

ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ  
«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ ИМЕНИ ПАСТЕРА»

*На правах рукописи*

ШИШКО

Лариса Александровна

**ВИРУСОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭНТЕРОВИРУСОВ  
И ОСОБЕННОСТИ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА  
ЭНТЕРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ  
(НА ПРИМЕРЕ АРХАНГЕЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ)**

03.02.02 – вирусология  
14.02.02 – эпидемиология

Диссертация  
на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Научные руководители:  
доктор медицинских наук  
М.А. Бичурина,  
доктор медицинских наук  
Л.В. Лялина

Санкт-Петербург  
2017

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	5
<b>Глава 1. Современные представления об энтеровирусах и энтеровирусной инфекции (обзор литературы).</b> .....	19
1.1. Общая характеристика энтеровирусов, классификация, структура генома, репродукция и генетическая изменчивость энтеровирусов. ....	20
1.2. Клинико-эпидемиологические особенности энтеровирусной инфекции. . . .....	29
1.3. Методы лабораторной диагностики полиомиелита и энтеровирусной (неполио) инфекции. ....	36
1.4 Значение программы ликвидации полиомиелита для совершенствования системы надзора за энтеровирусной инфекцией. ....	40
<b>Глава 2. Материалы и методы исследования</b> .....	47
2.1. Материалы исследования .....	47
2.1.1. Данные для анализа заболеваемости полиомиелитом, заболеваниями с синдромом острого вялого паралича и энтеровирусной (неполио) инфекции в Архангельской области. ....	47
2.1.2. Материалы, характеризующие клинические образцы от больных и здоровых лиц для вирусологических, молекулярно-генетических и серологических исследований на территории Архангельской области. . . .	48
2.1.3. Исходные материалы для оценки результатов исследования объектов окружающей среды на полио- и другие энтеровирусы .....	52
2.2. Методы исследования .....	53
2.2.1 Вирусологические методы исследования полиовирусов и других энтеровирусов (выделение вирусов, идентификация серотипов, внутритиповая дифференциация полиовирусов).. ....	53
2.2.2. Реакция нейтрализации на культуре клеток для определения напряженности иммунитета к полиовирусам .....	55

2.2.3. Методы молекулярно-генетических исследований полио- и энтеровирусов. . . . .	56
2.2.4. Эпидемиологическая диагностика и методы статистики. . . . .	59
<b>Глава 3. Проявления эпидемического процесса полиомиелита и энтеровирусной (неполио инфекции среди населения Архангельской области. . . . .</b>	<b>60</b>
3.1. Характеристика эпидемического процесса полиомиелита на территории Архангельской области в 1950-2013 гг. . . . .	60
3.2. Качественные показатели эпидемиологического надзора за полиомиелитом и острыми вялыми параличами в период 2006-2013 гг. . . . .	63
3.3. Интенсивность эпидемического процесса энтеровирусной инфекции в различных возрастных и социальных группах населения в период 2006-2015 гг. . . . .	70
<b>Глава 4. Характеристика энтеровирусов, вызывающих эпидемические подъемы заболеваемости, и оценка клинико-эпидемиологических особенностей энтеровирусной инфекции в Архангельской области. . . . .</b>	<b>76</b>
4.1. Характеристика энтеровирусов, вызывающих эпидемические подъемы заболеваемости в 2006-2013 гг., с использованием вирусологических методов исследования . . . . .	76
4.2. Молекулярно-генетическая характеристика неполиомиелитных энтеровирусов, выделенных в Архангельской области в разные годы, и оценка клинико-эпидемиологических особенностей энтеровирусной инфекции в 2006-2013 гг. . . . .	86
<b>Глава 5. Дополнительные направления надзора за полиомиелитом и энтеровирусной (неполио) инфекцией в современный период. . . . .</b>	<b>97</b>
5.1. Оценка качества надзора за циркуляцией полиовирусов и неполиомиелитных энтеровирусов в объектах окружающей среды на территории Архангельской области. . . . .	98
5.2. Определение спектра энтеровирусов, выделенных от здоровых детей из групп риска . . . . .	109

5.3. Результаты изучения напряженности иммунитета к полиовирусам среди детского населения Архангельской области . . . . .	112
<b>Заключение</b> . . . . .	119
<b>Выводы.</b> . . . . .	130
<b>Практические рекомендации</b> . . . . .	131
<b>Перспективы дальнейшей разработки темы.</b> . . . . .	132
<b>Список сокращений и условных обозначений.</b> . . . . .	133
<b>Список литературы</b> . . . . .	134

## **ВВЕДЕНИЕ**

Энтеровирусные инфекции (ЭВИ) представляют значительную проблему для здравоохранения многих стран вследствие ежегодных подъемов заболеваемости с вовлечением преимущественно детского населения. Известно более 100 серотипов энтеровирусов (ЭВ) человека, способных вызывать инфекции с различными клиническими проявлениями и степенью тяжести. ЭВ устойчивы во внешней среде, обладают способностью к изменчивости с усилением вирулентного и патогенного потенциала, отмечается периодическая смена циркулирующих ЭВ. Наличие бессимптомного носительства ЭВ, множество факторов и путей передачи ЭВИ делают малоэффективными мероприятия, направленные на неспецифическую профилактику инфекции. Большое серотиповое разнообразие энтеровирусов затрудняет разработку вакцин. В течение последних лет интерес к ЭВИ возрос в различных отраслях медицинской науки (эпидемиология, вирусология, молекулярная биология), открыта значимость ЭВ в развитии не только инфекционной, но и соматической патологии.

### **Актуальность темы исследования**

Актуальность энтеровирусных инфекций (ЭВИ) определяется ubicвитарным распространением, высокой контагиозностью, наличием бессимптомного вирусоносительства, устойчивостью возбудителей во внешней среде, отсутствием средств специфической профилактики, возникновением вспышечной заболеваемости (Ахмадишина Л.В. и др., 2013, Бичурина М.А., 2013, Лукашев А.Н. и др., 2010). Высокая генетическая изменчивость энтеровирусов (ЭВ) способствует появлению новых генетических вариантов возбудителей, обладающих значительным эпидемическим потенциалом (Голицына Л.Н. и др., 2011).

Необходимость надзора за ЭВИ и их эпидемиологическая значимость четко выявились в процессе реализации на территории России

Национального плана действий по поддержанию статуса территории, свободной от полиомиелита, проводимого в соответствии с Глобальной программой ликвидации полиомиелита. После признания Всемирной Организацией Здравоохранения (ВОЗ) Российской Федерации (РФ) в составе Европейского региона как территории, свободной от полиомиелита, энтеровирусный надзор рассматривается как составляющая часть надзора в странах, где циркуляция «местных» диких полиовирусов прекращена (ВОЗ, 2005г.).

Заключительный этап ликвидации полиомиелита сопровождается широким применением в стране смешанной схемы иммунизации против полиомиелита с использованием инактивированной полиомиелитной вакцины для плановой иммунизации детей в возрасте до 1 года и живой оральной полиомиелитной вакцины для детей более старшего возраста. Результатом является снижение циркуляции вакцинных вирусов полиомиелита, которые могут быть источником формирования вакцинно-родственных полиовирусов (VDPV), нередко не отличающихся по вирулентности от диких штаммов Иванова О.Е. и др., 2003, 2005). Образуемая вследствие данных мер экологическая «ниша», очевидно, восполняется циркуляцией других (неполио) энтеровирусов.

Более 60 из 102 известных в настоящее время серотипов энтеровирусов человека являются возбудителями инфекционных заболеваний. Большинство (около 85%) энтеровирусных инфекций протекают бессимптомно. Около 12-14% случаев диагностируются как лихорадочные заболевания легкой или средней тяжести и лишь около 1-3% имеют тяжелое течение, особенно у детей раннего возраста и лиц с нарушениями иммунной системы. Неплиомиелитные энтеровирусы могут вызывать несколько десятков форм заболеваний, наиболее тяжелыми из которых являются серозный менингит, менингоэнцефалит, вирусный сепсис и некроз печени новорожденных, миокардит, гепатит, миалгии, летальный отек легких

(Демина А.В. и др., 2009, Лашкевич В.А., 2008, Лукашев А.Н. и др., 2004, Ray C.G., 2004, Rhoades R.E., 2011).

Высокая социально-экономическая значимость ЭВИ, общественный резонанс, возникающий при массовых вспышках заболевания, требуют изучения закономерностей и региональных особенностей развития эпидемического процесса ЭВИ (Лялина Л.В. и др., 2013), дальнейшего совершенствования мероприятий по вирусологическому и эпидемиологическому надзору за данной группой инфекций.

### **Степень разработанности темы исследования**

В РФ в официальную статистику регистрация ЭВИ введена в 2006 году. Вместе с тем, в ряде субъектов РФ (в Архангельской области в частности) наблюдение за заболеваемостью и циркуляцией ЭВИ проводится в течение более длительного периода времени.

Ежегодно в стране регистрируется около 6-10 тысяч случаев заболеваний ЭВИ (4-7 на 100 тысяч населения). Показатели заболеваемости ЭВИ в Архангельской области в период с 2006 года (с начала официальной регистрации) в некоторые годы превышают показатели по РФ (2008 год – в 5 раз, 2009 год – на 49%, 2010 год – в 2 раза).

Лабораторная диагностика ЭВИ осуществляется вирусологическими и молекулярно-генетическими методами в вирусологических лабораториях субъектов РФ, входящих в систему учреждений Роспотребнадзора. Длительность вирусологического метода исследований (3-4 недели) делает его малоприменимым для клинической диагностики, вместе с тем, использование данного метода незаменимо для последующих эпидемиологических наблюдений, изучения этиологии разных клинических форм, составления прогнозов эпидемического неблагополучия. Молекулярно-генетические методы исследований ЭВИ начали внедряться в практику вирусологических лабораторий Центров гигиены и эпидемиологии с 2005 года с использованием в исследовательских целях набора для

полимеразной цепной реакции (ПЦР) «АмплиСенс® Enterovirus-FL», позволяющего определить в образце клинического материала и/или пробе объекта окружающей среды РНК энтеровируса без его серотипирования. Данный набор реагентов зарегистрирован в 2010 году (№ ФСР 2008/02264 от 03.03.2010г.), что позволило использовать его с целью диагностики ЭВИ. Разработанный диагностический набор «АмплиСенс® Poliovirus-FL» для выявления РНК полиовирусов и энтеровирусов группы С (HEV-C) с дифференцировкой вакцинных штаммов полиовирусов (Sabin 1, Sabin 2, Sabin 3) в клиническом материале и объектах окружающей среды зарегистрирован в 2011 году (№ ФСР 2011/11257), а ранее применялся для научных и эпидемиологических исследований, использование данного набора реагентов не исключает необходимости вирусологических исследований на полиомиелит. В 2013 году выпущен набор реагентов «АмплиСенс® Enterovirus 71-FL», предназначенный для выявления РНК энтеровируса 71 типа в биологическом материале и пробах объектов окружающей среды. Использование данного набора в диагностических целях стало возможным в 2014 году, после получения регистрационного удостоверения (РЗН 2014/2106 от 25.11.2014).

Необходимым элементом лабораторной диагностики ЭВИ является плановое взаимодействие с Референс-центрами по ЭВИ, Региональными и Национальным центром по ПОЛИО/ОВП с целью идентификации штаммов вирусов или их РНК, выделенных от больных и из проб объектов окружающей среды. Изучение молекулярно-генетических характеристик энтеровирусов позволяет подтвердить или опровергнуть роль объектов окружающей среды как факторов распространения инфекции, проследить эволюцию возбудителей.

Важным этапом работы по вирусологическому и эпидемиологическому надзору за ЭВИ являются исследования, проводимые в плановом порядке, позволяющие своевременно составить представление о масштабах циркуляции энтеровирусов, установить причины, приводящие к



формированию эпидемических штаммов и возникновению эпидемических подъемов заболеваемости ЭВИ.

С 2009 года в РФ реализуются ведомственные целевые программы по эпидемиологическому надзору и профилактике ЭВИ, утверждаемые Федеральной службой Роспотребнадзора каждые три года. Реализация программ должна обеспечить снижение заболеваемости ЭВИ, предотвращение эпидемических подъемов и формирование локальных очагов инфекции, недопущение распространения клинических форм ЭВИ, приводящих к инвалидизации и летальным исходам, определение причин формирования эпидемических штаммов ЭВ, улучшение лабораторной диагностики ЭВИ с внедрением стандартизованных методик проведения исследований, совершенствование системы эпидемиологического надзора за ЭВИ.

Таким образом, изучение закономерностей эпидемического процесса ЭВИ, вирусологических и молекулярно-генетических характеристик циркулирующих штаммов ЭВ, выделенных от людей (спорадические случаи ЭВИ, групповые очаги, «здоровые» носители) и из объектов окружающей среды, являются необходимыми составляющими для решения задач, определяемых программой по эпидемиологическому надзору и профилактике ЭВИ на каждой конкретной территории.

**Цель исследования:** изучение вирусологических и молекулярно-генетических характеристик энтеровирусов, циркулирующих на территории Архангельской области и их влияния на эпидемический процесс энтеровирусной инфекции для оптимизации системы надзора за этой инфекцией.

**Задачи исследования:**

1. Изучить проявления эпидемического процесса полиомиелита (1950-2013 годы) и энтеровирусной (неполио) инфекции (2006-2013 годы) на территории Архангельской области.

2. Дать характеристику энтеровирусов, вызывающих эпидемические подъемы заболеваемости, с использованием вирусологических методов исследования и оценить клинико-эпидемиологические особенности групповых заболеваний энтеровирусной инфекцией.
3. Изучить генетическую характеристику неполиомиелитных энтеровирусов, выделенных в Архангельской области в разные годы из различных источников.
4. Оценить качество системы надзора за циркуляцией полиовирусов и других энтеровирусов в объектах окружающей среды и среди детей из групп риска.
5. Обосновать основные направления совершенствования системы надзора за полиомиелитом и энтеровирусной (неполио) инфекцией.

### **Научная новизна исследования**

Впервые выявлены и изучены серотипы и генетические варианты ЭВ, циркулировавших на территории области и обусловивших заболеваемость энтеровирусной инфекцией.

На примере Архангельской области показано, что возникновение эпидемических подъемов и групповых заболеваний энтеровирусной инфекцией на протяжении длительного периода времени (2006-2013) связано со сменой преобладающих в циркуляции серотипов энтеровирусов.

Впервые на примере Архангельской области в 2013 году с помощью секвенирования участка VP1 генома энтеровируса ЭКХО 30 доказано, что для изменения эпидемической ситуации по энтеровирусной инфекции имеет значение не только смена серотипов циркулирующих ЭВ, но и появление на данной территории нового генетического варианта ЭВ того же серотипа.

Проведенные комплексные исследования с помощью вирусологических, молекулярно-генетических и эпидемиологических методов на протяжении длительного периода наблюдения в отдельном субъекте РФ позволили

выявить закономерности развития эпидемического процесса энтеровирусной инфекции.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Доказана необходимость совершенствования надзора за ЭВИ, используя комплексный подход к проблеме, предусматривающий проведение вирусологических, молекулярно-генетических и эпидемиологических исследований в целях оптимизации системы профилактических и противоэпидемических мероприятий на территории отдельного субъекта РФ.

Полученными результатами доказано, что только плановое взаимодействие учреждений Роспотребнадзора, учреждений здравоохранения и научно исследовательских учреждений, выполняющих функции надзора за ЭВИ (Референс-центр по мониторингу за ЭВ, региональный и национальный центры по надзору за ЭВИ и Координационный центр), будет способствовать совершенствованию системы надзора за ЭВИ в РФ.

Результаты работы, обобщенные в двух аналитических обзорах (по полиомиелиту и ЭВИ), будут способствовать повышению квалификации врачей разных специальностей (педиатров, инфекционистов, эпидемиологов, вирусологов и других).

Материалы диссертации используются в учебно-педагогическом процессе кафедры эпидемиологии Северо-западного государственного медицинского университета имени И.И. Мечникова (Санкт-Петербург) и кафедры инфекционных болезней Северного государственного медицинского университета (г.Архангельск).

### **Методология и методы исследования**

Методологической основой исследований послужила совокупность вирусологических, эпидемиологических и молекулярно-биологических методов. В ходе работы использовались классические методы исследования (см. «Материалы и методы»).

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Вакцинация живой полиомиелитной вакциной способствовала существенному снижению заболеваемости полиомиелитом в Архангельской области и полному прекращению регистрации случаев, вызванных диким полиовирусом, в 1982 г.; эпидемический процесс энтеровирусной (неполио) инфекции в Архангельской области имеет региональные особенности, проявляющиеся высокой интенсивностью, полиморфизмом клинических форм и цикличностью, связанной с изменением этиологической структуры возбудителя.

2. Использование вирусологических методов исследования позволило установить широкий спектр серотипов энтеровирусов, циркулирующих среди населения Архангельской области, показать смену преобладающих в разные годы серотипов энтеровирусов, вызывающих сезонные подъемы заболеваемости, выявить соответствие серотипов энтеровирусов, вызвавших эпидемические подъемы энтеровирусной инфекции среди людей, и серотипов вируса, изолированных из объектов окружающей среды.

3. Молекулярно-генетические исследования показали, что на территории Архангельской области в разные годы циркулировали различные генетические варианты энтеровирусов серотипов ЕСНО 6 и ЕСНО 30; данные секвенирования участка VP1 генома энтеровирусов ЕСНО 30, циркулировавших в разные годы, подтвердили, что для изменения эпидемической ситуации имеет значение не только смена серотипа энтеровируса, но и появление на данной территории нового генетического варианта энтеровируса того же серотипа.

**Личный вклад автора** заключается в планировании, непосредственном выполнении всех вирусологических исследований и ряда молекулярно-генетических исследований, анализе полученных результатов для установления закономерностей развития эпидемического процесса при

энтеровирусной инфекции. Автором лично проведен анализ литературных и собственных данных, обобщены результаты исследований, статистическая обработка и подготовка материалов к публикациям.

### **Степень достоверности и апробации материалов диссертации**

Достоверность и обоснованность результатов работы обеспечены использованием современных средств и методов проведения исследований, значительным объемом выполненных исследований, большим массивом обработанных данных и комплексным анализом полученных результатов.

Апробация работы осуществлялась на протяжении всего периода исследования. Основные положения диссертации были доложены на 5 конференциях, на 4 Региональных совещаниях по совершенствованию надзора за полиомиелитом и энтеровирусной инфекцией и на заседаниях отделения Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов, паразитологов в г.Санкт-Петербурге и Ленинградской области.

Материалы диссертации доложены на:

1. Российской научно-практической конференции «Высокотехнологичные виды медицинской помощи при инфекционных болезнях у детей» (Санкт-Петербург, 2009).
2. Всероссийском ежегодном конгрессе «Инфекционные болезни у детей: диагностика, лечение и профилактика» (Санкт-Петербург, 2010).
3. Международной конференции «Молекулярная эпидемиология актуальных инфекций» (Санкт-Петербург, 2013).
4. III Всероссийской конференции с международным участием «Профилактическая медицина — 2013» (Санкт-Петербург, 2013).
5. 8-ой Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика 2014» (Москва, 2014).

6. Заседаниях отделения Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов, паразитологов в г. Санкт-Петербурге и Ленинградской области (Санкт-Петербург, 2013, 2014)
7. Региональных совещаниях по «Совершенствованию надзора за полиомиелитом и энтеровирусной инфекцией» (Нижний Новгород, 2010, Санкт-Петербург, 2011, 2012, Кисловодск, 2013)

**Публикации.** По теме диссертационной работы опубликовано **16** научных работ, в том числе **5 статей** - в российских журналах, входящих в перечень рецензируемых изданий, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ.

Аналитические обзоры:

1. Бичурина, М.А. Совершенствование эпидемиологического и вирусологического надзора за полиомиелитом в постсертификационный период ликвидации инфекции: аналитический обзор / М.А.Бичурина, Л.В.Лялина, Н.И.Романенкова, Н.Р.Розаева, О.И.Кубарь, О.И.Канаева, Ж.В.Терентьева, О.Ю.Стебелько, Л.А.Шишко. – СПб.: ФБУН НИИЭМ имени Пастера, 2013. – 88с.
2. Романенкова, Н.И. Особенности циркуляции неполиомиелитных энтеровирусов в постсертификационный период ликвидации инфекции: аналитический обзор / Н.И.Романенкова, М.А.Бичурина, Н.Р.Розаева, О.И.Канаева, Л.А.Шишко. – СПб.: ФБУН НИИЭМ имени Пастера, 2015. – 68 с.

Статьи:

1. Романенкова, Н.И. Иммуитет к полиовирусам у детского населения на ряде территорий Российской Федерации / Н.И. Романенкова, М.А. Бичурина, Н.Р. Розаева, Л.А. Шишко // **Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.** – 2012. - № 5. – С. 49-53.

2. Шишко, Л.А. Этиология сезонных подъемов заболеваемости энтеровирусной инфекцией в Архангельской области / Л.А. Шишко, Н.И. Романенкова, М.А. Бичурина, Т.А. Гордиенко, Н.Р. Розаева, Л.Н. Голицына, Л.Б. Фомина, О.И. Канаева, Л.В. Лялина, Н.А. Новикова // **Инфекция и иммунитет.** – 2013. – Т. 3, № 1. – С.65-72.
3. Бичурина, М.А. Роль энтеровируса ЕСНО 30 в этиологии энтеровирусной инфекции на Северо-Западе России в 2013 году / Н.И. Романенкова, Л.Н. Голицына, Н.Р. Розаева, О.И. Канаева, С.Г. Фомина, Т.И. Крайнова, Л.А.Шишко, Т.А.Гордиенко, В.А.Пьяных, Т.Г. Иванова, С.Н.Смелков, М.В.Лесникова, Н.А. Новикова // **Журнал инфектологии.** – 2014. – Т.6, № 3. – С. 84-91.
4. Романенкова, Н.И. Вирусы Коксаки В1–6 как этиологический фактор энтеровирусной инфекции/ Н. И. Романенкова, М. А. Бичурина, Н. Р. Розаева, О. И. Канаева, Л. А. Шишко, И. В. Черкасская// **Журнал инфектологии.** – 2016. – Т. 8. - № 2. – С. 65-71.
5. Бобун, И.И. Особенности вирусного загрязнения питьевой воды в Архангельской области / И.И.Бобун, Р.В.Бузинов, Л.А.Шишко, В.П.Болтенков, Б.А.Моргунов, А.Б.Гудков // **Экология человека.**-2016. - №2. – С. 3-7.
6. Лялина, Л.В. Заболеваемость энтеровирусной (неполио) инфекцией на территории Северо-Западного Федерального округа / Л.В.Лялина, М.А.Бичурина, Л.А.Шишко, О.И.Канаева // Материалы III Всероссийской конференции с международным участием «Профилактическая медицина – 2013». Санкт-Петербург, 27 ноября 2013г. Под ред. А.В.Силина – СПб.: Изд-во Мечникова, 2013. – С. 70-72.
7. Романенкова, Н.И. Изучение иммунитета к полиовирусам на отдельных «молчащих» территориях Российской Федерации / Н.И. Романенкова, М.А.

Бичурина, Н.Р. Розаева, Л.А. Шишко // Инфекция и иммунитет. – 2011. – Т. 1, № 2. – С.161-166.

8. Сосницкий, В.И. Полиомиелит в Архангельской области на стадии ликвидации / В.И. Сосницкий, В.Ф. Фардзинова, Л.А. Шишко, Л.И. Чечуева // Сб. материалов по обмену опытом работы в регионах РФ «Эпидемиологический надзор за полиомиелитом и ОВП» под ред. Е.Н. Беляева, А.А. Ясинского. – М., 2002. – С.50-57.

Тезисы:

1. Илимурзина, Н.А. Энтеровирусные менингиты у детей Архангельской области / Н.А. Илимурзина, Л.В. Титова, О.В. Самодова, О.Ю. Леонтьева, Л.А.Шишко, Л.И. Чечуева // Сб. научных трудов Российской научно-практической конференции «Высокотехнологичные виды медицинской помощи при инфекционных болезнях у детей». Санкт-Петербург, 7-8 октября 2009 г. – СПб, 2009. – С. 29.

2. Самодова, О.В. Этиология внутриутробных инфекций / О.В. Самодова, Н.Л. Рогушина, Л.А. Шишко, Г.В. Ускова // Сб. научных трудов Всероссийского Ежегодного конгресса «Инфекционные болезни у детей: диагностика, лечение и профилактика». Санкт-Петербург, 5-6 октября 2010 г. – СПб, 2010. – С. 154.

3. Шишко, Л.А. Пейзаж энтеровирусов, циркулировавших на территории Архангельской области в 2006-2011 годах / Л.А. Шишко, Н.И. Романенкова, М.А. Бичурина, Л.Н. Голицына, Н.А. Новикова // Материалы международной конференции «Молекулярная эпидемиология актуальных инфекций». Санкт-Петербург, 5-7 июня 2013 г. Инфекция и иммунитет. – 2013.– Т.3, №2.– С. 188-189.

4. Гордиенко, Т.А. Эпидемиологический надзор за энтеровирусными инфекциями в Архангельской области / Т.А. Гордиенко, Л.Н. Гришина, Л.А. Шишко, Н.И. Романенкова // Материалы международной конференции



«Молекулярная эпидемиология актуальных инфекций». Санкт-Петербург, 5-7 июня 2013 г. Инфекция и иммунитет. – 2013.– Т.3, №2.– С. 123-124.

5. Шишко, Л.А. Молекулярно-генетические исследования в вирусологическом надзоре за энтеровирусными инфекциями на территории Архангельской области / Л.А.Шишко, Л.И.Чечуева, Л.В.Семьина // Сборник трудов VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика 2014». Москва, 18-20 марта 2014 г. – Т.1.-С.395.

6. Романенкова, Н.И. Сезонные подъемы заболеваемости энтеровирусными инфекциями на Северо-Западе России / Н.И.Романенкова, М.А.Бичурина, Н.Р.Розаева, О.И.Канаева, Л.А.Шишко // Сб. материалов Всероссийского ежегодного конгресса «Инфекционные болезни у детей: диагностика, лечение и профилактика». Санкт-Петербург, 13-14 октября 2016 г. Журнал инфектологии. – 2016.-Т.8, №3. – С. 104-105.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 154 страницах машинописного текста, включая 19 таблиц и 33 рисунка. Работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов и списка цитируемой литературы. Список литературы включает 203 источника, из них 113 отечественных и 90 иностранных. Диссертация изложена в соответствии с общими требованиями к оформлению кандидатских и докторских диссертаций, утвержденными в ГОСТ Р 7.0.11-2011.

### **Внедрение результатов исследования**

Результаты настоящей работы использованы в 2 изданных аналитических обзорах:

1. Совершенствование эпидемиологического и вирусологического надзора за полиомиелитом в постсертификационный период ликвидации инфекции. СПб. : ФБУН НИИЭМ имени Пастера, 2013. – 88 с.
2. Особенности циркуляции неполиомиелитных энтеровирусов в постсертификационный период ликвидации инфекции. СПб. : ФБУН НИИЭМ имени Пастера, 2015. – 68 с.

Результаты исследования используются в учебно-педагогическом процессе кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии Северо-Западного государственного медицинского университета имени И.И. Мечникова Министерства здравоохранения Российской Федерации (г.Санкт-Петербург), кафедры инфекционных болезней Северного государственного медицинского университета Министерства здравоохранения Российской Федерации (г.Архангельск).

## **Глава 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ ЭНТЕРОВИРУСАХ И ЭНТЕРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)**

История открытия и изучения энтеровирусов началась с вирусов полиомиелита – прототипных представителей семейства. История полиомиелита насчитывает не менее 3500 лет [26]. Заболевание, приводящее к укорочению и деформации нижних конечностей и пожизненной хромоте, впервые описано Гиппократом (460-370 г.г. до н.э.) [20]. Детально описали болезнь немецкий ортопед Я.Гейне (Heine) и шведский педиатр К.Медин во второй половине XIX века. В 1874 году заболевание получило современное название – полиомиелит [43]. Вирусная этиология полиомиелита установлена в 1909 году К.Ландштейнером и Г.Поппером (Landsteiner и Popper), которым удалось воспроизвести в эксперименте передачу инфекции от человека к приматам [47]. Геном полиовируса был полностью расшифрован лишь в 1981 году.

Описание других энтеровирусных инфекций проводилось также задолго до открытия их возбудителей. Непوليوмиелитные энтеровирусы были выделены в результате применения для диагностики полиомиелита новых, ранее не используемых методов вирусологических исследований (заражение лабораторных мышей, использование клеточных культур). Вирусы Коксаки А впервые описаны в 1948г. американскими исследователями Г.Даллдорфом и Г.Сиклсом (G. J. Dalldorf, G. M. Sickles), названы ими по имени городка Коксаки в штате Нью-Йорк США, где вирусы были выделены в опытах на новорожденных мышах из стула парализованного ребенка. Отличительной особенностью выделенных вирусов от известных в то время вирусов полиомиелита была способность вызывать параличи у новорожденных мышей, кроме того, эти вирусы не нейтрализовались полиомиелитными антисыворотками

В 1949 г. доктором Мелником (J. Melnick.) и соавторами впервые выделены вирусы Коксаки В от детей, больных серозным менингитом.

Разделение вирусов Коксаки на 2 группы А и В обусловлено их способностью вызывать у новорожденных мышей вялые или спастические параличи [16, 21, 50, 138].

В 50-х годах XX века доктор Эндерс (J.F. Enders) открыл возможность размножения вирусов полиомиелита в культуре клеток приматов, что повлекло в дальнейшем выделение новых энтеровирусов (1951г.), названных вирусами ЕСНО (Enteric cytopathogenic human orphan viruses — кишечные цитопатогенные человеческие вирусы-сиротки), такое название объясняется изначально неясной ролью этих вирусов в патологии человека и отсутствием в экспериментах патогенных свойств для животных. В дальнейшем установлена этиологическая роль ЭВ ЕСНО в развитии различных заболеваний человека [21, 138, 159].

### **1.1. Общая характеристика энтеровирусов, классификация, структура генома, репродукция и генетическая изменчивость энтеровирусов**

Энтеровирусы входят в состав семейства Picornaviridae, род Enterovirus. Название семейства обусловлено малыми размерами входящих в него вирусов и содержанием РНК в качестве генетического материала (от pico – маленький + RNA – рибонуклеиновая кислота). Название рода свидетельствует о преимущественной репликации энтеровирусов в кишечнике.

Классификация энтеровирусов исторически подвергалась неоднократному пересмотру, изменениям и дополнениям в соответствии с расширением знаний в области вирусологии. Название семейства было предложено в 1962 году на Международном конгрессе микробиологов и трактовалось следующим образом:

P – polioviruses (полиовирусы), первые открытые представители семейства;

I – insensitivity to ether (устойчивость к эфиру);

C – coxsackieviruses (вирусы Коксаки), вторые открытые представители семейства;

O – orphan (вирусы-сироты, первоначальное обозначение вирусов ECHO);

R – rhinoviruses (риновирусы);

N – new types (новые типы, нуждающиеся в классификации);

A – animal (пикорнавирусы животных)

Семейство Picornaviridae представлено вирусами человека и животных:

- Энтеровирус человека А
- Энтеровирус человека В
- Энтеровирус человека С
- Энтеровирус человека D
- Энтеровирус E (Бычий энтеровирус А)
- Энтеровирус F (Бычий энтеровирус В)
- Энтеровирус G (Свиной энтеровирус В)
- Энтеровирус H (Обезьяний энтеровирус А)
- Энтеровирус J (Другие неклассифицированные энтеровирусы)
- Риновирус человека А
- Риновирус человека В
- Риновирус человека С

Таким образом, Международным комитетом по таксономии вирусов энтеровирусы человека объединены в 4 вида – А, В, С, D (табл.1). В основе видовой принадлежности энтеровирусов – организация генома, сходство нуклеотидных последовательностей, биологические свойства [162, 167]. В настоящее время известны более 100 серотипов энтеровирусов [190].

## Современная классификация энтеровирусов человека

Вид	Серотипы
Human enterovirus A HEV-A	Coxsackievirus A 2-8, 10, 12, 14, 16
	Human enterovirus 71, 76, 89-92, 114
Human enterovirus B HEV-B	Coxsackievirus A 9
	Coxsackievirus B 1-6
	Echovirus 1-7, 9, 11-21, 24-27, 29-33
	Human enterovirus 69, 73-75, 77-88, 93, 97, 98, 100, 101, 106, 107
Human enterovirus C HEV-C	Coxsackievirus A 1, 11, 13, 17, 19-22, 24
	Human enterovirus 95, 96, 99, 102, 104, 105, 109, 113, 116
	Poliovirus 1-3
Human enterovirus D HEV-D	Human enterovirus 68, 70, 94, 111

Вирионы имеют диаметр 22-30 нм. Центральная их часть занята свернутой одноцепочечной молекулой РНК ( $7,2-8,5 \times 10^3$  н.о.) позитивной полярности. Длина генома примерно 2500 нм, т.е. он очень плотно упакован в нуклеокапсиде совместно с ионами  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  для противодействия отрицательному заряду фосфатных групп [55].

Внешняя оболочка представляет собой белковый капсид, построенный из 60 субъединиц, собранных в икосаэдр. Каждая субъединица состоит из 5 протомеров, каждый протомер - из 4 полипептидов VP1, VP2, VP3, VP4, являющихся производными исходного протомера VP0 [115, 168]. Белок VP0 входит в состав капсида зрелых вирионов как минорный компонент (по 2 молекулы на вирион) [55]. Белки в капсиде находятся в эквимолекулярных соотношениях по 60 молекул каждого белка на вирион, причем каждая из 60 субъединиц содержит по одной молекуле каждого из 4 белков [30].

На поверхности вириона находится в основном белок VP1 и в меньшем количестве белки VP2 и VP3. Белок VP4 на поверхности не обнаруживается и находится в тесной ассоциации с вирусной РНК [18].

С помощью рентгеноструктурного анализа кристаллов вирионов и новых методов электронной криомикроскопии установлены детали их строения на атомном уровне. Капсид пикорнавирусов собирается из 12-ти компактных пентамерных блоков, где каждый пентамер сформирован тримерами, содержащими по одной копии каждого из белков VP1, VP2, VP3. Тип симметрии вириона обозначается как T=3. Белок VP1 значительно выступает над поверхностью капсида; субъединицы VP2 и VP3 из различных пентамеров чередуются вокруг осей симметрии. Поскольку VP2 и VP3 — продукты различных генов, они не могут быть строго симметричными относительно друг друга, но часто эти белки имеют сходные пространственные структуры, т.е. можно утверждать, что они псевдосимметричны [45].

Общая молекулярная масса вириона составляет около 8,5 мегадальтон, причем на долю белка приходится около 70%, а на долю РНК — 30%.

Антигены энтеровирусов представлены типоспецифичным N (D)-антигеном (антиген полноценной интактной вирусной частицы), на который вырабатываются вируснейтрализующие, комплементсвязывающие и преципитирующие антитела, а также группоспецифичным H (C)-антигеном (антиген «пустого», т.е. потерявшего РНК вириона), на который вырабатываются комплементсвязывающие антитела, отличающиеся по динамике образования и своей специфичности. В опытах по диссоциации вирионов на пентамеры и протомеры установлено наличие антигенной специфичности у отдельных вирусных белков VP1, VP2, VP3 [181].

Липидная оболочка у вирионов отсутствует, что обуславливает их устойчивость к эфиру, хлороформу, детергентам. Энтеровирусы устойчивы в средах с низким значениям рН (рН 3-5), что способствует сохранению вирионов при прохождении через кислое содержимое желудка. Энтеровирусы нечувствительны ко всем известным антибиотикам и химиопрепаратам [27, 50], это свойство, а также устойчивость к хлороформу,

широко используется при обработке вирусосодержащего материала с целью подавления роста бактериальной и грибковой микрофлоры.

Обработка 0,3% формальдегидом, мочевиной, 0,1 N HCl, хлорсодержащими дезинфектантами с содержанием свободного остаточного хлора в концентрации 0,3–0,5 мг/л быстро инактивирует вирусы. Гуанидин полностью разрушает вирусный капсид.

Защитное действие оказывает присутствие органических веществ. В канализационных водах и фекалиях при температуре 0°C вирусы сохраняют инфекционную активность около месяца. В молочных продуктах вирусы выдерживают прогревание на 5°C выше, чем в воде [18].

Прогревание при 50°C и выше, лиофильная сушка, прямой солнечный свет и ультрафиолетовое облучение быстро инактивируют энтеровирусы. В замороженном состоянии (при температуре -20°C) активность энтеровирусов сохраняется в течение многих лет, в температурных условиях обычного холодильника они не теряют своей инфекционности в течение нескольких недель, а при комнатной температуре – в течение нескольких суток. При всех температурах добавление MgCl<sub>2</sub> повышает устойчивость вирусов.

Резистентность энтеровирусов к действию многих физических и химических факторов обусловлена простотой и жесткостью их структуры, что обеспечивает возможность их длительного выживания в окружающей среде [18, 27].

В настоящее время установлено, что большинство энтеровирусов обладают общей схемой организации геномов, хотя имеются некоторые различия по видам и серотипам.

Геном энтеровирусов представлен одноцепочечной нефрагментированной молекулой +РНК, содержащей более 7500 нуклеотидов. Геномная РНК является инфекционной. Оба конца генома модифицированы. К 5'-концу ковалентно присоединен небольшой белок VPg (от англ. viral protein, genome linked – вирусный белок, соединенный с



геномом) , затем следует длинный нетранслируемый участок (6000-12000 н.о.) IRES (internal ribosome entry site – участок внутренней посадки рибосомы), необходимый для трансляции, вирулентности и, возможно, инкапсидации [147, 173, 191]. 3'-конец полиаденилирован (содержит несколько десятков остатков аденина, подобно клеточным мРНК) [131, 153]. Удаление поли(А)-последовательности способствует резкому снижению инфекционной активности вирусной РНК [30]. На 5' и 3' — концах вирусной РНК располагаются так называемые цис-репликативные элементы (OriL и OriR, соответственно — от англ. origin — начало, Left— левый, Right — правый) — последовательности, необходимые для репликации генома. В остальной части генома закодирован один полипротеин [139, 169, 174].

Геном энтеровирусов кодирует около десятка белков обеспечивающих репликацию вирусной РНК, перепрограммирование клетки, сборку зрелых вирионов. Кодирующую область генома условно делят на три участка: P1 — кодирует структурные белки VP1, VP2, VP3, VP4, из которых строится вирусная частица. P2 и P3 — кодируют белки, необходимые для перепрограммирования клетки и репликации.

