

## Современный взгляд на лабораторную диагностику острых вирусных кишечных инфекций у детей в Украине

И.Г. КОСТЕНКО, В.В. ТРЕТЬЯКОВ, И.Ф. САМБОРСКАЯ

**Резюме.** Молекулярно-генетическим методом лабораторной диагностики обследованы дети при спорадических случаях острой кишечной инфекции в различных регионах Украины. Обследование проводили на наличие вирусных этиологических агентов, таких как ротавирусы, норовирусы, аденовирусы, астровирусы, энтеровирусы и вирусы гепатитов с фекально-оральным путем передачи – А и Е. В результате были расшифрованы возбудители вирусной кишечной инфекции у детей. А также определено эпидемиологическое распределение этих возбудителей в зависимости от регионов Украины. Так, Киев, Одесса и Львов оказались самыми нагруженными городами в отношении ротавирусов. В Харькове и Сумах превалировала норовирусная инфекция. А в Умани распределение возбудителей вирусной кишечной инфекции оказалось достаточно равномерным (доминирующих агентов не оказалось). Оказалось, что энтеровирусы, вирусы гепатитов А и Е вызывают острые кишечные инфекции.

**Ключевые слова:** острые кишечные инфекции, вирусные диареи, ротавирусы, норовирусы, астровирусы, калицивирусы, аденовирусы, энтеровирусы, вирус гепатита А, вирус гепатита Е, полимеразная цепная реакция.

Вирусные кишечные инфекции относятся к группе инфекционных болезней, значение которых в последние годы в развитых странах ставят на первое место. Начиная с 1972 г. были открыты основные известные на сегодняшний день вирусные возбудители острых кишечных инфекций (ОКИ): норо-, рота-, астро-, сапо- и аденовирусы (NoV, RoV, AsV, SaV и AdV). Уже доказана их роль и в возникновении кишечных инфекций у людей, разработаны высокочувствительные и специфичные методы их диагностики.

Актуальность кишечных инфекций вирусной этиологии определяется их повсеместным распространением, высокой заболеваемостью и значительным социально-экономическим ущербом. Вирусы вызывают от 60 до 90% верифицированных кишечных инфекций у детей раннего возраста. Основными возбудителями диарейных заболеваний у детей являются RoV, эти же представители являются и наиболее изученными в структуре ОКИ [1, 2, 3, 4] Однако в последние годы все чаще причиной госпитализации являются гастроэнтериты NoV этиологии [5, 6, 7]. На третьем месте по частоте возникновения ОКИ – AsV инфекция [8, 9].

У взрослых вирусы вызывают многочисленные вспышки ОКИ с различными путями передачи инфекции, основными возбудителями

которых являются NoV второго генотипа [5, 6, 7, 10, 11, 12]. Особое внимание в экономически развитых странах уделяется высокой частоте возникновения внутрибольничных вспышек NoV инфекции у взрослых и детей, во время которых было установлено, что лица пожилого возраста и больные с нарушениями иммунитета, наряду с детьми раннего возраста, относятся к группе высокого риска по заболеваемости, развитию осложнений и летальности [9, 13, 14].

Роль NoV, AdV и AsV в возникновении спорадических случаев ОКИ у взрослых была показана отдельными зарубежными авторами только в последние годы [5, 13, 15]. Их значимость мало изучена и, как правило, недооценивается, а диагностика либо малодоступна, либо недоступна вообще.

Несмотря на определенные трудности в изучении некоторых инфекций, важно подчеркнуть влияние таких полиорганотропных возбудителей, которые могут передаваться фекально-оральным путем и приводить к ОКИ с последующими осложнениями. Речь идет об EnV и возбудителях гепатитов А и Е (HAV и HEV). Обращает внимание снижение врачебной настороженности относительно HAV и HEV, частота которых невелика, а последние поражают преимущественно беременных женщин. В литературе есть работы по отдельным представителям EnV в контексте изучения этиологических агентов вспышек ОКИ [16, 17, 18, 19, 20, 21].

