

*Е.О. Самойлович¹, Н.В. Логунова³, Г.В. Семейко¹, М.А. Ермолович¹, Н.Л. Ключко²,
А.А. Астапов³, В.С.Лужинский³, Т.И. Лисицкая², Т.А. Канашкова³, Н.М. Бискина⁴*

РОТАВИРУСНЫЕ ГАСТРОЭНТЕРИТЫ У ДЕТЕЙ В Г. МИНСКЕ В 2012 Г.: ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ, ВОЗРАСТНОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ, СЕЗОННОСТЬ, ГЕНОТИПИЧЕСКИЙ ПЕЙЗАЖ ВОЗБУДИТЕЛЯ

РНПЦ эпидемиологии и микробиологии¹

Городская детская инфекционная клиническая больница, г. Минск²

Белорусский государственный медицинский университет³

Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья⁴

Из 7372 детей 0-5 лет с острой диареей, госпитализированных в ГДИКБ г. Минска в 2012 г., у 1496 (20,3%) в образцах стула был выявлен антиген ротавируса. Среди ротавирусных гастроэнтеритов 70,7% пришлось на долю детей 0-1 года. Показатель заболеваемости по данным госпитализации на 1000 детей в возрасте 0-5 лет в г. Минске составил 10,8 и был наиболее высоким среди детей в возрасте до года и 1 года (20,0 на 1000 и 17,0 на 1000, соответственно). Гастроэнтериты ротавирусной этиологии выявлялись в течение всего года, наиболее высокая частота отмечалась с января по май, когда было выявлено 1052 из 1496 (70,0%) случаев.

Вклад в заболеваемость внесли пять генотипов ротавирусов – G4P[8] (55,4%), G3P[8] (21,5%), G1P[8] (12,3%), G2P[4] (6,2%) и G9P[8] (4,6%). Сезонный подъем заболеваемости формировался за счет всех пяти генотипов, в межсезонный период циркулировали преимущественно вирусы генотипов G4P[8] и G1P[8].

Ключевые слова: *острый гастроэнтерит у детей, ротавирусы, заболеваемость, генотипы.*

E.O. Samoilovich, N.V. Logunova, G.V. Semeiko, M.A. Yermalovich, N.L. Kluiko, A.A. Astapov, V.S. Luzhinskii, T.I. Lisitskaya, T.A. Kanashkova, N.M. Biskina

ROTAVIRUS GASTROENTERITIS AMONG CHILDREN IN MINSK CITY: INCIDENCE, SEASONALITY, AGE DISTRIBUTION, GENOTYPE LANDSCAPE OF CAUSATIVE AGENT

Rotavirus antigen was revealed in stool samples in 1496 of 7372 (20,3%) children 0-5 years old with acute gastroenteritis, hospitalized in Minsk children infectious disease hospital in 2012. Proportion of children under 2 years old among infected with rotavirus was 70,7%. Incidence rate of hospitalized cases per 1000 children 0-5 years old was 10,8; the highest incident rate was among children before 1 year old and 1 year old (20,0 per 1000 and 17,0 на 1000, accordingly). Rotavirus gastroenteritis was revealed all year round, more frequently from January till May, when 1052 from 1496 (70,0%) cases were confirmed. Rotaviruses of five genotypes determined the incidence: G4P[8] (55,4%), G3P[8] (21,5%), G1P[8] (12,3%), G2P[4] (6,2%) u G9P[8] (4,6%). All five genotypes contributed to seasonal increase of incidence, in the interseasonal period mainly viruses of G4P[8] and G1P[8] genotypes circulated.

Key words: acute gastroenteritis among children, rotavirus, incidence, genotypes.