Цикл репродукции энтеровирусов не превышает 5 – 10 часов (обычно 8 часов). Репликация происходит в цитоплазме, ядро инфицированной клетки при этом не задействовано, что экспериментально доказано на клетках без ядер [122, 180]. Процесс имеет цитотоксичный характер, т.е. завершается гибелью клетки [52]. Установлено, что изменения в цикле вирусного воспроизводства на фоне недостаточного иммунного ответа способствуют персистенции ЭВ в клетках с последующей модификацией клеточного метаболизма и развитием соматической патологии [100].

Первый этап взаимодействия вируса с клеткой (адсорбция) отличается высокой специфичностью, что объясняется высокой упорядоченностью вирусного капсида и отсутствием внешней липопротеидной мембраны. Для успешной адсорбции вируса на поверхности клетки требуется строгое соответствие рецепторов клеточной мембраны. В настоящее время описаны

несколько видов клеточных рецепторов, определяющих тканевый тропизм: молекулы клеточной адгезии ICAM (intercellular cell surface adhesion molecules), CD44, CD55, CD54, CD155. ICAM находится на поверхности эпителиальных, эндотелиальных, фибробластных клеток.

Вместе с пенетрацией вируса в клетку путем пиноцитоза (виropексиса) высвобождается белок VP4, что влечет высвобождение вирусной РНК из нуклеокапсида и формирование вирусной полирибосомы.

Трансляция вирусной РНК приводит к образованию одного полипептида, т.к. у вируса имеется только один ген. Благодаря наличию протеолитической активности цистеинпротеиназы, полипептид разрезается на 3 белка-предшественника P1, P2 и P3. Белок P1 является источником структурных белков, он расщепляется на VP0, VP1 и VP3. VP0 образует VP2 и VP4. P2 является источником белков модифицирующих клетку, P3 является источником белка VPg и ферментов, модифицирующих поведение клетки-хозяина [202] (рис. 1):

- 2A — сериновая протеаза, участвует в синтезе цепей минус-РНК;
- 2B и 3A — небольшие гидрофобные белки, принимающие участие в вызываемом вирусами изменении клеточных мембран;
- 2C — белок, имеющий гомологию с хеликазами, входит в состав вирусного репликативного комплекса;
- 3B — это VPg, белок прикрепляющийся к 5'-концу вирусной РНК;
- 3C — цистеиновая протеаза, разрезающая полипротеин между областями генома P2 и P3;
- 3D — РНК-зависимая РНК-полимераза, белок синтезирующий вирусную РНК.

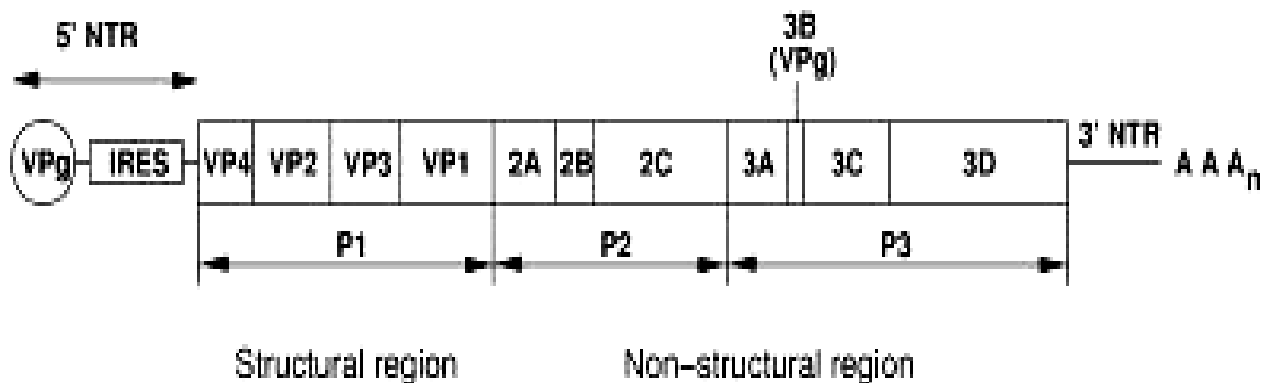


Рисунок 1. Общая схема строения геномной РНК (А) и процессинга полипротеина пикорнавирусов (В)[117].

Когда в результате трансляции вирусной РНК появляется вирусспецифическая РНК-зависимая РНК-полимераза (репликаза), начинается репликация геномной РНК отрицательной полярности, являющейся матрицей для новых плюс-нитей.

Капсид образуется из белков протомера  $VP_0+VP_1+VP_3$ , протомеры собираются в пентамеры, образующие икосаэдрический прокапсид из 12 пентамеров. Завершающий этап сборки состоит во встраивании РНК в прокапсид, при этом происходит расщепление  $VP_0$  на  $VP_2$  и  $VP_4$ . Освобождение вирионов из клетки происходит в результате ее лизиса. Число вирионов, продуцируемых одной клеткой, составляет около  $10^4 - 10^5$  [118, 138, 180].

Генетическая изменчивость энтеровирусов обусловлена особенностями молекулярной биологии РНК-содержащих вирусов, при репродукции которых ошибки синтеза исправляются незначительно вследствие свойств вирусных полимераз и транскриптаз. Каждая репликация энтеровирусов сопровождается по меньшей мере одной мутацией, у вирусов отсутствует механизм репарации мутаций [4, 194]. Частота возникновения ошибок при синтезе РНК в 10 тысяч раз выше, чем при репликации ДНК, и обусловлена числом нуклеотидов, составляющих геном вируса. Установлено, что потомство любого РНК-содержащего вируса представляет собой не

совокупность однородных двойников, а «квази-разновидность» родственных нуклеотидных последовательностей, источник фенотипических вариантов, которые могут быстро ответить на изменяющееся давление естественного отбора [64]. Высокий уровень генетической изменчивости РНК-содержащих ЭВ лежит в основе формирования «новых» штаммов, обладающих высокопатогенными свойствами и способностью к эпидемическому распространению [128].

Изменчивость РНК пикорнавирусов сначала исследовалась на примере вирусов полиомиелита (выявление детерминант вирулентности при изучении гомологичной и межтиповой рекомбинации). Установлена возможность рекомбинация вакцинных полиовирусов с другими энтеровирусами вида С в клетках одного организма [182]. Основным механизмом рекомбинации полиовирусов был признан механизм смены матриц, когда при синтезе комплементарной нити РНК сначала в качестве матрицы используется одна молекула РНК, а затем РНК-зависимая РНК-полимераза вместе с изначально синтезированным участком РНК переходит на другую РНК-матрицу, где и завершается синтез рекомбинантной молекулы РНК [146]. Существует также нерепликативный механизм рекомбинации, когда с помощью клеточных РНК-лигаз происходит соединение фрагментов вирусной РНК с разрывом в области гена полимеразы [2].

Наиболее часто встречаются рекомбинации между вирусами оральной (живой) полиовирусной вакцины (ОПВ), а также между вакцинными и дикими полиовирусами [3, 6, 83, 133, 151]. В 1984 году впервые описана рекомбинация вакцинных штаммов Сэбина [142], в дальнейшем опубликованы сведения о выделении межтиповых рекомбинантных вакцинных штаммов у больных вакциноассоциированным паралитическим полиомиелитом (ВАПП) и ОПВ [9, 12, 132, 150, 156] у здоровых вакцинированных детей и детей, находившихся в контакте с больными ВАПП [12, 83, 121, 126]. Внутритиповые рекомбинанты вакцинных и диких штаммов полиовирусов также были выделены от больных ВАПП [136]. У

пациентов с иммунодефицитом установлена длительная персистенция полиовирусов, приводящая к множественным мутациям возбудителя с последующим развитием инфекции у носителя [3, 155, 172].

Вероятность рекомбинации вакцинных полиовирусов с неполиомиелитными энтеровирусами (НПЭВ) возможна и повышается в процессе их длительной репликации в клетках одного организма [139].

При изучении изменчивости других энтеровирусов установлено, что генетические детерминанты их вирулентности преимущественно находятся в области 5' NTR или в области P1 генома, а также и в других областях генома. Скорость накапливаемых мутаций в разных частях генома различна. Характерна широкая генетическая изменчивость энтеровирусов путем внутривидовой рекомбинации. В последние годы рядом отечественных и зарубежных исследователей опубликованы данные, свидетельствующие о множественных рекомбинациях изучаемых энтеровирусов в отношении их прототипных представителей, а также о роли рекомбинантных вирусов полиомиелита и других энтеровирусов в возникновении вспышек и спорадических случаев ЭВИ [51, 127, 136, 141, 143, 179, 184, 188]. Изучение генетической изменчивости энтеровирусов способствует обоснованию ее роли в изменениях патогенности циркулирующих штаммов и возникновении новых патогенных штаммов энтеровирусов.

## **1.2. Клинико-эпидемиологические особенности энтеровирусной инфекции**

Энтеровирусы человека отличаются повсеместным распространением и высокой степенью инвазивности. Источником инфекции является больной ЭВИ или бессимптомный вирусоноситель. Вирусоносительство у здоровых лиц по разным данным колеблется в пределах 17-46%. По данным отечественных авторов ЭВ выделяются у 5% клинически здоровых людей. Чаще вирусоносителями являются дети младшего возраста, порядка 50% детей после первого года жизни имеют антитела к наиболее

распространенным на конкретной территории ЭВ, с возрастом детей иммунная прослойка к ЭВ увеличивается [52, 53]. Опасность инфицированных лиц как источников инфекции наиболее значима в ранние периоды инфекции (конец инкубации, начало заболевания, разгар), когда вирус выделяется в окружающую среду в значительных количествах с различными экскретами (кровь, моча, фекалии, отделяемое носоглотки). Сроки выделения возбудителей с различными экскретами варьируют от 3-4 дней с отделяемым носоглотки до 3-4 недель, а в ряде случаев - до двух месяцев, с фекалиями. Описаны случаи выделения энтеровирусов с фекалиями у иммунодефицитных лиц в течение нескольких лет. Длительность выделения зависит от штамма ЭВ и состояния иммунной системы человека [52, 176]. Выделение энтеровирусов с фекалиями инфицированных людей имеет наибольшее эпидемиологическое значение вследствие массивности выделения вирусов (до  $10^7$ - $10^8$  вирусных частиц в 1 г фекалий), что способствует контаминации хозяйственно-бытовых сточных вод, загрязнению поверхностных водоемов, распространению в рекреационные зоны, в пункты водозабора. Вследствие своей устойчивости, энтеровирусы длительно сохраняются в воде, могут попадать в распределительную водопроводную сеть, вызывая массовое распространение инфекции [14, 78, 159].

Механизмы передачи – фекально-оральный (основной), аэрозольный (вероятный) и вертикальный (возможный) [21, 110]. Вирусы передаются водным, пищевым, контактно-бытовым, воздушно-капельным, трансплацентарным путями [111]. Факторами передачи служат контаминированные вирусами вода, овощи, грязные руки, игрушки и т.д. [17].

На основании некоторых клинических и эпидемиологических характеристик эпидемического процесса ряд авторов считает ведущим механизмом передачи ЭВИ аэрозольный (наличие воспалительных изменений слизистых верхних дыхательных путей и изоляция возбудителей

из содержимого носоглотки более, чем в 47% случаев, «взрывной» характер некоторых вспышек ЭВИ, большое количество бессимптомных носителей инфекции, широкое распространение инфекции в северных широтах, характерное для воздушно-капельных инфекций возрастное распределение заболеваемости) [50, 102].

В странах с умеренным климатом ЭВИ имеют выраженную летне-осеннюю сезонность, в странах с тропическим и субтропическим климатом циркулируют постоянно [176].

Эпидемический процесс характеризуется преимущественным вовлечением детей в возрасте до 14 лет, при этом дети до 6 месяцев, как правило, не болеют, находясь под защитой врожденного материнского иммунитета. Исключением являются редкие случаи энцефаломиокардита новорожденных, вызываемого вирусами Коксаки В. Наиболее высокие показатели заболеваемости отмечаются у детей в возрасте 3 – 6 лет. Более 80% лиц старше 14 лет имеют антитела к циркулирующим на данной территории штаммам энтеровирусов.

Около 85% ЭВИ протекает бессимптомно, 12-14% имеют легкое клиническое течение (простудоподобные заболевания), при этом энтеровирусы считаются второй по частоте группой вирусов, вызывающих ОРВИ [71]. Только 1-3% инфицированных переносят тяжелую форму ЭВИ, что особенно характерно для лиц с нарушениями иммунной системы.

ЭВИ протекают в виде спорадических случаев, групповых заболеваний, а также достаточно крупных вспышек и эпидемий. Закономерности эпидемического распространения до конца не изучены и объясняются рядом авторов сменой циркулирующих типов вирусов, иммунной прослойкой населения и изменяющейся экологией возбудителей.

Проникновение энтеровирусов в организм человека осуществляется через слизистые оболочки верхних отделов пищеварительного и респираторного трактов, для некоторых энтеровирусов (энтеровирус 70)

возможно проникновение через слизистые глаз. Инкубационный период длится 2 – 35 дней, в среднем – до 1 недели.

Закономерности патогенеза ЭВИ представлены на рисунке 2.



Рисунок 2. Патогенез энтеровирусных инфекций.

После перенесенной инфекции развивается гуморальный иммунитет и местная тканевая резистентность. Иммунитет является стойким, но носит типоспецифический характер [28].

ЭВИ характеризуются повсеместным распространением и значительным многообразием клинических проявлений.

ЭВИ, имеющие выраженное клиническое течение, условно разделяют на инфекции с тяжелым (1-3%) клиническим течением (серозный менингит, энцефалит, острый паралич, неонатальный сепсис, мио(пери)кардит, хроническая ЭВИ у иммунодефицитных лиц), а также заболевания,



протекающие в среднетяжелой форме и не имеющие тяжелых последствий (герпангина, везикулярный фарингит, плевродиния, трехдневная лихорадка, конъюнктивит, увеит, гастроэнтерит, гепатит).

Характерно, что одинаковые клинические синдромы могут быть вызваны энтеровирусами разных серотипов, а один и тот же серотип вируса может быть причиной заболеваний с различными клиническими проявлениями и различной степенью тяжести [29]. Наиболее уязвимыми являются новорожденные, лица с иммунодефицитами, у которых ЭВИ протекают в тяжелой форме и могут привести к летальному исходу [140].

ЭВ характеризуются пантропизмом, но наиболее тяжело протекают инфекции, характеризующиеся поражением нервной ткани. Разные виды ЭВ поражают различные участки центральной нервной системы (ЦНС) [178]. Одной из наиболее тяжелых форм ЭВИ является энтеровирусный менингит (ЭВМ), протекающий в виде крупных вспышек, вызванных в последние годы вирусами Коксаки В 5, ЕСНО 6, 9, 30, и спорадических случаев, вызванных другими ЭВ [24, 51, 82, 119, 148].

В настоящее время установлена роль энтеровирусов в развитии различной соматической патологии человека: инсулин-зависимого сахарного диабета [175, 177], миокардитов, дилатационной кардиомиопатии и, как следствие, сердечной недостаточности [154, 157, 198] нефропатий [106], аллергических заболеваний, вторичных иммунодефицитных состояний новорожденных [49].

Выявлена значимость энтеровирусов в перинатальной патологии: энцефаломиокардит новорожденных [32], летальность при котором может составлять от 30 до 83% [187], врожденная Коксаки-вирусная инфекция [125], приводящая к спонтанным абортam у беременных, миокардиту и задержке развития новорожденных [130].

Эпидемиологическая и социальная значимость клинически выраженных форм ЭВИ определяется большим числом заболеваний и возникающими

вспышками, требующими затрат на их локализацию ликвидацию, своевременную диагностику инфекции и лечение больных.

Особую значимость имеют возникающие ЭВИ, вызвавшие в течение последнего столетия три глобальных пандемии: эпидемический полиомиелит, известный с древних времен и получивший в 40-е – 50-е годы XX века глобальное эпидемическое распространение на все континенты мира [47, 53], ящуроподобное заболевание (ЯПЗ) с неврологическими осложнениями, вызванное наиболее нейрпатогенным неполиомиелитным энтеровирусом 71 типа, впервые выделенным в 1969 г. и в течение последующих лет вызывающим локальные вспышки с летальными исходами и крупные эпидемии во многих странах мира: 1969-1978г.г. (США, Австралия, Япония, Швеция, Болгария, Венгрия), 1985-1991г.г. (Гонконг, США, Бразилия, Тайвань), 1996-2011г.г. (Малайзия, Сингапур, Тайвань, Канада, Австралия, Корея, Китай, Вьетнам, Япония) [48, 54, 137, 144, 189, 203], острый геморрагический конъюнктивит (ОГК), вызванный энтеровирусом 70 типа и вирусом Коксаки А24, распространившийся в 1969-1975г.г. в странах Африки и Азии, в 80-х годах – в тропической прибрежной зоне Азии и странах Тихоокеанского региона, в XXI веке – в Бразилии и Пуэрто-Рико (2003г.), Китае (2007г.), странах Средиземноморья (Тунис, Израиль, Марокко) [53].

Наиболее патогенным является НПЭВ 71 типа, вызывающий крупные вспышки ЯПЗ с последующими неврологическими осложнениями (асептический менингит, энцефалит, острый вялый паралич) и системными расстройствами (отек легких, кардиореспираторный коллапс) [166].

Первая массовая вспышка ЭВИ, вызванная ЭВ 71, зарегистрирована в РФ в 2013 году в Ростове-на-Дону: заболели 78 человек, в том числе 25 человек – с ЭВМ, имел место один летальный исход [5]. В этом же году ЭВ 71 циркулировал на 19 территориях РФ, были зарегистрированы 307 случаев инфекции [60].

На территории нашей страны в летне-осенний период наблюдаются ежегодные подъемы заболеваемости ЭВИ с регистрацией от 4 до 10 тысяч случаев заболеваний, показатель заболеваемости с начала регистрации ЭВИ (2006 г.) составляет от 3 до 11 на 100 тысяч населения [61]. В 2007 – 2009 годах в РФ и странах СНГ регистрировались вспышки ЭВМ, вызванные энтеровирусами ЕСНО 6, 7, 9, 30: Свердловская область [103], Хабаровский край [81, 97], Владивосток [105], Нижегородская область [72], Новгородская область [11], Архангельская область [15, 56, 89, 93], Республика Беларусь [1]. В 2010-2012 годах чаще регистрировались более легкие формы ЭВИ, в этиологии которых преобладали ЭВ Коксаки А. Вспышки ЭВИ, вызванные ЭВ Коксаки А 16 зарегистрированы в Ленинградской, Мурманской, Новгородской областях [8, 93]. На многих территориях страны постоянно циркулируют энтеровирусы Коксаки В 1-6, вызывая спорадические случаи и групповые заболевания ЭВИ, в том числе ЭВМ [82]. Также описаны случаи преобладающей циркуляции энтеровирусов Коксаки В в других странах [119].

Многочисленность представителей семейства Picornaviridae и способность к генетической изменчивости затрудняют разработку средств специфической профилактики ЭВИ. В настоящее время ведутся работы по созданию вакцин против наиболее эпидемически значимых и патогенных возбудителей ЭВИ. В Китае созданы и проходят клинические испытания три вакцины против ЭВ 71, изготовленные с использованием генотипа С4а, установлена их эффективность в отношении ассоциированной с ЭВ 71 герпангиной и кишечной инфекцией, однако эффективность вакцин при ЭВ 71-инфекции с неврологическими симптомами не установлена. Работы по выбору чувствительных отечественных авторских линий клеток с целью создания инактивированной вакцины против ЭВ 71 проводятся и в нашей стране [68]. В Китае проводятся исследования по созданию бивалентной вакцины против ЭВ 71 и Коксаки А 16 [31]. Клинические испытания вакцин против ЭВ 71 до настоящего времени не завершены [149].

Таким образом, ЭВ имеют значительный эпидемический потенциал, реализуемый в появлении новых инфекций, имеющих тяжелое клиническое течение и неконтролируемое распространение. Существует необходимость постоянного контроля за экологией, эволюцией возбудителей ЭВИ, готовности к своевременной диагностике и противодействию их распространению.

### **1.3. Методы лабораторной диагностики полиомиелита и энтеровирусной (неполио) инфекции**

Лабораторная диагностика энтеровирусных инфекций (ЭВИ) является достаточно сложной, учитывая многообразие серотипов энтеровирусов, вызывающих различные клинические проявления. Методы лабораторной диагностики ЭВИ традиционно делятся на «прямые», позволяющие выявить вирус или генетический материал (РНК), и «непрямые», с помощью которых выявляется иммунный ответ организма на вирусный агент.

Большинство энтеровирусов способны размножаться в первичных и перевиваемых клеточных культурах человеческого и обезьяньего происхождения с проявлением характерного цитопатогенного действия (ЦПД). Чувствительными к энтеровирусам являются перевиваемые культуры клеток RD (клетки рабдомиосаркомы человека), Нер-2 (клетки эпидермоидной карциномы гортани человека), L-20В (рекомбинантная линия мышечных L-клеток, генно-инженерный дериват со способностью экспрессировать человеческий рецептор полиовируса), HeLa (клетки эпителиоидной карциномы шейки матки человека), BGM (клетки почки африканской зеленой мартышки), FL (клетки амниона человека), KB (эпидермоидная карцинома ротовой полости) и др.) [79]. Ряд энтеровирусов могут быть выделены только *in vivo* с использованием чувствительных лабораторных животных (новорожденные белые мыши) (табл. 2).

Чувствительность перевиваемых культур клеток к различным энтеровирусам  
[111]

Вирусы	Проявление цитопатогенного эффекта на культуре клеток			
	RD	Нер-2	L20B	BGM
Полиомиелита 1-3	+	+	+	+
ЕСНО	+	-	-	±
Коксаки А	± за исключе- нием не раз- множаю- щихся А1, А19, А22	-	(Коксаки А 2-6,8,10,14)	-
Коксаки В	-	+	-	+
Энтеровирусы 68-71	+/-	-	-	-

До настоящего времени вирусологический метод диагностики ЭВИ остается «золотым стандартом» в детекции и идентификации энтеровирусов. Несмотря на длительность классического вирусологического метода диагностики ЭВИ, выделение и идентификация энтеровирусов позволяет проводить дальнейшие лабораторные исследования на молекулярно-генетическом уровне, что особенно значимо для эпидемиологических заключений и прогнозов.

Отсутствие универсальной культуральной системы для выделения энтеровирусов делает вирусологический метод диагностики ЭВИ методом «выбора» для лабораторий, владеющих техникой этих исследований и имеющих необходимые условия для поддержания качественных клеточных культур, не инфицированных посторонними микроорганизмами, обладающих высокой чувствительностью, стабильностью, аутентичностью.

Для ускорения лабораторной диагностики ЭВИ вирусологическим методом рекомендуется использовать не менее 2 линий клеточных культур, одной из которых является RD. Выбор двух линий культур клеток обусловлен их разной чувствительностью к ЭВ: цитопатический эффект (ЦПЭ) на клетках RD вызывают вирусы полиомиелита, вирусы группы ЕСНО, некоторые вирусы группы Коксаки А (за исключением А1, А19, А22),

энтеровирусы 68-71. Иногда ЦПЭ на клетках RD проявляют вирусы группы Коксаки В. Клетки Нер-2 чувствительны к вирусам полиомиелита, Коксаки В, аденовирусам.

Идентификация энтеровирусов проводится в реакции нейтрализации инфекционной активности вируса с использованием диагностических типоспецифических иммунных сывороток. В основе реакции – взаимодействие исследуемого вируса с гомологичной антисывороткой или их смесью, что проявляется отсутствием ЦПЭ на культуре клеток. При этом диагностические возможности лабораторий разного уровня существенно отличаются: вирусологические лаборатории Центров гигиены и эпидемиологии имеют в арсенале кроличьи моноспецифические поликлональные энтеровирусные диагностические сыворотки 30 типов, произведенные предприятием НИИ полиомиелита и вирусных энцефалитов имени М.П.Чумакова, оказывающие в ряде случаев цитотоксическое действие на перевиваемые клетки [44], что затрудняет процесс идентификации, увеличивает его продолжительность и снижает специфичность реакции. Лаборатории Национального и Регионального уровней используют рекомендованные ВОЗ иммунные к энтеровирусам лошадиные референс-сыворотки *RIVM* (Национальный Институт охраны здоровья и окружающей среды, Нидерланды), отличающиеся высоким и стабильным уровнем специфической активности. С их помощью возможно идентифицировать вирус Коксаки А9, Вирусы группы Коксаки В (1 – 6 серотипов) и 20 серотипов вирусов ЕСНО [46, 170].

В качестве серологического метода диагностики ЭВИ используется реакция нейтрализации (РН) инфекционной активности выделенного от больных вируса (аутоштамм) антителами сыворотки крови больных или здоровых лиц при сероэпидемиологических исследованиях.

Молекулярно-генетические методы диагностики ЭВИ применяются с целью выявления РНК энтеровирусов и молекулярного типирования. Данная группа методов является наиболее значимой при детекции энтеровирусов, не

дающих ЦПЭ на клеточных культурах при вирусологических исследованиях, при исследованиях значительного числа проб в период групповой и вспышечной заболеваемости, при оперативном надзоре за определенными типами нейровирулентных энтеровирусов (ЭВ 71 типа). Молекулярно-генетический метод также востребован в рамках рутинной клинической диагностики ЭВИ, так как обнаружение РНК энтеровирусов в стерильных типах клинического материала является лабораторным подтверждением ЭВИ. Использование молекулярно-генетических методов исследований диктует определенные требования к организации работы лаборатории [76].

Для выявления РНК всех энтеровирусов человека используются олигонуклеотидные универсальные праймеры, комплементарные 5'-НТР области генома, являющейся наиболее консервативным участком, характеризующимся высокой степенью идентичности различных энтеровирусов. Это позволяет обнаруживать практически все серотипы энтеровирусов [163].

Для молекулярного типирования энтеровирусов применяется определение нуклеотидной последовательности гена белка VP1, кодирующего структурные белки, являющегося главным рецепторным локусом вириона и отличающегося наибольшим полиморфизмом [92], с последующим сравнением результатов секвенирования с международными базами данных, что позволяет отнести исследуемый изолят к одному из известных серотипов при идентичности нуклеотидных последовательностей исследуемого изолята и известного серотипа на 75% и более, либо охарактеризовать его как новый, если идентичность менее 75% [120]. Доказана корреляция результатов серотипирования ЭВ в РН с типоспецифическими сыворотками и секвенирования участка VP1 генома [164, 165].

#### **1.4. Значение программы ликвидации полиомиелита для совершенствования системы надзора за энтеровирусной инфекцией**

13 мая 1988 года 41 сессия Всемирной Ассамблеи Здравоохранения приняла резолюцию по искоренению полиомиелита в мире к 2000 году [134, 161]. Генеральный план действий по Глобальной ликвидации полиомиелита утвержден на 42 сессии Всемирной Ассамблеи Здравоохранения в 1989 году [134]. Решающее значение в выполнении плана ликвидации инфекции отводилось реализации национальных программ по борьбе с полиомиелитом [66]. Российская Федерация приступила к целенаправленному и всеохватывающему выполнению Программы ликвидации полиомиелита в стране в 1996 году [65].

Борьба с полиомиелитом была возможной, благодаря наличию вакцин из инактивированных [185] и живых аттенуированных вирусов полиомиелита [183]. Инактивированная полиовирусная вакцина (ИПВ) начала широко применяться в США с 1954 года, живая вакцина ОПВ была создана в СССР и начала применяться с 1959 года [42]. Применение вакцин в 1955 – 1963 гг. способствовало резкому снижению заболеваемости полиомиелитом во всех странах [101, 108], что и послужило основой для разработки программы ликвидации этой инфекции [22, 129].

Эпидемическая ситуация по полиомиелиту в РФ до начала массовой иммунизации была сложной и характеризовалась высокими уровнями заболеваемости с преобладанием паралитических форм: в 1958 году в РФ были зарегистрированы 13492 случая полиомиелита, из них 10363 (76,8%) пришлось на паралитические формы. Показатель заболеваемости всеми формами инфекции составил 11,5 на 100 000 населения, показатель заболеваемости паралитическими формами – 8,8 на 100 000 [70].

В 1960-1961г.г. в СССР против полиомиелита было привито более 100 млн. человек, около 80% населения. Благодаря массовому применению ОПВ, отмечается значительное снижение показателей заболеваемости:



заболеваемость паралитическими формами снизилась с 1,7 в 1961 году до 0,04 на 100 000 в 1968 году. В 70-е годы ежегодно регистрировалось 10—70 больных, в 80-е годы отмечалась спорадическая заболеваемость, более 80% территории страны были свободны от этой инфекции. Полиомиелит удалось перевести в разряд «управляемых» инфекций. К началу 90-х годов XX века (1990 – 1994г.г.) в стране ежегодно регистрировалось от 3 до 17 случаев заболеваний паралитическими формами полиомиелита, показатель заболеваемости не превышал 0,01 – 0,05 на 100 тыс. населения.

Однако достигнутые успехи в борьбе с полиомиелитом не исключали возможности возвращения инфекции в условиях нестабильности социально-экономических процессов, сопровождающихся нарушениями профилактических мероприятий эпидемиологического надзора за инфекцией. Доказательством явилась вспышка полиомиелита, вызванного диким полиовирусом 1 типа, зарегистрированная в Чеченской Республике (143 случая заболеваний) и в сопредельной с нею Республике Ингушетия (5 случаев заболеваний) в 1995 году.

Заболевания протекали преимущественно в тяжелой форме, зарегистрировано шесть летальных исходов, показатель летальности составил 4,5%. Причинами летальности явились нарушения в системе организации медицинской помощи и низкий уровень медицинской грамотности населения.

Основные характеристики вспышки соответствовали критериям вспышек, регистрируемых в развивающихся странах до начала массовой иммунизации против полиомиелита. Проникновение дикого полиовируса из эндемичного очага на ограниченную территорию, детское население которой имело низкий уровень коллективного иммунитета против полиомиелита, и низкий охват профилактическим прививками, способствовало его быстрому распространению [34, 35, 69]. На примере данной вспышки очевидным явился факт необходимости выполнения комплекса мероприятий по надзору за полиомиелитом, которые легли в

основу «Программы ликвидации полиомиелита в РФ», разработанной в 1996 году (поддержание высокого, не менее 95%, охвата детей прививками против полиомиелита, проведение кампаний массовых прививок – «национальные дни иммунизации» (НДИ), проведение дополнительной иммунизации населения территории с высоким риском распространения инфекции – «подчищающая иммунизация», совершенствование эпидемиологического и вирусологического надзора за вирусом полиомиелита, выполнение комплекса организационных мероприятий по созданию на территории страны эффективной системы надзора за инфекцией с целью ее ликвидации) [66, 67].

Циркуляция диких полиовирусов в России была прекращена в 1996 году, в Европейском регионе ВОЗ – в 1998 году. Но широкое применение ОПВ для профилактики полиомиелита в период эпидемического распространения инфекции в мире и на начальных стадиях ликвидации инфекции (рутинная иммунизация, НДИ, операции «подчистки»), привело к активной циркуляции вакцинных штаммов полиовирусов, способных к генетическим рекомбинациям, утрате аттенуирующих свойств и восстановлению нейровирулентности в процессе многократных пассажей через организм людей. Значительно дивергировавшие от вакцинного предка полиовирусы (VDPV) создают не меньшую угрозу возникновения и распространения случаев полиомиелита, чем дикие штаммы, особенно в регионах с неадекватно иммунизированным населением [124].

На территории страны создана и успешно функционирует система органов и учреждений, задействованных в реализации мероприятий ликвидации полиомиелита [23, 36, 113].

21 июня 2002 г. Европейская Региональная Комиссия по Сертификации Ликвидации Полиомиелита объявила Европейский регион свободным от полиомиелита [98, 99, 123]. РФ получила статус страны в составе Европейского региона ВОЗ, свободной от полиомиелита. На территории

страны реализуется Национальный план действий по поддержанию свободного от полиомиелита статуса РФ.

Особенностью полиовирусной инфекции является развитие клинически выраженных паралитических форм только у 0,1-0,5% инфицированных неимунных лиц. В условиях отсутствия циркуляции диких полиовирусов экологическая «ниша» заполняется другими активно циркулирующими энтеровирусами, способными вызывать заболевания с различными клиническими проявлениями, в том числе сходными с полиомиелитом. Поэтому в основу эпидемиологического и вирусологического надзора за полиомиелитом положен надзор за заболеваниями с синдромом острого вялого паралича (ОВП), характерного для полиомиелита и одновременно являющегося полиэтиологичным. ВОЗ разработаны индикаторы эффективного надзора за ОВП, одним из которых является выявление не менее 1 случая ОВП в расчете на 100 000 детей в возрасте до 15 лет в течение года.

В реализации программы ликвидации полиомиелита достигнуты значительные успехи, но до настоящего времени в мире продолжают регистрироваться случаи инфекции, вызванные диким полиовирусом. В трех странах (Афганистан, Нигерия и Пакистан) существуют эндемичные очаги инфекции и продолжается местная передача вируса. В условиях межгосударственной и межконтинентальной глобализации продолжают регистрироваться случаи завоза инфекции в другие страны.

С декабря 2009 года и в течение 2010 года в Республике Таджикистан зарегистрирована крупная вспышка полиомиелита, вызванная диким вирусом 1 типа индийского происхождения. Зарегистрировано более 700 случаев заболеваний ОВП, из которых 458 подтверждены лабораторно как полиомиелит, 29 случаев закончились летально [171]. Последний случай полиомиелита, вызванного диким полиовирусом 1 типа, зарегистрирован в Таджикистане 4 июля 2010 года [197]. В приграничных с Таджикистаном государствах (Туркменистан, Казахстан) также зарегистрированы случаи

заболеваний [77, 197]. Высокая интенсивность миграционных процессов в Россию из стран Средней и Центральной Азии способствовала заносу инфекции на территорию РФ: в 2010 году в РФ впервые после 1996 года, когда был зарегистрирован последний случай инфекции, вызванный местным диким вирусом, зарегистрированы 14 случаев заболеваний полиомиелитом и 37 случаев носительства дикого полиовируса в 8 субъектах страны. Все случаи вызваны диким полиовирусом 1 типа, генетически родственным вирусам, вызвавшим вспышку в Таджикистане.

Более чем 10-летний опыт проведения мероприятий по поддержанию статуса страны, «свободной от полиомиелита», сопровождающийся применением экстренных противоэпидемических мероприятий при завозе инфекции, подтверждает необходимость строгого соблюдения мер по вакцинации и надзору за полиомиелитом и ОВП. Не менее важным является дополнительный надзор за энтеровирусными инфекциями, расширяющий возможности надзора за полиомиелитом, позволяющий выявить «скрытую» циркуляцию полиовирусов, а также имеющий перспективу самостоятельного вида эпидемиологического надзора за большой группой инфекционных заболеваний, способных к эпидемическому распространению.

### **Заключение**

Более чем полувековое изучение энтеровирусов сопровождалось изменением представлений об их свойствах и значимости в инфекционной патологии человека. Согласно последней классификации энтеровирусов, основанной на их генетических характеристиках (2003 год), ЭВ человека представлены четырьмя видами (А, В, С, D), каждый из которых состоит из множества серотип/генотипов и геновариантов. В настоящее время известны около 100 представителей семейства Picornaviridae, вызывающих широкий спектр эпидемически значимых заболеваний, отличающихся по клиническим проявлениям и тяжести течения (от легких форм респираторных, кишечных инфекций и экзантем до заболеваний с тяжелыми неврологическими

симптомами и угрожающей жизни полиорганной недостаточностью) [190]. Установлена роль ЭВ в развитии персистентных инфекций и аутоиммунных заболеваний (миокардит, перикардит, пиелонефрит, панкреатит, диабет 1 типа).

В нашей стране, как и в большинстве развитых стран в условиях отсутствия циркуляции «местных» диких полиовирусов, надзор за ЭВИ является одной из составляющих частей надзора за полиомиелитом в постсертификационный период в рамках реализации Национального плана по поддержанию свободного от полиомиелита статуса РФ. Система вирусологического мониторинга за циркуляцией полиовирусов (диких, VDPV, вакцинных) среди людей и в объектах окружающей среды, внедренная с целью контроля за элиминацией инфекции на территории страны, позволила также установить уровень циркуляции НПЭВ среди здорового населения страны (5%), выявить наиболее часто выделяемые серотипы НПЭВ, участвовавшие в эпидемических подъемах заболеваемости ЭВИ. Методические подходы эпидемиологического и вирусологического контроля за полиомиелитом легли в основу утвержденной в 2008 г. Главным государственным санитарным врачом РФ Г.Г.Онищенко программы «Эпидемиологический надзор и профилактика энтеровирусной (неполио) инфекции на 2009–2011 годы» [80].

Реализация мероприятий программы ликвидации полиомиелита предусматривает отказ от проведения вакцинации ОПВ с целью минимизации риска появления VDPV: с 2008 года Национальным календарем прививок определена 3-кратная, а с 2009 г. 2-кратная вакцинация детей с использованием ИПВ [62]. Вследствие этого происходит высвобождение занимаемой ранее вакцинными штаммами экологической ниши, что снижает интерференционное давление вакцинных полиовирусов на репродукцию в кишечнике НПЭВ. Это может привести к дальнейшей активации и трансформации энтеровирусов, что может повлечь появление новых форм ЭВИ.

Повсеместная распространенность возбудителей ЭВИ, нестабильная эпидемическая ситуация во всем мире и процессы активной миграции населения создают постоянную угрозу завоза и распространения ЭВИ на территории РФ. Примером являются случаи полиомиелита, вызванные дикими штаммами полиовирусов, завезенными из Таджикистана в 2010 году, а также подъем заболеваемости ЭВИ, вызванный ЭВ 71 типа в 2013 году.

Учитывая этиологическое многообразие ЭВИ и полиморфизм клинических проявлений, основным источником диагностической информации являются лабораторные методы выявления возбудителей ЭВИ. «Золотым стандартом» остается вирусологический метод выделения возбудителей с последующим его типированием в реакции нейтрализации инфекционной активности вируса [170]. В последние десятилетия активно развиваются молекулярно-генетические методы лабораторной диагностики ЭВИ. Совершенствование лабораторной составляющей эпидемиологического надзора за ЭВИ возможно только при сочетанном использовании классических и современных молекулярных методов исследований.

Несмотря на достигнутые успехи, до настоящего времени остается нерешенным ряд проблем: установление закономерностей развития эпидемических подъемов заболеваемости ЭВИ и формирования локальных очагов на той или иной территории; причины появления и циркуляции изменённых штаммов НПЭВ, вызывающих сезонные подъемы ЭВИ; недостаточно представлена молекулярно-генетическая характеристика циркулирующих на определенной территории НПЭВ и их филогенетическая связь с возбудителями, циркулирующими на других территориях страны и в мире [80].