Этиологическая расшифровка инфекционных диарей имеет важное практическое значение для дифференциальной диагностики между вирусными и бактериальными ОКИ и выбора адекватной этиопатогенетической терапии, оценки прогноза и эпидемиологической ситуации по отдельным инфекциям на конкретной территории.

Современные эпидемиологические исследования показывают, что в различных странах этиологическая структура ОКИ может значительно различаться [8, 9, 12, 13, 16, 22]. Так, если в развивающихся странах в этиологической структуре ОКИ у детей доминируют заболевания бактериальной этиологии, то в экономически развитых государствах до 75–80% всех верифицированных случаев ОКИ имеют вирусную природу [4, 8, 9, 15, 23]. Во многом этому способствует внедрение в лабораторную практику новых высокочувствительных методов диагностики (полимеразно-цепная реакция – ПЦР), расширивших представления о роли многих новых вирусных агентов в этиологии ОКИ у детей [24, 25].

В Украине же углубленная лабораторная диагностика вирусных ОКИ не применяется, не считая быстрых тестов, которые имеют сомнительную чувствительность и специфичность. Из чего следует, что в Украине вклад вирусов в этиологическую структуру спорадических ОКИ до сих пор остается неизвестным и малоизученным. Сложившаяся ситуация обусловлена низкой результативностью традиционных, доступных для

широкого практического применения, рутинных микробиологических и иммунологических методов диагностики, а также недоступностью вирусологических, молекулярно-генетических методов диагностики, что, в свою очередь, и препятствует решению вопросов касательно этиологической диагностики ОКИ.

Таким образом, для повышения эффективности диагностики и лечения ОКИ представляется необходимым исследование значимости некоторых представителей царства вирусов в этиологической структуре ОКИ в Украине на основе применения молекулярно-генетических методов [15, 24, 25]. Интересным представляется изучение эпидемиологических аспектов NoV, AdV и AsV инфекций [7, 11, 22, 23].

**Целью** нашей работы была идентификация вирусных агентов при ОКИ у детей в различных регионах Украины.

### **Методы и материалы**

Материалом для исследований служили образцы фекалий, собранные от детей в возрасте от 0 до 15 лет с проявлениями ОКИ. В соответствии с целью работы материал был направлен из 6 регионов Украины: Киева, Сум, Львова, Умани, Одессы и Харькова. Для ПЦР-диагностики вирусной этиологии направляли образцы, в которых не было идентифицировано бактериальных агентов ОКИ.

Для исследования использовали пробы фекалий массой (объемом) примерно 1–3 г (1–3 мл). Поскольку фекалии содержат наибольшее количество ингибиторов ПЦР по сравнению с другими биоматериалами, в обязательном порядке проводили предварительную обработку проб – готовили фекальную суспензию.

Приготовление фекальной суспензии: в микроцентрифужные пробирки (объемом 1,5 мл) вносили 0,9 мл стерильного изотонического раствора натрия хлорида. В каждую пробирку отдельным наконечником с аэрозольным барьером вносили 0,1 г (0,1 мл) фекалий и тщательно ресуспендировали на вортексе до образования гомогенной суспензии.

В следствие того что на сегодняшний день из существующих методов именно ПЦР характеризуется самой высокой чувствительностью и специфичностью, обнаружение вирусных агентов мы проводили этим методом [24, 25].

Нуклеиновые кислоты (РНК и ДНК) выделяли из фекальной суспензии с помощью коммерческих наборов «Рибо-сорб». Реакцию обратной транскрипции проводили с помощью набора «Реверта-L», согласно инструкции производителя. Амплификацию проводили на оборудовании MyCycler (BioRad, США). Амплифицировали участки нуклеиновых кислот следующих возбудителей: RoV, NoV I, NoV II, AsV, AdV, EnV,

HAV и HEV. Наборы для амплификации использовали коммерческие – производителя «Ампли-Сенс» (Россия): «Ротавирусы», «Энтеровирусы», «Астровирусы», «Аденовирусы», «Калицивирусы: норовирусы 1 и 2 типов», «HAV», а также «Изо-Ген» (Россия) – «HEV». Детекцию результатов проводили методом горизонтального электрофореза в 2% агарозном геле на TE-буфере с последующим документированием на оборудовании BioRad, США.

