидемического подъема заболеваемости ЭВМ в Нижнем Новгороде осенью 2007 г. [4].



**Рисунок 1. Распределение по серотипам энтеровирусов, выделенных от больных серозным менингитом в Новгородской области в 2008 г.**



**Рисунок 2. Филогенетическое дерево для области генома VP1 энтеровирусов ECHO 6 и ECHO 30**

## Обсуждение

Результаты комплексного эпидемиологического и молекулярно-генетического анализа показали, что подъем заболеваемости ЭВИ в Новгородской области в сентябре–ноябре 2008 г. был вызван энтеровирусами ECHO 6 и ECHO 30. Повышенная заболеваемость регистрировалась в месяцы сезонного подъема, характерного для данной инфекции. В эпидемический процесс в основном были вовлечены дети из организованных коллективов (детские дошкольные учреждения и школы). В предсезонный период (апрель–май) в Великом Новгороде от больных со спорадическими случаями ЭВИ были выделены вирусы ECHO 6. На территории Новгородской области была также отмечена циркуляция ЭВ ECHO 30 среди населения в июле–августе 2008 г., когда они вызывали

спорадические случаи ЭВИ и, вероятно, шло накопление числа вирусоносителей. Пусковым механизмом роста заболеваемости ЭВМ возможно явилось формирование детских организованных коллективов. Скудность «хозяев» позволила вирусам использовать множественные пути распространения в рамках реализации фекально-орального и аспирационного механизмов передачи инфекции.

Во многих чертах эпидемический процесс в Новгородской области повторяет эпидемическую ситуацию в Нижнем Новгороде 2007 г. [4]. Вместе с тем, во время эпидемического подъема заболеваемости ЭВИ в Нижнем Новгороде циркулировали два субтипа вируса ECHO 30 [4]. Основная масса нуклеотидных последовательностей генома штаммов из Нижнего Новгорода формировала монофилетическую группу со штаммом ECHO 30 CSF-1761/07, изо-

лированным от большого серозным менингитом в Великобритании в 2007 г. Этот субтип был представлен штаммом ЕСНО 30-N1 и являлся доминирующим в период эпидемического подъема заболеваемости ЭВМ в Нижнем Новгороде в 2007 г. К этому же субтипу относились и штаммы ЕСНО 30, выделенные во время сезонного подъема 2008 г. в Новгородской области. Второй субтип вируса ЕСНО 30, выделенный в Нижнем Новгороде, имевший наибольшую степень гомологии с вирусами ЕСНО 30, выделенными в Азии [2], в Новгородской области не встречался. Вероятно, между штаммами ЕСНО 30, выделенными в Нижнем Новгороде в 2007 г., и штаммами ЕСНО 30, выделенными в Великом Новгороде в 2008 г., нет прямых взаимосвязей, но возможно они имеют единое происхождение.

Этиологическим агентом сезонного подъема ЭВМ в Новгородской области также явился энтеровирус ЕСНО 6, причем выделенные штаммы относились к двум генетическим вариантам. Проведенный филогенетический анализ позволил показать, что штаммы, относящиеся к первому субтипу (в частности, вирус ЕСНО 6 2164, обнаруженный у больного из Новгородского района), были родственны штамму ЕСНО 6 26 342, выделенному в Хабаровском крае во время вспышки ЭВМ в 2006 г. В Хабаровском крае, где было зарегистрировано 1434 случая ЭВМ, при вирусологическом обследовании больных у 74,9% пациентов были выделены энтеровирусы, 80% которых были идентифицированы как вирусы ЕСНО 6 [3, 5]. Штаммы второго субтипа вируса ЕСНО 6 были родственны штамму TR112010-05, изолированному во Франции в 2005 г. Эти штаммы также циркулировали на территории Новгородской области в период сезонного подъема заболеваемости ЭВИ в 2008 г.

## Заключение

Согласно литературным данным, неполиомиелитные энтеровирусы обуславливают как спорадическую, так и вспышечную заболеваемость. При этом до настоящего времени неясны особенности циркуляции различных серотипов энтеровирусов, механизмы смены доминирующих в циркуляции серотипов энтеровирусов и причины возникновения связанных с различными серотипами эпидемических вспышек энтеровирусных инфекций [3, 6, 11].