Все вышеизложенное, а также высокая социально-экономическая значимость проблемы заболеваемости ЭВИ, общественный резонанс, возникающий при массовых вспышках ЭВИ, требуют дальнейшего совершенствования мероприятий по вирусологическому и эпидемиологическому надзору за данной группой инфекций.

## **Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **2.1. Материалы исследования**

#### **2.1.1. Данные для анализа заболеваемости полиомиелитом, заболеваниями с синдромом острого вялого паралича и энтеровирусной (неполио) инфекции в Архангельской области**

Для анализа заболеваемости полиомиелитом, ОВП, ЭВИ использованы:

1. Нормативно-правовые и методические документы Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Всемирной организации здравоохранения за период 1998-2013 гг.
2. Формы федерального государственного статистического наблюдения №№ 1 и 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» за 2006-2013 гг.
3. Форма отраслевого статистического наблюдения «Сведения о работе микробиологической (бактериологической, особо опасных инфекций, вирусологической, паразитологической) лабораторий федеральных государственных учреждений здравоохранения – центров гигиены и эпидемиологии (форма № 6-05-санэпид) за 2006 год.
4. Формы отраслевого статистического наблюдения «Сведения о деятельности федеральных государственных учреждений здравоохранения – центров гигиены и эпидемиологии (формы № 2-06, № 2-10, № 2-11, 2-13) за 2007-2013 г.г.
5. Карты эпидемиологического расследования случая полиомиелита и ОВП в Архангельской области за 2002-2013 г.г.
6. Ежемесячные отчеты о регистрации полиомиелита и ОВП и вирусологических исследованиях на полио- и энтеровирусы в Архангельской области за период с 2002 по 2013гг.

7. Журналы регистрации патогенных биологических агентов, поступивших для исследования (идентификации) и хранения (форма № 512/у) за 2006-2013 г.г.
8. Журнал учета выделенных штаммов микроорганизмов (форма № 513/у).

**2.1.2. Материалы, характеризующие клинические образцы от больных и здоровых лиц для вирусологических, молекулярно-генетических и серологических исследований на территории Архангельской области**

Для проведения лабораторных исследований клинического материала методами, выявляющими наличие возбудителей ЭВИ или их генетических маркеров, а также вируснейтрализующих антител к вирусам полиомиелита, использованы пробы от больных и здоровых лиц, отобранные специалистами медицинских организаций с соблюдением установленных требований к срокам, правилам отбора, хранения и транспортировки:

- пробы фекалий отбирались в сроки, не превышающие 14 дней от начала заболевания, преимущественно в течение первых 7 дней. Учитывая ремитирующий характер выделения энтеровирусов с фекалиями, отбирались 2 пробы весом около 1 грамма с интервалом 24-48 часов. Пробы помещались в стерильный одноразовый пластиковый контейнер с завинчивающейся крышкой;

- мазки и/или смывы из носо(рото)глотки отбирались в течение первых трех дней от момента заболевания (не позднее 7 дня). Отбор мазков проводился с использованием сухого стерильного зонда с ватным тампоном, который после отбора помещался в одноразовую пробирку с 500 мкл транспортной среды (0,9% раствор натрия хлорида или фосфатного буфера). Смывы отбирались путем полоскания носовых ходов и ротоглотки 8-10 мл 0,9% раствора натрия хлорида с последующим сбором промывной жидкости



в стерильный одноразовый пластиковый контейнер с завинчивающейся крышкой;

- отделяемое везикул собиралось путем асептического вскрытия не менее 3 элементов и сбором содержимого на сухой стерильный ватный тампон, который погружался в 1 мл транспортной среды;

- спинномозговая жидкость (СМЖ) отбиралась в асептических условиях в первые дни заболевания при наличии клинических показаний для проведения люмбальной пункции в количестве 1 мл в стерильную одноразовую пластиковую пробирку;

- кровь в количестве 5 мл отбиралась в асептических условиях с использованием вакуумных систем отбора крови двукратно: в начале заболевания и в периоде реконвалесценции, на 3-4 неделе;

- аутопсийный материал (ткань головного, спинного, продолговатого мозга, ткань сердца, легких, печени, кишечника) отбирались отдельными наборами стерильного инструментария в последовательности, исключающей взаимную контаминацию проб. Каждая проба в объеме около 1-3 см<sup>3</sup> помещалась в стерильный одноразовый пластиковый контейнер с завинчивающейся крышкой.

Хранение проб до доставки в лабораторию осуществлялось в холодильнике при температуре от +4°C до +8°C. Доставка в лабораторию осуществлялась в течение 24 часов в термоконтейнерах с хладоэлементами при температуре, не превышающей +8°C. При транспортировке проб соблюдался принцип «тройной упаковки», предотвращающий протекание и контаминацию проб.

Количество образцов клинического материала от больных, исследованного разными методами, представлено в таблице 3.

Материалы, характеризующие клинические образцы от больных,  
использованные в 2006-2013 гг.

Вид клинического образца	Количество исследованных проб, в том числе методами		
	Вирусологическим	Серологическим (РН)	Молекулярно-генетическим (ПЦР)
Фекалии	1655		304
Спинномозговая жидкость	198		1418
Мазки/смывы из носо(рото)глотки	23		285
Содержимое везикул	3		9
Кровь		104	35
Аутопсийный материал	60		122
Всего	1939	104	2173

Всего от больных исследованы 3706 проб клинических образцов вирусологическим, серологическим и молекулярно-генетическим методами.

Исследования клинических образцов от здоровых лиц проводилось с целью контроля за циркуляцией энтеровирусов в коллективах «групп риска» - дети из домов ребенка, а также выявления возможных источников инфекции в коллективных очагах ЭВИ – лица, контактировавшие с больными.

Исследования сывороток крови здоровых, привитых от полиомиелита детей возрастных групп 3-4 года и подростков 16-17 лет, проживающих в разных районах АО, проводились с целью оценки состояния индивидуального и коллективного иммунитета к полиомиелиту.

Общее количество исследованных образцов от здоровых лиц составило 1533. Количество образцов клинического материала от здоровых лиц, исследованного разными методами, представлено в таблице 4.

Материалы, характеризующие клинические образцы от здоровых лиц,  
использованные в 2006-2013 гг.

Вид клинического образца	Количество исследованных проб, в том числе методами		
	Вирусологическим	Серологическим (РН)	Молекулярно-генетическим (ПЦР)
Фекалии от здоровых детей «групп риска»	100		100
Фекалии от контактировавших детей	91		
Кровь (сыворотка)		1342	
Всего	191	1342	100

Всего за период 2006-2009 годы исследовано 5239 проб клинических образцов.

Подготовка проб для исследований проводилась в вирусологической лаборатории в день получения проб с соблюдением требований биологической безопасности и условий, исключающих внутрилабораторную контаминацию. Уровень безопасности работ соответствовал BSL-2/polio, рекомендованному ВОЗ при работе с материалами, потенциально инфицированными диким полиовирусом, с соблюдением требований качественной микробиологической техники: работа в стерильных условиях, предотвращающих возможность инфицирования персонала и перекрестной контаминации проб с использованием защитных укрытий (бокс биологической безопасности II класса тип А2), средств индивидуальной защиты, соблюдение дезинфекционного режима.

### 2.1.3. Исходные материалы для оценки результатов исследования объектов окружающей среды на полио- и другие энтеровирусы

В качестве объектов окружающей среды (ООС), имеющих значение для распространения энтеровирусов и подтверждающих возможность реализации водного пути распространения инфекции, исследовались пробы питьевой воды.

В рамках реализации Программы ликвидации полиомиелита и ежегодной сертификации территории Архангельской области, как свободной от полиомиелита, а также с целью изучения спектра циркулирующих среди населения энтеровирусов проводились исследования проб фекально-бытовых сточных вод.

Объем материала из ООС, исследованный разными методами, представлен в таблице 5.

*Таблица 5*

Пробы из объектов окружающей среды, исследованные в 2006-2013 гг.

Вид ООС	Количество исследованных проб всего	в том числе методами	
		Вирусологическим	Молекулярно-генетическим (ПЦР)
Питьевая вода централизованного водоснабжения	739	521	422
Питьевая вода децентрализованного водоснабжения	33	33	18
Фекально-бытовые сточные воды	484	484	73
Всего	1256	1038	513

За рассматриваемый период всего исследованы 1256 проб из ООС, общее количество выполненных исследований – 1551.

## **2.2. Методы исследования**

### **2.2.1 Вирусологические методы исследования полиовирусов и других энтеровирусов (выделение вирусов, идентификация серотипов, внутритиповая дифференциация полиовирусов)**

Исследования вирусологическим методом проводились в соответствии с рекомендациями ВОЗ [170] и методическими указаниями МУ 3.1.1.2363-08 "Эпидемиологический надзор и профилактика энтеровирусной (неполио) инфекции" [111], МУК 4.2.2410-08 «Организация и проведение вирусологических исследований материалов от больных полиомиелитом, с подозрением на это заболевание, с синдромом острого вялого паралича (ОВП)» [74], МУ 4.2.2357–08 «Организация и проведение вирусологических исследований материалов из объектов окружающей среды на полиовирусы, другие (неполио) энтеровирусы» [73].

#### **Выделение энтеровирусов**

Выделение энтеровирусов из клинических проб и проб воды проводилось на двух перевиваемых линиях культур клеток (RD - клетки рабдомиосаркомы человека, HEp-2 Cincinnati – клетки эпидермоидной карциномы человека) в посевной дозе  $2,5 \times 10^6$  кл/мл. Культуры клеток ежеквартально получали в вирусологической лаборатории Регионального центра по эпидемиологическому надзору за полиомиелитом и острыми вялыми параличами (ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», г.Санкт-Петербург). Оценка чувствительности клеточных линий проводилась ежеквартально с использованием эталонных вакцинных штаммов полиовирусов, полученных в Региональной референс-лаборатории по диагностике полиомиелита (РРЛ) (ФГБУ «Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов имени М.П.Чумакова», г.Москва).

В процессе подготовки к исследованиям проб фекалий и аутопсийных проб кишечника готовили 20% суспензию материала на фосфатно-солевом

буфере (ФСБ) с антибиотиками, обрабатывали ее хлороформом для удаления бактерий, грибов, вирусных агрегатов и цитотоксических липидов, центрифугировали 20 минут при 1500g в центрифуге с охлаждением. Для исследований аутопсийных проб ЦНС аналогично готовили 10% суспензию органов. Для исследований носоглоточные смывы и мазки обрабатывали фосфатно-солевым буфером, используемым в качестве транспортной среды, с антибиотиками (100 ЕД пенициллина и 100 мкг стрептомицина в 1 мл). Пробы СМЖ и отделяемое везикул использовали без предварительной обработки.

В 2 пробирки с клеточным монослоем RD и HEp-2 с поддерживающей средой вносили по 0,2 мл экстракта пробы, инкубировали при 36°C в течение 5-7 дней с ежедневной микроскопией, следя за появлением ЦПД. После первичного заражения проводили слепой пассаж с последующим наблюдением состояния клеточного монослоя в течение 5-7 дней. При отсутствии ЦПД результат исследования считался отрицательным, при наличии ЦПД идентифицировали выделенный вирус.

### **Идентификация энтеровирусов**

Идентификацию энтеровирусов проводили в реакции нейтрализации инфекционной активности вируса с использованием диагностических типоспецифических иммунных сывороток производства ФГБУ «Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов имени М.П.Чумакова». Вирусную суспензию, содержащую 100 ТЦД<sub>50</sub>, смешивали в равном объеме с диагностическими сыворотками. После инкубации в течение 1–3 часов при 36 °С смесь вносилась в культуры клеток и инкубировалась в термостате при 36 °С 3-5 дней. Микроскопия состояния клеточного монослоя проводилась ежедневно. Учет результатов проводился после того, как ЦПД в лунках контроля вируса достигал 100%. Иммунная сыворотка, которая подавляла развитие ЦПД, соответствовала серотипу вируса.

Нетипируемые штаммы ЭВ в 2006-2013г.г. направлялись в Региональный центр по эпидемиологическому надзору за ПОЛИО/ОВП и в

национальную/ региональную референс-лабораторию (НЛ/РРЛ) ФГБУ «Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов имени М.П.Чумакова», г. Москва.

### **Внутри типовая дифференциация**

Внутри типовая дифференциация (ВТД) выделенных вирусов полиомиелита проводилась в НЛ/РРЛ.

### **2.2.2. Реакция нейтрализации на культуре клеток для определения напряженности иммунитета к полиовирусам**

Реакцию микронейтрализации (РН) инфекционной активности полиовирусов проводили на 96-луночных планшетах с использованием клеточной культуры Нер-2 и эталонных вакцинных штаммов вирусов полиомиелита (PV1, PV2, PV3 Sabin), полученных в РРЛ и находящихся в рабочей коллекции вирусологической лаборатории. Исследуемые сыворотки крови после предварительного прогревания при 56°C и разведения с шагом 2 от 1:8 до 1:512 вносили по 50 мкл в двух параллелях в лунки планшетов для микронейтрализации, добавляли равный объем вирусной суспензии, содержащей 100 ККИД<sub>50</sub>, инкубировали 2 часа при 36°C, после чего вносили суспензию клеток Нер-2 в объеме 100 мкл и инкубировали при той же температуре. Параллельно проводили контроль рабочей дозы вируса, контроль сыворотки и контроль клеточной культуры. Состояние клеточного монослоя оценивали ежедневно в течение 5 дней с использованием инвертированного микроскопа.

Учет результата проводили при отсутствии ЦПД в отрицательных контрольных лунках с культурой клеток и исследуемой сывороткой и наличии ЦПД в лунках с одной дозой вируса. За титр антител принимали наибольшее разведение сыворотки, которое подавляло развитие ЦПД. Контроль дозы эталонных штаммов проводился в каждом опыте.

### **2.2.3. Методы молекулярно-генетических исследований полио- и энтеровирусов**

#### **Полимеразная цепная реакция (ПЦР).**

Метод полимеразной цепной реакции применяли с 2006 года для выявления генетических маркеров энтеровирусов в пробах объектов окружающей среды, с 2007 года данный метод использовался также для диагностики ЭВИ. На всех этапах проведения ПЦР использовали наборы реагентов производства ООО «ИнтерЛабСервис». Для выделения вирусной РНК методом высаживания применяли набор реагентов «Рибо-преп» - К2-9-Et-100, № ФСР 2008/03147, для выделения вирусной РНК методом аффинной сорбции на частицах силика-геля применяли набор реагентов «Рибо-сорб»-К2-1-Et-100, № ФСР 2008/03993. РНК энтеровирусов выделяли из проб СМЖ, фекалий, носоглоточных мазков, содержимого везикул, плазмы крови, аутопсийного материала, концентратов проб воды, культуральной жидкости, содержащей цитопатогенные агенты (ЦПА). Концентраты образцов воды, спинномозговая жидкость, отделяемое везикул, мазки из ротоглотки, культуральная жидкость исследовались без специальной подготовки для экстракции РНК. Подготовка образцов фекалий проводилась в соответствии с методическими рекомендациями «Взятие, транспортировка, хранение клинического материала для ПЦР-диагностики», разработанными ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора [19]. Экстракция РНК проводилась из 100 мкл пробы в присутствии внутреннего контрольного образца (ВКО STI-87-rec), что позволяло контролировать правильное выполнение процедуры исследования для каждого образца [41].

Для проведения обратной транскрипции с целью получения комплементарной дезоксирибонуклеиновой кислоты (кДНК) на матрице РНК использовали набор реагентов «Реверта-L» - К3-4-100, № ФСР 2008/03994 [38].

Для амплификации использовали набор реагентов для выявления РНК энтеровирусов (Enterovirus) в объектах окружающей среды и клиническом



материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® Enterovirus-FL», R-V16 (RG), вариант FRT, № ФСР 2008/02264 [40, 59], набор реагентов для выявления РНК полиовирусов и энтеровирусов группы С (HEV-C) с дифференцировкой вакцинных штаммов полиовирусов (Sabin1, Sabin2, Sabin3) в объектах окружающей среды и клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® Poliovirus-FL», V58 (RG), вариант FRT+ FER, № ФСР 2011/11257 [39, 58].

При работе с набором реагентов «АмплиСенс® Enterovirus-FL» проводилась амплификация участка кДНК Enterovirus при помощи специфичных к этому участку ДНК праймеров и фермента Taq-полимеразы. В составе реакционной смеси присутствовали флуоресцентно-меченые олигонуклеотидные зонды, которые гибридизировались с комплементарным участком амплифицируемой ДНК-мишени, в результате чего происходило нарастание интенсивности флуоресценции. Это позволяло регистрировать накопление специфического продукта амплификации путем измерения интенсивности флуоресцентного сигнала. Аналитическая чувствительность комплекта реагентов составляла  $5 \times 10^3$  ГЭ/мл.

При работе с набором реагентов «АмплиСенс® Poliovirus-FL», сконструированном в формате «мультиплекс-ПЦР», проводилась одновременная амплификации в двух реакционных пробирках и детекция в режиме «реального времени» участков кДНК вакцинных штаммов полиовирусов (Sabin 1, Sabin 2, Sabin 3) и энтеровирусов группы С (HEV-C). В составе реакционной смеси содержались олигонуклеотидные праймеры и флуоресцентно меченные гибридизационные зонды (ФМ-зонды), которые комплементарны внутренним специфическим участкам амплифицируемого фрагмента. ФМ-зонды для каждой из мишеней имеют свою длину волны, что позволяет регистрировать сигнал по соответствующему каналу. Флуоресцентный сигнал, испускаемый ФМ-зондом, детектировался оптическим блоком амплификатора непосредственно в процессе реакции в

режиме «реального времени». Аналитическая чувствительность комплекта реагентов составляла от  $1 \times 10^3$  ГЭ/мл (концентраты воды при использовании для выделения РНК комплекта «Рибо-сорб») до  $5 \times 10^3$  ГЭ/мл (клинический материал при использовании для выделения РНК комплекта «Рибо-преп»).

Для автоматизированного учета результатов амплификации в режиме «реального времени» использован программируемый амплификатор «Rotor-Gene» 6000 («Corbett Research», Австралия), программа версии 1.7 (build 67).

Молекулярно-генетические методы использовались также для идентификации типов энтеровирусов и анализа их генетических характеристик. Работа выполнялась в ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени академика И.Н.Блохиной», Нижний Новгород (Референс-центр по мониторингу ЭВИ).

В период 2006 – 2013г.г. в Референс-центр направлялись пробы клинического материала и объектов окружающей среды (ООС), отобранных в очагах ЭВИ с групповой и вспышечной заболеваемостью (табл.6).

Таблица 6

Пробы, направленные в Референс-центр в 2008-2013 годах для определения и подтверждения серотипа и генотипа энтеровирусов

Источник выделения ЭВ	Вид проб	Число проб, отправленных Референс-центр по мониторингу ЭВИ						Всего
		2008	2009	2010	2011	2012	2013	
Водопроводная вода	Культуральная жидкость	8	2	4				14
Больные ЭВИ	СМЖ+кДНК	10						10
	Фекалии+кДНК		7					7
	ЦПА (фекалии)			12	5	6	7	30
Сточная вода	ЦПА				1			1
Итого:		18	9	16	6	6	7	62

За рассматриваемый период в Референс-центр были направлены 62 пробы различных материалов. Пробы водопроводной воды были направлены в 2008–2010 годах в период подъемов ЭВИ для поиска источника

возникновения групповых заболеваний ЭВИ и факторов передачи возбудителей.

Тип энтеровируса идентифицировали путем определения нуклеотидной последовательности области генома VP1. Определение нуклеотидной последовательности проводилось в автоматическом режиме с использованием секвенатора ABI Prism 3100. Для филогенетического анализа использовали нуклеотидные последовательности, представленные в базе данных GeneBank. Выравнивание нуклеотидной и аминокислотной последовательностей и филогенетический анализ осуществлялся с использованием программного обеспечения MEGA v. 4.0, 5.2 [199]. Филогенетические деревья были построены по алгоритму Neighbor-joining с опциями maximum composite likelihood для нуклеотидных последовательностей и poisson correction для аминокислотных последовательностей.

#### **2.2.4. Эпидемиологическая диагностика и методы статистики**

В эпидемиологическом методе исследований использованы описательно-оценочный и аналитический методические приемы, ретроспективный эпидемиологический анализ. Изучены основные проявления эпидемического процесса при полиомиелите, ОВП, ЭВИ (интенсивность, динамика заболеваемости, возрастная и этиологическая структура, территориальное распределение). Анализ заболеваемости проведен с определением количественных характеристик динамического ряда, определением тенденций, характерных для различных групп населения. Полученные данные сгруппированы в аналитические таблицы, построены линейные, плоскостные, секторные и полярные диаграммы, визуально отображающие выявленные закономерности. Проведена статистическая обработка полученных данных. Достоверность полученных результатов оценивалась стандартными методами с помощью t-критерия Стьюдента. За величину статистической значимости было принято значение  $p < 0,05$ .

### Глава 3. ПРОЯВЛЕНИЯ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА ПОЛИОМИЕЛИТА И ЭНТЕРОВИРУСНОЙ (НЕПОЛИО) ИНФЕКЦИИ СРЕДИ НАСЕЛЕНИЯ АРХАНГЕЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ

#### 3.1. Характеристика эпидемического процесса полиомиелита на территории Архангельской области в 1950-2013 гг.

За период с 1950г. по 1996г., до начала реализации в стране Программы ликвидации полиомиелита, в Архангельской области зарегистрированы 756 случаев заболеваний полиомиелитом (табл.7). Заболевания регистрировались во всех 23 административных образованиях области, при этом преобладающее число случаев (52%) зарегистрированы в г.г.Архангельск (35,1%) и Северодвинск (16,9%). Суммарный показатель заболеваемости населения Архангельской области составил 50,7 на 100 тыс. Территории, на которых среднеобластной показатель заболеваемости был превышен, относятся к территориям Крайнего Севера: Мезенский район (192,8 на 100 тыс.) и Лешуконский район (115,1 на 100 тыс.), где превышение показателей заболеваемости составило соответственно 3,8 и 2,3 раза [104].

*Таблица 7*

Заболеваемость полиомиелитом населения Архангельской области в период  
1950-1996 гг.

№ п/п	Административная территория	Всего случаев	Удельный вес (%)	Показатель на 100 тыс. населения
1	Вельский р-н	15	2,0	21,8
2	Верхнее-Тоемский р-н	2	0,3	7,9
3	Вилегодский р-н	8	1,1	51,6
4	Виноградовский р-н	9	1,2	38,5
5	Каргопольский р-н	2	0,3	8,3
6	Коношский р-н	6	0,8	16,0
7	Котласский р-н	7	0,9	24,1
8	Красноборский р-н	6	0,8	31,1
9	Ленский р-н	9	1,2	47,6
10	Лешуконский р-н	16	2,1	115,1
11	Мезенский р-н	32	4,2	192,8
12	Няндомский р-н	13	1,7	32,7
13	Онежский р-н	26	3,4	57,1
14	Пинежский р-н	14	1,9	35,9
15	Плесецкий р-н	62	8,2	84,3

16	Приморский р-н	16	2,1	49,1
17	Устьянский р-н	13	1,7	30,7
18	Холмогорский р-н	47	6,2	138,6
19	Шенкурский р-н	4	0,5	18,9
20	г.Архангельск	265	35,1	72,1
21	г.Котлас	33	4,4	40,3
22	г.Северодвинск	128	16,9	53,5
23	Ненецкий округ	23	3,0	50,3
	Итого	756	100,0	50,7

Динамика заболеваемости полиомиелитом в области имела те же тенденции, что и в целом по России: резкий подъем заболеваемости в 1955 году, максимальный уровень в 1958 году (15,6 на 100 тыс. населения, что превысило показатель заболеваемости населения РФ на 35,7%), далее (с 1962 г.) – снижение показателей заболеваемости до спорадического уровня, что обусловлено массовой иммунизацией населения ОПВ (рис.3).

Последние случаи полиомиелита, вызванные местными дикими штаммами вируса, зарегистрированы в РФ в 1996 году, в Северо-Западном Федеральном округе (СЗФО) – в 1991 году, в Архангельской области – в 1982 году.

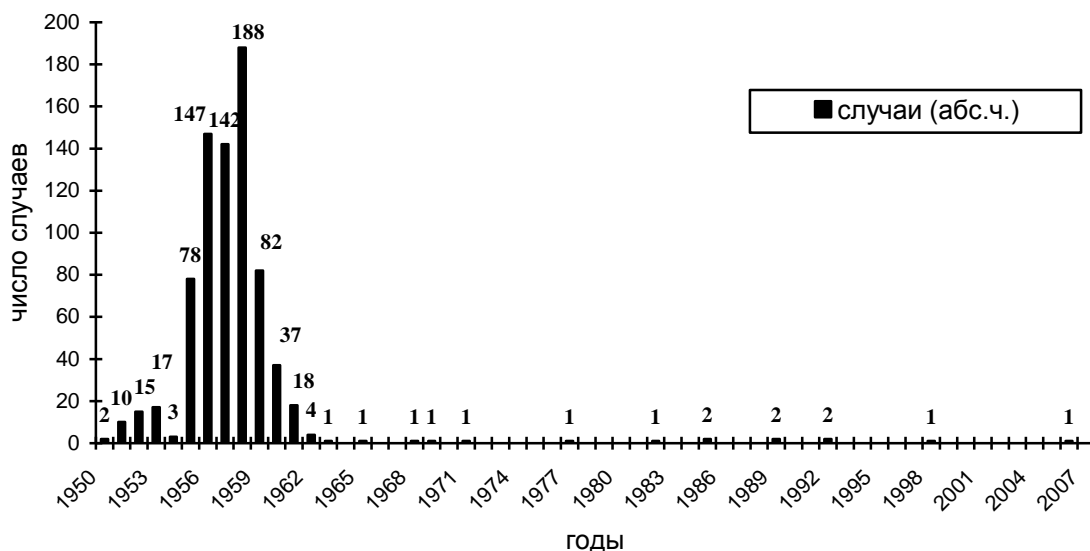


Рисунок 3. Заболеваемость полиомиелитом населения Архангельской области за 1950-2013 гг. (в абс. числах).

Все случаи полиомиелита, зарегистрированные в Архангельской области в последующие годы, на основании данных эпидемиологических, клинических и вирусологических исследований были расценены как случаи вакциноассоциированного паралитического полиомиелита (ВАПП) у контактных или реципиентов ОПВ:

В 1985, 1989 и 1992 годах в Архангельской области зарегистрированы по 2 случая ВАПП у непривитых детей. Учитывая отсутствие в данный период времени обязательного вирусологического подтверждения диагноза «полиомиелит», результаты лабораторного обследования данных детей восстановить не удалось. В более поздние сроки (с 1996 года) вирусологические исследования клинического материала от детей с подозрением на полиомиелит проведены Национальным центром по лабораторной диагностике полиомиелита.

В 1998 году зарегистрирован 1 случай ВАПП у контактного ребенка в возрасте 9 месяцев, не привитого против полиомиелита по медицинским отводам, как часто длительно болеющий. Контакт с привитым ОПВ ребенком имел место в ЛПУ по вине медицинских работников, не соблюдавших принципы разобщения недавно привитых ОПВ и непривитых детей. Случай ВАПП подтвержден выделением ОПВ-подобного штамма вируса полиомиелита 1 типа, имевшего признаки реверсии к дикому типу полиовируса в определенных участках генома. По результатам ВТД, проведенной с использованием рекомендуемых ВОЗ методов (РН с моноклональными антителами, молекулярно-генетический метод), были получены противоречивые результаты, секвенирование участка генома вируса из 1480 нуклеотидов на участке генома VP1 показало наличие 7 точечных мутаций, соответствие вакцинному штамму составило 99,5% (отличие от гомотипичного вакцинного штамма менее 1%). Доказана циркуляция данного штамма в течение 180 дней.

В 2006 году зарегистрирован 1 случай ВАПП у реципиента ОПВ в возрасте 6 месяцев, получившего 1 вакцинацию ОПВ. В анамнезе –

атопический дерматит до 5 месяцев. ВАПП подтвержден выделением вакцинных штаммов вирусов полиомиелита 2 и 3 типов.

Применение ОПВ явилось наглядным доказательством эффективности вакцинопрофилактики полиомиелита – инфекцию удалось перевести в разряд «управляемых», именно этот факт явился одной из предпосылок постановки цели ее глобальной ликвидации. Реализация Программы ликвидации инфекции на территории области, составной и важнейшей частью которой является вирусологический надзор, позволила доказать отсутствие циркуляции диких вирусов полиомиелита на территории области. Вместе с тем, Архангельская область не стала исключением для проявления негативных сторон применения живой вакцины, в начальный период реализации Программы ликвидации полиомиелита (1998 и 2002 годы) зарегистрированы 2 случая ВАПП. Отсутствие случаев полиомиелита в последующие годы является следствием эффективного проведения мероприятий по поддержанию статуса территории, свободной от полиомиелита, одной из основных составляющих которых является использование ИПВ.

### **3.2. Качественные показатели эпидемиологического надзора за полиомиелитом и острыми вялыми параличами в период 2002-2013 гг.**

В 1996 году Российская Федерация приступила к реализации Программы ликвидации полиомиелита к 2000 году (приказ МЗ РФ и Госсанэпиднадзора РФ от 10.09.1996 года № 336/142) [65]. Основными мероприятиями по стратегии ВОЗ являлись достижение и поддержание высокого (не менее 95%) уровня охвата прививками против полиомиелита в ходе плановой иммунизации, проведение Национальных дней иммунизации (массовая двукратная вакцинация детей от 3 месяцев до 3 лет ОПВ, независимо от прививочного анамнеза), совершенствование системы эпидемиологического надзора полиомиелитом путем внедрения надзора за случаями заболеваний, сопровождающихся синдромом острого вялого паралича (ОВП), независимо

от их этиологии. Индикатором эффективного надзора за ОВП являлось выявление не менее 1 случая ОВП на 100 тыс. детей в возрасте до 15 лет.

Анализ заболеваемости ОВП в Архангельской области выполнен за 2002-2013 годы, данный период времени был выбран по ряду причин:

- 21 июня 2002 года Европейский регион был объявлен свободным от полиомиелита, что означало отсутствие циркуляции эндемичного дикого полиовируса. Российская Федерация приступила к выполнению мероприятий по поддержанию статуса территории, свободной от полиомиелита, и предупреждению завоза дикого полиовируса из эндемичных стран и из стран, в которые дикие полиовирусы были завезены.

- в 2002 году в Европейском регионе ВОЗ было введено понятие приоритетного «горячего» случая ОВП, подлежащего экстренному эпидрасследованию, проведению комплекса противоэпидемических мероприятий, максимально быстрому и полному вирусологическому обследованию в лаборатории Национального центра по эпидемиологическому надзору за ПОЛИО/ОВП. К «горячим» случаям отнесены случаи ОВП у детей в возрасте до 5 лет, не привитых или не полностью привитых против полиомиелита, у детей из семей беженцев, вынужденных переселенцев, прибывших из зон военных конфликтов, у прибывших из эндемичных по полиомиелиту стран или имевших контакт с такими лицами, а также случаи, подозрительные на полиомиелит у лиц без ограничения возраста.

- в 2002 году в РФ начали применять ИПВ для иммунизации против полиомиелита детей из «групп риска», опираясь на опыт других развитых стран и данные о возникновении случаев ВАПП.

Динамика заболеваемости ОВП детей Архангельской области за 2002-2013 годы не имела четко выраженных тенденций к росту или снижению, чередовалась подъемами и спадами. Так, в 2003 году показатель заболеваемости составил 2,6 на 100 тыс. детей до 15 лет, что превысило показатель заболеваемости РФ на 73,3%, в 2011 году – 2,1 на 100 тыс., что



превысило показатель РФ на 23,5%. В 2006 году отмечено резкое снижение показателя заболеваемости - до 0,5 на 100 тыс., что ниже показателя РФ в 3,6 раза и ниже рекомендуемого ВОЗ показателя (1,0 на 100 тыс.) в 2 раза, в 2012 году в Архангельской области не было зарегистрировано ни одного случая ОВП, область вошла в число «молчащих» территорий, что свидетельствовало о существенных нарушениях в системе эпидемиологического надзора за полиомиелитом. В период с 2006 по 2010 год показатель заболеваемости ОВП в Архангельской области был ниже показателей РФ и СЗФО (рис. 4).

Учитывая то, что заболеваемость детей ОВП не отражает закономерностей определенного эпидемического процесса, а свидетельствует о настороженности медицинских работников в отношении возможного появления случаев заболеваний полиомиелитом, можно сделать заключение, что за весь период реализации Программы ликвидации полиомиелита в Архангельской области в течение двух лет (2006г., 2012г.) имелись значительные недостатки в части обеспечения необходимого уровня чувствительности надзора за полиомиелитом (табл. 8).

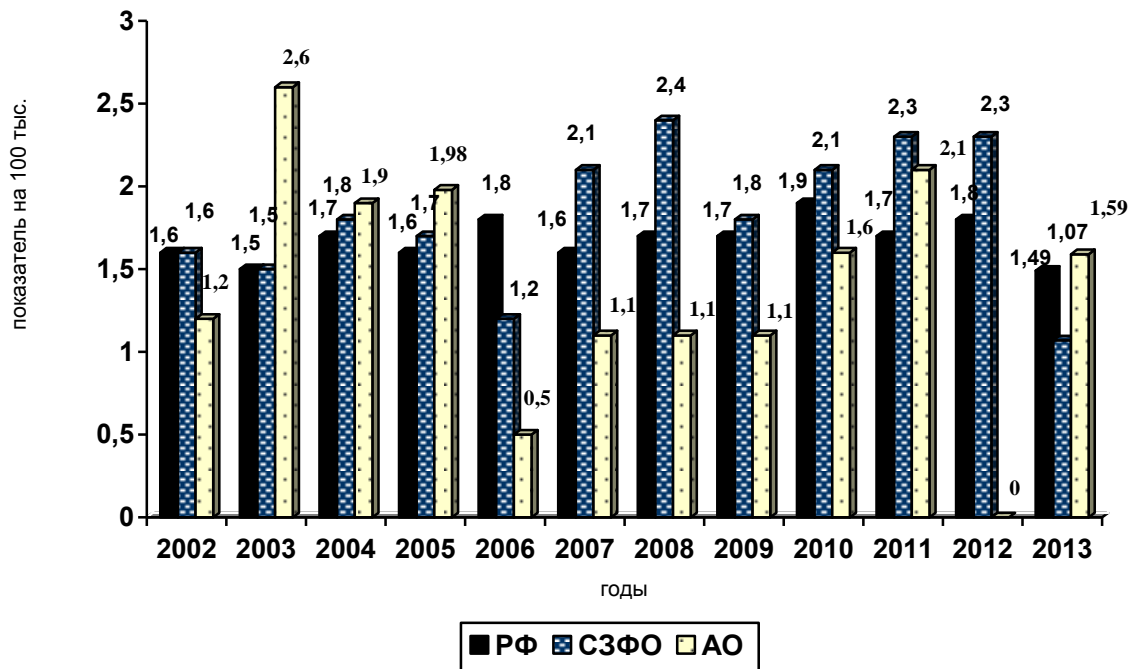


Рисунок 4. Динамика заболеваемости ОВП детей до 15 лет РФ, СЗФО и Архангельской области за 2002-2013 гг.

С целью оценки качества надзора за ОВП ВОЗ разработаны стандартные индикаторы качества надзора, характеризующие не только эпидемиологическую (своевременность выявления случаев и проведения эпидемиологического расследования), но и вирусологическую составляющую (адекватность отбора проб и полнота вирусологических исследований, своевременность доставки материала в лабораторию Регионального центра, качество проб и др.), так как только по результатам вирусологических исследований случай ОВП окончательно расценивается Комиссией по диагностике полиомиелита и ОВП как подтвержденный полиомиелит или неполиомиелитный ОВП.

Помимо неудовлетворительных показателей выявления больных ОВП в 2006 и 2012 годах, отмечались позднее выявление больных ОВП (2010 г.), позднее начало эпидрасследования случаев ОВП (2008, 2011 г.г.), неудовлетворительное качество проб фекалий, отобранных от больных (малое количество пробы) (2003, 2004, 2008, 2010, 2011 г.г.). В целом критерии ВОЗ по некоторым показателям не достигнуты в 2006, 2008, 2010, 2012 годах. Несоблюдение критериев ВОЗ по комплексной оценке всех показателей качества надзора за ОВП в ряде случаев объясняется объективными причинами: поздним обращением родителей больного ребенка за медицинской помощью, наличием у больного парезов, исключающих возможность своевременного отбора пробы фекалий удовлетворительного качества.

Среднепогодная возрастная структура заболевших характеризуется преобладанием детей в возрасте 1-2 лет – 37,3%, доля детей в возрасте до 1 года была наименьшей – 9,8%, в возрасте 3-6 лет – 25,5%, в возрасте 7-14 лет – 27,4%.

Анализ внутригодовой заболеваемости ОВП за 2002-2013 годы свидетельствует о более частой регистрации случаев в мае – 21,6% всех выявленных по первичным диагнозам, наименьшее количество выявленных

случаев отмечено в феврале и декабре – по 1,96%. При анализе внутригодовой динамики заболеваний ОВП по окончательным диагнозам проявлений сезонности эпидемического процесса не выявлено.

Структура окончательных диагнозов ОВП:

- ВАПП – 4,5%
- полирадикулонейропатии – 50,0%
- мононейропатии – 31,9%
- полирадикуломиелит – 4,5%
- миелит – 4,5%
- другие – 4,5%

По окончательным диагнозам у больных ОВП преобладали полирадикулонейропатии (50%), реже – мононейропатии (31,9%), доля ВАПП, миелитов и других диагнозов была равной и составила 4,5% (рис.5).

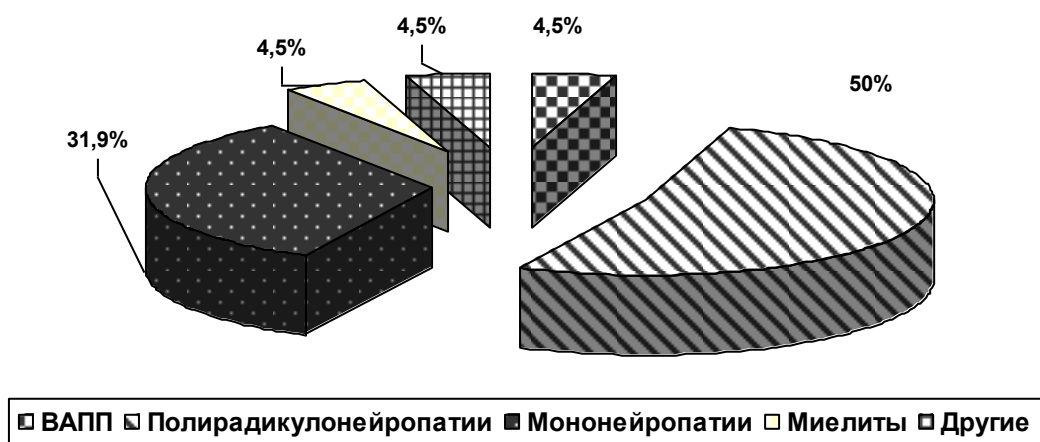


Рисунок 5. Структура окончательных диагнозов ОВП у детей Архангельской области за 2002–2013 гг.