### Результаты и их обсуждение

В результате проведенного исследования было расшифровано 57% ОКИ, этиологическим фактором которых являлись вирусы, в то время как традиционные методы показывают 20–30% уровень расшифровки.

Полученные нами результаты подтверждают, что существует острая необходимость в усовершенствовании лабораторной диагностики вирусных гастроэнтеритов (ГЭ) по причине того, что при сходных клинических проявлениях у больных встречаются разнообразные этиологические агенты (рис. 1 – из доклада автора на 14 Ежегодном съезде клинических вирусологов, Мадуйра, Португалия, октябрь 2011 г.).

#### Встречаемость возбудителей при ОКИ

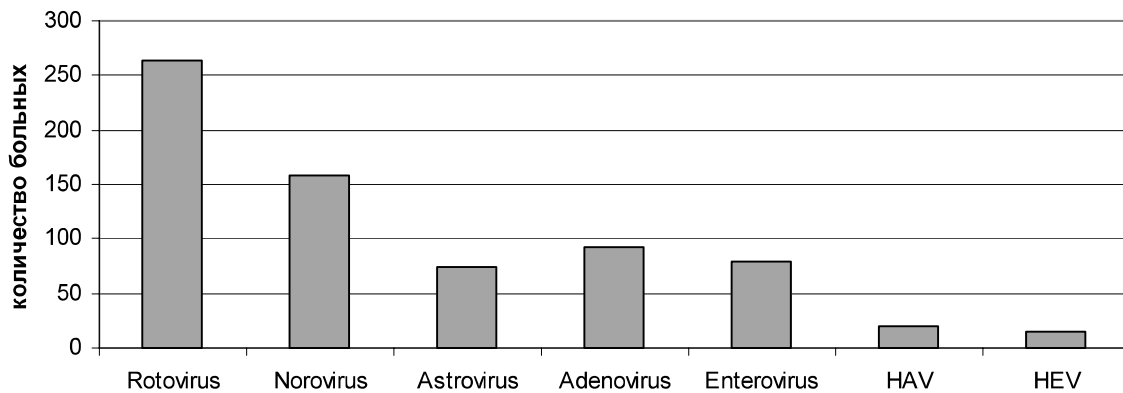
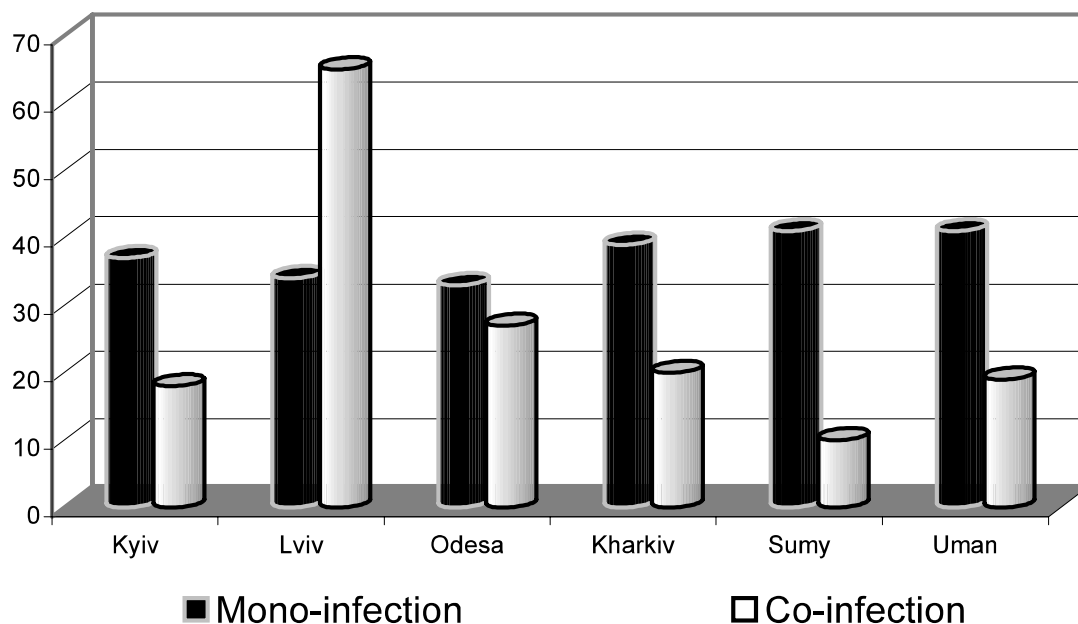