Ротавирус является важнейшим этиологическим агентом острых гастроэнтеритов у детей. В течение первых 5 лет жизни практически каждый ребенок вне зависимости от социально-экономического статуса семьи инфицируется этим опасным патогеном. По данным проведенного ВОЗ обзора исследований в области ротавирусов, 20-70% всех случаев госпитализации и 20% случаев диарей с летальным исходом вследствие значительной дегидратации были связаны с этой инфекцией [6]. В мире каждый год ротавирус вызывает примерно 11 млн случаев инфекционного гастроэнтерита у детей и примерно 600 000 смертей [13].

Заболевание распространено как в развивающихся, так и в развитых странах мира [11]. Основная часть летальных исходов (82%) приходится на развивающиеся страны Юго-Восточной Азии, Африки и Латинской Америки, что обусловлено не только санитарно-гигиеническими условиями проживания населения, но и ограниченным доступом к квалифицированной медицинской помощи. В развитых странах мира доля заболеваний ротавирусной этиологии в структуре летальности относительно невелика, однако экономическая нагрузка, обусловленная высокой заболеваемостью и нередкой госпитализацией, является существенной [7].

Согласно данным официальной регистрации, в Республике Беларусь ежегодно выявляется от нескольких сотен до несколько тысяч заболевших ротавирусной инфекцией (от 637 в 1995 г. до 5203 в 2011 г.). Из них число случаев инфекции, выявленных в г. Минске, составляло от 547 в 1995 г. до 2725 в 2011 г. Подавляющее большинство заболевших (до 80%) – это дети в возрасте от 0-2 года. Доля лиц старше 15 лет в общей структуре заболеваемости во все годы наблюдения была незначительной (от 1,6% (1995 г.) до 5,6% (2001 г.)).

Целью настоящего исследования являлось определение частоты госпитализаций, обусловленных острыми гастроэнтеритами (ОГЭ) ротавирусной этиологии в г. Минске в 2012 г., и изучение генотипического пейзажа ротавирусов – этиологических агентов ОГЭ.

Материалы и методы

По данным вирусно-бактериологической лаборатории УЗ «Городская детская инфекционная клиническая больница» г. Минска (ГДИКБ), в 2012 г. на ротавирусную инфекцию обследовано 8195 детей с ОГЭ.

Диагностику ротавирусной инфекции осуществляли, определяя антиген ротавируса в образцах стула с использованием иммуноферментной тест-системы «РОТА-АГ» производства РНПЦ эпидемиологии и микробиологии.

Для определения генотипа ротавирусов для исследования были отобраны и исследованы в мультиплексной ОТ-ПЦР образцы стула пропорционально количеству случаев заболевания, зарегистрированных в каждом месяце. Всего исследовано 65 образцов.

Выделение РНК ротавирусов из 10%-ной суспензии стула проводили с помощью автоматической системы для выделения нуклеиновых кислот на магнитных частицах MagMAX Express (Applied Biosystems, США) с наборами 5X MagMAX-96 Viral Isolation kit (Ambion, США). Генотипирование ротавирусов осуществляли на основании анализа генов, кодирующих поверхностные белки VP4 (Р-генотип) и VP7 (G-генотип) с использованием мультиплексной двухстадийной полугнездовой ПЦР со стадией обратной транскрипции (ОТ-ПЦР). Для амплификации фрагмента гена VP7 с целью последующего G-генотипирования использовали праймеры 9con1L и VP7-R [8]. Для амплификации фрагмента гена VP4 с целью последующего Р-генотипирования использовали праймеры con3 и con2 [5].

Обратную транскрипцию и первую стадию ПЦР проводили в один раунд с использованием набора QIAGEN OneStep RT-PCR kit, QIAGEN (Германия), содержащего смесь ферментов: обратные транскриптазы Omniscript и Sensiscript и HotStarTaq ДНК полимеразу. Реакцию проводили в следующих условиях: обратная транскрипция – 30 мин при 42°C, денатурация смеси обратных транскриптаз и активация полимеразы – 15 мин при 95°C и 40 циклов амплификации. Каждый цикл включал: денатурацию при 94°C – 30 секунд, отжиг праймеров при 42°C – 30 секунд, элонгацию при 72°C – 45 секунд. Для второй стадии полугнездовой ПЦР использовали набор специфических праймеров для определения G и Р генотипов [8, 9]. Синтез ПЦР-продуктов анализировали методом электрофореза в 3% агарозном геле с добавлением красителя Gelstar 10000X, Lonza (США) для визуализации ДНК.