Качественные показатели эпидемиологического надзора за ОВП на территории Архангельской области за 2002-2013 гг.

	Критерии ВОЗ	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Расчетное число случаев ОВП	1 на 100 тыс.	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Количество случаев ОВП по оперативной информации		4	9	5	5, в т.ч. «горячих»-2	2, в т.ч. «горячих»-1	3	2	4	3	7	0	7
Количество ОВП по окончательным диагнозам		3	6	4	4	1	2	2	2	3	4		3
Показатель заболеваемости на 100 тыс. детей	Не менее 1,0 на 100 тыс. детей до 15 лет	1,2	2,6	1,9	1,98	0,49	1,06	1,09	1,08	1,63	2,14		1,59
Своевременность выявления больных (первые 7 дней от начала паралича)	Не менее 80%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	66,6	100%		100%
Своевременность эпидрасследования в течение 48 час.	Не менее 95%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	50%	100%	100%	85,7%		100%
Количество больных ОВП, обследованных в РЦ/НЦ	Не менее 80%	100% 4/0	100% 9/0	100% 5/0	100% 3 / 2	100% 1 / 1	100% 3/0	100%	100%	100%	100%		100%

Удельный вес обследованных с 2-мя пробами стула	Не менее 80%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Удельный вес обследованных с интервалом отбора проб 24-48 час.	Не менее 80%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Удельный вес обследованных до 14 дней от начала паралича	Не менее 80%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Своевременность доставки проб в РЦ, НЦ	Не менее 80%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Удельный вес проб удовлетворительного качества	Не менее 80%	100%	94,4%	90%	100%	100%	100%	75%	100%	83,3%	92,7%		100%
Удельный вес повторно осмотренных больных через 60 дней	Не менее 95%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Удельный вес больных ВАПП, обследованных через 90 дней	Не менее 95%				-	100%	-						

В течение анализируемого периода от больных ОВП было выделено 16 штаммов вакцинных вирусов полиомиелита (31,4%) и 4 штамма неполиомиелитных энтеровирусов (7,8%). В структуре выделенных полиовирусов преобладали вирусы 3 типа – 8 штаммов, выделены также 6 штаммов вирусов полиомиелита 2 типа и 2 штамма 1 типа. Существенной разницы в количестве выделенных полиовирусов по годам не было, вирусы выделялись практически ежегодно, кроме 2002, 2008 и 2009 года. НПЭВ группы ЕСНО выделены в 2002 году – 2 штамма ЕСНО 13, в 2009 году – 2 штамма ЕСНО 30. Таким образом, вирусы полиомиелита и НПЭВ не выделялись только в 2008 году, когда было выявлено наименьшее число больных ОВП - 2 человека, а также допущены нарушения критериев качества надзора за ОВП (позднее начало эпидрасследования и малое количество пробы фекалий, доставленной для вирусологического исследования).

### 3.3. Интенсивность эпидемического процесса энтеровирусной инфекции в различных возрастных и социальных группах населения в период 2006-2015 гг.

Официальная регистрация ЭВИ, в том числе энтеровирусного серозного менингита (ЭВМ), в статистических отчетных формах РФ введена с 2006 года.



Рисунок 6. Динамика заболеваемости энтеровирусными инфекциями населения Архангельской области за 2006-2013 гг. (на 100 тыс. населения)

Анализ динамики заболеваемости ЭВИ за 2006-2013 г.г. свидетельствует о том, что в течение четырех лет из восьми анализируемых показатель заболеваемости ЭВИ населения Архангельской области превышал показатель заболеваемости населения Российской Федерации: в 2006 г. – на 4,7%, в 2008 г. – в 5,1 раза, в 2009 г. – на 47%, в 2010 г. – в 2,1 раза (рис. 6). При этом в 2008 г. ( $21,6 \pm 1,4$ ), 2009 г. ( $6,97 \pm 0,75$ ) и 2010 г. ( $6,07 \pm 0,71$ ) превышение показателей было статистически достоверно выше ( $p < 0,05$ ).

В 2007 г. и в 2011-2013 г.г. заболеваемость населения Архангельской области была ниже среднероссийского уровня.

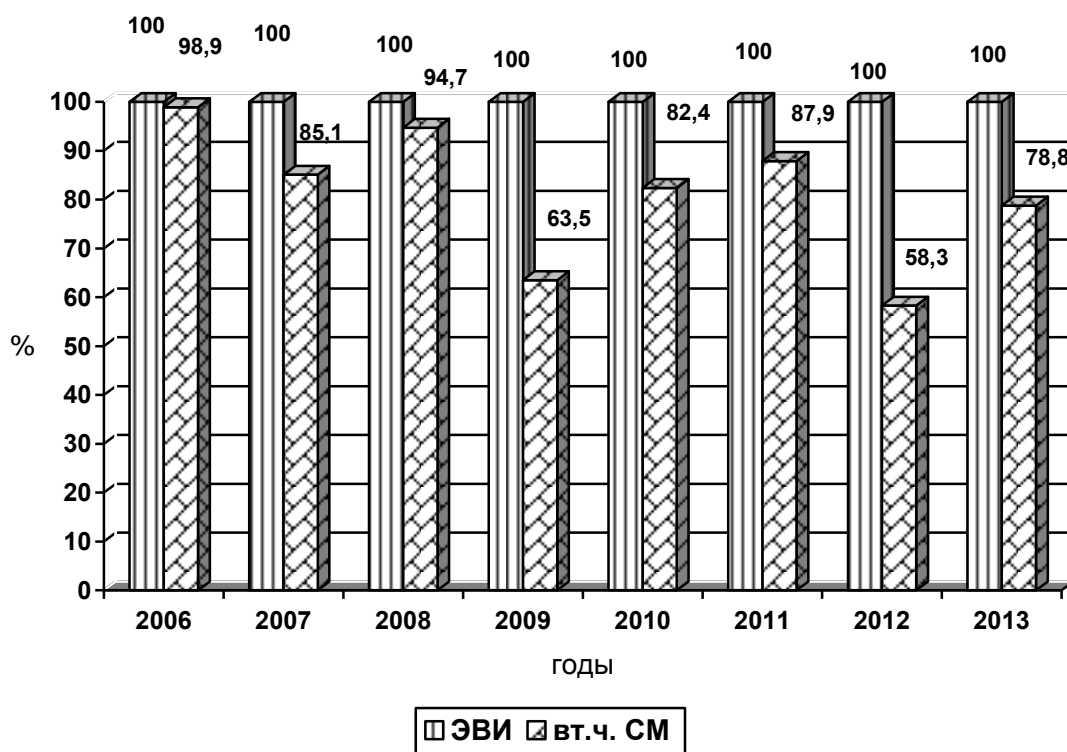


Рисунок 7. Динамика удельного веса энтеровирусного серозного менингита в общей структуре энтеровирусных инфекций в Архангельской области за 2006-2013 гг.

Анализ структуры нозологических форм ЭВИ, регистрируемых на территории Архангельской области, свидетельствует о преобладании ЭВМ, являющегося клинически выраженной и часто тяжело протекающей

нозологической формой ЭВИ. Удельный вес данной нозологии в структуре всех форм ЭВИ составлял в разные годы от 58,3% в 2012г. до 98,9% в 2006г. (рис. 7). В целом за анализируемый период в общей структуре нозологических форм ЭВИ доля ЭВМ составила 86%.

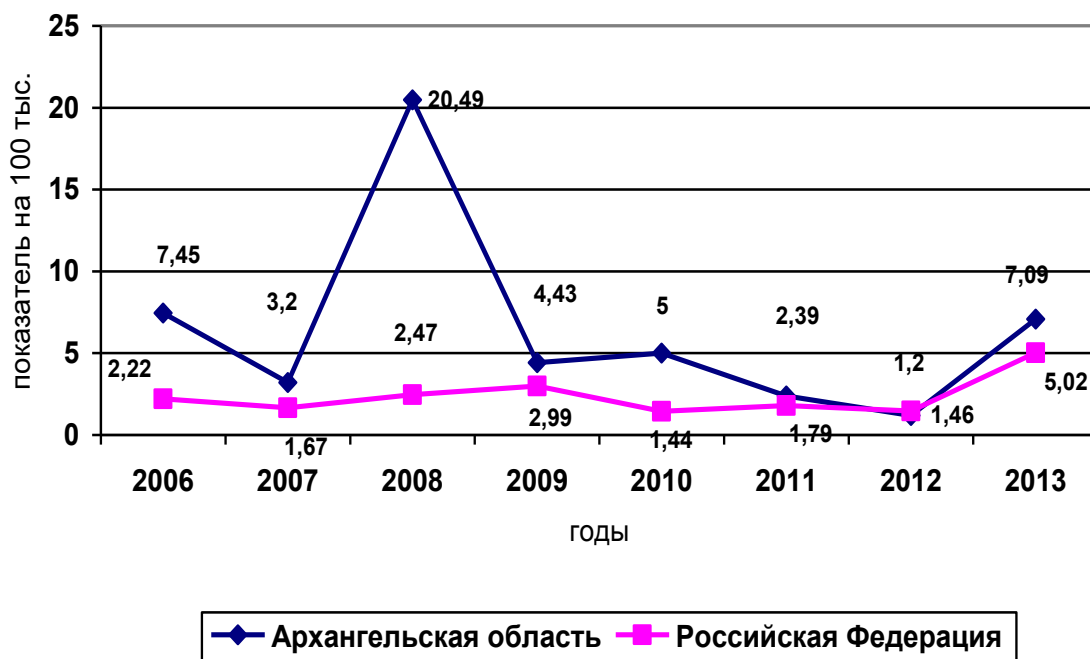
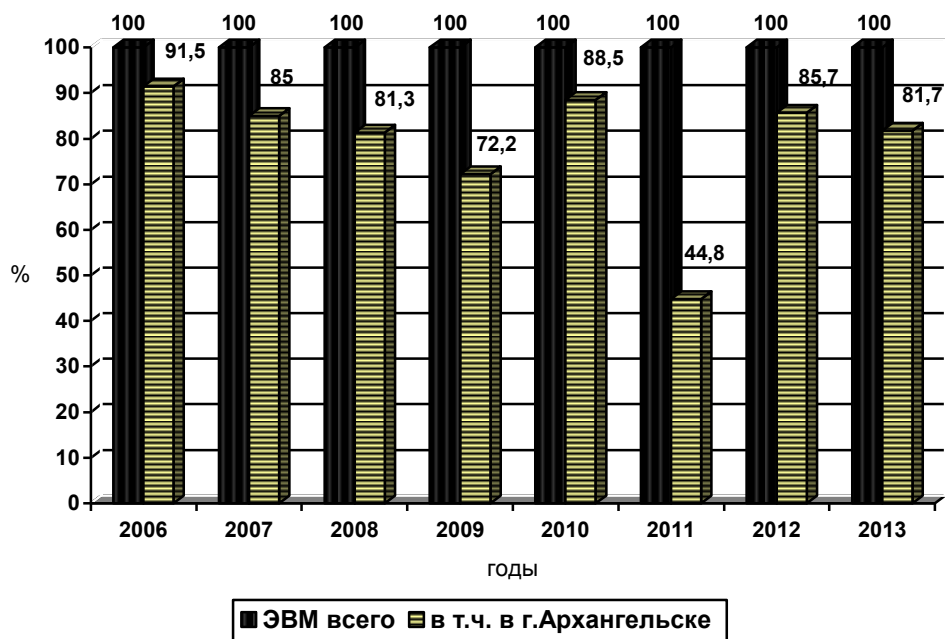


Рисунок 8. Динамика заболеваемости энтеровирусным менингитом населения Архангельской области за 2006-2013 гг. (на 100 тыс. населения)

Динамика заболеваемости ЭВМ в течение 2006 – 2013 г.г. свидетельствует о более высоком уровне заболеваемости населения Архангельской области в сравнении с заболеваемостью населения Российской Федерации в целом. Превышение показателей заболеваемости составляет: в 2006г. – в 3,4 раза, в 2007г. – на 91,6%, в 2008г. – в 8,3 раза, в 2009г. – на 48,2%, в 2010г. – в 3,5 раза, в 2011г. – на 33,5%. В 2012 году данный показатель был ниже показателя РФ на 17,8%, однако в 2013 году отмечен рост показателя в 5,9 раз и превышение показателя РФ на 41,2% (рис. 8).





*Рисунок 9. Динамика удельного веса энтеровирусного менингита, зарегистрированного среди населения г.Архангельска за в 2006-2013 гг.*

Заболееваемость ЭВМ в течение анализируемых лет определял г.Архангельск, доля которого в общем числе зарегистрированных случаев ЭВМ составляла от 44,8% в 2011г. до 91,5% в 2006г. (рис. 9). В целом за анализируемый период удельный вес случаев ЭВМ в г.Архангельске составил 81,5%. Показатели заболеваемости ЭВМ населения областного центра ежегодно превышали среднеобластные: в 2006-2013г.г. показатель заболеваемости ЭВМ населения г.Архангельска был выше показателя по области в 2,7 раза.

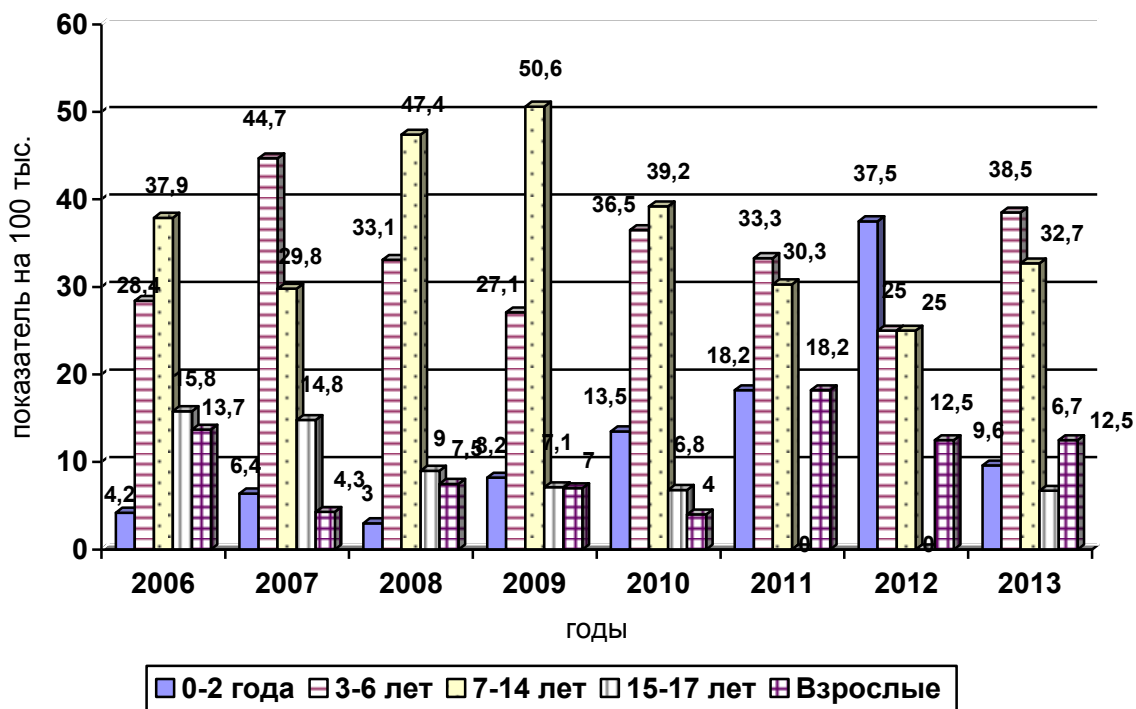


Рисунок 10. Динамика возрастной структуры заболеваний ЭВИ населения Архангельской области за 2006-2013 гг.

Возрастная структура заболеваний ЭВИ характеризуется ежегодным преобладанием возрастных групп детей 3 - 6 лет (от 25% в 2012г. до 44,7% в 2007г.) и 7 – 14 лет (от 25% в 2012г. до 50,6% в 2009г.) за исключением 2012 года (рис. 10).

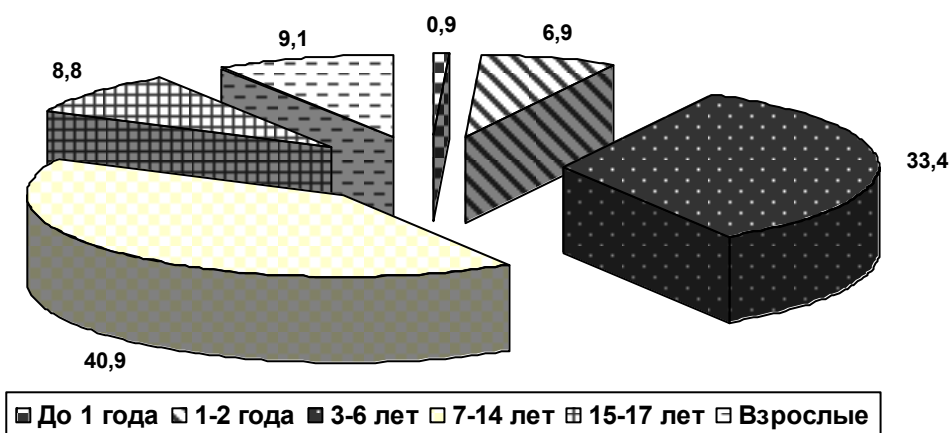


Рисунок 11. Возрастная структура заболевших ЭВИ в Архангельской области за 2006-2013 гг.

В целом за 2006 – 2013 г.г. доля детей до 17 лет в возрастной структуре заболевших ЭВИ составила 90,9%, в том числе на долю возрастной категории 3 – 6 лет пришлось 33,4%, возрастной категории 7 – 14 лет – 40,9% (рис. 11).

Заболевания ЭВИ в возрастной категории 3 - 6 лет регистрировались в основном среди организованных детей (97,1%).

Анализ сезонности заболеваемости ЭВИ свидетельствует о том, что максимальные показатели заболеваемости регистрируются в сентябре-ноябре, когда уровень заболеваемости превышает среднемноголетний показатель в среднем в 3,3 раза, т.е. ЭВИ имеют выраженную осеннюю сезонность (рис. 12).

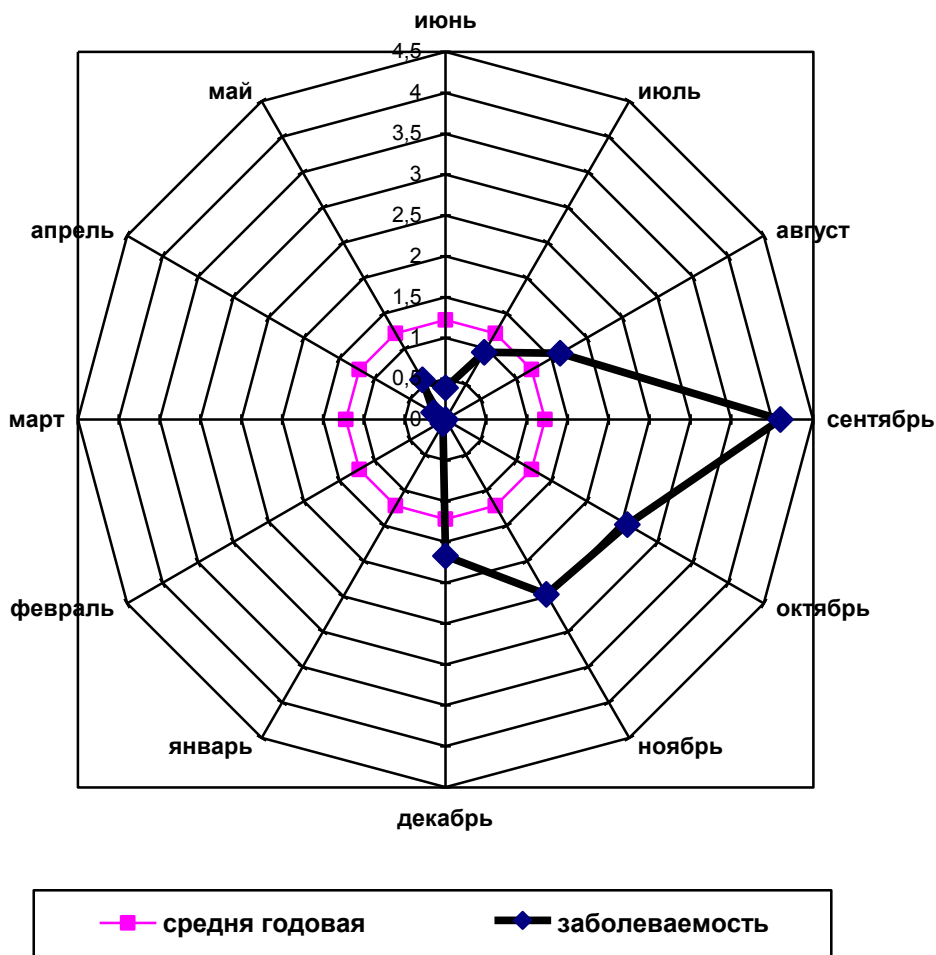


Рисунок 12. Сезонность заболеваемости ЭВИ в Архангельской области за 2006-2013 гг.

## **Глава 4. ХАРАКТЕРИСТИКА ЭНТЕРОВИРУСОВ, ВЫЗЫВАЮЩИХ ЭПИДЕМИЧЕСКИЕ ПОДЪЕМЫ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ, И ОЦЕНКА КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ЭНТЕРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В АРХАНГЕЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ**

Государственная регистрация заболеваемости ЭВИ в РФ введена с 2006 года, однако эпидемиологический и вирусологический надзор за ЭВИ осуществлялся задолго до этого, являясь составной частью надзора за полиомиелитом. После сертификации в 2002 году РФ в составе Европейского региона, как территории, свободной от полиомиелита, надзор за ЭВИ приобрел самостоятельное значение, учитывая эпидемиологическую и социальную значимость ЭВИ, характеризующихся полиэтиологичностью, клиническим полиморфизмом, убиквитарностью, периодически возникающими вспышками тяжелых заболеваний с вовлечением преимущественно детских контингентов, отсутствием средств специфической профилактики. Устойчивость возбудителей ЭВИ во внешней среде, легкость распространения среди восприимчивых контингентов с реализацией множества путей и факторов передачи, способность к генетической изменчивости с усилением патогенных и вирулентных свойств обусловили необходимость постоянного эпидемиологического и вирусологического надзора за ЭВИ. Значимость надзора за ЭВИ на конкретной территории обусловлена климатическими, социальными и другими особенностями, которые могут оказывать воздействие на эпидемический процесс. Знание закономерностей его проявлений позволит своевременно и эффективно противодействовать осложнениям эпидемической ситуации при ЭВИ.

### **4.1. Характеристика энтеровирусов, вызывающих эпидемические подъемы заболеваемости в 2006-2013 гг. с использованием вирусологических методов исследования**

Эпидемиологическое наблюдение за ЭВИ в целом и на конкретной территории имеет целью своевременное принятие управленческих решений,

проведение профилактических мероприятий, предупреждающих заболевания, и противозидемических мероприятий, способствующих снижению заболеваемости. ЭВИ имеют ряд особенностей, затрудняющих выполнение этих задач. ЭВИ характеризуются полиэтиологичностью и полиморфизмом клинических проявлений. Наиболее часто ЭВИ протекают в виде лихорадочных заболеваний легкой и средней степени тяжести, при которых могут проявляться такие клинические синдромы, как фарингит, герпангина, экзантемы полости рта и конечностей, диарея и др. Однако, у детей и лиц с иммунодефицитными состояниями ЭВИ могут протекать более тяжело в форме серозного менингита, менингоэнцефалита, пери- и миокардита, панкреатита, гепатита, сепсиса новорожденных. НПЭВ способны вызывать заболевания с клинической картиной полиомиелита и других неврологических синдромов. Характерно, что один серотип энтеровирусов может вызывать заболевания, отличающиеся по степени тяжести и клинике, и разные серотипы могут вызывать одинаковую клиническую картину инфекции. Для каждой территории характерна циркуляция среди населения и в окружающей среде «эндемичных» штаммов, а также появление ранее не встречавшихся на данной территории штаммов, которые могут вызвать развитие групповой и вспышечной заболеваемости в зависимости от состояния восприимчивых контингентов и генетических характеристик самих возбудителей. Все это создает определенные сложности в диагностике ЭВИ, учитывая необходимость обязательного лабораторного подтверждения диагноза. Однако, только лабораторное обследование больных с различными формами инфекций, не исключаяющих энтеровирусную этиологию, позволяет оценить значимость различных типов ЭВ в развитии заболеваний и дать эпидемиологическую оценку циркулирующим штаммам.

Анализ клинических форм ЭВИ, зарегистрированных среди населения Архангельской области в 2006-2013 годах, свидетельствует о преобладании одной из наиболее тяжело протекающих генерализованных форм ЭВИ – энтеровирусного серозного менингита, доля которого в разные годы составляла

от 58,3% в 2012 году до 98,9% в 2006 году. Данный показатель ежегодно превышал показатель РФ (рис. 13). В целом за 2006-2013 годы удельный вес серозного менингита в общей структуре ЭВИ в Архангельской области составил 86%, что выше показателя РФ (46%) на 40%. На долю других клинических форм ЭВИ в Архангельской области приходится в среднем 14%, все они протекали легко, с преобладанием таких синдромов, как герпангина, экзантема, лихорадочные заболевания. Очевидно, что в первые годы после внедрения в стране системы эпидемиологического надзора за ЭВИ с обязательной регистрацией лабораторно подтвержденных случаев, в Архангельской области имела место гиподиагностика легко протекающих форм инфекции, обусловленная разными причинами, в том числе и необходимостью дополнительных финансовых затрат на проведение лабораторных обследований. В последствии диагностика легких форм улучшилась, отмечены годы (2009, 2012 гг.), когда на долю ЭВМ приходилось чуть более половины всех зарегистрированных форм ЭВИ.

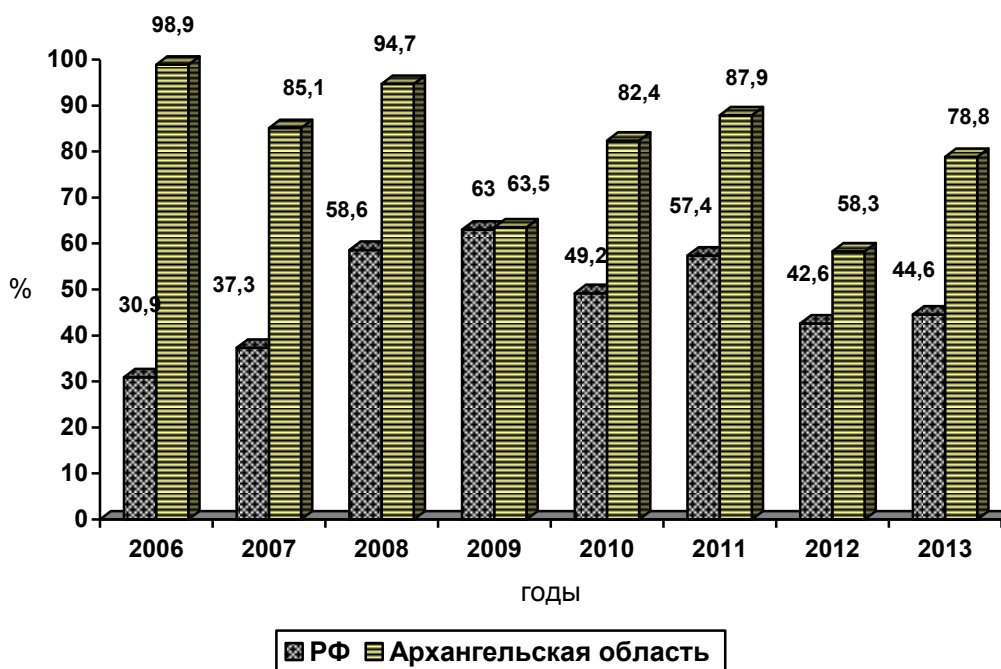


Рисунок 13. Динамика удельного веса серозного менингита в общей структуре ЭВИ среди населения РФ и Архангельской области за 2006-2013 гг.

В 2006-2013 годы проведены вирусологические исследования 1879 проб клинического материала от 928 лиц с подозрением на ЭВИ, в том числе с серозными менингитами, а также 60 проб аутопсийного материала от 29 умерших детей с диагнозом «Синдром внезапной детской смерти». Из клинических проб изолированы 4 вакцинных вируса полиомиелита и 106 НПЭВ. НПЭВ изолированы из клинических проб 101 больного. Из аутопсийных проб энтеровирусы не выделены.

Частота выделения вирусов полиомиелита составила 0,4%, выделенные полиовирусы не играли этиологической роли в возникновении случаев ЭВИ, т.к. выделялись от детей, получивших прививку ОПВ в течение 30 дней, предшествовавших проведению вирусологического обследования. Все выделенные полиовирусы направлены в НЛ/РРЛ для проведения ВТД, по результатам которой признаны вакцинными.

Частота выделения НПЭВ составила в среднем 10,5% и была неравномерной в разные годы: от 5% в 2007 году до 30,6% в 2013 году (рис. 14).

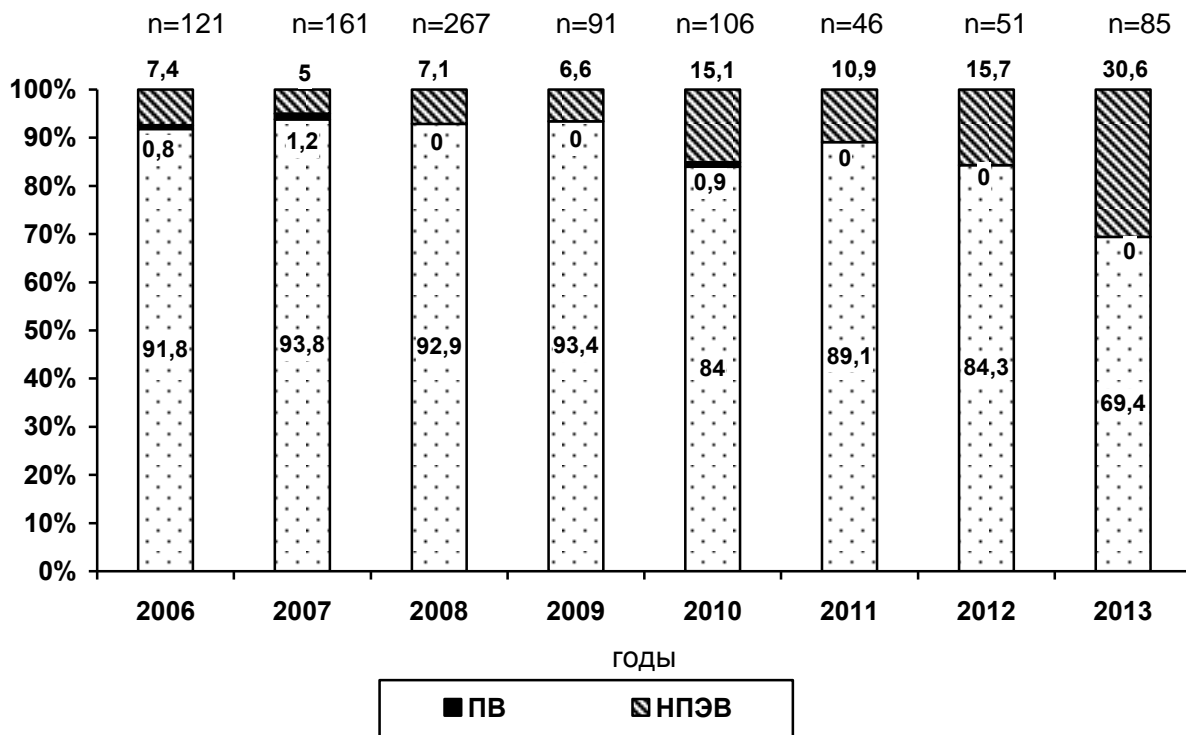


Рисунок 14. Частота выделения полиовирусов и НПЭВ от больных ЭВИ Архангельской области за 2006-2013 гг.

С наибольшей частотой НПЭВ выделялись от больных в годы роста заболеваемости ЭВИ и ЭВМ (2006, 2008, 2010, 2013 г.г.). Пейзаж энтеровирусов, выделенных от больных ЭВИ за весь период наблюдения (2006-2013 годы), представлен на рисунке 15 и таблице 9.

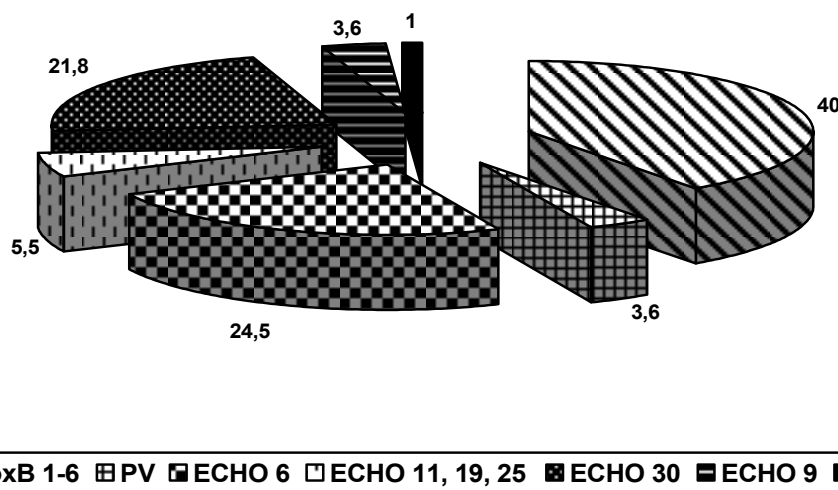


Рисунок 15. Пейзаж энтеровирусов, выделенных от больных ЭВИ в 2006-2013 гг.

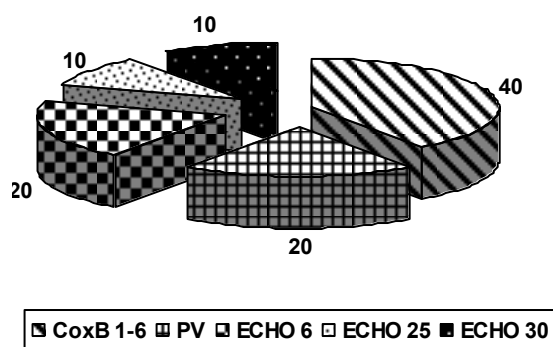
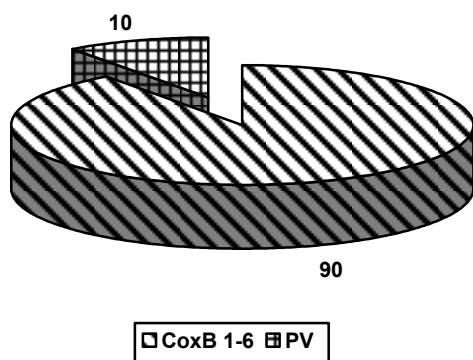
Таблица 9

Пейзаж НПЭВ, выделенных от людей в 2006-2013 гг.

Наименование вида или группы вирусов	Выделено всего (абс)							
	2006г.	2007г.	2008г.	2009г.	2010г.	2011г.	2012г.	2013г.
Полиомиелит 1 типа		2						
Полиомиелит 2 типа								
Полиомиелит 3 типа	1				1			
Итого вирусы полиомиелита	1	2			1			
Коксаки А 4								1
Итого вирусы Коксаки А								1
Коксаки В1					1		3	
Коксаки В2			1				1	6
Коксаки В3	3	1		1				
Коксаки В4								5
Коксаки В5	6	3	4	1	3			3



Итого вирусы Коксаки В	9	4	5	2	6		4	14
ЕСНО 6		2			10	5	4	6
ЕСНО 9				4				
ЕСНО 11								2
ЕСНО 19							2	
ЕСНО 25		1			1			
ЕСНО 30		1	14					9
Итого вирусы ЕСНО		4	14	4	11	5	6	17
<b>ВСЕГО</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>19</b>	<b>6</b>	<b>18</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>32</b>



*Рисунок 16. Пейзаж энтеровирусов, выделенных от больных ЭВИ в 2006 году (%)*

*Рисунок 17. Пейзаж энтеровирусов, выделенных от больных ЭВИ в 2007 году (%)*

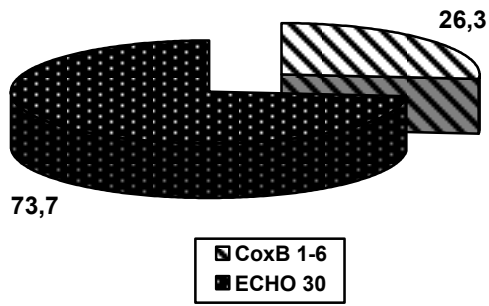


Рисунок 18. Пейзаж энтеровирусов, выделенных от больных ЭВИ в 2008 году (%)

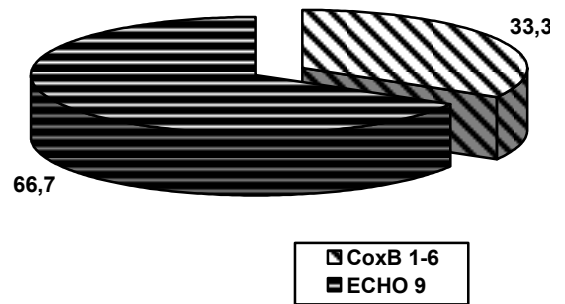


Рисунок 19. Пейзаж энтеровирусов, выделенных от больных ЭВИ в 2009 году (%)

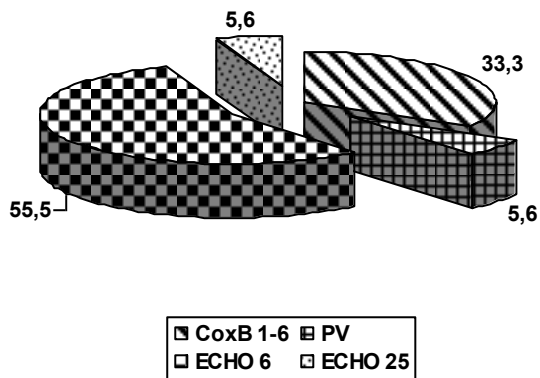


Рисунок 20. Пейзаж энтеровирусов, выделенных от больных ЭВИ в 2010 году (%)

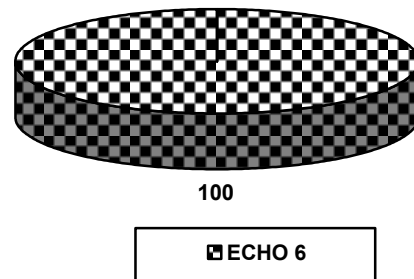


Рисунок 21. Пейзаж энтеровирусов, выделенных от больных ЭВИ в 2011 году (%)

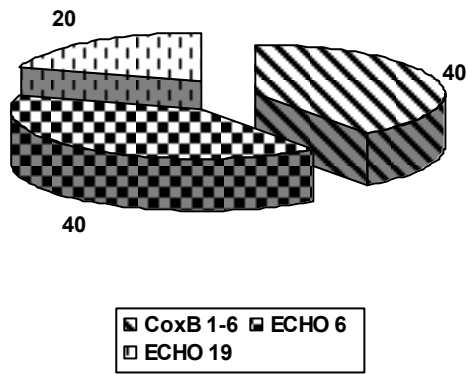


Рисунок 22. Пейзаж энтеровирусов, выделенных от больных ЭВИ в 2012 году (%)

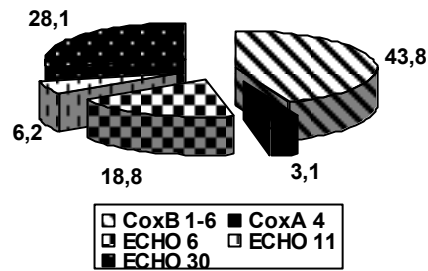


Рисунок 23. Пейзаж энтеровирусов, выделенных от больных ЭВИ в 2013 году (%)

Результаты вирусологических исследований, выполненных в 2006-2013 годы свидетельствуют о циркуляции среди населения Архангельской области различных серотипов НПЭВ, вызывающих заболевания с различной клинической картиной. Наиболее активно циркулировали вирусы Коксаки В 1-6, ЕСНО 6, 30, проявившие свой эпидемический потенциал в годы подъемов заболеваемости ЭВИ. Удельный вес серотипов ЭВ, циркулирующих в отдельные годы, представлен на рисунках 16-23. Так, в 2006 году от больных ЭВИ выделялись только вирусы Коксаки В, преимущественно серотипа Коксаки В 5 (66,7% в структуре НПЭВ) (рис. 16), в 2008 году – вирусы ЕСНО 30 (73,7% в структуре НПЭВ) (рис. 18), в 2010 году – вирусы ЕСНО 6 (55,5% в структуре НПЭВ) (рис. 20). Именно эти серотипы НПЭВ обусловили тяжелую клиническую картину ЭВИ в указанные годы, когда доля ЭВМ в структуре клинических форм инфекции составляла соответственно 98,9%, 94,7% и 82,4%.