Рис. 1. Встречаемость возбудителей вирусных ОКИ среди детей в Украине

Исходя из данных рис. 1, на котором представлен удельный вес вирусов в этиологии ОКИ, наиболее часто выявляли инфекции, вызванные RoV, далее следовали NoV и AdV, практически одинаковая была частота EnV и AsV. Количество HAV, HEV оказалось сравнительно небольшим.

Неожиданные результаты получены при изучении комбинаций вирусных ОКИ (рис. 2 – из доклада автора на 15 Ежегодном съезде клинических вирусологов, Мадрид, Испания, 4–5 сентября 2012 г.).



*Рис. 2. Частота регистрации вирусных «микстов» при ОКИ в различных регионах*

Так, в среднем 37,5% вирусных ОКИ протекали в виде моноинфекции против 26,5% случаев ко-инфекции в различных сочетаниях. При этом обращает внимание, что наибольшая часть «микстов» определена во Львове и Одессе, что можно отчасти объяснить старыми водопроводными системами в этих городах.

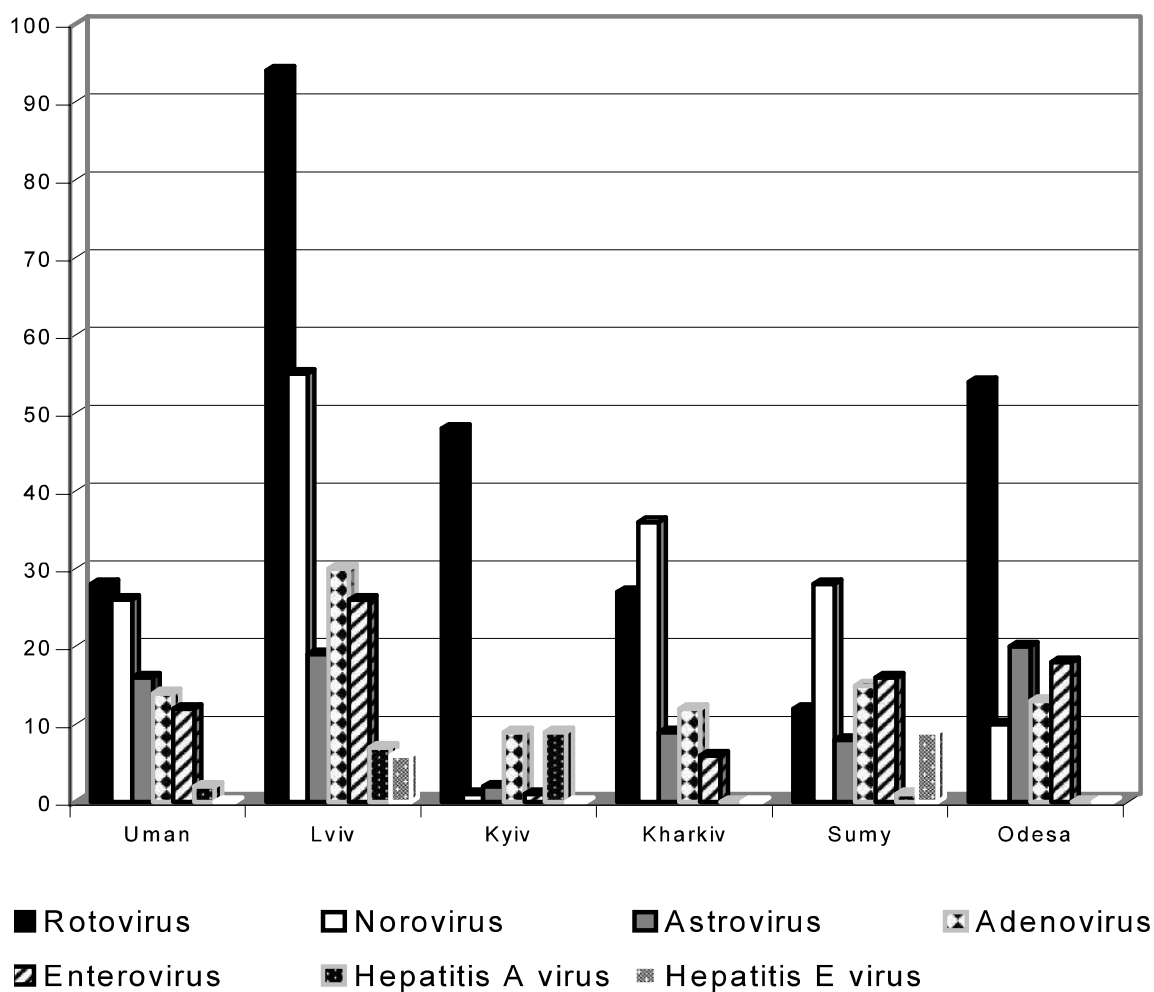
Если суммарно рассматривать ситуацию по этиологии ОКИ в Украине среди детей, то ведущую роль среди возбудителей занимают RoV, они встречаются в 14% моноинфекций и в 14% микстинфекций. Следующее место по распространенности (26%) занимают калицивирусы (NoV I, NoV II). NoV I/II в 9% наших исследований встречались при моноинфекциях и в 17% – при микстинфекциях.