Результаты и обсуждение

Проведенное в 2012 г. лабораторное обследованное 8195 детей с ОГЭ, госпитализированных в ГДИКБ, позволило обнаружить антиген ротавируса в образцах стула 1556 (19,0%) из них.

Подавляющее большинство детей с ОГЭ были в возрасте 0-5 лет (7372, 90,0%). Ротавирусная инфекция была лабораторно подтверждена у 1496 (20,3%) детей этого возраста. Поскольку, в соответствии с рекомендациями ВОЗ [14], эпидемиологический надзор за ротавирусной инфекцией должен быть в основном сосредоточен на лицах этой возрастной группы, дальнейший анализ эпиде-

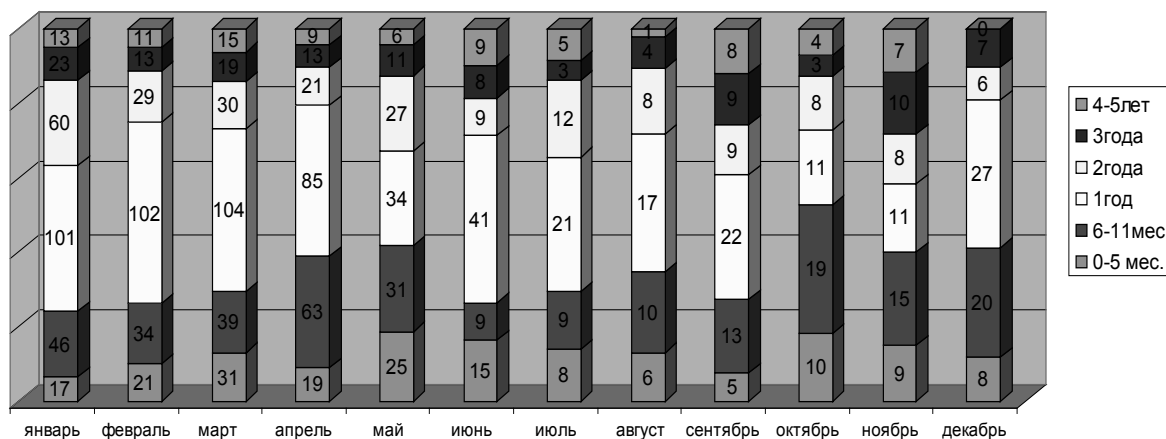


Рис. 1 - Возрастное распределение ротавирусных ОГЭ у детей

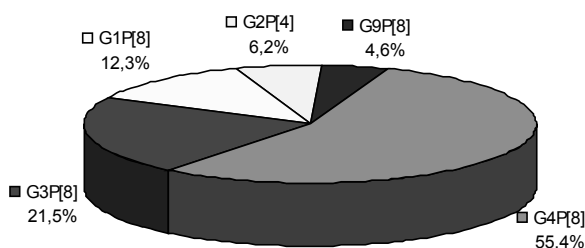


Рис. 2 - Генетическое разнообразие ротавирусов, вызвавших острый гастроэнтерит у детей в г. Минске в 2012 г.

миологических характеристик инфекции был выполнен в отношении детей в возрасте 0-5 лет.

Позитивные на ротавирус образцы выявлялись в течение всего года, однако наиболее высокий их удельный вес в структуре ОГЭ наблюдался с января по май (январь – 32,6%, февраль – 27,8%, март – 30,8%, апрель – 29,3%, май – 22,5%). В течение этого периода было выявлено 1052 из 1496 (70,0%) случаев ротавирусной диареи. Доля ротавирусопозитивных образцов в межсезонный период составляла от 7,5% (октябрь) до 18,3% (июнь).