Отмечена эпизодическая циркуляция вирусов ЕСНО 9 (2009г.) (рис.19), ЕСНО 11 и ЕСНО 30 (2013г.) (рис. 23), ЕСНО 19 (2012г.) (рис. 22), ЕСНО 25 (2007, 2010г.г.) (рис. 17, 20).

Следует отметить, что вирусы группы Коксаки В 1-6 выделялись ежегодно, за исключением 2011 года, с частотой от 26,3% в 2008 году до 43,8%

в 2013 году, в 2006 году эта группа ЭВ преобладала в качестве этиологического агента ЭВИ (90%). Такие признаки, как стабильность циркуляции на невысоких уровнях, периодические невысокие подъемы заболеваемости, вызываемые этими вирусами, позволяют отнести вирусы Коксаки В 1-6 к «эндемическим», постоянно циркулирующим на территории Архангельской области [82].

К «эпидемическим» штаммам относятся вирусы ЕСНО 6 и 30 типов, которые обусловили вспышечную заболеваемость ЭВМ в 2008 году (ЕСНО 30), высокий уровень заболеваемости в 2010 году (ЕСНО 6) и в 2013 году (ЕСНО 6 и 30) [89].

К новым для территории штаммам ЭВ, впервые выявленным за годы наблюдения, но не проявившим эпидемического потенциала, следует отнести вирусы ЕСНО 9, 11, 19 и Коксаки А4. Вирусы ЕСНО 9 в 2009 году сформировали групповой очаг заболеваний ЭВМ в селе Красноборск Архангельской области, вирусы ЕСНО 11, 19, Коксаки А4 обусловили развитие легко протекающих форм ЭВИ.

При анализе этиологической структуры ЭВИ обращает на себя внимание чередование лет с относительной «моноэтиологичностью» случаев ЭВИ (2006, 2008, 2009, 2011г.г.) и лет со значительным увеличением спектра выявленных НПЭВ (2007, 2010, 2013г.г.), при этом с 2007 года в структуре НПЭВ преобладали вирусы группы ЕСНО. Такое чередование является закономерным и объясняется процессами появления «новых» для региона серотипов ЭВ и накопления ими эпидемического потенциала, проявляющегося в росте заболеваемости, вызванном преимущественно одним из серотипов ЭВ.

Наиболее разнообразный пейзаж ЭВ отмечен в 2013 году, от больных ЭВИ выделены «новые» для Архангельской области серотипы вирусов: ЕСНО 11 и Коксаки А4, в 2012 году впервые на территории области отмечена циркуляция вирусов ЕСНО 19.

Смена циркулирующих серотипов ЭВ обусловлена их свойствами (контагиозность, вирулентность, патогенность), от которых зависит активность

циркуляции и перераспределение во времени. В период 2006-2013 годы в Архангельской области циркулировали преобладающие штаммы НПЭВ: Коксаки В1-6 – E30 – E9 – E6 – E6 – E6 – E30. В сравнении с РФ в Архангельской области отмечено «отставание» циркуляции штаммов E6, E30, E9 в 2007-2009 годах на 1 год, далее на протяжении 3-х лет (2010-2012 годы) преобладали вирусы E6. Циркуляции вирусов СА в данный период не зарегистрировано, что отличает Архангельскую область от РФ. Очевидно, что в области имеет место гиподиагностика легких форм ЭВИ, вызываемых вирусами СА, что подтверждается снижением заболеваемости ЭВИ населения Архангельской области в 2010-2012 годы

Доминирующая циркуляция вирусов E6 в 2012 году и E30 в 2013 году аналогична данным по РФ, за исключением ЭВ 71 типа, который не выявлен на территории области за весь анализируемый период.

Наблюдение за спектром ЭВ имеет важное значение для проведения эпидемиологического анализа и составления прогноза заболеваемости, учитывая значимость некоторых «новых» и циркулирующих с разной интенсивностью на протяжении нескольких лет ЭВ в развитии вспышек ЭВИ нередко с тяжелым течением. Так, вирус ЕСНО 19 в 80-х годах XX века вызвал вспышку энтеровирусного увеита, вирус ЕСНО 11 наряду с увеитами способен вызывать ЭВИ с тяжелыми неврологическими проявлениями и наряду с вирусами Коксаки В 1-6 преобладает среди ЭВ, выделенных от детей с проявлениями ОВП, а также является причиной развития тяжелого системного заболевания новорожденных с некрозом печени, вирус Коксаки А4 наряду с экзантемой и герпангиной способен вызвать развитие серозного менингита.

#### **4.2. Молекулярно-генетическая характеристика неполиомиелитных энтеровирусов, выделенных в Архангельской области в разные годы, и оценка клинико-эпидемиологических особенностей энтеровирусной инфекции в 2006-2013 гг.**

За период с 2006 по 2013 год показатель заболеваемости ЭВИ населения Архангельской области превышал показатель заболеваемости населения РФ в течение четырех из восьми рассматриваемых лет, при этом заболеваемость ЭВИ определял город Архангельск. Особенно высокая заболеваемость ЭВИ в Архангельской области была зарегистрирована в 2008 году, когда она превышала общероссийский показатель в 5,1 раза. Показатель заболеваемости ЭВИ в Архангельской области в 2008 г. составил 21,63 на 100000 населения, было зарегистрировано 266 случаев заболеваний ЭВИ, в том числе 252 случая ЭВМ (94,7%). Заболевания регистрировались в основном среди населения Архангельска (211 случаев, 79,3%) и Приморского района (42 случая, 15,8%). Уровни заболеваемости населения Архангельска и Приморского района составили соответственно 59,49 на 100000 населения и 155,0 на 100000 населения, что превысило средний показатель по области в 2,8 и 7,2 раза соответственно. Удельный вес ЭВМ в структуре всех зарегистрированных нозологических форм ЭВИ составил в Архангельске 97,2%, в Приморском районе – 100%.

Возрастная структура заболевших ЭВИ в 2008 году (рис. 24) характеризовалась преобладанием детей в возрасте до 14 лет, на долю которых пришлось 83,5% (222 случая), при этом заболеваний среди детей в возрасте до 1 года не зарегистрировано. В эпидемический процесс были вовлечены организованные дети, удельный вес которых в структуре больных детей до 14 лет составил 95% (211 человек).

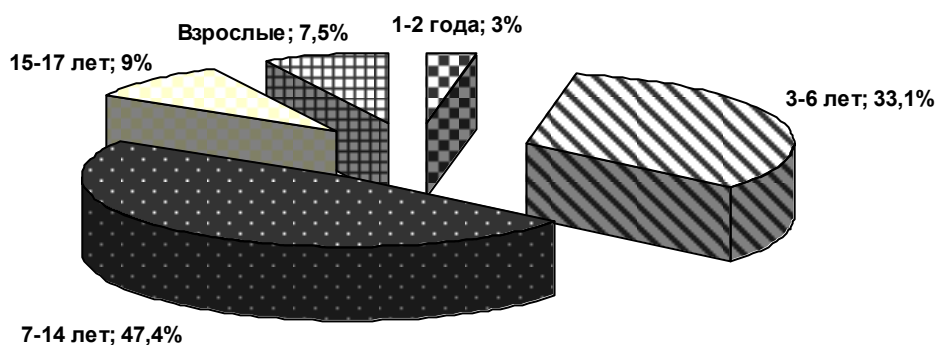


Рисунок 24. Возрастная структура заболевших ЭВИ в Архангельской области в 2008 году

Эпидемиологическая обстановка по ЭВИ в Архангельской области в течение первых 8 месяцев 2008 года, когда регистрировались лишь спорадические случаи заболеваний, была благополучной. С 28 августа 2008 года в городе Архангельске и Приморском районе Архангельской области зафиксировано эпидемическое неблагополучие по ЭВИ.

В период с 28.08.2008 по 04.11.2008 в Архангельске было зарегистрировано 203 случая ЭВИ (рис. 25), в Приморском районе – 44 случая (рис. 26). Количество лабораторно подтвержденных случаев составило соответственно 133 и 38.

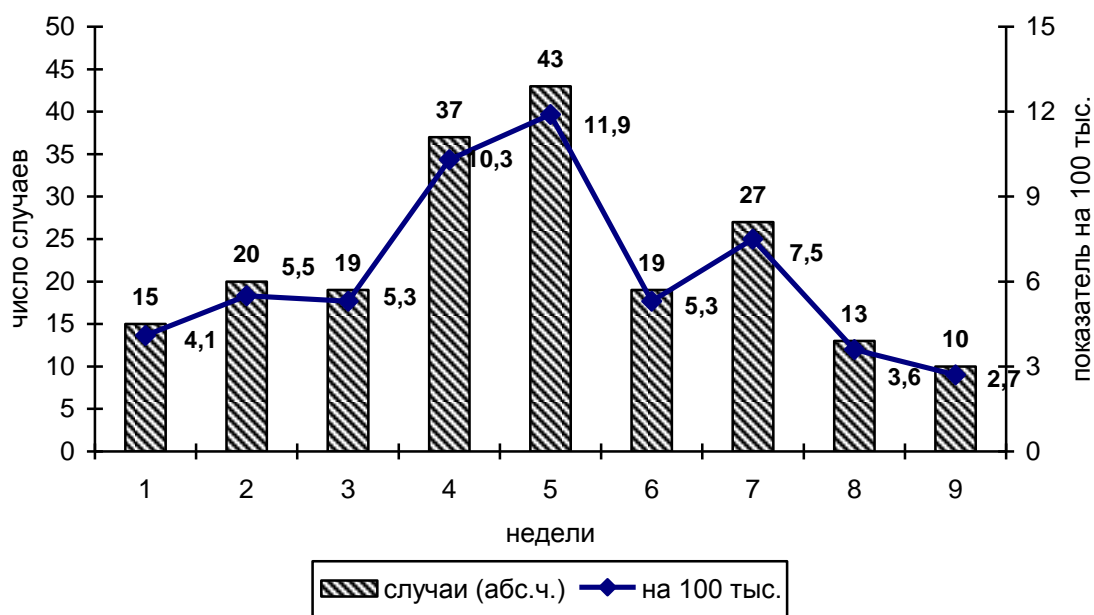
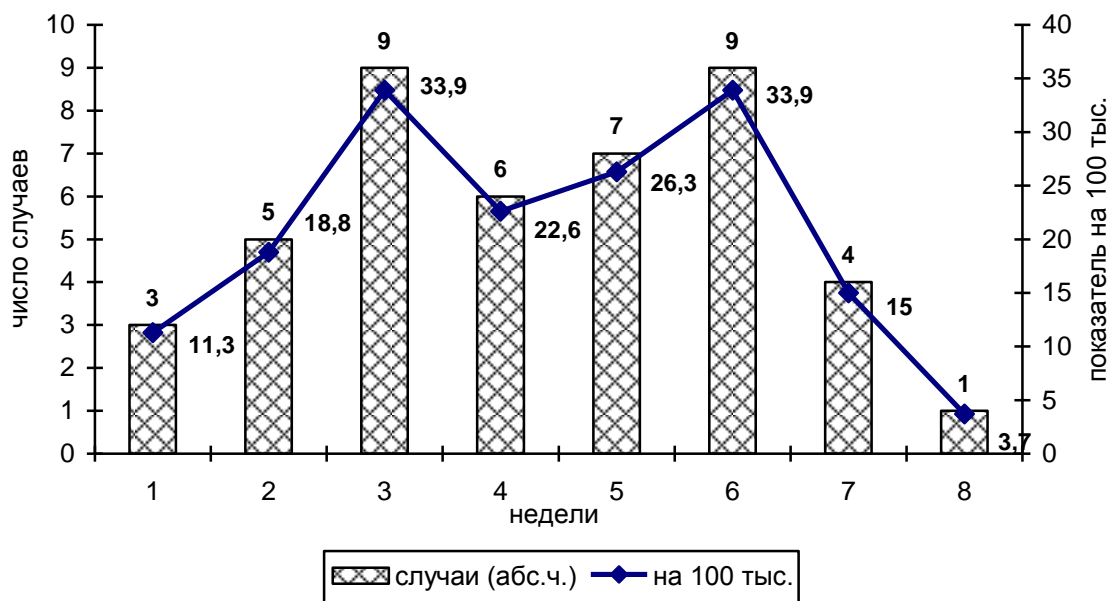


Рисунок 25. Недельная динамика заболеваемости ЭВИ в Архангельске по предварительным диагнозам в сентябре-октябре 2008 года



*Рисунок 26. Недельная динамика заболеваемости ЭВИ в Приморском районе Архангельской области в сентябре-октябре 2008 года*

Случаи заболеваний в Архангельске наблюдались во всех территориальных округах. Заболевания зарегистрированы в 48 школах, 42 дошкольных учреждениях и 8 средних учебных заведениях. Групповая заболеваемость была отмечена только в одной школе: 3 случая ЭВИ в одном классе. Зарегистрированы семейные очаги с двумя случаями заболеваний в каждом: в Архангельске – 6 очагов, в Приморском районе – 2 очага. Установлено, что 20 заболевших были инфицированы в других регионах России, ближнего и дальнего зарубежья.

Больные ЭВИ были госпитализированы в Центр инфекционных болезней Архангельской областной клинической больницы. При анализе клинических особенностей ЭВИ у 110 госпитализированных детей установлено, что заболевания характеризовались в основном среднетяжелым течением. Большинство заболевших (79,3%) были госпитализированы в стационар в течение первых 2-х суток от начала заболевания. У всех заболевание началось остро, основные жалобы – головная боль, рвота, повышение температуры тела. У 5 человек отмечались боли в животе, у 1 ребенка – жидкий стул без



патологических примесей. Средние значения лихорадки составили  $38,2 \pm 0,05^\circ\text{C}$  со средней длительностью  $3,3 \pm 0,2$  дня. Рвота наблюдалась у 95 детей (85,6%) и продолжалась не более 2 дней. Продолжительность головной боли –  $2,5 \pm 0,1$  день. Менингеальные симптомы (ригидность затылочных мышц, Кернига и Брудзинского) отмечены у 100% пациентов, сохранялись в течение 1 недели. Симптом Кернига сохранялся несколько дольше –  $8,1 \pm 0,5$  дня.

У большинства детей (82%) заболевание протекало в виде моноинфекции, сочетание с кишечным синдромом было у 12,6% детей, с экзантемой – у 5,4%. При исследовании СМЖ установлено, что показатели сахара и белка не изменялись, плеоцитоз составил  $96,8 \pm 12,3$  в 1 мл. В гемограмме у 26 детей (23,4%) отмечен лейкоцитоз, у 30 (27%) – повышение СОЭ, у 3 (3,1%) – эозинофилия.

Таким образом, клиника ЭВМ характеризовалась преобладанием общемозгового и менингеального синдромов. Изолированные формы ЭВИ в виде ЭВМ составили большинство – 82%, смешанные формы – 18%.

Для расшифровки этиологии сезонных подъёмов энтеровирусной инфекции были проведены комплексные вирусологические и молекулярно-биологические исследования на базе трех лабораторий.

В период эпидемического подъема заболеваемости ЭВИ в вирусологической лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Архангельской области» обследовано 416 больных с подозрением на ЭВИ, в том числе с подозрением на ЭВМ – 247 больных.

Вирусологическим методом на клеточных культурах Нер-2 и RD были исследованы 220 проб фекалий от 129 человек. Всего выделено 19 штаммов энтеровирусов (14,7%), в том числе ЕСНО 30 - 14 штаммов, Коксаки В2 - 1, Коксаки В5 – 4. Эти результаты были подтверждены в вирусологической лаборатории Санкт-Петербургского регионального центра (СПб РЦ) по надзору за полиомиелитом при исследовании шести энтеровирусных изолятов от больных.

Молекулярно-генетическим методом с использованием диагностической тест-системы «АмплиСенс Энтеновирус-207» в вирусологической лаборатории ФБУЗ в Архангельской области исследовано 346 проб ликвора от 346 больных, РНК энтеровирусов была обнаружена у 212 человек (61,3%).

В референс-центре по мониторингу за энтеровирусной инфекцией в ФБУН «Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» было исследовано 10 проб спинномозговой жидкости от больных ЭВМ, присланных из Архангельска. В пробах был идентифицирован энтеровирус ЕСНО 30. Определение нуклеотидных последовательностей области генома VP1 позволило изучить филогенетические взаимоотношения выделенных в Архангельске вирусов ЕСНО 30 со штаммами, циркулировавшими в мире и России. Энтеровирусы ЕСНО 30, изолированные в Архангельске, оказались близки к вирусу ЕСНО 30, идентифицированному в Великом Новгороде в 2008 году (рис. 27).

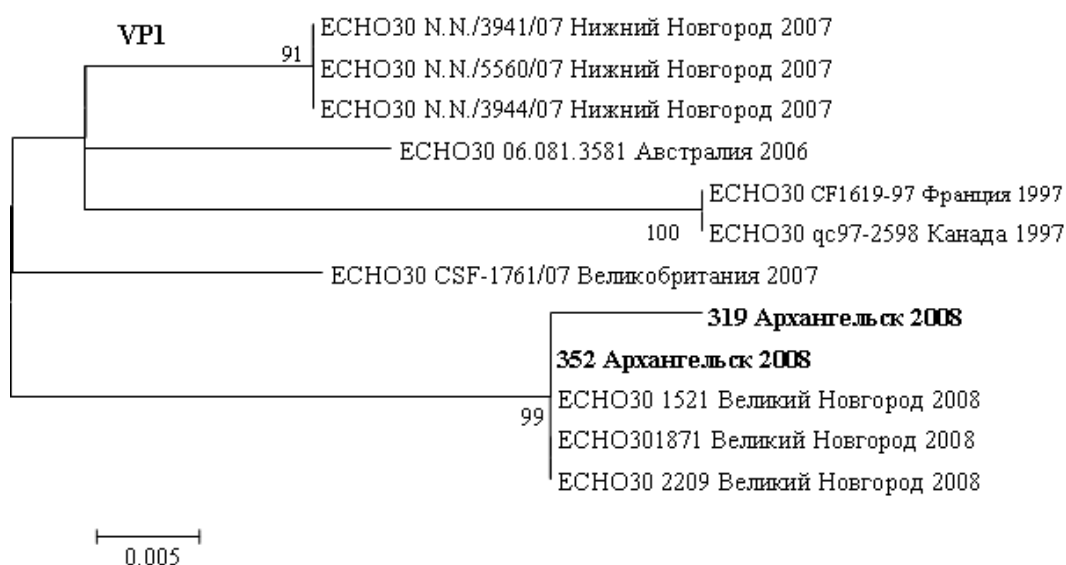


Рисунок 27. Филогенетическое дерево для области генома VP1 энтеровирусов ЕСНО 30

Представленные на филограмме варианты энтеровируса ЕСНО 30 имеют общего предка со штаммами ЭВ ЕСНО 30, которые циркулировали в мире в 2006-2007 годах, а также в 1997 году в Европе (штамм ЭВ ЕСНО 30 1619-97 Франция 1997) и в Канаде (штамм ЭВ ЕСНО30 qc97-2598 Канада 1997) и относились к генотипу Es2.

В июле 2009 года в селе Красноборск Архангельской области был зарегистрирован очаг ЭВМ. При вирусологическом исследовании проб от 7 больных у 4 из них был выделен энтеровирус ЕСНО 9. Молекулярно-генетическим методом энтеровирус этого же серотипа был идентифицирован у 5 больных из 7 обследованных.

Все пять изученных штаммов ЭВ ЕСНО 9 характеризовались высокой гомологией нуклеотидных последовательностей области генома VP1 (рис. 28) и вместе с вирусом ЕСНО 9, идентифицированным у заболевшего ЭВМ в 2009 году в Великом Новгороде, образовали собственную филогенетическую ветвь в субкластере, сформированном другими вирусами ЕСНО 9, циркулировавшими в РФ в 2009 году. Генетическое единообразие энтеровируса ЕСНО 9, изолированного от больных ЭВМ в очаге в селе Красноборск Архангельской области, свидетельствует о существовании единого источника инфекции. Другую ветвь составили вирусы ЕСНО 9 Сибири, все вирусы были родственны штаммам, циркулировавшим в Европе в 2003 и 2006 годах.

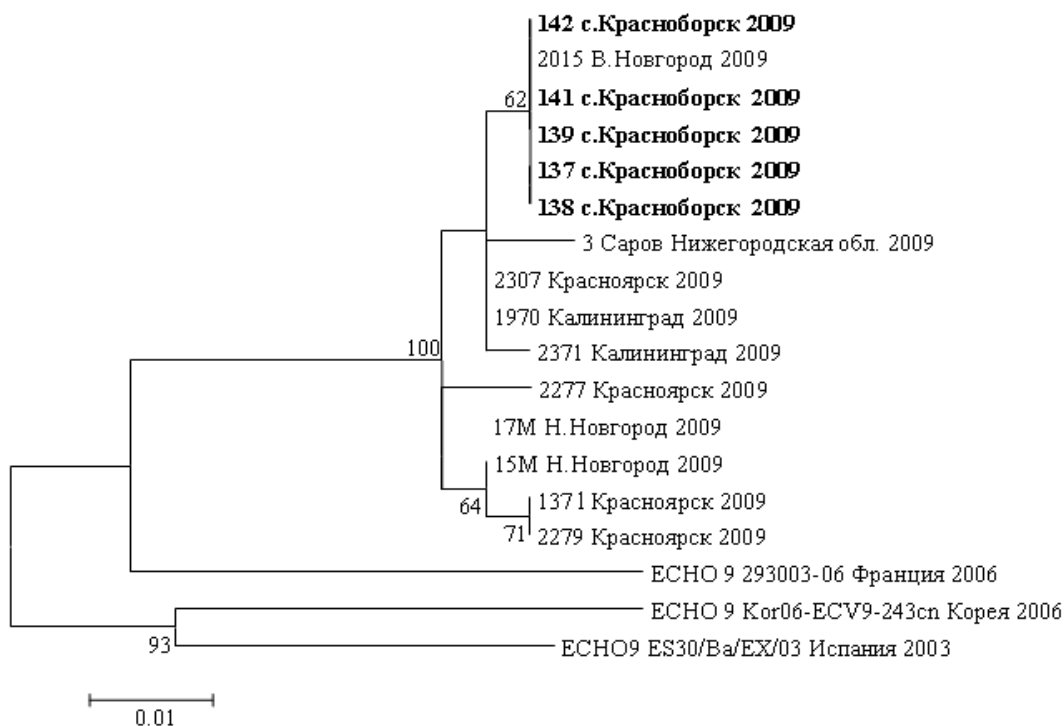


Рисунок 28. Филогенетическое дерево для области генома VP1 энтеровирусов ЕСНО 9

В период сезонных подъемов ЭВИ в Архангельской области в 2010 и 2011 годах вирусологическим и молекулярно-генетическим методами были идентифицированы энтеровирусы ЕСНО 6 в материале от больных с разной клинической картиной заболевания, в том числе с ЭВМ.

В Архангельске и Архангельской области на протяжении двух лет среди населения циркулировал энтеровирус ЕСНО 6. Молекулярно-генетический анализ энтеровирусов ЕСНО 6, выявленных в 2010-2011 годах в Архангельской области показал, что они сформировали 3 достоверные филогенетические группы, нуклеотидные последовательности которых отличались друг от друга не менее чем на 10 % (рис. 29). Штаммы энтеровируса ЕСНО 6, изолированные от больных ЭВИ в 2010 году, были филогенетически близки к штаммам энтеровируса ЕСНО 6, циркулировавшим в период сезонного подъема заболеваемости ЭВИ в Великом Новгороде в 2008 году. Они были родственны энтеровирусам, выделенным во Франции в 2002 году и в Великобритании в 2007 году. Вирусы ЕСНО 6, выявленные в Архангельской области в 2011 году, отличались от вирусов, обнаруженных в 2010 году. Они были родственны антигенным вариантам энтеровирусов, выделенных в 2007 году в Республике Беларусь и в Австралии, а также в 2009 году - в Великобритании.

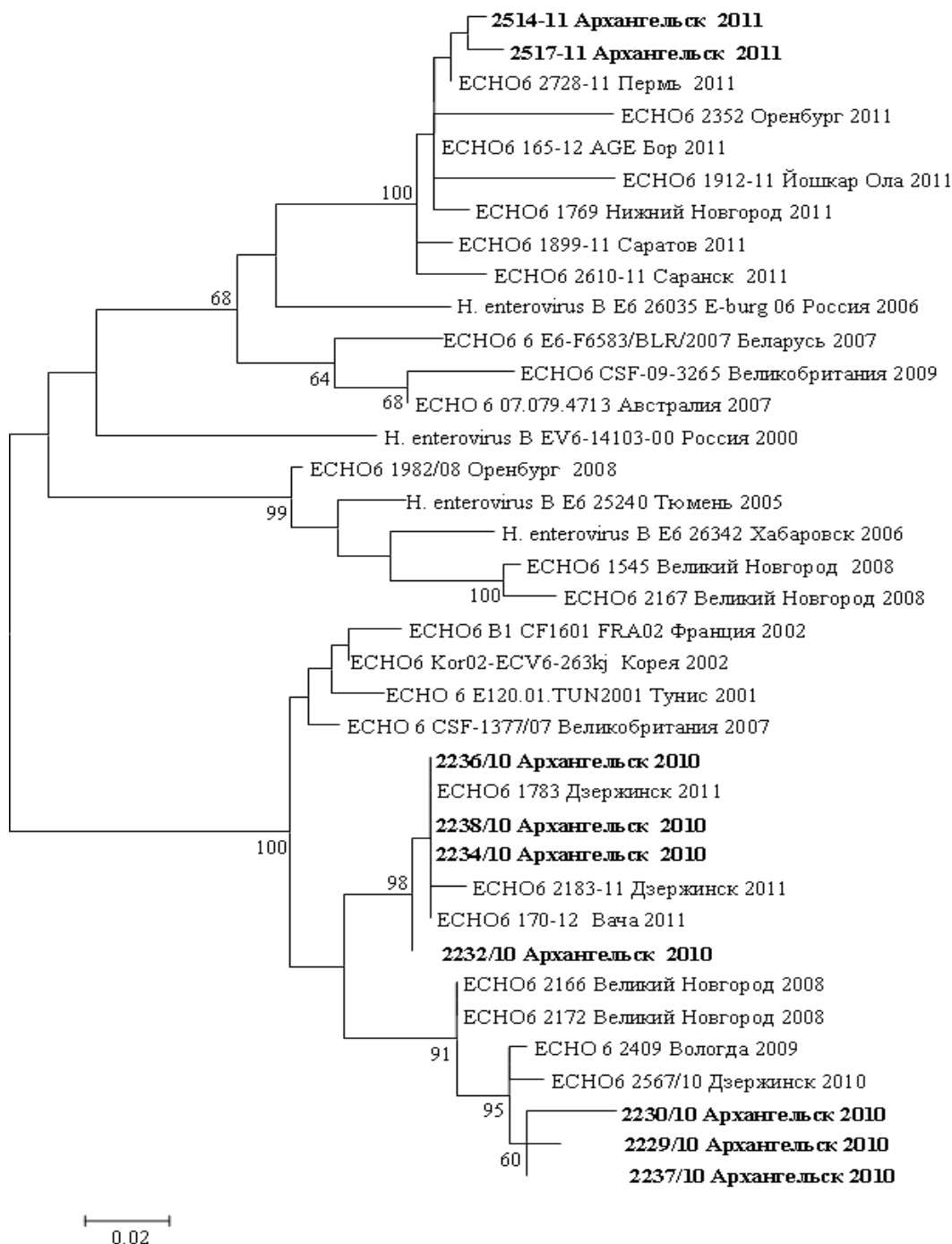


Рисунок 29. Филогенетическое дерево для области генома VP1 энтеровирусов ECHO 6

В 2011-2012 годы в Архангельской области отмечены наиболее низкие показатели заболеваемости ЭВИ (2,72 и 2,05 на 100 тысяч населения соответственно), они были ниже уровня заболеваемости населения РФ на 12,8% в 2011 году и на 40,6% в 2012 году. Однако, в 2013 году отмечен очередной рост уровня заболеваемости ЭВИ населения Архангельской области:

показатель заболеваемости (8,99 на 100 тыс.) увеличился в сравнении с предыдущим годом в 4,4 раза, аналогичная ситуация была характерна и для РФ в целом. В структуре клинических форм в 2013 году преобладали ЭВМ, доля которых в сравнении с 2012 годом возросла на 20,5% и составила 78,8%. В большинстве случаев заболеваемость ЭВИ носила спорадический характер. В сентябре 2013 года в г.Архангельске было зарегистрировано групповое заболевание ЭВМ с 4 случаями в детском дошкольном учреждении.

При вирусологическом исследовании материала от больных ЭВИ было выявлено разнообразие пейзажа энтеровирусов: Коксаки В1-6 (43,8%), Коксаки А 4 (3,1%), ЕСНО 30 (28,1%), ЕСНО 6 (18,8%), ЕСНО 11 (6,2%). Среди вирусов группы ЕСНО преобладал серотип ЕСНО 30.

Секвенирование фрагмента областей VP1 генома изолятов вирусов ЕСНО30, выделенных от больных ЭВИ на территории Архангельской области, а также на других территориях СЗФО в 2013 году, дало возможность определить генотип вируса и изучить филогенетические связи. Полученные нуклеотидные последовательности были сравнены с последовательностями вируса ЕСНО30, представленными в международных базах данных и полученными при молекулярном мониторинге неполиомиелитных энтеровирусов в Российской Федерации в 2007-2013 гг. Все идентифицированные в СЗФО в 2013 году вирусы ЕСНО 30 принадлежали генотипу Н по классификации J. Baily [116] и сформировали две филогенетические группы (рис. 30).

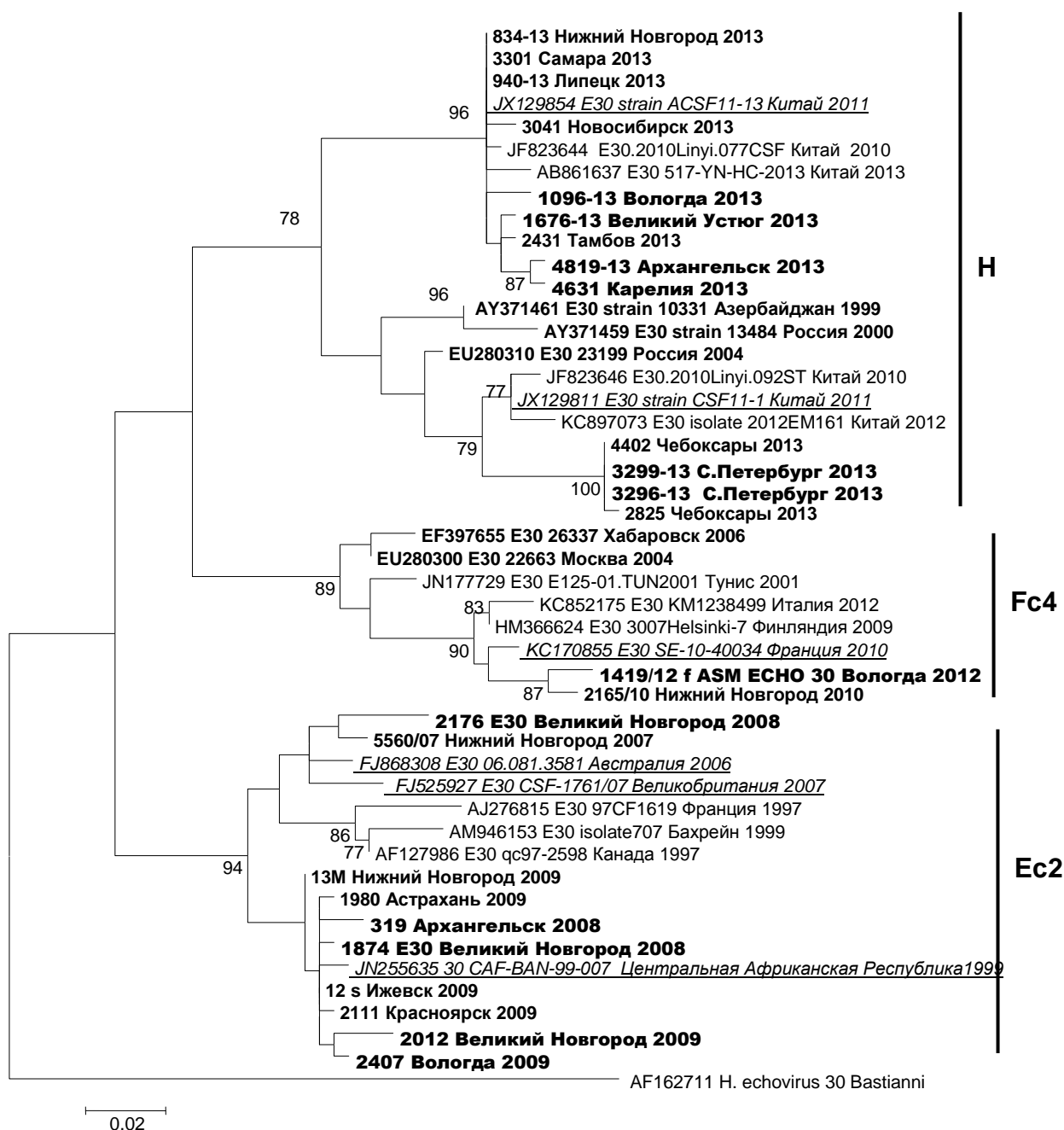


Рисунок 30. Филогенетическое дерево для области генома VP1 энтеровирусов ECHO 30, выделенных на ряде территорий СЗФО в 2013 году

Энтеровирусы ECHO 30, выделенные в 2013 году в Архангельской области принадлежали к одному из субтипов генотипа Н. Эти вирусы сформировали монофилетическую группу вместе с энтеровирусами ECHO 30, идентифицированными в этом же году на территории Республики Карелия и Коми, Вологодской, Калининградской и Новгородской областях, г.Санкт-Петербург [10], а также еще 26 субъектов Российской Федерации. В

эту же группу вошли вирусы ЕСНО 30, циркулировавшие в 2010-2013 годах в разных провинциях Китая. Наиболее близки (98,0-99,7% гомологии) российским штаммам были вирусы, выделенные в 2011 году от больных ЭВМ во время вспышек и при спорадических случаях заболеваний в провинциях Fujian, Shandong, Zhejiang [200, 201].

Энтеровирусы ЕСНО 30, выделенные в Архангельской области в 2013 году, принадлежали к генотипу Н китайского происхождения и отличались от ЭВ ЕСНО 30, вызвавших вспышку ЭВИ в Архангельской области в 2008 году, которые относились к генотипу Ec2 европейского происхождения. Таким образом, на примере Архангельской области показано, что на протяжении 5 лет изменялись не только серотипы ЭВ, вызывающие вспышки и групповые заболевания ЭВИ, но и генотипы одного и того же серотипа.



## **Глава 5. ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ НАДЗОРА ЗА ПОЛИОМИЕЛИТОМ И ЭНТЕРОВИРУСНОЙ (НЕПОЛИО) ИНФЕКЦИЕЙ В СОВРЕМЕННЫЙ ПЕРИОД**

Основная задача профилактики полиомиелита в постсертификационный период – это поддержание свободного от полиомиелита статуса РФ. На современном этапе реализации Программы ликвидации полиомиелита, сопровождающемся сертификацией ряда регионов мира как территорий, свободных от данной инфекции, в том числе и Европейского региона, требуется дальнейшее усиление надзора за циркулирующими полиовирусами. Традиционные мероприятия надзора за больными ОВП с соблюдением критериев ВОЗ, свидетельствующих об эффективности надзора, играют важную роль в контроле за полиомиелитом. Однако расширить получаемую информацию возможно только в рамках дополнительного надзора за ЭВИ, предусматривающего исследования клинических проб не только от больных с клиническими проявлениями ЭВИ, но и от «целевых» групп здоровых детей, которые могут являться носителями вирусов полиомиелита вследствие ряда причин: дети семей беженцев и переселенцев, прибывших на территорию, свободную от полиомиелита из стран (регионов), где циркуляция дикого полиовируса продолжается или прекращена недавно, прибывших из зон военных конфликтов, где реализация мероприятий Программы ликвидации полиомиелита, прежде всего иммунизация, нарушались, дети из домов ребенка, где нередко нарушаются карантинные мероприятия по разобщению вновь поступивших привитых ОПВ и непривитых детей, а также и правила иммунизации детей только с применением ИПВ, дети «молчащих» территорий и т.д.