Согласно данным литературы, AdV и AsV вызывают заболевания преимущественно в раннем детском возрасте [8, 9]. В исследуемой группе детей, по нашим данным, ДНК Adv обнаруживали в 14 % случаях острых ГЭ (при этом 5% составили моноинфекции), а РНК AsV была детектирована в 16% образцах (9% из них относились к случаям с моноинфекцией).

Известно, что EnV содержатся почти во всех сточных водах, они циркулируют в кишечнике как взрослых, так и детей и, как правило, не вызывают ОКИ [17]. Но согласно нашим данным, энтеровирусы являются этиологическим агентом в 6% случаев острых ГЭ в составе микстинфекции и в 6% случаев как моноинфекция. В данной работе типирование энтеровирусов не проводили.

Следует отметить, что HEV при ОКИ в исследуемых образцах был детектирован в 15 случаях, а HAV был выделен из 19 образцов (это были случаи сочетанных инфекций). Среди полученных данных настораживают результаты по количеству выделенных РНК вирусов HEV, так как, по литературным данным, при гепатите E возможна хронизация заболевания.

В различных регионах Украины (Умань, Львов, Киев, Харьков, Сумы и Одесса) этиологическая карта ОКИ не имеет схожести между собой (рис. 3 – из доклада автора на 15 Ежегодном съезде клинических вирусологов, Мадрид, Испания, 4–5 сентября 2012 г.).



*Рис. 3. Этиологическое распределение возбудителей вирусных ОКИ у детей по регионам Украины*

Полученные данные свидетельствуют о существенном удельном весе вирусных агентов в структуре ОКИ в различных городах Украины. Причем столицу страны можно охарактеризовать как менее нагруженный город в

отношении распространенности вирусных кишечных агентов (70 выделенных штаммов с явным доминированием RoV), а Львов – самым нагруженным (237 выделенных штаммов). Также в Одессе основным этиологическим агентом ОКИ являются RoV. В Сумах и Харькове было зафиксировано большее количество NoV I/II среди остальных возбудителей вирусных ОКИ.