Более 70% (1058) от всех ротавирусных гастроэнтеритов, выявленных у детей 0-5 лет, пришлось на долю детей в возрасте 0-1 год. Удельный вес детей 2 лет и старше был существенно более низким и составил в возрасте 2 лет 15,1% (227 случаев), 3 лет – 8,2% (123 случая), 4-5 лет – 5,9% (88 случаев). Преимущественное вовлечение в эпидемический процесс детей в возрасте до 2 лет отмечалось в течение всего года (рис. 1).

Среди заболевших первого года жизни с лабораторно подтвержденной ротавирусной инфекцией доля детей 6-11 месяцев существенно превышала долю детей 0-5 месяцев. Среди 982 госпитализированных с ОГЭ детей в возрасте 0-5 месяцев антиген ротавируса был выявлен в 174 (17±1%) случаях, тогда как среди 1230 детей 6-11 месяцев – в 308 (25±1%) случаях ($p < 0,05$). Исходя из данных литературы более низкие показатели заболеваемости у детей в возрасте до 6 мес. могут быть связаны с бессимптомным течением инфекции среди младенцев первых месяцев жизни, наличием защитных материнских антител и физиологической незрелостью кишечника детей данного возраста [3].

Показатель заболеваемости ротавирусными ОГЭ по данным госпитализации в г. Минске в 2012 г. в расчете

на 1000 детей возрастной группы составил 20,0 среди детей до года, 17,0 – среди детей 1 года, 9,6 – среди детей 2 лет, 5,25 – среди детей 3 лет и 2,0 – среди детей 4-5 лет. В целом в возрастной группе 0-5 лет показатель заболеваемости ротавирусными ОГЭ составил 10,8 на 1000.

Выполненное генотипирование 65 ротавирусов, обнаруженных в образцах стула детей, по генам, кодирующим структурные белки VP7 и VP4, показало, что они относились к пяти G-типам (G4, G3, G2, G1, G9), двум P-типам (P[8], P[4]) и формировали 5 различных G-P сочетаний (Рис. 2). Преимущественное распространение получил генотип G4P[8], к которому относилось 36 из 65 исследованных ротавирусов. Генотип G3P[8] находился на втором месте по частоте встречаемости. Генотипы G1P[8] и G2P[4] занимали третье и четвертое место, соответственно. В трех образцах стула был выявлен ротавирус генотипа G9P[8].

Пейзаж циркулирующих в 2012 г. ротавирусов не являлся постоянным в течение всего года. Так, ротавирус генотипа G3P[8] преимущественно циркулировал в первой половине года. Этим генотипом было обусловлено 27,1% случаев ротавирусных ОГЭ, выявленных с января по июнь, и только 5,9% гастроэнтеритов, выявленных во второй половине года. В то же время, циркуляция ротавируса генотипа G1P[8] активизировалась во второй половине года. На долю этого генотипа пришлось 8,3% ротавирусных ОГЭ первой половины года и 23,5% второй половины года. При этом на протяжении всего года ротавирус генотипа G4P[8] сохранял свои лидирующие позиции.

Как известно, основное бремя заболеваемости ротавирусной инфекцией определяют тяжелые и среднетяжелые случаи диарей. Именно поэтому, в соответствии с рекомендациями ВОЗ, эпидемиологический надзор за ротавирусной инфекцией, в первую очередь, должен быть направлен на мониторинг потребовавших госпитализации случаев ОГЭ у детей до 5 лет [14]. В г. Минске единственным стационаром, куда госпитализируются дети с острой диареей, является ГДИКБ. Согласно клиническим данным, в подавляющем большинстве (90%) госпитализированных случаев ротавирусная инфекция протекает как ОГЭ средней степени тяжести [2].