Второй группой мероприятий в рамках дополнительного надзора за полиомиелитом является исследование объектов окружающей среды, прежде всего – неочищенных сточных вод с целью контроля за циркуляцией всех энтеровирусов среди населения определенной территории. Этот вид надзора

нередко является более эффективным, чем надзор за ОВП, т.к. позволяет выявить циркуляцию полиовирусов при отсутствии случаев заболеваний, что особенно важно при завозе диких полиовирусов на территорию, свободную от полиомиелита [135]. Очевидно, что в дальнейшем, при выполнении такого этапа Программы ликвидации полиомиелита, как отказ от иммунизации ОПВ, значимость данного вида надзора будет возрастать.

### **5.1. Оценка качества надзора за циркуляцией полиовирусов и неполиомиелитных энтеровирусов в объектах окружающей среды на территории Архангельской области**

Вирусологический надзор за объектами окружающей среды на территории Архангельской области проводится с 70-х годов XX века, входит в раздел санитарно-вирусологических исследований, выполняемых вирусологической лабораторией со времени ее основания и внедрения в практику работы с клеточными культурами.

Основу данного вида деятельности составляют исследования проб воды, проводимые с целью контроля ее качества и эффективности работы очистных систем на разных этапах водоподготовки, а также исследования, проводимые в рамках противоэпидемических мероприятий при установлении путей и факторов передачи инфекций с фекально-оральным механизмом распространения. Данный вид санитарно-вирусологических исследований регламентирован рядом методических документов (санитарные правила, методические указания и рекомендации), предусматривающих виды исследуемых проб, методы и кратность их отбора, способы пробоподготовки и методику вирусологических исследований [13, 14, 73, 96].

С начала реализации на территории страны Программы ликвидации полиомиелита особую значимость приобрело исследование фекально-бытовых сточных вод с целью выявления в них полиовирусов, прежде всего диких в случае их импорта на территорию страны и VDPV, способных проявлять

свойства диких штаммов, а в дальнейшем – и всех энтеровирусов в целом, как объективное свидетельство скрытой циркуляции этих вирусов среди населения.

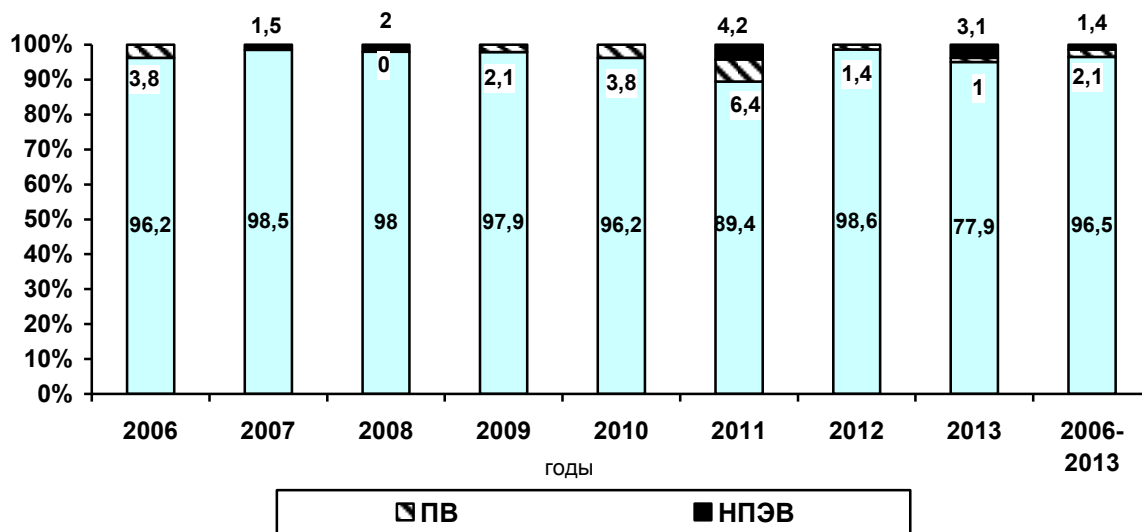
Отбор проб сточных вод осуществляется в 2-х точках общих коллекторов на центральных водоочистных сооружениях г.г.Архангельска и Северодвинска с наибольшим числом жителей из числа всех населенных пунктов Архангельской области (350,4 тысяч и 188,4 тысячи соответственно). Кратность отбора проб с начала реализации Программы на территории Архангельской области составляла 1 раз в 2 недели, а с апреля 2012 года – еженедельно. Для отбора проб использован сорбционный метод с использованием пакетов с макропористым стеклом.

Таблица 10

Результаты исследований проб фекально-бытовых сточных вод за 2006-2013гг.

Год	Всего исследовано проб	в т.ч. методами		Выделено ЭВ			Выявлена РНК ЭВ абс/%
		вирусологическим	ПЦР	Всего абс/%	в т.ч.		
					PV абс/%	НПЭВ абс/%	
2006	52	52	10	2/3,8%	2/3,8%		2/20%
2007	66	66	10	1/1,5%		1/1,5%	4/40%
2008	49	49	26	1 / 2%		1 / 2%	10/38,5%
2009	47	47	2	1 / 2,1%	1 / 2,1%		2 / 100%
2010	52	52	9	2/3,8%	2/3,8%		3/33,3%
2011	47	47	11	5/10,6%	3/6,4%	2/4,2%	5/45,5%
2012	74	74	1	1/1,4%	1/1,4%		1/100%
2013	97	97	4	4/4,1%	1/1%	3/3,1%	4/100%
Всего	484	484	73	17/3,5%	10/2,1%	7/1,4%	31/42,5%

За 2006-2013 годы исследованы 484 пробы сточной воды, частота выделения энтеровирусов составила в среднем 3,5%, в том числе полиовирусов – 2,1%, НПЭВ – 1,4%. Отмечается неравномерная частота выделения ЭВ: от 1,4% в 2012 году до 10,6% в 2011 году (табл. 10, рис. 31).



*Рисунок 31. Частота выделения полиовирусов и НПЭВ из проб сточной воды в Архангельской области в 2006-2013 гг.*

Общее количество выделенных полиовирусов - 10, в том числе PV1 – 1 (10%), PV2 – 5 (50%), PV3 – 4 (40%). Таким образом, из проб сточной воды чаще выделялись вирусы полиомиелита 2 и 3 типов. Все выделенные полиовирусы по результатам ВТД были вакцинными.

Частота выделения НПЭВ составила в среднем 1,4% с колебаниями от 1,5% в 2007 году до 4,2% в 2011 году. Выделялись вирусы Коксаки В – 3 штамма (42,9%), в том числе KB4 – 2, KB5 – 1, вирусы ЕСНО – 4 штамма (57,1%), в том числе E6 – 1, E25 – 1, E30 – 2.

Сравнение частоты выделения вирусов полиомиелита из проб фекалий больных ОВП за 2006-2013 годы (23,2%) и из проб сточной воды (2,1%) свидетельствует о большей эпидемиологической значимости надзора за больными с синдромом ОВП, так как находки полиовирусов в пробах сточной воды случались гораздо реже. Сравнение частоты выделения НПЭВ от больных ОВП (3,6%) и из сточной воды (1,4%) приводит к аналогичному выводу. Увеличение кратности отбора проб сточной воды в 2012 году не дало ожидаемого эффекта увеличения числа выделенных энтеровирусов.

Объективными причинами, которые могли повлиять на низкую частоту выделения энтеровирусов из сточной воды, являются совместный сброс стоков промышленного характера (предприятия целлюлозно-бумажной промышленности) и хозяйственно-бытовых, что может значительно снижать жизнеспособность ЭВ, а также температурный фактор, влияющий на способность выживания ЭВ в сточных водах: среднегодовая температура воздуха в северных районах Архангельской области составляет 0,1-2°C (<http://www.sevmeteo.ru>), а выделение вирусов полиомиелита ежегодно отмечалось в летний период (июнь-июль), несмотря на круглогодичное использование ОПВ для иммунизации детей. Кроме того, отбор проб сточной воды в общих коллекторах может существенно снижать чувствительность исследований из-за фактора разбавления. Вероятно, в данной ситуации более эффективным явилось бы исследование стоков от ограниченного количества людей, относящихся к «группам риска» (коллекторы закрытых детских учреждений, стационаров инфекционного профиля и т.д.), а также использование двухфазного метода концентрирования проб, большая эффективность которого в сравнении с сорбционным методом доказана исследованиями Санкт-Петербургского регионального центра эпидемиологического надзора за полиомиелитом и ОВП [13].

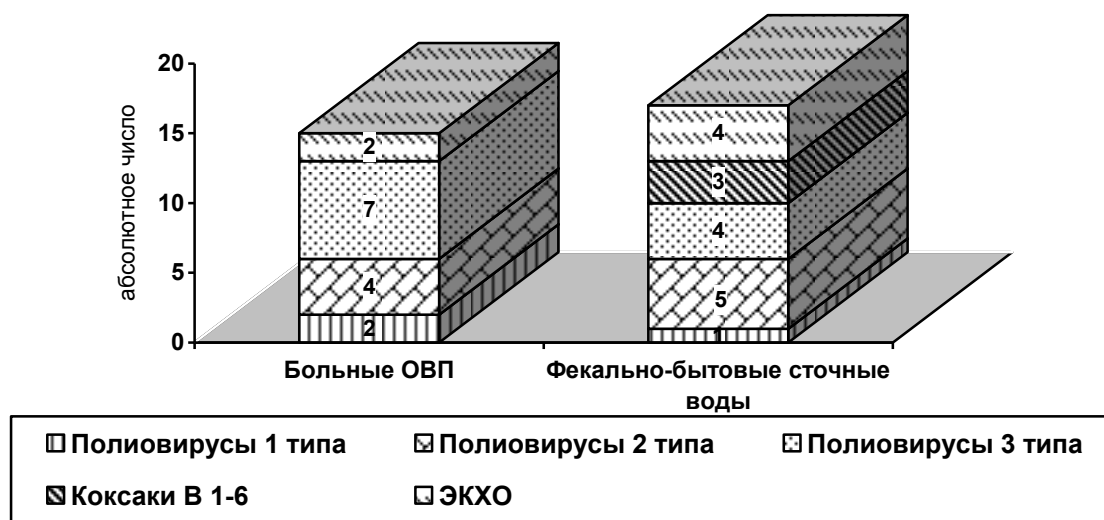


Рисунок 32. Абсолютное число полиовирусов и НПЭВ в пробах от больных ОВП и в пробах сточной воды в Архангельской области в 2006-2013 гг.

Сравнение абсолютных чисел и структуры выделенных от больных ОВП и из сточной воды полиовирусов и НПЭВ также свидетельствует о большей значимости основного вида эпидемиологического надзора за полиомиелитом в течение анализируемого периода времени: доля полиовирусов, выделенных от больных составила 86,7%, из сточной воды - 58,8%, при этом от больных ОВП выделялись преимущественно полиовирусы 3 типа, а из сточной воды – практически с одинаковой частотой вирусы 2 и 3 типов. Вместе с тем, доля НПЭВ, выделенных из сточной воды, составила 41,2%, от больных ОВП - 13,3%, спектр энтеровирусов в сточной воды был шире (КВ4 – 2, КВ5 – 1, Е6 – 1, Е25 – 1, Е30 – 2), чем в пробах от больных ОВП (Е30 – 2) (рис. 32). Это свидетельствует о значимости исследований проб сточной воды в рамках надзора за ЭВИ.

Исследования проб питьевой воды централизованного водоснабжения в период с 2006 по 2011 г.г. проводились в основном при неблагоприятной эпидситуации по ЭВИ в организованных коллективах с целью обоснований водного пути передачи инфекции, в 2012-2013 годах по распоряжению

Управления Роспотребнадзора по Архангельской области исследования водопроводной воды проводятся в плановом порядке с целью контроля за эффективностью работы водоочистных сооружений г.Архангельска, а также с целью контроля за качеством воды в разводящих сетях города (2 точки отбора проб на предприятии «Водоканал», 1 точка отбора проб в разводящих сетях города еженедельно в период эпидемического неблагополучия по ЭВИ).

Таблица 11

Результаты исследований проб воды источников централизованного водоснабжения за 2006-2013 гг.

Год	Всего исследовано проб	в т.ч. методами		Выделено ЭВ			Выявлена РНК ЭВ абс/%
		вирусологическим	ПЦР	Всего абс/%	в т.ч.		
					РV абс/%	НПЭВ абс/%	
2006	62	62	20				
2007	83	83	20				
2008	70	70	22				1 / 4,5%
2009	93	93	36				
2010	126	126	54	3/2,4%		3/2,4%	4/7,4%
2011	87	87	52				
2012	100		100				
2013	118		118				
Всего	739	521	422	3/0,6%		3/0,6%	5/1,2%

Результаты исследований (табл. 11) свидетельствуют о неэффективности данного вида надзора за ЭВИ: выделить энтеровирусы в пробах питьевой воды централизованного водоснабжения удалось только в 2010 году. Энтеровирусы Коксаки В5 были выделены в 3 пробах водопроводной воды г.Северодвинска, отобранной в один и тот же день в разных точках разводящих сетей города. В этих же пробах была выявлена РНК энтеровирусов при исследовании их методом ПЦР.

Молекулярно-генетическим методом удалось выявить РНК энтеровирусов в одной пробе питьевой воды в 2008 году при расследовании путей и факторов передачи ЭВИ в период вспышки ЭВМ среди населения г.Архангельска и

отобрано 1820 проб питьевой воды в Приморского района, а также в одной пробе питьевой воды г. Архангельска в 2010 году.

Показательным является расследование вспышки ЭВМ 2008 года. Учитывая особенности эпидемиологии ЭВИ, ряд характеристик начавшегося эпидемического подъема заболеваемости, был проведен анализ состояния систем централизованного водоснабжения г.Архангельска и Приморского района с целью обоснования водного фактора передачи инфекции.

По данным МУП «Водоканал» за январь - сентябрь 2008 года отобрано 1098 проб питьевой воды на 2 подъеме. Все результаты соответствовали СанПиН 2.1.4.1074-01 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества».

По данным ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Архангельской области» за январь - сентябрь 2008 года распределительной сети г. Архангельск. Из них 93 пробы (5,1%) не соответствовали СанПиН 2.1.4.1074-01 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества» по бактериологическим показателям (табл. 12).

В поселке Уемский Приморского района за январь - сентябрь 2008 года отобрано 33 пробы питьевой воды, из них 18 проб (54,5%) не соответствовали СанПиН 2.1.4.1074-01 по бактериологическим показателям (табл. 12).

Качественная характеристика питьевой воды распределительных сетей г.Архангельска и п.Уемский свидетельствовала о неудовлетворительных показателях микробного и вирусного загрязнения (табл. 13, 14). Подъем заболеваемости ЭВИ зафиксирован через 2 недели после максимального числа нестандартных проб питьевой воды (рис. 33).



Таблица 12

Характеристика питьевой воды по микробиологическим показателям в распределительной сети водопроводов г. Архангельска и Приморского района за 9 месяцев 2008 г.

Населенный пункт	Январь-сентябрь 2008		
	Всего исследовано проб	из них не соответствует сан-гиг. нормативам	Удельный вес нестандартных проб (%)
п. Уемский	33	18	54,5
п. Катунино	15	1	6,7
г. Архангельск	1820	93	5,1
М/р Первых Пятилеток	105	13	12,4
п. Цигломень	17	1	5,9
Маймаксанский лесной порт	4	1	25,0
Исакогорка	18	2	11,1

Таблица 13

Качественная характеристика питьевой воды в распределительной сети МУП «Водоканал» в г. Архангельске по микробиологическим показателям за 9 месяцев 2008 г.

Показатель	Исследовано проб		
	Всего	из них не соответствует сан-гиг. нормативам	Удельный вес нестандартных проб (%)
Общее микробное число	1809	28	1,5
Общее количество бактерий	1820	93	5,1
Коли-фаги	56	9	16,1
Термотолерантные колиморфные бактерии	1808	59	3,3

Качественная характеристика питьевой воды в распределительной сети п. Уемский по микробиологическим показателям за 9 мес. 2008 г.

Показатель	Исследовано проб		
	Всего	из них не соответствует сан-гиг. нормативам	Удельный вес нестандартных проб (%)
Общее микробное число	31	1	3,2
Общее количество бактерий	33	18	54,5
Коли-фаги	9	5	55,6
Термотолерантные колиформные бактерии	33	12	36,4

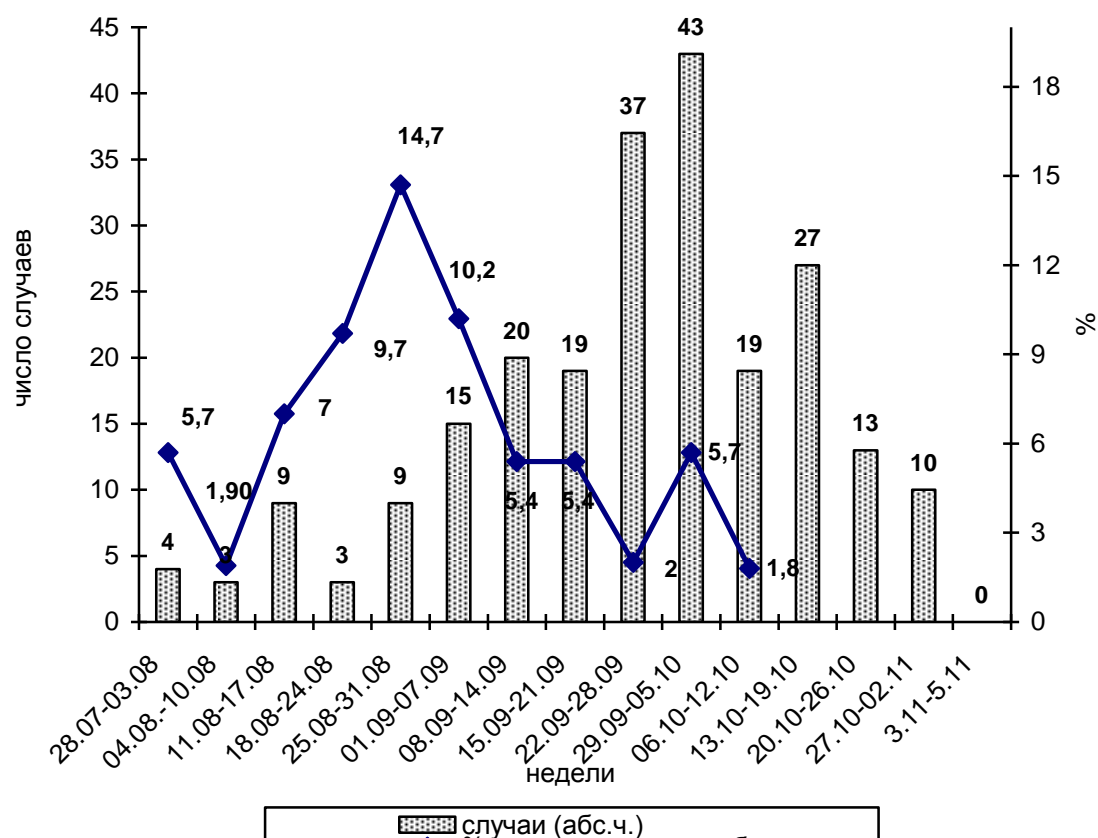


Рисунок 33. Недельная динамика заболеваемости ЭВИ в г.Архангельске по предварительным диагнозам и удельному весу нестандартных проб питьевой воды по бактериологическим показателям.

По данным справки по потерям воды на сетях водопровода и расходам воды на объектах МУП «Водоканал» в 2008 году, представленной техническим

директором МУП «Водоканал» установлено, что в г.Архангельске на городских сетях зарегистрировано 302 отключения на системах водоснабжения, в том числе за август- сентябрь 87 отключений.

Ежегодно населению города Архангельска подается до 52 млн. куб. м питьевой воды, а количество сточных вод, прошедших очистку, составляет менее 50%.

С целью подтверждения водного пути передачи инфекции в период эпидемического подъема заболеваемости ЭВИ вирусологической лабораторией Центра гигиены и эпидемиологии в Архангельской области исследованы 22 пробы питьевой воды, в том числе по г. Архангельску - 12 проб, по Приморскому району – 10 проб. В пробах питьевой воды вирусологическим методом энтеровирусы не выделены, в 3 пробах получен сомнительный результат вирусологических исследований.

3 пробы культуральной жидкости со 2 пассажа на клеточную культуру RD с сомнительными результатами вирусологических исследований направлены в Региональный центр эпидемиологического надзора за ПОЛИО/ОВП (НИИЭМ им.Пастера, г.Санкт-Петербург), где подтвержден отрицательный результат исследования проб вирусологическим методом.

По рекомендации Федеральной службы Роспотребнадзора 8 проб культуральной жидкости со 2 пассажа проб водопроводной воды на клеточную культуру RD с сомнительными (3) и отрицательными (5) результатами вирусологических исследований, (пробы отобраны 19,22 сентября 2008 года), были направлены в Референс – центр по мониторингу ЭВИ (Нижегородский НИИЭМ им. И.Н. Блохиной Роспотребнадзора) для проведения молекулярно-генетических исследований.

По данным Референс - центра по мониторингу ЭВИ НИИЭМ им. И.Н. Блохиной в 1 пробе водопроводной воды (2 подъем водопровода города Архангельска, 3 станция) обнаружена РНК энтеровируса вида А (родственная Коксаки А2). При исследованиях методом ПЦР-ЭВ I/II в данной пробе зафиксирован слабый сигнал с праймерами, специфичными в отношении

энтеровирусов геногруппы 5'НТР-ЭВИ. С целью верификации результата ПЦР и установления типа вируса проведено секвенирование кДНК. Установлена нуклеотидная последовательность фрагмента 5'НТР генома энтеровируса размером 234 п.н. Исследование в программе BLAST показало генетическое родство указанной последовательности с соответствующими последовательностями энтеровируса вида А (Коксаки А2). Слабые ПЦР-сигналы и сомнительный результат вирусологических исследований на культуре клеток связаны со свойствами энтеровирусов вида А, которые плохо культивируются на клетках Нер-2 и RD.

В период эпидемического неблагополучия по ЭВИ в 2008 году исследованы 5 проб сточной воды, отобранных на очистных сооружениях г.Архангельска, из одной пробы выделен энтеровирус ЕСНО30, что доказывало существование групп вирусовыделителей аналогичного серотипа и свидетельствовало о его распространении среди населения. Данный факт косвенно подтверждает этиологическую роль данного серотипа энтеровирусов в возникновении эпидемического подъема заболеваемости ЭВИ.

На основании результатов комплексного клинико-эпидемиологического, санитарно-гигиенического расследования причинами повышенной заболеваемости ЭВИ в городе Архангельске и Приморском районе признано сочетание нескольких путей передачи возбудителя: водного и контактно-бытового.

Результаты проведенных лабораторных исследований питьевой воды не подтвердили предположение о прямой связи повышенного уровня заболеваемости ЭВИ с водным путем передачи энтеровирусов, т.к. в материалах от больных обнаружена РНК ЕСНО 30, а в одной из проб питьевой воды г.Архангельска – РНК Коксаки А2. Вместе с тем, факт обнаружения генетического материала энтеровирусов в воде свидетельствовал о существовании механизма контаминации водопроводной воды фекальными стоками.

Объективным доказательством неудовлетворительного качества питьевой воды являются результаты микробиологических исследований, выполняемых в рамках внутреннего контроля качества предприятием, занимающимся водоподготовкой, а также бактериологической лабораторией ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Архангельской области», выполняемых в рамках мониторинговой системы «Вода питьевая».

Вирусологические исследования питьевой воды целесообразно проводить в случаях повторных неудовлетворительных результатов микробиологических исследований и в случаях эпидемического неблагополучия, что и регламентируется СанПиН 2.1.4.1074-01. Круглогодичный мониторинг питьевой воды с использованием вирусологического и молекулярно-генетического методов исследований требует значительных материальных ресурсов и является малоэффективным.

## **5.2. Определение спектра энтеровирусов, выделенных от здоровых детей из групп риска**

Применение ОПВ в качестве «вакцины выбора» в период ликвидации полиомиелита и отсутствия циркуляции диких полиовирусов способствует не только эффективной иммунизации, но в ряде случаев вызывает осложнения, сопровождающиеся развитием ВАПП у реципиентов или лиц, контактировавших с привитыми [37]. Архангельская область не стала исключением для проявления негативных сторон применения ОПВ, в начальный период реализации Программы ликвидации полиомиелита (1998 и 2002 годы) зарегистрированы 2 случая ВАПП у реципиента ОПВ из дома ребенка и непривитого ребенка, имевшего контакт в стационаре с привитым. До настоящего времени к «группам риска» относятся дети из домов ребенка и дети, находящиеся в стационарах, где достаточно велика вероятность контакта недавно привитых ОПВ и не привитых или не полностью привитых детей, что

усугубляется нарушениями правил санитарно-противоэпидемического режима при уходе за ними [70].

Несмотря на введение с 2008 года в календарь прививок ИПВ для детей до года (с 2010 года - первая и вторая прививки) и применение в домах ребенка только ИПВ для вакцинации детей, продолжает существовать угроза заноса полиовирусов детьми, находившимися в стационарах в случае контакта с недавно иммунизированными ОПВ. Занос полиовирусов вакцинного происхождения в дома ребенка может привести к их продолжительной циркуляции, что способствует возникновению антигенных изменений, сопровождающихся высокой нейровирулентностью и трансмиссивностью, свойственной диким штаммам вирусов, и возникновению случаев ОВП и ВАПП у восприимчивых детей. Особенную опасность представляет занос и длительная циркуляция полиовирусов в закрытых коллективах детей с иммунодефицитами. Закрытые детские коллективы должны быть объектами активного эпидемиологического и вирусологического надзора с целью предотвращения возможности циркуляции в них вакцинных полиовирусов [84, 91].

В 2013 году в Архангельской области исследован материал от 100 детей из двух специализированных домов ребенка для детей с поражениями ЦНС и нарушениями психики (по 50 детей из домов ребенка г.Архангельска и г.Северодвинска). В домах ребенка воспитываются дети от 0 до 4 лет (г.Архангельск – 110 детей, г.Северодвинск – 105 детей) с заболеваниями нервной системы, нарушениями психики, врожденными аномалиями, ограниченными возможностями. Более 40% - это дети инвалиды с хронической патологией и отклонениями в состоянии здоровья.

Исследование проведено с целью контроля за циркуляцией полиовирусов и НПЭВ среди детей из групп риска, учитывая то, что в 2012 году Архангельская область вошла в состав «молчащих» территорий, где не было зарегистрировано случаев ОВП.

Пробы фекалий от 100 детей в возрасте до 1 года отобраны однократно в период с 02.07.2013 года по 26.07.2013 года, исследованы вирусологическим и молекулярно-биологическим методами. Вирусы полиомиелита не выделены ни у одного ребенка. РНК энтеровирусов обнаружена в пробах 2 детей из г.Северодвинска, вирусологическим методом в этих пробах были выделены энтеровирусы ЕСНО 30 и Коксаки В4. Клинических проявлений ЭВИ у детей не было, случаи расценены как бессимптомное носительство, не повлекшее распространение инфекции. Вместе с тем, следует отметить, что энтеровирусы Коксаки В 1-6 и ЕСНО 30 в 2013 году доминировали в этиологии ЭВИ. Их доля в структуре выделенных возбудителей составила соответственно 43,8% и 28,1%. Результаты активного вирусологического надзора за детьми из 2 домов ребенка Архангельской области подтвердили соблюдение правил использования ИПВ для иммунизации детей и санитарно-противоэпидемического режима, предотвращающего возможность циркуляции полиовирусов и распространения НПЭВ.

Сертификация РФ в составе Европейского региона ВОЗ, как свободной от циркуляции диких полиовирусов страны (2002 год) не исключает случаев завоза инфекции из других эндемичных стран (Афганистан, Нигерия, Пакистан) и свободных от полиомиелита территорий с возобновившейся циркуляцией диких полиовирусов (Таджикистан, 2008 год, Китай, 2011 год) [7]. Поэтому одним из дополнительных видов эпидемиологического надзора за полиомиелитом является вирусологическое обследование детей до 5 лет из труднодоступных групп населения – семей беженцев, мигрантов, кочующих групп населения, прибывших в РФ из неблагополучных по полиомиелиту стран (территорий). Учитывая неблагополучную эпидситуацию по заболеваемости ЭВИ в РФ в течение последних лет, не меньшую значимость имеет детекция у данной категории обследуемых НПЭВ [84, 90].

В 2006-2008 г.г. данный вид надзора за полиомиелитом на территории Архангельской области не проводился. В период с 2009г. по 2013г. обследованы 27 детей из семей мигрантов. Исследования проводились

вирусологической лабораторией СПб РЦ. Ежегодно обследованы от 1 человека (2013 год) до 10 человек (2011 год). Удельный вес детей без сведений о прививках из общего числа обследованных составил 29,6% (8 человек). В структуре обследованных были дети из Индии (29,5%, 7 человек), Афганистана (3,7%, 1 человек), Азербайджана (37%, 10 человек), Таджикистана (29,6%, 8 человек), Узбекистана (3,7%, 1 человек). Ни у одного из обследованных полиовирусы не выделены. НПЭВ выделены у 4 человек (14,8%), в том числе вирусы ЕСНО 25 – 1 (2009г.), Коксаки В 1-6 – 3 (2010г.-1, 2011г.-2). НПЭВ выделены у 2 детей из Азербайджана (ЕСНО 25 и Коксаки В 1-6) и у 2 детей из Таджикистана (Коксаки В 1-6).

### **5.3. Результаты изучения напряженности иммунитета к полиовирусам среди детского населения Архангельской области**

Иммунизация детей против полиомиелита с охватом прививками декретированных контингентов не менее 95% является одной из основных задач Программы ликвидации полиомиелита, предусматривающей на начальных этапах реализации не только рутинную иммунизацию в соответствии с календарем прививок РФ [57], но и проведение дополнительных мероприятий по иммунизации (Национальные и Суб-Национальные Дни Иммунизации, проведение дополнительной и «подчищающей» иммунизации определенных групп населения), предотвращающих трансмиссию диких полиовирусов [94, 112]. Эффективность этих мероприятий подтверждена успехами, достигнутыми страной в ходе реализации Программы ликвидации полиомиелита: РФ не утратила статуса страны, свободной от полиомиелита, несмотря на завоз дикого полиовируса 1 типа с территории соседнего государства (Таджикистан, 2010 год) и регистрацию на территории 8 субъектов РФ 14 случаев полиомиелита, вызванного данным вирусом [77]. Благодаря высокому уровню коллективного иммунитета, инфекция не получила



эпидемического распространения, случаев выделения диких полиовирусов из объектов окружающей среды не выявлено.

Мероприятия по контролю качества проведения иммунизации регламентированы нормативными документами [75] и предусматривают работу по серологическому мониторингу, необходимому для оценки состояния индивидуального и коллективного иммунитета на конкретной территории, уровня фактической защищенности от инфекции в отдельных возрастных группах населения, а также для оценки качества прививочной работы.

Показатели охвата вакцинацией и ревакцинацией против полиомиелита детей Архангельской области во всех возрастных группах за период с 2006 по 2013 год превышали установленный нормативный показатель 95% (табл. 15). Охват вакцинацией детей в возрасте 1 год составил 97,3 – 99,1%, ревакцинацией II в возрасте 2 года – 96,3 – 98,3% и ревакцинацией III детей в возрасте 14 лет – от 97,8% до 98,7%. Вместе с тем отмечено снижение показателей своевременности вакцинации детей в возрасте 12 месяцев с 98,2% в 2006 году до 96,6% в 2013 году. Аналогичная ситуация отмечена и среди детей в возрасте 24 месяца, получивших II ревакцинацию: показатели своевременности охвата снизились с 98,3% до 96,5% (табл. 16).

*Таблица 15*

Показатели (в процентах) охвата вакцинацией и ревакцинацией против полиомиелита детей в Архангельской области в 2006-2013 гг.

Возрастная группа	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
1 год (вакцинация)	99,1	99,0	98,4	98,9	97,6	97,3	97,3	97,3
2 года (ревакцинация II)	98,3	97,8	97,2	97,1	96,8	96,6	96,3	96,5
14 лет (ревакцинация III)	98,6	98,7	98,2	97,8	98,1	98,0	97,9	97,8

Таблица 16

Показатели (в процентах) своевременности вакцинации и ревакцинации детей  
Архангельской области против полиомиелита в 2006-2013 гг.

Возрастная группа	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Вакцинация в 12 месяцев, своевременно	98,2	98,0	97,5	97,2	96,9	96,6	96,9	96,6
Ревакцинация II в 24 месяца, своевременно	98,3	97,8	97,2	97,1	96,8	96,8	96,3	96,5

В 2006-2013 годах проведены исследования состояния иммунитета к вирусам полиомиелита 1342 человек двух индикаторных групп: детей в возрасте 3-4 лет, получивших вакцинальный комплекс (3, 4,5 и 6 месяцев) и две ревакцинации (18 и 24 месяца), детей в возрасте 14-15 лет (16-17 лет), получивших третью ревакцинацию в возрасте 14 лет. Количество обследованных по возрастам: дети 3-4 лет – 644 (48%), 14-15 лет – 402 (30%), 16-17 лет – 296 (22%). Исследовались сыворотки крови детей, проживающих в различных городах (районах) Архангельской области: г.г.Архангельск (40,8%), Северодвинск (23,7%), Новодвинск (6,4%), Вельск (2,7%), Котлас (13,3%), Коржма (5,7%), Плесецкий район (7,4%).

Таблица 17

Результаты исследования сывороток крови на наличие антител  
к вирусам полиомиелита 1 типа детей и подростков Архангельской области за  
2006-2013 гг.

Возраст	Показатель	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
3-4 года	Процент серонегативных	-	-	0	1,0	0,97	0	0	0
	Ср. геометрич. титров антител	-	-	1:158	1:194	1:138	1:158	1:128	1:138
14-15 лет	Процент серонегативных	-	-	-	0	-	1,96	-	-
	Ср. геометрич. титров антител	-	-	-	1:194	-	1:138	-	-
16-17 лет	Процент серонегативных	0	2,0	-	-	-	-	0,92	1,1
	Ср. геометрич. титров антител	1:315	1:194	-	-	-	-	1:208	1:169

Таблица 18

Результаты исследования сывороток крови на наличие антител к вирусам полиомиелита 2 типа детей и подростков Архангельской области за 2006-2013 г.г.

Возраст	Показатель	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
3-4 года	Процент серонегативных	-	-	0	0	0,97	0	0,73	0
	Ср. геометрич. титров антител	-	-	1:169	1:169	1:79	1:128	1:128	1:208
14-15 лет	Процент серонегативных	-	-	-	0,5	-	1,96	-	-
	Ср. геометрич. титров антител	-	-	-	1:112	-	1:64	-	-
16-17 лет	Процент серонегативных	3,0	3,0	-	-	-	-	0,92	1,15
	Ср. геометрич. титров антител	1:112	1:128	-	-	-	-	1:84	1:104

Таблица 19

Результаты исследования сывороток крови на наличие антител к вирусам полиомиелита 3 типа детей и подростков Архангельской области за 2006-2013 гг.

Возраст	Показатель	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
3-4 года	Процент серонегативных	-	-	14,0	14,0	10,68	10,0	10,9	3,85
	Ср. геометрич. титров антител	-	-	1:42	1:37	1:28	1:52	1:56	1:64
14-15 лет	Процент серонегативных	-	-	-	23,0	-	9,8	-	-
	Ср. геометрич. титров антител	-	-	-	1:37	-	1:24	-	-
16-17 лет	Процент серонегативных	10,0	18,0	-	-	-	-	8,26	11,5
	Ср. геометрич. титров антител	1:120	1:56	-	-	-	-	1:24	1:24

Результаты исследований (табл. 17-19) свидетельствуют о том, что у детей 3-4 лет отмечен низкий процент серонегативных ко всем трем типам полиовирусов, при этом к полиовирусам 1 и 2 типов он не превышал 1%, к полиовирусу 3 типа составлял в разные годы от 14% до 3,85%, ни разу не превысив нормативный показатель 20%, установленный МУ 3.1.1760-03, действовавшими до 2011 года. С 2011 года введен новый нормативный документ [75], в котором критерием эпидемиологического благополучия и показателем достаточной защищенности от полиомиелита является выявление

не более 10% серонегативных к каждому из трех серотипов вируса. В 2011-2012 годах для полиовируса 3 типа этот показатель в данной возрастной категории был фактически равен нормативному, а в 2013 году снизился до 3,85%. Отмечено ежегодное снижение удельного веса серонегативных детей к полиовирусу 3 типа. Трижды серонегативных детей не выявлено за весь анализируемый период. Среднегеометрические титры (СГТ) антител к полиовирусам 1 и 2 типов в данной возрастной категории были достаточно высокими за исключением показателя СГТ к полиовирусу 2 типа за 2010 год – 1:79. СГТ к полиовирусам 3 типа у данной возрастной категории были более низкими, что возможно объясняется иммуногенными свойствами ОПВ, наименьший показатель СГТ отмечен также в 2010 году – 1:28.

В 2010 году обследованы дети 3-4 лет, проживающие в г.г. Северодвинск (51 человек) и Новодвинск (52 человека) Архангельской области, при этом низкие показатели СГТ к полиовирусам 2 и 3 типов выявлены у детей г. Новодвинска (1:74 и 1:21,1 соответственно). Дети данной возрастной категории из г. Новодвинска были включены в когорту обследованных и в 2012 году, но из-за малого количества (17 человек) невозможно сделать корректное заключение о состоянии их иммунитета. На территории г. Новодвинска, расположенного в северо-западной части Архангельской области, находится градообразующее предприятие – крупнейший в стране целлюлозно-бумажный комбинат, а также предприятия лесопильной и деревообрабатывающей промышленности, деятельность которых возможно негативно сказывается на состоянии иммунитета детского населения. Очевидно, что данный вопрос требует дальнейшего изучения.