Как видно из полученных данных, к числу установленных возбудителей вирусных ОКИ относятся не только RoV, калицивирусы человека, кишечные AdV, а также AsV, EnV и, возможно, HAV и HEV. И этот список далеко не полный. Даже применение современных молекулярно-генетических методов диагностики позволяет верифицировать диагноз только в половине регистрируемых случаев (57%) острых небактериальных кишечных инфекций. Это свидетельствует о недостаточной изученности этой группы инфекционных болезней.

### Выводы

1. Метод ПЦР позволяет быстро и достоверно определить возбудителей вирусных острых кишечных инфекций.
2. Распространенность вирусных агентов при острых кишечных инфекциях у детей до 15 лет достигает 60%.
3. Удельный вес каждого возбудителя в отдельном городе в Украине неодинаков и зависит от социально-экономической ситуации в каждом городе, в частности, большое влияние на эту проблему имеет состояние жилищно-коммунального хозяйства.
4. Данный метод диагностики позволяет произвести не только эпидемиологическое картирование вирусных острых кишечных инфекций, но и повлиять на терапевтическую тактику ведения больных.

### Литература

1. Дзюблик І.В. Виявлення ротавірусної інфекції у дітей в зимово-весняний період 2006–2007 рр. / І.В. Дзюблик, О.В. Обертинська, І.Г. Костенко // Рациональна фармакотерапія. – 2008. – № 3/2. – С. 77–80.
2. Дзюблик І.В. Ротавірусна інфекція у дітей України / І.В. Дзюблик, О.В. Обертинська, І.Г. Костенко [та ін.] // Профілактична медицина. – 2009. – № 2. – С. 34–37.
3. Васильев Б.Я. Острые кишечные заболевания. Ротавирусы и ротавирусная инфекция / Б.Я. Васильев, Р.И. Васильева, Ю.В. Лобзин. – СПб.: Лань, 2000. – 272 с.
4. Wolfaardt M. Incidence of human calicivirus and rotavirus infection in patients with gastroenteritis in South Africa / M. Wolfaardt, M. Taylor, H. Booysen [et al.] // J. Med. – 1997. – Virol. – № 51. – P. 290–296.
5. Human caliciviruses in acute gastroenteritis of young children in the community / X.-L. Pang, S. Honma, S. Nakata, T. Vesikari // J. Infect. Dis. – 2000. – V. 181 (Suppl. 2). – P. S288–S294.