Полученные данные свидетельствуют о необходимости систематического эпидемиологического и вирусологического надзора за энтеровирусной инфекцией в целях получения новой

информации о циркуляции неполиомиелитных энтеровирусов среди населения и установления закономерностей развития эпидемического процесса при этой инфекции.

## Список литературы

1. Амвросьева Т.В., Поклонская Н.В., Безручко А.А., Фисенко Е.Г. Молекулярная характеристика и филогенетический анализ энтеровирусов, вызвавших вспышки и сезонные подъемы заболеваемости в разных регионах Республики Беларусь // ЖМЭИ. — 2006. — № 3. — С. 17–21.
2. Лукашев А.Н., Иванова О.Е., Еремеева Т.П., Лашкевич В.А., Черненко К.Е. Молекулярная эпидемиология вируса ЕСНО 30 на территории России и стран СНГ // Вопросы вирусологии. — 2004. — № 5. — С. 12–16.
3. Лукашев А.Н., Резник В.И., Иванова О.Е., Еремеева Т.П., Каравянская Т.Н., Перескокова М.А., Лебедева Л.А., Лашкевич В.А., Михайлов М.И. Молекулярная эпидемиология вируса ЕСНО 6 — возбудителя вспышка серозного менингита в Хабаровске в 2006 г. // Вопросы вирусологии. — 2008. — № 1. — С. 16–21.
4. Онищенко Г.Г., Новикова Н.А., Ефимов Е.И., Княгина О.Н., Петров Е.Ю., Новиков Д.В., Голицына А.Н., Калашникова Н.А., Епифанова Н.В., Погодина Л.В. Сезон энтеровирусного серозного менингита в Нижнем Новгороде в 2007 г.: молекулярно-эпидемиологические аспекты // ЖМЭИ. — 2009. — № 2. — С. 24–30.
5. Резник В.И., Кожевникова Н.В., Каравянская Т.Н., Воронцова Г.М., Перескокова М.А., Иванова О.Е., Еремеева Т.П., Лукашев А.Н. Эпидемиологическая и этиологическая характеристика энтеровирусных инфекций в Хабаровском крае // ЖМЭИ. — 2007. — № 5. — С. 32–37.
6. Романенкова Н.И., Бичурина М.А., Розаева Н.Р. Надзор за полиомиелитом и энтеровирусной инфекцией на ряде территорий Российской Федерации // ЖМЭИ. — 2011. — № 6. — С. 32–36.
7. Сейбиль В.Б., Фролочкина Т.И. Серозный менингит // ЖМЭИ. — 2006. — № 1. — С. 87–92.
8. Энтеровирусные инфекции: Руководство для врачей. — СПб., 2012. — 432 с.
9. CDC. Outbreaks of aseptic meningitis associated with echovirus 9 and 30 and preliminary surveillance reports on enterovirus activity — United States, 2003 // Morbid. Mortal. Wkly Rep. — 2003. — Vol. 52. — P. 761–764.
10. Domingo E., Escarmis C., Sevilla N. Basic concepts in RNA virus evolution // FASEB J. — 1996. — N 10. — P. 859–864.
11. Khetsuriani N., Lamonte-Fowlkes A., Oberste S., Pallansch M.A. Enterovirus surveillance — United States, 1970–2005 // Morbid. Mortal. Wkly Rep. — 2006. — Vol. 55, N 8. — P. 1–20.

12. Kumar S., Tamura K., Nei M. MEGA 3: integrated softwares for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment // *Brief. Bioinform.* — 2004. — N 5. — P. 150–163.
13. Lashkevich V.A., Koroleva G.A., Lukashev A.N. Enterovirus uveitis // *Rev. Med. Virol.* — 2004. — N 14. — P. 241–254.
14. Nix W.A., Oberste M.S., Pallansch M.A. Sensitive seminested PCR amplification of VP1 sequences for direct identification of all enterovirus serotypes from original clinical specimens // *Clin. Microbiol.* — 2006. — Vol. 44. — P. 2698–2704.
15. Pallansch M.A., Roos R.P. Enteroviruses, polioviruses, coxsackieviruses and newer enteroviruses // *Field Virology.* — Philadelphia, 2001. — P. 723–775.
16. Rotbart M.A., Brennan P.J., Fife K.H. Enterovirus meningitis in adults // *Clin. Infect. Dis.* — 1998. — Vol. 27. — P. 896–898.
17. World Health Organization. Polio laboratory manual. — Geneva, Switzerland, 2004.