Как показали результаты лабораторного исследования, в 2012 г. ротавирусная инфекция являлась достаточно частой причиной госпитализации. Антиген ротавируса

был выявлен у 1496 детей в возрасте 0-5 лет. Удельный вес ОГЭ ротавирусной этиологии среди других госпитализированных диарейных заболеваний у детей этого возраста составил 20,3%, что несколько ниже в сравнении со странами Европейского региона ВОЗ, в которых при поддержке Европейского регионального бюро ВОЗ осуществляется дозорный эпидемиологический надзор за ротавирусами (Армения, Азербайджан, Грузия, Молдова, Таджикистан, Украина). Удельный вес ротавирусных диарей в структуре острых диарей в этих странах в 2011-2012 гг. составил в среднем 41% [15]. По данным ВОЗ, наиболее высокой доля ротавирусных гастроэнтеритов является в странах Западно-Тихоокеанского региона (43%) и региона Юго-Восточной Азии (43%), самой низкой – в странах Американского региона (24%) [15].

Ротавирусный ОГЭ в г. Минске характеризовался зимне-весенней сезонностью и преимущественным вовлечением в эпидемический процесс детей в возрасте 0-1 год. Зимне-весенняя сезонность ротавирусной инфекции в Беларуси отмечалась и другими авторами [1]. Эти наблюдения согласуются с данными литературы, согласно которым заболеваемость ротавирусной инфекцией носит сезонный характер, и частота ротавирусных гастроэнтеритов увеличивается в период низкой температуры, с небольшим количеством случаев или без таковых в межсезонный период [4, 12]. В зонах с умеренным климатом более высокая заболеваемость ротавирусной инфекцией регистрируется в зимне-весенний период, а в тропических и субтропических областях – в сезон дождей [10].

Генотипический полиморфизм ротавирусов, периодическая смена доминирующих вариантов возбудителя обуславливают необходимость систематического молекулярно-эпидемиологического мониторинга популяции ротавирусов. Такой мониторинг позволяет определить спектр циркулирующих штаммов, преобладающие генотипы, своевременно отслеживать их смену, осуществлять прогнозирование эпидемиологической ситуации.

Изучение генетического разнообразия ротавирусов, циркулировавших в г. Минске в 2012 г., показало, что в этот период вклад в заболеваемость внесли пять генотипов ротавирусов – G4P[8] (55,4%), G3P[8] (21,5%), G1P[8] (12,3%), G2P[4] (6,2%) и G9P[8] (4,6%). Сравнение пейзажа ротавирусов 2012 г. с предыдущими годами показывает, что ротавирус G4P[8], являвшийся доминирующим в Республике Беларусь в 2008-2009 г. и несколько утративший свои позиции в 2010-2011 г., в 2012 г. опять вышел на первое место. Удельный вес генотипа G3P[8], преобладавшего в 2011 г., снизился с 66,7% до 21,5%. Доля генотипа G1P[8], который считается наиболее широко распространенным в мире [15], в 2012 г. в сравнении с 2011 г. несколько выросла (с 4,4% до 12,3%), однако по-прежнему в Республике Беларусь удельный вес этого генотипа продолжает оставаться невысоким. Следует также отметить, что ротавирусы генотипа G9P[8] встречаются в Республике Беларусь крайне редко (по одному образцу было выявлено в 2008 и 2010 г., 3 образца – в 2012 г.), хотя частота обнаружения этого генотипа вируса в мире растет [15].

Таким образом, полученные данные по заболеваемости свидетельствуют о том, что бремя ротавирусной инфекции в г. Минске является существенным. Число госпитализированных случаев ОГЭ ротавирусной этиологии среди детей 0-5 лет составило 10,8 на 1000 детей данной возрастной группы. Следует также учитывать, что ротавирусная инфекция может иметь легкое течение и не

требовать госпитализации, что чаще наблюдается среди младенцев первых месяцев жизни, более старших детей и взрослых.