6. Калицивирусная инфекция / А.А. Мухина, Г.А. Шипулин, А.Т. Подколзин, В.В. Малеев / *Инфекцион. болезни.* – 2004. – № 2. – С. 64–73.
7. Калицивирусная инфекция: клиника, диагностика, лечение: методические рекомендации. – М., 2006. – 19 с.
8. Выявление астровирусов при острой кишечной инфекции у детей / Н.Е. Епифанова, Н.Б. Луковникова, О.Ф. Федорова, Н.А. Новикова // *Материалы V Всероссийской научно-практич. конференции «Генодиагностика инфекционных болезней»*, М., 2004.– Т. 2.– С. 29–31.
9. Bishop R.F. Enteric viruses. In: *Encyclopedia of Virology* / R.F. Bishop, R.G. Webster, A. Granoff [et al.] // London, N.Y.: Academic Press Harcourt Brace Co. Publ. – 1994.– Vol. 1, № 2. – P. 373–378.
10. Инфекционная заболеваемость в Российской Федерации за 2005 г. Информационный сборник статистических и аналитических материалов. – М. : Федеральный центр гигиены и эпидемиологии, 2006.
11. Подколзин А.Т. Изучение этиологии острых кишечных инфекций у детей, госпитализированных в инфекционные отделения стационаров Москвы / А.Т. Подколзин, А.А. Мухина, Г.А. Шипулин [и др.] // *Инфекцион. болезни.* – 2004. – № 2 (4) – С. 85–91.
12. Akihara S. Existence of multiple outbreaks of viral gastroenteritis among infants in a day care center in Japan / S. Akihara, T. Phan, T.A. Nguyen [et al.] // *Arch. Virol.* – 2005. – Vol. 150, № 10. – P. 2061–2075.
13. Wolfaardt M. Incidence of human calicivirus and rotavirus infection in patients with gastroenteritis in South Africa / M. Wolfaardt, M. Taylor, H. Booysen [et al.] // *J. Med. Virol.* – 1997. – V. 51. – P. 290–296.
14. Khanna N. Gastroenteritis outbreak with norovirus in Swiss university hospital with a newly identified virus strain / N. Khanna, D. Goldenberger, P. Graber [et al.] // *J. Hosp. Infect.* – 2004. – V. 56, № 3. – P. 131–136.
15. Ильина Н.О. Клиническая оценка современных методов диагностики острых кишечных инфекций у детей: дис. на соискание научной степени к.м.н.: спец. 14.00.10 / Н.О. Ильина. – М., 2006. – 168 с.
16. Михайлов М.И. Гепатиты с фекально-оральным механизмом передачи возбудителей: В кн. *Практическая гепатология* / под ред. Н.А. Мухина. – М., 2004.– С. 13–17.
17. Михайлов М.И. Энтеральные вирусные гепатиты (этиология, эпидемиология, диагностика, профилактика) / М.И. Михайлов, И.В. Шахгильдян, Г.Г. Онищенко. – М.: ФГОУ «ВУНМИЦ Росздрава», 2007. – 352 с.
18. Ел-Морси И. Распространение гепатита Е среди населения эндемичных и неэндемичных регионов мира: автореф. дис. на соискание научной степени к.м.н.: спец. 14.00.30 / И. Ел-Морси. – М., 2004. – С. 7–22.
19. Mizuo H. Polyphyletic Strains of Hepatitis E Virus Are Responsible for Sporadic Cases of Acute Hepatitis in Japan / H. Mizuo, K. Suzuki, Y. Takikawa // *J Clin Microbiol.* – 2002. – V. 40 (9) – P. 3209–3218.
20. Кареткина Г.Н. Вирусный гепатит А – новый облик старой болезни / Г.Н. Кареткина, Е.А. Климова, Д.С. Чешик [и др.] // *Вирусные гепатиты – проблемы эпидемиологии, диагностики, лечения и профилактики.* – М., 2005. – С. 127–128.



21. Balayan M.S. Type E hepatitis: state of art. Intern. / M.S. Balayan // J. Infect. Dis. – 1997. – V. 2. – P. 113–120.

22. Сагалова О.И. Клинико-иммунологическая характеристика кишечных инфекций вирусной этиологии у взрослых: дис. на соискание научной степени докт. мед. наук: спец. 14.00.10 / О.И. Сагалова.– Москва, 2009. – 247 с.

23. Ющук Н.Д. Острые кишечные инфекции, диагностика и лечение / Н.Д. Ющук, Л.Е. Бродов. – М., 2001. – 304 с.

24. Жираковская Е.В. Использование метода ПЦР для диагностики ротавирусной инфекции и генотипирования выделенных в Новосибирске изолятов ротавируса группы А / Е.В. Жираковская, В.В. Клемешева, С.А. Боднев [и др.] // Сб. трудов 6-ой Всероссийской науч.-практ. конференции с международным участием «Молекулярная диагностика–2007». – М., 2007. – Т. III. – С. 251–253.

25. Кишкун А.А. Руководство по лабораторным методам диагностики / А.А. Кишкун – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 800 с.