Среди детей возрастной категории 14-15 лет (16-17 лет) трижды серонегативных не выявлено. Ежегодно отмечался низкий процент серонегативных к полиовирусам 1 и 2 типов – от 0 до 3% и достаточно высокие показатели СГТ антител за исключением СГТ антител к полиовирусам 2 типа в 2012 году – 1:84. В 2012 году были обследованы дети 16-17 лет из г.г. Архангельск (60 человек), Северодвинск (32 человека) и Новодвинск (17

человек). Наиболее низкий СГТ к полиовирусу 2 типа отмечен у детей из г. Новодвинска – 1:74.

Удельный вес серонегативных к полиовирусу 3 типа в данной возрастной категории составлял от 8,26% в 2012 году до 23% в 2009 году. СГТ антител был ниже, чем у детей 3-4 лет и составлял в разные годы от 1:24 до 1:120. Превышение допустимого 20% уровня серонегативных к полиовирусу 3 типа в 2009 году отмечено при обследовании детей 14-15 лет из г.г. Архангельск (50 человек), Северодвинск (100 человек), Котлас (50 человек), удельный вес серонегативных к полиовирусу 3 типа составил соответственно 36%, 23% и 10%, а СГТ антител к полиовирусу 3 типа – 1:18, 1:39 и 1:52. Таким образом, неудовлетворительные показатели защищенности от полиовируса 3 типа были выявлены у детей г.Архангельска. У детей г.Северодвинска при высоком проценте серонегативных лиц отмечен средний уровень СГТ антител. У детей г.Котласа получены удовлетворительные результаты исследований напряженности иммунитета. Очевидно, что при формировании индикаторной группы данной возрастной категории не был учтен реальный вакцинальный статус детей, в ее состав могли быть включены дети, не получившие третью ревакцинацию против полиомиелита на момент обследования, т.е. привитые против полиомиелита 11-12 лет назад. К сожалению, на момент проведения анализа состояния защищенности против полиомиелита среди обследованных в 2009 году, документация о состоянии привитости обследуемых не сохранилась. В последующие годы (2010-2012) дети данной возрастной категории, проживающие в г.г.Архангельск и Северодвинск также были обследованы на напряженность иммунитета к полиомиелиту, проведен тщательный отбор детей индикаторной группы с учетом проведения третьей ревакцинации (прививка сделана не менее, чем за 3 месяца на момент обследования), в процессе отбора в когорте направленных на исследование ежегодно выявлялись от 15,5% до 16,4% детей, привитых с нарушениями сроков, установленных Национальным календарем прививок. Результаты обследования этих детей были исключены из общего анализа напряженности иммунитета, окончательные результаты

исследований были удовлетворительными, соответствовали критериям, определенным в нормативной документации и свидетельствовали о высоком уровне защищенности от инфекции.

Результаты изучения напряженности иммунитета к полиовирусам среди детского населения Архангельской области свидетельствуют об эффективности проведения иммунизации и достаточно высоком уровне защищенности против инфекции за исключением ряда показателей, полученных в 2009 и 2010 годах при обследовании детей 3-4 лет из г. Новодвинска и 14-15 лет из г.г.Архангельска и Северодвинска. Большое число серонегативных лиц в условиях качественной вакцинопрофилактики полиомиелита может быть обусловлено рядом причин: неудовлетворительное формирование группы детей, подлежащих обследованию, без учета фактического вакцинального статуса ребенка и его соответствия возрастным рекомендациям календаря прививок, при постановке реакции нейтрализации возможны методические погрешности, приводящие к занижению или завышению титров антител. Проведенный анализ свидетельствует о необходимости строгого контроля состояния фактического вакцинального статуса каждого обследованного, а также о необходимости изучения вопроса состояния гуморального и клеточного иммунитета (показателей иммунного статуса) детей, проживающих в г. Новодвинске Архангельской области, иммунная система которых подвержена воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды, связанных с деятельностью крупного промышленного предприятия целлюлозно-бумажной промышленности.

Динамическое слежение за уровнем напряженности иммунитета к полиовирусам у детей, привитых с соблюдением требований нормативных документов, позволяет своевременно выявить признаки эпидемического неблагополучия. В постсертификационный период необходимо поддерживать высокое качество плановой иммунизации детей против полиомиелита. Качественная и эффективная вакцинопрофилактика обеспечивает поддержание свободного от полиомиелита статуса Российской Федерации.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе анализа многолетней динамики заболеваемости полиомиелитом в Архангельской области (1950-2013г.г.) установлено, что заболеваемость имела те же тенденции, что и в целом по России: период роста заболеваемости (1950-1958г.г.), период снижения заболеваемости вследствие проведения иммунизации ОПВ (1959-1962 г.г.) и период спорадической заболеваемости (1963-1982 г.г.) [101]. Восемь случаев заболевания полиомиелитом, зарегистрированные на территории области в последующие годы, расценены как случаи ВАПП. Два последних случая ВАПП в области имели место у реципиента 1 дозы ОПВ (2006г.) и контактного непривитого ребенка (1998г.). Оба случая зарегистрированы у детей первого года жизни с неблагоприятным преморбидным фоном, не исключающим дефекты иммунной системы. То, что наибольшей угрозе возникновения ВАПП подвержены реципиенты первой дозы ОПВ и дети с дефектами иммунитета, описано в ряде работ [192, 193]. Случай ВАПП у непривитого ребенка в 1998 году был обусловлен измененным вакцинным штаммом вируса полиомиелита 1 типа, имевшего 7 точечных мутаций на участке генома VP1. Процент нуклеотидных замен составил 0,5%, что предполагает циркуляцию этого штамма среди детей в течение 180 дней. Это привело к дивергенции вакцинного штамма и повышению его нейровирулентности. Итак, Архангельская область, как и территория всей страны, не стала исключением проявления одной из негативных сторон применения ОПВ в целях реализации мероприятий Глобальной программы ликвидации полиомиелита.

С целью оценки качества надзора за ОВП Всемирной Организацией Здравоохранения разработаны стандартные индикаторы, характеризующие эпидемиологическую (своевременность выявления случаев и проведения эпидемиологического расследования) и вирусологическую составляющие (адекватность отбора проб и полнота вирусологических исследований, своевременность доставки материала в лабораторию Регионального центра,

качество проб и др.), что позволило унифицировать подходы к оценке систем надзора в разных странах.

Важнейшей составляющей реализации программы ликвидации полиомиелита является вирусологический мониторинг случаев ОВП, позволяющий провести вирусологическую классификацию каждого случая заболевания [195].

За исследуемый период времени в лабораторию Регионального центра по надзору за ПОЛИО/ОВП направлены для исследования 96 проб фекалий от 48 больных ОВП, зарегистрированных в Архангельской области, и 6 проб от 3 больных ОВП, расцененных как «горячие» случаи, в лабораторию Национального центра. Всего выделено 11 штаммов вакцинных вирусов полиомиелита (21,6%) и 4 штамма неполиомиелитных энтеровирусов (7,8%). В структуре выделенных полиовирусов преобладали вирусы 3 типа – 6 штаммов, выделены также 4 штамма вирусов полиомиелита 2 типа и 1 штамм 1 типа. По многолетним наблюдениям ряда авторов выделение полиовирусов 3 типа как от больных ВАПП, так и от больных ОВП превалирует над другими типами полиовирусов [33, 87, 107]. По данным ВОЗ 60% случаев ВАПП связаны с полиовирусом 3 типа, затем 2 и 1 типов [196]. Разницы в числе выделенных полиовирусов по годам не было, вирусы выделялись практически ежегодно, кроме 2002, 2008 и 2009 годов. НПЭВ группы ЕСНО выделены в 2002 году – 2 штамма ЕСНО 13 и в 2009 году – 2 штамма ЕСНО 30.

Возрастная структура заболевших с синдромом ОВП характеризовалась преобладанием детей в возрасте 1–2 лет (37,3%), доля детей до 1 года была наименьшей (9,8%), удельный вес детей в возрасте 3-6 лет и 7-14 лет составил соответственно 25,5% и 27,4%. Полученные данные соответствуют результатам, представленным в работах других исследователей, и подтверждают наибольшую значимость детей возрастной группы 1-2 года в эпидемиологическом надзоре за полиомиелитом [95, 107]. Анализ внутригодовой динамики ОВП в Архангельской области свидетельствует о преобладании случаев, зарегистрированных по первичным диагнозам в мае



(21,6%). Однако, для случаев, окончательно дифференцированных как ОВП, проявлений сезонности не выявлено.

По окончательным диагнозам у больных ОВП преобладали полирадикулонейропатии (50%), реже – мононейропатии (31,9%), доля ВАПП, миелитов и других диагнозов была равной и составила 4,5%. Полученные данные аналогичны результатам исследований, выполненных другими авторами, подтверждающими преобладание полирадикулопатий в структуре окончательных диагнозов ОВП [107, 114, 158].

Таким образом, анализ эпидемического процесса полиомиелита на территории Архангельской области за 1950-2013 годы позволяет сделать вывод о положительных результатах реализации мероприятий программы ликвидации полиомиелита: последний случай полиомиелита, вызванный местными дикими штаммами полиовирусов, зарегистрирован в 1982 году, в последующие годы зарегистрировано 8 случаев ВАПП, последний случай – в 2006 году. Случаев циркуляции VDPV на территории области не выявлено. Импортирование в 2010 году дикого полиовируса 1 типа из Таджикистана на территорию РФ не имело последствий для Архангельской области, в отличие от 8 субъектов РФ, где были зарегистрированы 14 случаев полиомиелита, вызванных этим вирусом [12, 77].

Важнейшую роль в реализации программы ликвидации полиомиелита играли мероприятия по проведению иммунизации детского населения с использованием ОПВ. В настоящее время вакцинопрофилактика полиомиелита продолжается в соответствии с национальным календарем профилактических прививок (вакцинация 2 ИПВ+1 ОПВ, ревакцинация 3-кратно ОПВ), поскольку в глобальном масштабе инфекция не ликвидирована [62]. Контроль состояния коллективного иммунитета к полиомиелиту регламентирован нормативной документацией [75] и предусматривает в качестве одного из критериев эпидемиологического благополучия выявление не более 10% серонегативных лиц к каждому из трех серотипов вируса в индикаторных группах детского населения.

С целью контроля состояния иммунитета к вирусам полиомиелита в 2006-2013 годах проведены исследования сывороток крови от 1342 человек трех индикаторных групп: детей в возрасте 3-4, 14-15 и 16-17 лет. В когорту обследованных ежегодно входили дети, проживающие в разных городах области, но наибольший удельный вес приходился на детей г.г.Архангельск (40,8%) и Северодвинск (23,7%). Результаты исследований свидетельствуют об отсутствии серонегативных детей ко всем трем типам полиовирусов. У всех обследованных отмечен низкий удельный вес серонегативных лиц к 1 и 2 типам полиовирусов, не превышающий 3%. Удельный вес серонегативных к 3 типу полиовирусов у детей 3-4 лет составлял от 14,0% до 3,85%, у подростков – от 23% до 8,26%. Превышение допустимого 20% уровня серонегативных лиц к полиовирусу 3 типа в 2009 году отмечено при обследовании детей 14-15 лет из г.г. Архангельск и Северодвинск, удельный вес серонегативных к полиовирусу 3 типа составил 36% и 23% соответственно. Аналогичные данные в отношении полиовируса 3 серотипа получены и другими авторами [12, 85, 86].

Контроль состояния коллективного иммунитета позволяет своевременно установить признаки эпидемического неблагополучия и принять необходимые меры по недопущению циркуляции диких полиовирусов при их заносе на территорию области.

Надзор за ЭВИ в РФ является одной из составных частей надзора за полиомиелитом в постсертификационный период. Целью надзора за ЭВИ является получение сведений об особенностях эпидемиологии, клинических проявлений, эволюции и генетических изменений возбудителей, что в конечном итоге позволит обеспечить контроль за заболеваемостью ЭВИ.

Социальная и экономическая значимость ЭВИ, вызываемых НПЭВ, обусловили необходимость внедрения в практику ведомственной целевой программы «Эпидемиологический надзор и профилактика энтеровирусной (неполио) инфекции на 2009–2011 годы» (утверждена 31.12.2008 г. Главным государственным санитарным врачом РФ Г.Г.Онищенко), основу которой составили методические подходы эпидемиологического и вирусологического

контроля за ЭВИ. В последующие годы мероприятия программы корректировались с учетом новых знаний, полученных в результате научных исследований и выполнения практических задач [80].

Официальная регистрация ЭВИ, в том числе энтеровирусного серозного менингита (ЭВМ), в статистических отчетных формах РФ введена с 2006 года.

Анализ динамики заболеваемости ЭВИ за 2006-2013 г.г. свидетельствует о том, что в течение четырех лет из восьми анализируемых показателей заболеваемости ЭВИ населения Архангельской области превышал показатель заболеваемости населения Российской Федерации: в 2006 г. – на 4,7%, в 2008 г. – в 5,1 раза, в 2009 г. – на 47%, в 2010 г. – в 2,1 раза.

Анализ структуры нозологических форм ЭВИ, регистрируемых на территории Архангельской области, свидетельствует о преобладании ЭВМ, являющегося клинически выраженной и часто тяжело протекающей нозологической формой ЭВИ. Удельный вес данной нозологии в структуре всех форм ЭВИ составлял в разные годы от 58,3% в 2012г. до 98,9% в 2006г. В целом за анализируемый период в общей структуре нозологических форм ЭВИ доля ЭВМ составила 86%.

Заболеваемость ЭВМ в течение анализируемых лет определял г.Архангельск, доля которого в общем числе зарегистрированных случаев ЭСМ составляла от 44,8% в 2011г. до 91,5% в 2006г.

Возрастная структура заболеваний ЭВИ характеризуется ежегодным преобладанием возрастных групп детей 3 - 6 лет (от 27,1% в 2009г. до 44,7% в 2007г.) и 7 – 14 лет (от 25% в 2012г. до 50,6% в 2009г.).

Заболевания ЭВИ в возрастной категории 3 - 6 лет регистрировались в основном среди организованных детей (97,1%).

Анализ сезонности заболеваемости ЭВИ свидетельствует о том, что максимальные показатели заболеваемости регистрируются в сентябре и октябре, когда уровень заболеваемости превышает среднегодовой показатель в среднем в 3,3 раза, т.е. ЭВИ имеют выраженную осеннюю сезонность.

Результаты комплексного вирусологического, эпидемиологического и молекулярно-генетического анализов показали, что подъем заболеваемости ЭВИ в Архангельской области в 2008 году был вызван энтеровирусом ЕСНО 30. Повышенная заболеваемость регистрировалась в месяцы сезонного подъема, характерного для данной инфекции, с конца августа по начало ноября. В эпидемический процесс в основном были вовлечены дети из организованных коллективов (детские дошкольные учреждения и школы). Формирование детских коллективов в начале сентября на фоне повышенной заболеваемости ОРВИ могло способствовать активизации как фекально-орального, так и аэрозольного механизмов передачи инфекции [89, 109].

По данным вирусологической лаборатории СПб РЦ в 2008-2009 годах энтеровирус ЕСНО 30 широко циркулировал на большинстве территорий СЗФО, обусловив как спорадическую заболеваемость, так и сезонные подъемы ЭВИ [11, 56, 63, 89]. В 2009 году ЭВ ЕСНО 30 был также изолирован из двух проб фекалий от больного острым вялым параличом из Архангельской области.

По молекулярно-генетической характеристике энтеровирус ЕСНО 30, циркулировавший в Архангельске, был близок к энтеровирусу ЕСНО 30, изолированному от больных ЭВМ в Великом Новгороде в том же году и к одному из подтипов энтеровируса ЕСНО 30, вызвавшего эпидемический подъем заболеваемости ЭВМ в Нижнем Новгороде в 2007 году [11, 72, 89, 109].

Выделенные в этих городах штаммы ЭВ ЕСНО 30 имели общего предка со штаммами ЕСНО 30, циркулировавшими в Европе и в мире в предыдущие годы. По классификации генотипов вируса ЕСНО 30, предложенной J.Bailly et.al. [116], энтеровирус ЕСНО 30, выделенный в Архангельске в 2008, относится к генотипу Es2, который широко распространился в Европе и на территориях России в 2007-2009 годах [11, 63].

В 2009 году в Архангельской области был зарегистрирован очаг ЭВМ, обусловленный энтеровирусом ЕСНО 9. В том же году энтеровирус ЕСНО 9 был изолирован от больных ЭВИ на ряде территорий России, в том числе на пяти территориях СЗФО. Молекулярно-генетическое исследование показало,

что подавляющее большинство энтеровирусов ЕСНО 9, изолированных на различных территориях РФ, характеризовалось высокой гомологией (98,2-100%) нуклеотидных последовательностей области VP1 генома и отличалось от вирусов, идентифицированных в Европе и Южной Корее в 2003 и 2005-2006 годах [24]. При этом энтеровирусы ЕСНО 9, выделенные от больных ЭВМ в селе Красноборск Архангельской области, и ЭВ ЕСНО 9, изолированный в 2009 году от больного ЭВМ из Великого Новгорода, образовали собственную филогенетическую ветвь в субкластере, сформированном вирусами ЕСНО 9, циркулировавшими в РФ в том же году, вероятно, был единый занос на территории СЗФО.

В 2010-2011 годах на территории Архангельской области в циркуляции среди населения преобладали энтеровирусы серотипа ЕСНО 6, которые обусловили сезонные подъемы заболеваемости ЭВИ.

Как отмечают исследователи, для энтеровируса ЕСНО 6 характерно генетическое разнообразие одновременно циркулирующих вариантов. Энтеровирусы, циркулировавшие в течение двух лет на территории Архангельской области также отличались генетическим разнообразием и сформировали три отдельные филогенетические группы. Штаммы энтеровируса ЕСНО 6, изолированные от больных ЭВИ в 2010 году были отнесены к двум генетическим вариантам, один из которых был филогенетически близок варианту энтеровируса ЕСНО 6, идентифицированному при изучении сезонного подъема заболеваемости ЭВМ в Великом Новгороде в 2008 году. Вирусы ЕСНО 6, выявленные в Архангельской области в 2011 году, отличались от вирусов, обнаруженных в 2010 году. Родственные данному варианту вирусы ЕСНО 6 циркулировали в 2011 году на восьми территориях европейской части России, в том числе на четырех территориях СЗФО. Штаммы этого варианта вируса сформировали единую монофилетическую группу и имели 93-94 % гомологии с родственными штаммами, циркулировавшими в 2006-2009 годах в России, странах СНГ и Европе [25].

В 2013 году, после относительно благополучной эпидситуации по заболеваемости ЭВИ 2011-2012 годах, в Архангельской области и в РФ в целом зарегистрирован рост заболеваемости ЭВИ с ростом доли заболевших ЭВМ. Однако заболеваемость на территории области носила в основном спорадический характер, вспышек ЭВИ не было. Зарегистрирован один очаг групповой заболеваемости ЭВМ среди детей детского дошкольного учреждения с 4 пострадавшими. По результатам вирусологических исследований в этиологической структуре ЭВИ отмечено разнообразие пейзажа энтеровирусов (Коксаки В1-6, Коксаки А 4, ЕСНО 30, 6, 11) [10, 109]. Доля энтеровирусов ЕСНО 30 была значительной – 28,1% в общей структуре всех энтеровирусов и 52,9% среди вирусов ЕСНО. Учитывая особую значимость данного серотипа энтеровирусов в эпидемическом росте заболеваемости ЭВИ населения РФ в 2013 году, а также на ряде территорий РФ в предшествующие годы, в том числе и на территории Архангельской области в 2008 году, проведено секвенирование фрагмента областей VP1 генома изолятов вирусов ЕСНО 30, выделенных от больных ЭВИ на территории Архангельской области в 2013 году.

Все идентифицированные в СЗФО, в том числе на территории Архангельской области, в 2013 году вирусы ЕСНО30 принадлежали генотипу Н по классификации J. Bailly и сформировали две филогенетические группы. Дивергенция нуклеотидных последовательностей вирусов двух российских генетических вариантов вируса ЕСНО30, отнесенных к генотипу Н, на участке области VP1 генома была значительной (9,3-10,8%). Энтеровирусы, выделенные от детей из Санкт-Петербурга, были наиболее близки энтеровирусам ЕСНО 30, идентифицированным в том же году от больных спорадическими случаями заболевания в городе Чебоксары Чувашской Республики (99,7 % гомологии нуклеотидных последовательностей). Этой группе российских вирусов наиболее близко родственными (до 97,0 % гомологии) были вирусы, выделенные от больных во время вспышки энтеровирусного менингита в провинции Fujian в Китае в 2011 году [201].

Энтеровирусы ЕСНО30, выделенные в 2013 году в Архангельской области, а также в Республике Карелия, Вологодской, Калининградской и Новгородской областях, принадлежали к другому субтипу генотипа Н. Эти вирусы сформировали монофилетическую группу вместе с энтеровирусами ЕСНО30, идентифицированными в этом же году на территории еще 26 субъектов Российской Федерации, а также с вирусами ЕСНО30, циркулировавшими в 2010-2013 годах в разных провинциях Китая. Наиболее близки (98,0-99,7% гомологии) российским штаммам были вирусы, выделенные в 2011 году от больных ЭВМ во время вспышек и при спорадических случаях заболеваний в провинциях Fujian, Shandong, Zhejiang [200, 201]. Энтеровирусы ЕСНО 30 генотипа Н выявлялись в России и других странах СНГ в 1999-2000 годах у больных и здоровых детей, один штамм идентифицирован в 2004 году в Сибири у больного ЭВМ [152]. Однако, они группировались отдельно от штаммов обоих субтипов 2013 года, гомология не превышала 94,3%. Вероятно, энтеровирусы ЕСНО 30 генотипа Н, широко циркулировавшие в России в 2013 году, и ранее практически не выявлявшиеся в стране, были импортированы на территорию России и в Архангельскую область из Юго-Восточной Азии. Энтеровирусы ЕСНО 30 генотипа Н, выделенные в Архангельской области в 2013 году, отличались от энтеровирусов ЕСНО 30 генотипа Ес2, который вызвал вспышку ЭВМ в Архангельской области в 2008 году и был близок ЭВ ЕСНО 30, циркулировавшим в тот период в Европе. Таким образом, доказано, что подъемы заболеваемости ЭВИ связаны не только со сменой серотипа ЭВ, но и генотипа. В то же время в европейских странах в настоящее время циркулирует преимущественно энтеровирус ЕСНО30 генотипа Fc4, а ЭВ ЕСНО30 генотипа Н не выявляется [116, 160, 186].

Таким образом, на территории Архангельской области в 2008-2011 и 2013 годах сезонные подъемы заболеваемости ЭВИ, в том числе энтеровирусным менингитом, были обусловлены энтеровирусами разных серотипов – ЕСНО 6, ЕСНО 9, ЕСНО 30, которые в эти годы циркулировали и на других территориях РФ. Молекулярно-генетическими исследованиями подтверждено

значительное генетическое разнообразие энтеровирусов, вызывавших сезонные подъемы и групповые заболевания ЭВИ. Очевидно, что высокий уровень генотипической изменчивости энтеровирусов является основой формирования «новых» эпидемических штаммов с выраженными патогенными свойствами.

В системе надзора за полиомиелитом и ЭВИ важную роль играет вирусологический контроль за циркуляцией полиовирусов и НПЭВ в объектах окружающей среды и среди здоровых детей из групп риска. За 2006-2013 годы вирусологическим методом исследованы 484 пробы сточной воды, 739 проб воды источников централизованного водоснабжения. Исследования проб питьевой воды проводились в основном при неблагоприятной эпидситуации ЭВИ. Слежение за циркуляцией ПВ и НПЭВ в сточной воде проводилось на регулярной основе.

При исследовании образцов сточной воды было выделено 10 полиовирусов трех серотипов, все полиовирусы по результатам ВТД были вакцинными.

НПЭВ были выделены в 1,4% случаев. Это были разные ЭВ, в том числе в 2008 году в период вспышки ЭВИ, вызванной энтеровирусом ЕСНО 30, из 5 проб сточной воды были выделены энтеровирусы ЕСНО 30, что свидетельствовало о существовании групп вирусовыделителей аналогичного серотипа и его распространение среди населения.

Выявление с помощью молекулярно-генетических методов в одной из проб питьевой воды РНК энтеровируса Коксаки А2 в период вспышки ЭВИ в 2008 году свидетельствовало о существовании механизма контаминации водопроводной воды фекальными стоками и возможно, в этой вспышке имело место сочетание нескольких путей передачи возбудителя: водного и контактного.

Исследование в 2013 году материала от 100 детей из специализированных домов ребёнка свидетельствовало об отсутствии циркуляции среди детей вакцинных полиовирусов, что подтверждает соблюдение правил использования в домах ребенка только инактивированных полиовакцин.



Вместе с тем, от двух детей выделены НПЭВ, в том числе ЭВ ЕСНО 30, аналогичный выделенным от больных ЭВМ в г. Архангельске. Это подтверждает, что этот серотип циркулировал в 2013 году на территории Архангельской области, хотя и не вызвал высокой заболеваемости.

Было проведено обследование 27 детей из семей мигрантов, прибывших из Индии, Афганистана, Таджикистана, Азербайджана и др. Исследование материала в соответствии с требованиями проведено в вирусологической лаборатории СПб РЦ. Полиовирусы не выделены ни у одного ребенка. НПЭВ были обнаружены у 4 детей из Азербайджана и Таджикистана, это были ЭВ Коксаки В1-6 и ЕСНО 25. Результаты проведенных исследований подтверждают, что надзор за ЭВИ является одним из важных видов дополнительного надзора в рамках Программы Глобальной ликвидации полиомиелита. Мониторинг циркуляции ЭВ с применением классических и современных методов лабораторных исследований является неотъемлемой частью эпидемиологического надзора за ЭВИ, направленного на определение закономерностей развития эпидемического процесса и прогнозирования заболеваемости ЭВИ. Особенно значимым является понимание механизмов смены доминирующих в циркуляции серотипов энтеровирусов и причин возникновения сезонных подъемов и эпидемических вспышек энтеровирусных инфекций [51, 88, 145].

## ВЫВОДЫ

1. Эпидемический процесс полиомиелита в Архангельской области включал три этапа: высокую заболеваемость в довакцинальный период (пятидесятые – начало шестидесятых годов 20-го столетия), резкое снижение заболеваемости после начала массовой вакцинации живой полиомиелитной вакциной с последним случаем полиомиелита, вызванного диким полиовирусом в 1982 году и в дальнейшем регистрация только вакциноассоциированного паралитического полиомиелита у реципиентов вакцины и контактных.

2. Интенсивность эпидемического процесса энтеровирусной инфекции на территории Архангельской области в 2006-2013 годах была выше общероссийской и характеризовалась высокими сезонными подъемами в течение четырех лет. На долю энтеровирусного менингита за эти годы приходилось в среднем 86% от общего числа больных ЭВИ. В 97,1% случаев болели дети из организованных коллективов. Сезонные подъемы ЭВИ приходились на август-октябрь месяцы.

3. Результатами вирусологического исследования материала от больных ЭВИ на протяжении длительного времени (2006-2013 гг.) установлена смена преобладающих в циркуляции серотипов энтеровирусов. Вспышка ЭВМ в городе Архангельске и Приморском районе (2008г) была связана с ЭВ ЕСНО 30, групповые заболевания ЭВМ в 2009 году были обусловлены энтеровирусом ЕСНО 9. Этиологическим агентом сезонных подъемов ЭВИ в 2010-2011 годах оказался энтеровирус ЕСНО 6. В 2013 году от больных ЭВМ в Архангельской области были выделены разные серотипы: ЭВ Коксаки В 1-6, ЕСНО 6, а также при групповых заболеваниях энтеровирус ЕСНО 30, который в данном субъекте РФ не циркулировал в течение 4-х лет.

4. Данные молекулярно-генетического изучения выделенных на территории Архангельской области энтеровирусов позволили не только подтвердить серотип энтеровируса, но и выявить генетические варианты одного и того же

серотипа ЭВ. Вспышка ЭВМ в 2008 году была обусловлена ЭВ ЕСНО 30 генотипа Es2, который широко циркулировал в Европе в тот период. Энтеровирус ЕСНО 30, выделенный в Архангельской области от больных ЭВМ в 2013 году, относился к другому генотипу – Н, который широко циркулировал в 2010-2011 годах в Китае и в России до 2013 года практически не выделялся. Энтеровирусы ЕСНО 6, вызвавшие сезонные подъемы ЭВИ в 2010 и 2011 годах, относились к трем различным филогенетическим группам. ЭВ ЕСНО 6, выявленные у больных в 2011 году, отличались от энтеровирусов, обнаруженных в 2010 году, что свидетельствовало о повторных заносах вирусов этого серотипа на территорию Архангельской области.

5. Проведенные комплексные исследования, включающие вирусологический, эпидемиологический и молекулярно-генетический методы исследования на протяжении длительного периода наблюдения позволили выявить закономерности эпидемического процесса ЭВИ в отдельном субъекте РФ, расширить спектр серотипов, циркулирующих на территории области, установить корреляцию между серотипами энтеровирусов, выделенных в период эпидемических подъемов заболеваемости у населения и серотипами ЭВ, выявленных у здоровых детей из групп риска и в объектах окружающей среды.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

Высокая эпидемическая значимость ЭВИ для населения Архангельской области, установленная роль различных серотипов ЭВ в развитии эпидемических подъемов заболеваемости и формировании локальных очагов инфекции, доказанное влияние на тяжесть клинического течения и интенсивность эпидемического процесса разных генотипов ЭВ одного серотипа, требуют постоянного проведения мероприятий по контролю за ЭВИ. Полученные результаты могут быть использованы при:

- изучении проявлений эпидемического процесса в межэпидемический период, позволяющем оценить фактическую распространенность инфекции,

установить значимость ООС как факторов передачи ЭВИ, составить прогноз санитарно-эпидемиологической ситуации, разработать превентивные профилактические мероприятия;

- дальнейшем совершенствовании лабораторной диагностики с применением классических и современных методов, позволяющих изучить генетические характеристики возбудителей, определить пути и механизмы формирования эпидемических штаммов ЭВ;

- подготовке квалифицированных кадров по вопросам диагностики, эпидемиологии и профилактики ЭВИ.

### **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ**

Тенденция роста заболеваемости ЭВИ, расширение циркуляции высоковирулентных штаммов ЭВ, их высокая генетическая изменчивость, обусловленная воздействием меняющихся факторов окружающей среды, многообразие клинических проявлений, вспышки заболеваний, связанные со сменой серотипа возбудителей, отсутствие средств специфической профилактики инфекций, вызванных НПЭВ, требуют дальнейшего совершенствования надзора за ЭВИ совместными усилиями специалистов различного профиля (эпидемиологи, гигиенисты, вирусологи, клиницисты, биологи, иммунологи, экологи).

Расширение знаний о региональных особенностях эпидемиологии, клинических проявлений, эволюции и генетических изменениях возбудителей ЭВИ, циркулирующих на различных территориях РФ, позволит оптимизировать систему профилактических мероприятий и обеспечить контроль за заболеваемостью ЭВИ в стране.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

ВАПП	вакциноассоциированный паралитический полиомиелит
ВОЗ	Всемирная Организация Здравоохранения
ВТД	внутри типовая дифференциация
ИПВ	инактивированная полиомиелитная вакцина
кДНК	комплементарная дезоксирибонуклеиновая кислота
НДИ	национальные дни иммунизации
НЛ/РРЛ	национальная лаборатория / региональная референс-лаборатория
НПЭВ	неполиомиелитные энтеровирусы
НЦ	национальный центр
ОВП	острый вялый паралич
ООС	объекты окружающей среды
ОПВ	оральная (живая) полиомиелитная вакцина
ПВ/РV	полиовирусы
ПЦР	полимеразная цепная реакция
РН	реакция нейтрализации
РНК	рибонуклеиновая кислота
РФ	Российская Федерация
РЦ	региональный центр
СЗФО	Северо-Западный Федеральный округ
СМЖ	спинно-мозговая жидкость
ЦНС	центральная нервная система
ЦПА	цитопатогенный агент
ЦПД/ЦПЭ	цитопатическое действие/эффект
ЭВ	энтеровирусы
ЭВИ	энтеровирусные инфекции
ЭВМ	энтеровирусный менингит
ЯПЗ	ящуроподобное заболевание
VDPV	значительно дивергировавшие от вакцинного предка полиовирусы

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Авросьева Т.В. Молекулярная характеристика и филогенетический анализ энтеровирусов, вызвавших вспышки и сезонные подъёмы заболеваемости в разных регионах Республики Беларусь / Т.В. Авросьева [и др.] // ЖМЭИ. – 2006. – № 3. – С. 17-21.
2. Агол, В.И. Многообразие механизмов РНК-рекомбинации / В.И. Агол, А.П. Гмыль // Мол. биол. – 2005. - Т.39. – С. 618-632.
3. Агол, В. И. Молекулярная эпидемиология полиомиелита / В.И. Агол [и др.] // Актуал. пробл. мед. вирусол.: мат. научн. конф., посв. 90-летию со дня рожд. М.П. Чумакова, Москва - М. - 1999. - С. 12.
4. Агол, В. И. Помехоустойчивость вирусов. // Мол. биол. - 1998. - том. 32, №1. - С.54-61.
5. Ахмадишина, Л.В. Молекулярная эволюция и сероэпидемиология энтеровируса 71 типа на территории Российской Федерации: автореферат диссертации / Л.В. Ахмадишина — М. —2013. — 24 с
6. Белецкая, Т.С. Мутационная и рекомбинационная изменчивость вакцинных полиовирусов, изолированных в Беларуси (1960-1999г.) / Т.С. Белецкая [и др.] // Мол. генетика, микробиол. и вирусол. - 2002. - №1. - С. 24-30.
7. Бичурина М.А. Глобальная ситуация по полиомиелиту. Стратегия и тактика ВОЗ по ликвидации полиомиелита / М.А. Бичурина [и др.] // Журнал инфектологии. – 2011. – т. 3. - № 2. – С. 5-15.
8. Бичурина, М.А. Групповые заболевания энтеровирусной инфекцией, обусловленные вирусами Коксаки А16, на Северо-Западе России / М.А. Бичурина [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. — 2014. — № 2. — С. 51–58.
9. Бичурина, М.А. Итоги сертификации ликвидации полиомиелита на территориях Северо-Западного федерального округа России: аналитич. обзор / М.А. Бичурина [и др.] — СПб., 2003. — 80 с.

10. Бичурина, М.А. Роль энтеровируса ЕСНО30 в этиологии энтеровирусной инфекции на Северо-Западе России в 2013 году / М.А. Бичурина [и др.] // Журнал инфектологии. — 2014. — Т. 6, № 3. — С. 84–91.
11. Бичурина, М.А. Сезонный подъем заболеваемости энтеровирусным менингитом в Новгородской области / М.А. Бичурина [и др.] // Инфекция и иммунитет. — 2012. — Т. 2, № 4. — С. 747–752.
12. Бичурина, М.А. Совершенствование эпидемиологического и вирусологического надзора за полиомиелитом в постсертификационный период ликвидации инфекции: аналитический обзор / М.А. Бичурина [и др.] — СПб.: ФБУН НИИЭМ имени Пастера, 2013. — 88 с.
13. Бичурина, М.А. Сравнительная оценка результативности методов сбора и концентрирования проб сточной воды для контроля за циркуляцией полиовирусов и неполиомиелитных энтеровирусов в окружающей среде / М.А. Бичурина [и др.] // Здоровье населения и среда обитания. — 2004. — № 10. — С. 10–14.
14. Бобун, И.И. Особенности вирусного загрязнения питьевой воды в Архангельской области / И.И.Бобун, Р.В.Бузинов, Л.А.Шишко, В.П.Болтенков, Б.А.Моргунов, А.Б.Гудков // Экология человека.-2016. - №2. — С. 3-7.
15. Бобун, И.И. Эколого-гигиенические проблемы Архангельской области в связи с потеплением климата / И.И. Бобун [и др.] // Проблемы здравоохранения и социального развития Арктической зоны России. — М., 2011. — С. 98-104.
16. Богданов, И.Л. Парополиомиелитные инфекции (этиология, патогенез, эпидемиология, клиника): сборник научных работ / И.Л. Богданов [и др.] — М., 1963. — 232 с.
17. Болотовский, В.М. Полиомиелит. // Руководство по эпидемиологии инфекционных болезней. Под ред. В.И. Покровского.—М. — 1993. — С.127-133.
18. Букринская, А.Г. Вирусология /А.Г. Букринская - М.: Медицина, 1986.—336с.

19. Взятие, транспортировка, хранение клинического материала для ПЦР-диагностики // Методические рекомендации ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора. – М. – 2012. – 34 с.
20. Винокуров, К.А. Эпидемический детский паралич (полиомиелит). – М.1956.- 40 с.
21. Ворошилова, М.К. Энтеровирусные инфекции человека. / М.К. Ворошилова - М.: Медицина, 1979. – 360с.
22. Гендон Ю.З. Прекращение циркуляции диких штаммов вируса полиомиелита среди популяции как принципиальное условие сертификации искоренения полиомиелита / Ю.З. Гендон // Вопросы вирусологии. 2000. - № 5. - С. 43-44.
23. Глобальный план действий для обеспечения безопасного лабораторного хранения диких полиовирусов. – 2000. – Женева. – 41с.
24. Голицына, Л.Н. Молекулярно-генетические варианты вируса ЕСНО 9, идентифицированные у больных серозным менингитом в России в 2007–2009 гг. / Л.Н. Голицына, С.Г. Фомина, Н.А. Новикова // Вопросы вирусологии. — 2011. — № 6. — С. 37–42.
25. Голицына, Л.Н. Молекулярное «серотипирование» энтеровирусов, циркулировавших среди населения России в 2013 году. Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Инновационные технологии в противоэпидемической защите населения» / Л.Н. Голицына, Н.А. Новикова, С.Г. Фомина. — Н. Новгород, 2014. — С. 88–92.
26. Грачёв, В.П. Полиомиелит / В.П. Грачев - Эпидемиология и вакцинопрофилактика.- 2002. - №5. - С.14-21.
27. Григорьева, Л.В. Энтеровирусы во внешней среде / Л.В. Григорьева - М.: Медицина, 1968. - 288 с.
28. Демина, А.В. Энтеровирусы. Часть 1. История открытия, таксономия, строение генома, эпидемиология / А.В. Демина, Н.А. Маркович, С.В. Нетесов // Бюллетень СО РАМН – 2008. - № 1 (129). – С. 92-100.