Как известно, достаточно эффективным способом контроля этой инфекции является вакцинация. Полученные данные имеют большое значение для оценки экономической целесообразности внедрения вакцинации против ротавирусной инфекции в Республики Беларусь. Следует также подчеркнуть, что надзор за заболеваемостью и циркулирующими генотипами ротавирусов должен продолжаться и после внедрения вакцинации в целях оценки ее эффективности.

Литература

1. Гудков, В.Г., Виринская А.С., Малявко Д.В. и др. Ротавирусная инфекция в Беларуси // Здравоохранение. – 2008. – №11. – С.8-13.
2. Лужинский, В.С., Кондрашова Л.Н., Раевнев А.Е., Каранкевич Н.В., Пушкина Л.С. Клинические проявления ротавирусной инфекции // Актуальные вопросы профилактики и лечения инфекционных заболеваний у детей: тезисы Международной научно-практической конференции к 25-летию юбилею УЗ «Городская детская инфекционная клиническая больница». 2012. – С. 79-80.
3. Bryce, J., Boschi-Pinto C., Shibuya K., Black R.E. WHO estimates of the causes of death in children // Lancet. 2005. – V. 365 (9465). – P. 1147 –1152.
4. D'Souza, R.M., Hall G., Becker N.G. Climatic factors associated with hospitalizations for rotavirus diarrhea in children under 5 years of age // Epidemiol. Infect. – 2008. – 136. – P.56-64.
5. Das, BK, Gentsch JR, Cicirello HG, Woods PA, Gupta A, Ramachandran M, Kumar R, Bhan MK, Glass RI. Characterization of rotavirus strains from newborns in New Delhi, India // J Clin Microbiol. – 1994. – Vol. 32. – №7. P.1820-2.
6. de Zoysa, I, Feachem RG. Interventions for the control of diarrhoeal disease among young children: rotavirus and cholera immunization // Bulletin of the World Health Organization. – 1985: Vol. 63. – P. 569–583.
7. Estes, M.K., Kapikian A.Z. Rotaviruses / Knipe D.M., Howley P.M. Fields Virology – 5 ed. – Lippincott Williams & Wilkins, 2007. – Ch. 52. – P. 1918-1975.
8. Gentsch, J.R., Glass R.I., Woods P., Gouvea V., Gorziglia M., Flores J., Das B.K., Bhan M.K. Identification of group A rotavirus gene 4 types by polymerase chain reaction // J. Clin. Microbiol. – 1992. – Vol.30. – №6. – P.1365–1373.
9. Gouvea, V, Glass RI, Woods P, Taniguchi K, Clark HF, Forrester B. Polymerase chain reaction amplification and typing of rotavirus nucleic acid from stool specimens. J Clin Microbiol. – 1990. – Vol. 28. – P. 276–82.
10. Haaheim, L.R., Pattison J.R., Whitely R.J. A Practical Guide to Clinical Virology. Second Edition // John Wiley&Sons – 2002. – P.121-126.
11. Haffejee, Ismail E. The epidemiology of rotavirus infections: a global perspective // Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition. – 1995. – Vol.20. – №3. – P.275-286.
12. LeBaron, CW, Lew J, Glass RI, Weber JM, Ruiz-Palacios GM. The Rotavirus Study Group (1990): Annual rotavirus epidemic patterns in North America: results of a five-year retrospective survey of 88 centers in Canada, Mexico, and the United States // Journal of the American Medical Association. – 1990. – Vol. 264. – P.983–988.
13. Parashar, U., Hummelman E.G., Breesee J.S., Miller M.A., Glass R.I. Global illness and deaths caused by Rotavirus // Emerg. Inf. Dis. – 2003. – Vol.9. - №2. – P.565-540.
14. World Health Organization. Generic protocol for (i) hospital-based surveillance to estimate the burden of rotavirus gastroenteritis in children and (ii) a community-based surveillance on utilization of health care services for gastroenteritis in children. – 2002. Geneva, WHO – P.67.
15. World Health Organization. Global Rotavirus Information and Surveillance Bulletin. – 2013. – Vol.7. – P.11

Поступила 26.06.2013 г.