### **Сучасний погляд на лабораторну діагностику гострих вірусних кишкових інфекцій у дітей в Україні**

**I.G. КОСТЕНКО, В.В. ТРЕТЬЯКОВ, I.Ф. САМБОРСЬКА**

**Резюме.** Молекулярно-генетичним методом лабораторної діагностики обстежені діти при спорадичних випадках гострої кишкової інфекції в різних регіонах України. Обстеження проводили на наявність вірусних етіологічних агентів, таких як ротавіруси, норовіруси, аденовіруси, астровіруси, ентеровіруси і віруси гепатитів з фекально-оральним шляхом передачі – гепатитів А і Е. У результаті розшифровано збудників вірусної кишкової інфекції у дітей. А також визначено епідеміологічний розподіл цих збудників залежно від регіонів України. Так, Київ, Одеса і Львів виявилися найбільш навантаженими містами відносно ротавірусів. У Харкові та Сумах переважала норовірусна інфекція. А в Умані розподіл збудників вірусної кишкової інфекції виявився досить рівномірним (домінуючих агентів не виявилося). Виявилося, що ентеровіруси, віруси гепатитів А і Е викликають гострі кишкові інфекції.

**Ключові слова:** гострі кишкові інфекції, вірусні діареї, ротавіруси, норовіруси, астровіруси, каліцивіруси, аденовіруси, ентеровіруси, вірус гепатиту А, вірус гепатиту Е, полімеразна ланцюгова реакція.

### **Modern look to laboratory diagnostics of acute viral diarrhoeal infections among children in Ukraine**

**I. KOSTENKO, V. TRETYAKOV, I. SAMBORSKA**

**Summary.** The molecular-genetic method of laboratory diagnostics is inspecting children at the sporadic cases of sharp intestinal infection in the different regions of Ukraine. An inspection of the presence of viral etiologic agents, such as rotaviruses, noroviruses, adenoviruses, astroviruses, enteroviruss and hepatitis with the faecal-oral way of transmission such as hepatitis A and E was conducted. As a result, the excitors of

*viral intestinal infection were deciphered for children. And also the epidemiology distributing of these exciters is not certain depending on the regions of Ukraine. So, Kyiv, Odesa and Lviv, appeared as the overloaded cities in regard to RoV. NoV infection predominated in Kharkiv and Sumy. And in Uman distributing of exciters of viral intestinal infection appeared even enough (dominant agents did not appear). Appeared, that EnV, HAV and HEV can cause of sharp intestinal infection.*

**Key words:** *acute viral diarrhoeal infections, viral diarrhoea, RoV, NoV, AsV, caliciviruses, AdV, EnV, HAV, HEV, polymerase chain reaction.*

**УДК 616.72-002-06(048.8)**

## **Позасуглобові прояви реактивних артритів**

**Г.В. МЯСНИКОВ, Г.О. СПАСЬКА**

**Резюме.** *Реактивний артрит – це системне захворювання, тригерним чинником якого є інфекційний агент; для нього характерне виникнення різних позасуглобових проявів, найчастішими з яких є ураження очей, шкіри та слизових оболонок, білясуглобових тканин, серця, нирок, нервової системи тощо. Саме вони й визначають прогноз цього захворювання. У статті представлено сучасні літературні дані щодо цієї проблеми та результати власних досліджень.*

**Ключові слова:** *реактивний артрит, позасуглобові прояви, суглоби, серце, нирки, шкіра, очі.*

Хвороби кістково-м'язової системи та сполучної тканини на даний час є однією з найбільш поширених патологій сучасного суспільства. За частотою вони займають 4-е місце після хвороб системи кровообігу, дихання та травлення. Економічні збитки, пов'язані з цією патологією, досягають 2,5% валового національного доходу розвинутих країн та постійно зростають [1].

Значущість проблеми реактивного артриту (РеА) пов'язана з високою захворюваністю, переважно осіб молодого, найбільш працездатного віку, значними матеріальними збитками через тривалу непрацездатність та великими витратами на лікування та реабілітацію таких хворих. Поширеність РеА у загальній популяції становить приблизно 1% [2]. Це не найважчий, але один з найчастіших ревматологічних діагнозів. РеА трапляється в 10 разів частіше у чоловіків, ніж у жінок, переважно у віці 20–40 років [3, 34].

Етіологія РеА остаточно невідома. Вважається, що в основі його виникнення лежить генетично зумовлена аномалія імунної системи, яка реалізується при інвазії організму деякими мікроорганізмами, оскільки