29. Демина, А.В. Энтеновирусы. Часть 2. Энтеновирусные инфекции: многообразии клинических проявлений / А.В. Демина, С.В. Нетесов // Бюллетень СО РАМН. — 2009. — № 6. — С. 116–125.
30. Жданов, В.М. Общая и частная вирусология / В.М. Жданов, С.Я. Гайдамович. — М.: Медицина, 1982. — Т. II. — 518 с.
31. Зверев, В.В. Прогресс в разработке вакцин против ЭВ 71 / В.В.Зверев, Л.Н.Голицына // Информационный бюллетень Заболеваемость, этиологическая структура и вопросы профилактики энтеновирусной (неполио) инфекции. – ННИИЭМ. – 2014. - №1. – С. 15-17.
32. Злобин, В.И. Энтеновирусные инфекции / В.И. Злобин // Инфекционные болезни. — М.: Медицина, 999. — 654 с.
33. Иванова, О.Е. Вирусологический мониторинг как ключевой элемент контроля выполнения в Российской Федерации программы ликвидации полиомиелита // Автореф. дис. докт. мед. наук. — М. - 2009. — 49 с.
34. Иванова, О.Е. Вирусологическое и серологическое исследование вспышек полиомиелита в Чеченской Республике в 1995 г. / О.Е. Иванова [и др.] // Журн. микробиол. – 1996. - №3. – С. 11-13.
35. Иванова, О.Е. Вспышка полиомиелита в Чеченской Республике / О.Е. Иванова [и др.] // Мат. науч. конф., посвящ. 90-летию со дня рождения М.П.Чумакова «Актуальные проблемы медицинской вирусологии». – М. - 1999. – С.25.
36. Иванова, О.Е. Национальная лабораторная сеть Российской Федерации по диагностике полиомиелита и ее роль в выполнении программы ВОЗ по ликвидации полиомиелита / О.Е. Иванова [и др.] // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2003. — № 1. — С. 26-30.
37. Иванова, О.Е. Риск развития случаев острого вялого паралича и вакциноассоциированного полиомиелита в закрытых детских коллективах — домах ребенка и детских лечебных стационарах / О.Е. Иванова [и др.] // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. — 2005. — Т. 1. — С. 14–18.

38. Инструкция по применению комплекта реагентов для получения кДНК на матрице РНК «РЕВЕРТА-L» // ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора. – М. – 2008. – 7 с.
39. Инструкция по применению набора реагентов для выявления РНК полиовирусов и энтеровирусов группы С (HEV-C) с дифференцировкой вакцинных штаммов полиовирусов (Sabin 1, Sabin 2, Sabin 3) в объектах окружающей среды и клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® Poliovirus-FL» // ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора. – М. – 2011. – 26 с.
40. Инструкция по применению набора реагентов для выявления РНК энтеровирусов человека (Human enterovirus) в объектах окружающей среды и биологическом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® Enterovirus-FL» // ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора. – М. – 2014. – 25 с.
41. Инструкция по применению набора реагентов для экстракции ДНК/РНК из клинического материала «АмплиПрайм РИБО-преп» // ООО «НекстБио». – 2012. – 9 с.
42. Ишмухаметов, А.А. Мини-обзор современная стратегия вакцинации против полиомиелита / А.А.Ишмухаметов, О.Е.Иванова // Медицинская вирусология. – 2014. – том XXVIII (3). – С. 12-19
43. Киселев, О.И. Вопросы общей вирусологии / О.И. Киселев [и др.] // Учебное пособие. – СПб., 2007. - 374с.
44. Козлов, В.Г. Цитотоксические свойства кроличьих энтеровирусных диагностических сывороток. Особенности и локализация / Козлов В.Г., Викторова Е.Г., Набатников П.А. // Вопросы вирусологии. - 2009. - № 1: 22 – С. 7).
45. Костюченко, В.А. Архитектура сферических вирусов / В.А.Костюченко, В.В. Месянжинов // Успехи биологической химии. – М.: Институт биоорганической химии им.М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова, РАН, 2002. – Т. 42. – С. 177-192.

46. Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней. / Практическое руководство под ред. Г.Г.Онищенко, В.В.Кутырева. – М. – 2009. – 472 с.
47. Лашкевич, В.А. 100 лет изучения вируса полиомиелита и неполиомиелитных энтеровирусов / В.А. Лашкевич // Вопросы вирусологии. - 2008. - № 4. – С. 41-44
48. Лашкевич, В.А. Энтеровирус типа 71: ящуроподобное заболевание, энцефаломиелит, острый отек легких / В.А. Лашкевич [и др] // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2011. - №6. - С.38-47.
49. Лозовская, Л.С. Значение вертикальной передачи энтеровирусов группы Коксаки в этиологии врожденных иммунодефицитных состояний / Л.С. Лозовская [и др.] // Вопросы вирусологии. - 1997. (2). – С. 175–178).
50. Лобзин, Ю.В. Энтеровирусные инфекции / Ю.В. Лобзин [и др.] // Пособие для врачей. — СПб, 2012. — 432 с.
51. Лукашев, А.Н. Молекулярная эпидемиология вируса ЕСНО 6 – возбудителя вспышки серозного менингита в Хабаровске в 2006 г. / А.Н. Лукашев [и др.] // Вопросы вирусологии. — 2008. — Т. 53, № 1. — С. 16–21.
52. Лукашев, А.Н. Молекулярная эпидемиология вируса ЕСНО 30 на территории России и стран СНГ / А.Н. Лукашев [и др.] // Вопросы вирусологии. — 2004. — Т. 49, № 5. — С. 12–16.
53. Лукашев, А.Н. Социально-экономическая значимость энтеровирусной инфекции и ее роль в структуре инфекционной патологии в мире / А.Н. Лукашев, О.Е. Иванова, Л.В. Худякова // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2010. — № 5. — С. 113–120.
54. Лукашев, А.Н. Энтеровирус 71: эпидемиология и диагностика / А.Н. Лукашев, Г.А. Королева, В.А. Лашкевич и др. // Журнал микробиологии эпидемиологии и иммунобиологии. – 2009. - № 3. – С. 110-116
55. Львов, Д.К. Медицинская вирусология / Д.К.Львов [и др.] // Руководство для врачей. – М, 2008. – 656 с.
56. Лялина, Л.В. Заболеваемость энтеровирусной (неполио) инфекцией на территории Северо-Западного Федерального округа / Л.В.Лялина,

- М.А.Бичурина, Л.А.Шишко, О.И.Канаева // Материалы III Всероссийской конференции с международным участием «Профилактическая медицина – 2013». Санкт-Петербург, 27 ноября 2013г. Под ред. А.В.Силина – СПб.: Изд-во Мечникова, 2013. – С. 70-72.
57. Медуницын Н.В. Вакцинные календари прививок, разрешённые в Российской Федерации / Н.В. Медуницын // Вакцинация. – 2002. - № 2. – С. 4-7.
58. Методические рекомендации по применению набора реагентов для выявления РНК полиовирусов и энтеровирусов группы С (HEV-C) с дифференцировкой вакцинных штаммов полиовирусов (Sabin 1, Sabin 2, Sabin 3) в объектах окружающей среды и клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® Poliovirus-FL» Вариант FEP/FRT // ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора.- М. – 2011. – 18 с.
59. Методические рекомендации по применению набора реагентов для выявления РНК энтеровирусов человека (Human enterovirus) в объектах окружающей среды и биологическом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс Enterovirus-FL» Формат FEP/FRT // ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора.- М. – 2014. – 22 с.
60. Морозова, Н.С. Энтеровирусная (неполио) инфекция в Российской Федерации в сезон 2013 года / Н.С. Морозова [и др.] // Здоровье населения и среда обитания. — 2014. — № 10 (259).
61. Морозова, Н.С. Эпидемиологическая ситуация по энтеровирусной (неполио) инфекции в Российской Федерации / Н.С.Морозова, О.П.Чернявская // Информационный бюллетень Заболеваемость, этиологическая структура и вопросы профилактики энтеровирусной (неполио) инфекции. – ННИИЭМ. – 2014. - №1. – С. 2-3.
62. Национальный календарь профилактических прививок РФ 2014 / Приказ Минздрава России №125н от 21.03.2014г.

63. Новикова, Н.А. Молекулярный мониторинг неполиомиелитных энтеровирусов на территории России в 2008–2011г. / Н.А. Новикова [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2013. — № 1. — С. 75–78.
64. Новикова, Н.А. Хранение и реализация генетической информации вирусов / Н.А.Новикова – Н. Новгород, 2007. - 84 с.
65. «Об утверждении «Программы ликвидации полиомиелита на территории Российской Федерации к 2000 году». / Приказ МЗ РФ № 336/142. - Москва. - 1996. - 10 с.
66. Облапенко, Г. Ликвидация полиомиелита в Европейском регионе ВОЗ: состояние, успехи, проблемы, 1988-1998 гг. / Г. Облапенко [и др.]// Мат. Второй Междунар. Конф. «Идеи Пастера в борьбе с инфекциями». – СПб. – 1998. – С.5-7.
67. Облапенко, Г.П. Ликвидация полиомиелита в Европе. Актовая речь к 80-летию Санкт-Петербургского Института Пастера / Г.П. Облапенко // СПб. - 2003. — 52 с.
68. Ожерелков, С.В. Применение лицензированных линий клеток из коллекции института полиомиелита и вирусных энцефалитов им.М.П.Чумакова в качестве тест системы для выявления интерферогенности иммуномодуляторов и основы для создания вакцины против энтеровируса 71 типа / С.В.Ожерелков [и др.] // Медицинская вирусология. – 2015. – том XXIX (1). - С. 26-32.
69. Онищенко, Г.Г. Вспышка полиомиелита в Чеченской республике в 1995 г. / Г.Г. Онищенко [и др.] // Журн. микробиол. - 1996. - №3, Приложение.- С. 5-8.
70. Онищенко, Г.Г. Проблемы ликвидации полиомиелита. Монография / Г.Г. Онищенко [и др.] // СПб. - 2008. — 304 с.
71. Онищенко, Г.Г. Рекомендации по эпидемиологии, клинике, диагностике и профилактике заболеваний, вызванных энтеровирусом 71 типа / Г.Г.Онищенко – 2008. – 16 с.

72. Онищенко, Г.Г. Сезон энтеровирусного серозного менингита в Нижнем Новгороде в 2007 году: молекулярно-эпидемиологические аспекты / Г.Г. Онищенко [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2009. — № 2. — С. 24–30.
73. Организация и проведение вирусологических исследований материалов из объектов окружающей среды на полиовирусы, другие (неполио) энтеровирусы // Методические указания 4.2.2357 – 08. – 28 с.
74. Организация и проведение вирусологических исследований материалов от больных полиомиелитом, с подозрением на это заболевание, с синдромом острого вялого паралича (ОВП). // Методические указания 4.2.2410-08. - 34с.
75. Организация и проведение серологического мониторинга состояния коллективного иммунитета к инфекциям, управляемым средствами специфической профилактики (дифтерия, столбняк, коклюш, корь, краснуха, эпидемический паротит, полиомиелит, гепатит В). // Методические указания 3.1.2943-11. – 9 с.
76. Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I - IV групп патогенности // Методические указания 1.3.2569-09. - 2009.– 16 с.
77. Основные направления профилактики инфекционных и паразитарных заболеваний. Материалы X съезда Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов // Москва. - 2012. – 87 с.
78. Перескокова, М.А. Роль санитарно-вирусологических исследований сточных вод для оценки эпидситуации по энтеровирусным инфекциям / М.А. Перескокова [и др.] // Дальневосточный Журнал Инфекционной Патологии. — 2008 г.— № 12 — С. 15–26.
79. Полянская, Г.Г. Российская коллекция клеточных культур позвоночных / Полянская Г.Г. и др. // - 2014. - 139 с.

80. Программа «Эпидемиологический надзор и профилактика энтеровирусной (неполио) инфекции на 2012-2014 гг.», утв. Главным государственным санитарным врачом РФ Г.Г.Онищенко 12.01.2012г.
81. Резник, В.И. Эпидемиологическая и этиологическая характеристика энтеровирусных инфекций в Хабаровском крае / В.И. Резник [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2007. — № 5. — С. 32–37.
82. Романенкова, Н.И. Вирусы Коксаки В1–6 как этиологический фактор энтеровирусной инфекции/ Н. И. Романенкова, М. А. Бичурина, Н. Р. Розаева, О. И. Канаева, Л. А. Шишко, И. В. Черкасская// Журнал инфектологии. – 2016. – Т. 8. - № 2. – С. 65-71.
83. Романенкова, Н. И. Выявление межтиповых рекомбинантных штаммов полиовирусов у детей вакцинированных оральной полиомиелитной вакциной / Н.И. Романенкова [и др.] // Актуал. пробл. мед. вирусол.: мат. научн. конф., поев. 90-летию со дня рожд. М.П. Чумакова. - Москва, - 1999. - С.43.
84. Романенкова, Н.И. Детекция неполиомиелитных энтеровирусов у больных острыми вялыми параличами, детей из организованных коллективов и детей из семей мигрантов / Н.И. Романенкова [и др.] // Журнал Инфектологии. — 2014а. — Т. 6, № 4. — С. 43–48.
85. Романенкова, Н.И. Изучение иммунитета к полиовирусам на отдельных молчащих территориях Российской Федерации / Н.И. Романенкова [и др.] // Инфекция и иммунитет. – 2011. – т.1. - № 2. – С. 161-166.
86. Романенкова, Н.И. Иммунитет к полиовирусам у детского населения на ряде территорий Российской Федерации / Н.И. Романенкова [и др.] // ЖМЭИ – 2012. - № 5. – С. 49-53.
87. Романенкова, Н.И. Многолетний опыт слежения за циркуляцией вакцинных полиовирусов в рамках программы ликвидации полиомиелита / Н.И. Романенкова [и др.] // Материалы Четвертой международной конференции «Идеи Пастера в борьбе с инфекциями». — СПб., 2008. — С.25

88. Романенкова, Н.И. Надзор за полиомиелитом и энтеровирусной инфекцией на ряде территорий Российской Федерации / Н.И. Романенкова, М.А. Бичурина, Н.Р. Розаева // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2011. — № 6. — С. 32–36.
89. Романенкова, Н.И. Особенности циркуляции неполиомиелитных энтеровирусов в постсертификационный период ликвидации инфекции: аналитический обзор / Н.И. Романенкова, М.А. Бичурина, Н.Р. Розаева, О.И. Канаева, Л.А. Шишко. — СПб.: ФБУН НИИЭМ имени Пастера, 2015. — 68 с.
90. Романенкова, Н.И. Роль вирусологического надзора за мигрантами в системе надзора за полиомиелитом / Н.И. Романенкова [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2012. — № 6 — С. 27–31.
91. Романенкова, Н.И. Характеристика вакцинных полиовирусов, выделенных в закрытых детских коллективах (домах ребенка) / Н.И. Романенкова, М.А. Бичурина, Н.Р. Розаева // Вопросы Вирусологии. — 2010. — № 2. — С. 42–45.
92. Романенкова, Н.И. Энтеровирусы / Н.И. Романенкова, М.А. Бичурина // Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. — Т. II. — 928 с.
93. Романенкова, Н.И. Этиология энтеровирусной инфекции на Северо-Западе России / Н.И. Романенкова [и др.] // Информационный бюллетень Заболеваемость, этиологическая структура и вопросы профилактики энтеровирусной (неполио) инфекции. — НИИЭМ. — 2014. - №1. — С. 4-6.
94. Руководство по проведению дополнительных мероприятий, направленных на ликвидацию полиомиелита. Пер. с англ. — М., 1996. — 176 с.
95. Садовникова, В.Н. Эпидемиологический надзор за полиомиелитом на этапе его ликвидации: Автореф. дис. канд. мед. наук. — М., 2002. — 37 с.
96. Санитарно-вирусологический контроль водных объектов // Методические указания МУК 4.2.2029-05. — 38 с.



97. Сейбиль, В.Б. Серозный менингит / В.Б. Сейбиль, Т.И. Фролочкина // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2006. — № 1. — С. 87–92.
98. Сергиев В.П. Ликвидация полиомиелита в Европейском регионе ВОЗ / В.П. Сергиев // Вакцинация. — 2002. — № 6. — С. 2.
99. Сертификация ликвидации полиомиелита. Пятнадцатое заседание Европейской региональной комиссии по сертификации. – Копенгаген. – 2002. – 146 с.
100. Слободенюк В.К. ЕСНО- и Коксаки В-энтеровирусы как возбудители эпидемически значимых и персистентных инфекций / В.К.Слободенюк [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2011. - № 5. – С. 38-42.
101. Смородинцев А.А. Иммунопрофилактика детских вирусных инфекций / А.А. Смородинцев // Актовая речь. — Л. - 1979. — 36 с.
102. Снитковская, Т.Э. Роль унифицированной системы вирусологического мониторинга в эпидемиологическом надзоре за полиомиелитом и энтеровирусными инфекциями в крупном промышленном регионе: автореферат диссертации / Т.Э. Снитковская – М. – 2013. – 26 с.
103. Снитковская, Т.Э. Характеристика энтеровирусных инфекций в Свердловской области / Т.Э. Снитковская, С.В. Скрябина // Гигиена и эпидемиология. — 2008. — № 8. — С. 146–149.
104. Сосницкий, В.И. Полиомиелит в Архангельской области на стадии ликвидации / В.И. Сосницкий [и др.] // Сб. научных трудов «Ликвидация полиомиелита в Российской Федерации» под ред. Е.Н. Беляева, А.А. Ясинского. – М. - 2002. – С. 50-57.
105. Тарасенко, Т. О вспышке энтеровирусной инфекции во Владивостоке / Т. Тарасенко [и др.] // Здоровье. Медицинская экология. — Наука, 2009. — № 3. — С. 81–82.
106. Хрущева, Н.А. Значение вирусной инфекции при пиелонефрите у детей / Н.А.Хрущева [и др.] // Эпидемиология, клиника и профилактика вирусных инфекций. – Екатеринбург. – 1992. – С. 72-78.

107. Чернявская, О.П. Эпидемиологический надзор за острыми вялыми параличами в период реализации программы ликвидации полиомиелита в Российской Федерации: автореферат диссертации / О.П. Чернявская — М. —2012. — 24 с.
108. Чумаков, М. П. Некоторые итоги работ по массовой иммунизации населения Советского Союза против полиомиелита живой вакциной из штаммов Альберта Сэбина / М.П. Чумаков [и др.] // Полиомиелитная пероральная живая вакцина. – М. – 1961.
109. Шишко, Л.А. Этиология сезонных подъёмов заболеваемости энтеровирусной инфекцией в Архангельской области / Л.А. Шишко [и др.] // Журнал Инфекция и иммунитет. — 2013. — Т. 3, № 1. — С. 65–72.
110. Экология энтеровирусов /В.И. Бондаренко [и др.] // К. – Здоровья. - 1988. - 168 с.
111. Эпидемиологический надзор и профилактика энтеровирусных (неполио) инфекций. Методические указания // Методические указания. 3.1.1.2363-08. — 2008.
112. Ясинский, А.А. Национальные дни иммунизации в России в 1996-1998 гг. / А.А. Ясинский, В.С. Петина // Материалы Второй международной конференции «Идеи Пастера в борьбе с инфекциями». — СПб. - 1998. — С. 13.
113. Ясинский А.А. Программа ликвидации полиомиелита в Российской Федерации к 2000 году. Некоторые итоги и основные задачи по ее реализации / А.А. Ясинский [и др.] // Информ. бюллетень ФЦГСЭН МЗ РФ «Здоровье населения и среда обитания». — 1998. — № 3–4. — С. 9–14.
114. Andrus J. K. The surveillance challenge: final stages of eradication of poliomyelitis in the Americas / J.K. Andrus [et al.] // CDC surveillance summaries: Morbidity and mortality weekly report. – 1992. – V. 41. – №. 1. – С. 21-26.
115. Arnold, E. Implication of the picornavirus capsid structure for poliprotein processing / E. Arnold [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1987. - V. 84. - P. 21-25.

116. Bailly, J.L. Phylogeography of circulating populations of human echovirus 30 over 50 years: nucleotide polymorphism and signature of purifying selection in the VP1 capsid protein gene / J.L. Bailly [et al.] // *Infect. Genet. Evol.* — 2009. — Vol. 9. — P. 699–708.
117. Baxter, Nicola J. Waltho Structure and Dynamics of Coxsackievirus B4 2A Proteinase, an Enzyme Involved in the Etiology of Heart Disease / Nicola J. Baxter [et al.] // *J Virol.* — 2006. — Vol. 80, No. 3 — P. 1451–1462.
118. Belsham, G. J. RNA-protein interactions in regulation of picornavirus RNA translation / G. J. Belsham [et al.] // *Microbiol Rev.* — 1996. — Vol. 60, No. 3 - P. 499–511.
119. Bingjuin, T. Molecular typing and epidemiology of non-polio enteroviruses isolated from Yunnan Province, the People's Republic of China / T. Bingjuin [et al.] // *J. Med. Virol.* — 2008. — Vol.80. — P. 670 – 679.
120. Brown, B.A. Resolving ambiguities in genetic typing of human enterovirus species C clinical isolates and identification of enterovirus 96, 99 and 102 / B.A. Brown [et al.] // *J. Gen. Virol.* — 2009. — Vol. 90, No. 7. — P. 1713–1723.
121. Cammack, N. Intertypic genomic rearrangements of poliovirus strains in vaccines N. Cammack [et al.] // *Virologi.* — 1988. - Vol.67/ - p. 507-514/
122. Carter, J. *Virology: Principles and Applications* / J. Carter, V. Saunders // John Wiley & Sons. — 2007. — P. 157–172.
123. Certification of poliomyelitis eradication – European Region // *Morbidity and mortality weekly report.* — 2002. — V. 51. — P. 572-574.
124. Cherkasova, E.A. Spread of vaccine-derived poliovirus from a paralytic case in an immunodeficient child: an insight into the natural evolution of oral polio vaccine / E.A. Cherkasova [et al.] // *J. Virology.* — 2005. — Vol. 79. — P. 1062–1070.
125. Chiou, C.C. Coxsackievirus B1 infection in infants less than 2 months of age / C.C. Chiou, W.T Liu, S.J. Chen [et al.] // *Am. J. Perinatol.* - 1998. - Vol . 15. — P. 155–159.

126. Cuervo N. Genomic features of intertypic recombinant Sabin strains excreted by primary vaccines / N. Cuervo [et al.] // *J. Virol.* — 2001. — Vol.75. — P.5740–5751.
127. Guillot, S. Natural genetic exchanges between vaccine and wild poliovirus strains in humans / S. Guillot [et al.] // *J. Virol.* - 2000.-Vol.74. - P.8434-8443.
128. Domingo, E. Basic concepts in RNA virus evolution / E.Domingo [et al.] // *Fasep.J.* – 1996. - №10. – P.859-864
129. Dowdle W. Poliomyelitis eradication / W. Dowdle [et al.] // *Virus. Res.* – 1999. – V. 62. - № 2. – P. 185-192.
130. Euscher, E. Coxsackie virus infection of the placenta associated with neurodevelopmental delays in the newborn / E. Euscher [et al.] // *Obstet. Gynecol.* — 2001. — Vol. 98, No. 6. — P. 1019–1026.
131. Fernández-Miragall, O. Relevance of RNA structure for the activity of picornavirus IRES elements / O. Fernández-Miragall [et al.] // *Virus Res.* – 2009. Vol. 139, No. 2. – P. 172-182.
132. Furione M. Polioviruses with natural recombinant genomes isolated from vaccine-associated paralytic poliomyelitis / M. Furione [et al.] // *Virology.* — 1993. — Vol. 196. — P.199–208.
133. Gavrilin G.V. Evolution of circulating wild poliovirus and of vaccine-derived poliovirus in an immunodeficient patient: a unifying model / G.V. Gavrilin [et al.] // *J. Virol.* — 2000. — Vol. 74. — P.7381–7390.
134. Global eradication of poliomyelitis by the year 2000 // *Wkly Epidemiol. Rec.* — 1998. — Vol. 63, N 22. — P.161–162.
135. Guidelines for environmental surveillance of poliovirus circulation. — Geneva, Switzerland: WHO, 2003. – 27 p.
136. Gulliot, S. Natural genetic exchanges between vaccine and wild poliovirus strains in humans. / S. Gulliot [et al.] // *J. Virol.* - 2000. – Vol. 74. - P. 8434-8443
137. Ho, M. An epidemic of enterovirus 71 infection in Taiwan. Taiwan Enterovirus Epidemic Working Group / M. Ho [et al.] // *N. Engl. J. Med.* — 1999. — Vol. 341, No. 13. — P. 929–935.

138. Hyypia T, T. Hovi, N. J. Knowles, and G. Stanway. Classification of enteroviruses based on molecular and biological properties. // *J. Gen. Virol.* - 1997. - Vol. 78.-P. 1-11.
139. Joffret, M.-L. Common and Diverse Features of Cocirculating Type 2 and 3 Recombinant Vaccine-Derived Polioviruses Isolated From Patients With Poliomyelitis and Healthy Children / M.-L. Joffret [et al.] // *J. Infect. Dis.* — 2012. — Vol. 205, No. 9. — P. 1363–1373.
140. Kemball, C.C. Type B coxsackieviruses and their interactions with the innate and adaptive immune systems / C.C. Kemball, M. Alirezaei, J.L. Whitton // *Future Microbiol.* — 2010. — Vol. 5, No. 9. — P. 1329–1347.
141. Kew, O.M. Circulating vaccine-derived polioviruses: current state of knowledge / O.M. Kew [et al.] // *Bulletin of the WHO.* — 2004. — Vol. 82, No. 1. — P. 16–23.
142. Kew, O.M. Evolution of the oral poliovaccine strains in humans occurs by both mutation and intramolecular recombination / O.M. Kew [et al.] // *Modern Approaches to Vaccines.* – New York: Cold Spring Harbor Press. – 1984. – P. 357-367
143. Kew, O.M. Outbreak of poliomyelitis in Hispaniola associated with circulating type 1 vaccine-derived poliovirus / O.M. Kew [et al.] // *Science.* — 2002. — Vol. 296. — P. 356–359.
144. Khanh, T.H. Enterovirus 71-associated Hand, Foot, and Mouth Disease, Southern Vietnam, 2011 / T.H. Khanh [et al.] // *Emerg. Infect. Dis.* — 2012. — Vol. 18, No. 12. — P. 2002–2005.
145. Khetsuriani, N. Enterovirus surveillance – United States, 1970–2005 / N. Khetsuriani [et al.] // *Morbidity and Mortality Weekly Report.* — 2006. — Vol. 55, No. 8. — P. 1–20.
146. Kirkegaard, K. The mechanism of recombination in poliovirus / K. Kirkegaard, G. Baltimore // *Cell.* - 1986. - Vol.47. – P. 433-443.
147. Klump, W.M. Complete nucleotide sequence of infectious Coxsackievirus B3 cDNA two initial 5' uridine residues are regained during plus-strand RNA synthesis / W. Klump [et al.] // *J. Virol.* - 1990. - V. 64. N. 4. - P. 1573-1583.

148. Lee, B.E. Aseptic meningitis / B.E. Lee, H.D. Davies // *Curr. Opin. Infect. Dis.* — 2007. — Vol. 20, No. 3. — P. 272–277.
149. Lee, M.-S. Challenges to Licensure of Enterovirus 71 Vaccines / M.-S. Lee [et al.] // *PLoS Negl. Trop. Dis.* — 2012. — Vol. 6, No. 8. — P. e1737.
150. Lipskaya G.Y. Frequent isolation of intertypic poliovirus recombinants with serotype 2 specificity from vaccine-associated polio cases / G.Y. Lipskaya [et al.] // *J. Med. Virol.* — 1991. — Vol. 35. — P.290–296.
151. Liu, H.M. Molecular evolution of a type 1 wild-vaccine poliovirus recombinant during widespread circulation in China / H. Liu [et al.] // *J.Virol.* - 2000. - V. 74. - No. 12. - P. 11153-11161
152. Lukashev, A.N. Analysis of echovirus 30 isolates from Russia and new independent states revealing frequent recombination and reemergence of ancient lineages / A.N. Lukashev [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* — 2008. — Vol. 46. — P. 665–670.
153. Lukashev, A.N. Role of recombination in evolution of Enteroviruses // *Rev. Med. Virol.* – 2005. - Vol. 15 – P. 157–167.
154. Lv, S. Epidemiology and diagnosis of viral myocarditis / S. Lv // *Hellenic J. Cardiol.* — 2013. — Vol. 54, No. 5. — P. 382–391.
155. Martin, J. Evolution of the Sabin strain of type 3 poliovirus in an immunodeficient patient during the entire 637-day period of virus excretion / J. Martin [et al.] // *J. Virol.* - 2000. - N. 4. - P. 3001-3010
156. Martin, J. Isolation of an intertypic poliovirus capsid recombinant from a child with vaccine-associated paralytic poliomyelitis / J. Martin [et al.] // *J. Virol.* – 2002. – Vol.76. – P. 10921-10928/
157. Martino, T.A. Enteroviral myocarditis and dilated cardiomyopathy: A review of clinical and experimental studies / Martino. T.A., Liu P., Petric M., Sole M. // *Human Enterovirus Infections.* Ed. H.A. Rotbart. Washington: ASM Press. - 1995. - P. 291–351

158. Marx, A. Дифференциальная диагностика острых вялых параличей и ее роль в эпиднадзоре за полиомиелитом. Пер. с англ. / A. Marx [et al.] // *Epidem. Rev.* — 2000. — Vol. 22, N 2. — P.298-316
159. Melnick, J.L. Enteroviruses: polioviruses, coxsackie viruses, echoviruses, and newer enteroviruses / J.L. Melnick [et al.] // *Fields virology*. 2nd ed. vol 1 .- 1990. - vol 1. - P.549-605.
160. Milia, M.G. Recent outbreak of aseptic meningitis in Italy due to Echovirus 30 and phylogenetic relationship with other European circulating strains / M.G. Milia [et al.] // *J. Clin. Virol.* — 2013. — Vol. 58. — P. 579–583.
161. *MMWR.* – 2002. – V. 51. – P. 305-307.
162. Muir, P. Molecular Typing of Enteroviruses: Current Status and Future Requirements / P. Muir [et al.] // *Clin. Microb. Rev.* — 1998. — Vol. 11, No. 1. — P. 202–227.
163. Nix, W.A. Sensitive, seminested PCR amplification of VP1 sequences for direct identification of all enterovirus serotypes from original clinical specimens / W.A. Nix [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2006. - Vol. 44, No. 8. – P. 2698–2704.
164. Oberste, M.S. Evidence for frequent recombination within species human enterovirus B based on complete genomic sequences of all thirty-seven serotypes / M.S. Oberste, K. Maher, M.A. Pallansch // *J. Virol.* — 2004. — Vol. 78, No. 2. — P. 855–867.
165. Oberste, M.S. Typing of Human Enteroviruses by Partial Sequencing of VP1 / M.S. Oberste [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* — 1999. — Vol. 37, No. 5. — P. 1288–1293.
166. Ooi, M.H. Clinical features, diagnosis and management of human enterovirus 71 infection / M.H. Ooi [et al.] // *Lancet Neurol.* — 2010. — Vol. 9, No.11. — P. 1097–1105.
167. Pallansch, M. Enteroviruses: Polioviruses, Coxsackieviruses, Echoviruses, and Newer Enteroviruses / M. Pallansch, R. Roos // *Fields Virology* - 5<sup>th</sup> ed. / Ed.: Knipe D.M., Howley P.M. — Lippincott Williams & Wilkins, 2007. — P. 839–895.

168. Palmenberg, A. C. Picornaviral processing: some new ideas / A. Palmenberg // *J. Cell. Biochem.* - 1987. -V. 33.- P . 191-198.
169. Pilipenko, E.V. Conserved structural domains in the 5'-untranslated region of picornaviral genomes: an analysis of the segment controlling translation and neurovirulence / E.V. Pilipenko [et al.] // *Virologi* – 1989. - Vol. 168, No. 2. – P. 201-209.
170. Polio laboratory manual. WHO/IVB/04.10. World Health Organization. — Geneva, Switzerland. — 2004. — 157 p.
171. Polio weekly global update. – WHO. – 19 January 2011.
172. Pollard, S.R. Nucleotide sequence of a neurovirulent variant of the type 2 oral poliovirus vaccine/ S.R. Pollard [et al.] // *J. Virol.* - 1989.- N. 11. - P. 4949-4951.
173. Racaniello, V.R. Molecular cloning of poliovirus cDNA and determination of the nucleotide sequence of the viral genome / V.R. Racaniello [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 1981. - V. 78. N. 8. - P. 4887-4891.
174. Racaniello, V.R. Picornaviridae: The Viruses and their Replication / V.R. Racaniello // *Fields Virology*; eds.: D.M. Knipe, P.M. Howley. - 5<sup>th</sup> ed. — Lippincott Williams & Wilkins, 2007. — P. 795–839.
175. Ramsingh, A.I. Coxsackie-viruses and diabetes / Ramsingh, A.I., Chapman N., Tracy S. // *Bioessays.* - 1997. - Vol. 19. - P. 793–800.
176. Ray, C.G. Enteroviruses / C.G. Ray // *Sherris Medical Microbiology*; eds. K.J. Ryan, C.G. Ray. - 4<sup>th</sup> ed. — The McGraw-Hill Companies, 2004. — P. 531–541.
177. Rewers, M. The possible role of enteroviruses in diabetes mellitus / Rewers M., Atkinson M. // *Human Enterovirus Infections.* Ed. H.A. Rotbart. Washington: ASM Press. - 1995. – P. 353–385.
178. Rhoades, R.E. Enterovirus infections of the central nervous system review / R.E. Rhoades [et al.] // *Virology.* — 2011. — Vol. 411, No. 2. — P. 288–305.
179. Rousset, D. Recombinant vaccine-derived poliovirus in Madagascar / D. Rousset [et al.] // *Emerg. Infect. Dis.* — 2003. — Vol. 9. — P. 885–887.
180. Rueckert, R. R. Picornaviridae; the viruses and their replication / R. R. Ruecker [et al.] // In "Virology". -Philadelphia: Lippincott-Raven. Press - 1996. - P. 609-654.



181. Rueckert, R. R. Systematic nomenclature of picornavirus proteins / R. R. Rueckert, E. Wimmer // *J. Vhol.* - 1984. - Vol. 50. - P. 957-959.
182. Runckel, C. Identification and Manipulation of the Molecular Determinants Influencing Poliovirus Recombination / C. Runckel [et al.] // *PLoS pathogens.* — 2013. — Vol. 9, No. 2. — P. e1003164.
183. Sabin A.B. Properties and behavior of orally administered attenuated poliovirus vaccine / A.B. Sabin // *JAMA.* — 1957. — Vol. 164. — P.1216–1223.
184. Sadeuh-Mba, S.A. High frequency and diversity of species C enteroviruses in Cameroon and neighboring countries / S.A. Sadeuh-Mba [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* — 2013. — Vol. 51, No. 3. — P. 759–770.
185. Salk J.E. Consideration in the preparation and use of poliomyelitis virus vaccine / J.E. Salk // *JAMA.* — 1955. — Vol. 148. — P.1239–1248.
186. Savolainen-Kopra, C. A large Finnish echovirus 30 outbreak was preceded by silent circulation of the same genotype / C. Savolainen-Kopra, A. Paananen, S. Blomqvist // *Virus Genes.* — 2011. — Vol. 42. — P. 28–36.
187. Schlapbach, L.J. Enteroviral myocarditis in neonates / L.J. Schlapbach [et al.] // *J. Paediatr. Child. Health.* — 2013. — Vol. 49, No. 9. — P. e451–454.
188. Shulman, L.M. Molecular and antigenic characterization of a highly evolved derivative of the type 2 oral poliovaccine strain isolated from sewage in Israel / L.M. Shulman [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* — 2000. — Vol. 38. — P. 3729–3734.
189. Solomon, T. Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of enterovirus 71 / T. Solomon [et al.]// *Lancet Infect. Dis.*—2010. — Vol. 10, No. 11. — P. 778–790.
190. Stanway, G.F.B. Family Picornaviridae / G.F.B. Stanway [et al.] // *Virus taxonomy, 8th Report of ICTV* / Ed.: Fauquet C.M., Mayo M.A., Maniloff J., Desselberg U., Ball L.A. — 2005.
191. Stanway, G. The nucleotide sequence of poliovirus type 3 Leon 12a]b comparison with pohovirus type 1 / G. Stanway [et al.] // *Nucl. Acid. Res.* -1983. - V. 11. N. 16. - P. 5629-5628
192. Sutter, R.W. Poliovirus vaccine-live / R.W. Sutter [et al.] // *Vaccines*, 6<sup>th</sup> edition. — 2013. — P.598-645.

193. Sutter, R.W. Vaccine-associated paralytic poliomyelitis among immunodeficient persons / R.W. Sutter [et al.] // *Infect. Med.* — 1994. — Vol. 11. — P.426–438.
194. Wells, V.R. Determination of the mutation rate of poliovirus RNA-dependent RNA polymerase/V. Wells[et al.]//*Virus. Res.* -2001. - Vol. - 74 (1-2). Apr. - P. 119-132.
195. WHO: Acute flaccide paralysis (AFP) surveillance: the surveillance strategy for poliomyelitis eradication.//*Weekly Epidemiol Rec.* - 1998. - v.73. - P.113-120.
196. WHO. Polio vaccines and polio immunization in the preeradication era: WHO position paper. // *Wkly. Epidemiol. Rec.* – 2010/ - Vol. 85 (23). – P. 213-228.
197. WHO *Epidemiol. Rec.* - 2011. – P. 319-320.
198. Tam, P.E. Coxsackievirus myocarditis: interplay between virus and host in the pathogenesis of heart disease / P.E. Tam // *Viral Immunol.* — 2006. — Vol. 19, No. 2. — P. 133–146.
199. Tamura, K. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods / K.Tamura [et al.] // *Mol. Biol. and Evol.* – 2011. – V.28, № 10. – P. 2731-27-39.
200. Tao, Z. Molecular epidemiology of human enterovirus associated with aseptic meningitis in Shandong province, China, 2006–2012 / Z. Tao [et al.] // *PLoS One.* — 2014. — Vol. 9, No. 2. — P. e89766.
201. Yang, X.H. Molecular epidemiology of Echovirus 30 in Fujian, China between 2001 and 2011 / X.H. Yang, Y.S. Yan, Y.W. Weng // *J. Med. Virol.* — 2013. — Vol. 85. — P. 696–702.
202. Yin-Murphy, M. Picornaviruses / M. Yin-Murphy, J.W. Almond // *Medical Microbiology* - 4<sup>th</sup> ed. / Ed.: Baron S. — The University of Texas Medical Branch, 1996. — 1273 p.
203. Zeng, M. Seroepidemiology of Enterovirus 71 infection prior to the 2011 season in children in Shanghai / M. Zeng [et al.] // *J. Clin. Virol.* — 2012. — Vol. 53, No. 4. — P. 285–289.