Мальчиков И.А.[1], Аминев Р. М.[2], Рубова С.Р.[2], Григорьева Ю.В.[3], Ольков И.А.[1], Пацук Н.В.[1]

Эпидемиологические особенности острых респираторных вирусных инфекций в период циркуляции вирусов гриппа A(H1N1) и B

1 - ФБУН «Екатеринбургский НИИ вирусных инфекций» Роспотребнадзора, г. Екатеринбург, 2 - ФГУ «1026 ЦГСЭН» МО РФ, г. Екатеринбург, 3 - ГБОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России, г. Екатеринбург

Malchikov I.A., Aminev R. M., Rubova S.R., Grigorieva J.V.,. Olkov I.A., Patsuk N.V.

Epidemiological features of acute respiratory viral infections during the period of co-circulation of influenza A (H1N1) and B viruses

Резюме

С целью выявления характерных эпидемиологических особенностей респираторных вирусных заболеваний в период одновременной циркуляции вирусов гриппа А и В были проведены молекулярно-биологические и серовирусологические обследования заболевших гриппом и ОРВИ военнослужащих и населения г. Екатеринбурга в период эпидемического подъема заболеваемости 2009-2010 г.г. (1520 человек). В результате проведенного исследования отмечены основные эпидемиологические особенности эпидсезона, определено долевое участие возбудителей гриппа и других ОРВИ в этиологии респираторных заболеваний.

Ключевые слова: эпидемия гриппа, вирусы гриппа, респираторные вирусные инфекции

Summary

To reveal epidemiological features of acute respiratory viral infections (ARVI) during the period of co-circulation of influenza A and B viruses in Yekaterinburg, 1520 samples obtained from patients with ARVI and flu at municipal and military hospitals were tested by molecular biological and serological methods. Key epidemiological features and prevalence of influenza A and B viruses among other etiological agents of ARVI during the studied season were determined.

Keywords: flu epidemiology, influenza viruses, acute respiratory viral infections

Введение

Ежегодные лабораторные наблюдения за гриппозными эпидемиями с применением методов молекулярно-генетического анализа приобретают особую значимость в период развития пандемических событий, вызванных новым вирусом гриппа А. В 2009-2010 годах таким вирусом явился вирус A/California/07/09 (H1N1v). Основными методами, рекомендованными ВОЗ для распознавания пандемического гриппа, остаются полимеразно-цепная реакция (ПЦР) и серодиагностика. Раннее распознавание нового антигенного варианта проводилось по результатам обследования как отдельных случаев заболеваний, так и локальных эпидемических вспышек, вызванных новым вирусом гриппа A(H1N1v). Это предопределяло важность понимания особенностей глобального распространения гриппа, а также принятия необходимых и эффективных мер для организации противоэпидемических мероприятий в целях сдерживания темпов распространения пандемии и осуществления своевременной этиотропной терапии не только среди гражданского населения, но и в организованных воинских коллективах. Последние всегда имеют потенциальную опасность быстрого распространения инфекции [1,2].

Цель работы: выявить эпидемиологические особенности респираторных вирусных заболеваний в период одновременной циркуляции вирусов гриппа А и В по результатам эпидемиологического анализа, молекулярно-биологических и серовирусологических исследований, проведенных среди населения, в том числе у заболевших гриппом и ОРВИ военнослужащих дислоцированных в г. Екатеринбурге.

Материалы и методы

Анализ заболеваемости гриппом и ОРВИ в г. Екатеринбурге проводили по методике Федерального центра по надзору за гриппом и ОРЗ в России. Для определения сроков эпидемий учитывали эпидемические пороги, вычисленные за адекватный период наблюдения на основа-

нии средних показателей неэпидемической заболеваемости по календарным неделям и их верхним толерантным границам [3,4].

Для обследования больных были взяты мазки со слизистой полости носа, носоглоточные смывы, сыворотка крови у 1112 военнослужащих, заболевших острыми респираторными инфекциями и госпитализированных в лечебные учреждения Уральского военного округа. Наряду с этим, обследовано 408 доноров на наличие защитных титров антител к актуальным штаммам вирусов гриппа. Наблюдения проводили в период эпидемического подъема заболеваемости гриппом и ОРВИ 2010-2011 г.г. в г. Екатеринбурге.

Для диагностики гриппа и ОРВИ применяли комплекс методов: вирусологические – 446 проб, МФА (метод флуоресцирующих антител) – 281, ИФА (иммуноферментный анализ) – 281, ПЦР – 246 проб.

Выделение вирусов гриппа и аденовирусов проводили на перевиваемой линии клеток MDCK, полученной из НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского. Клетки выращивали в питательной среде Игла-МЕМ с 10% фетальной сыворотки. Накопление культуры клеток и размножение вирусов в монослое проводили по методике [5] и согласно требованиям методических рекомендаций [6].

Генетическую идентификацию вирусов гриппа А и В, в том числе вируса А(H1N1v), ДНК аденовирусов осуществляли методом ПЦР с использованием тест-систем «АмплиСенс Influenza virusA/B-FL», «АмплиСенс Influenza virus A/H1-swine-FL», «АмплиСенс Adenovirus-EPh» (производитель - ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, г. Москва). Постановку ПЦР проводили в соответствии с общепринятой методикой [7] или с инструкцией фирмы-изготовителя (ЦНИИ эпидемиологии, Москва).

Индикацию антигенов вирусов гриппа А и В, парагриппа, аденовирусов, РС-вируса в пробах, взятых со слизистой оболочки полости носа, проводили методом МФА с использованием «Иммуноглобулинов диагностических флуоресцирующих для быстрой диагностики гриппа и других ОРЗ» (производитель – НИИ гриппа, ООО «Предприятие по производству диагностических препаратов», г.Санкт-Петербург).

Для серодиагностики использовали ИФА с диагностикумами производства «Novatek» к ранним иммуноглобулинам против вирусов гриппа А1, А3, В, аденовируса и парагриппа.

Для изучения коллективного иммунитета среди населения к актуальным штаммам вирусов гриппа А и В были проведены серологические исследования в РТГА микрометодом в соответствии с общепринятой методикой [8].

Результаты и обсуждение

За анализируемый период подъем заболеваемости, вызванный активной циркуляцией пандемического вируса гриппа A/California/07/09 (H1N1), вируса гриппа B/Brisbane/60/2008, а также респираторными вирусами (в основном аденовирусами), зарегистрирован в г. Екатеринбурге с 47 календарной недели 15 - 21.11. 2010 г. по 9 неделю 21 - 27.02. 2011 г. и носил двухволновый характер.

Указанный период характеризовался активным распространением данных вирусов с вовлечением в эпидпроцесс всех возрастных групп и регистрируемой заболеваемостью гриппом и ОРВИ, превышающей эпидемические пороги, с максимальными показателями от 55,2 до 98,8 среди всего населения на 5-7-й неделе 2011 года. Пики заболеваемости приходились на 50-ю неделю 2010 г. и 6-ю неделю 2011 г.

Выявлены возрастные различия показателей заболеваемости гриппом и ОРВИ. Наиболее высокие зарегистрированы в период с 5-й по 8-ю неделю 2011 г. в возрастной группе детей 7-14 лет (от 145,2 до 425,2) и взрослых (от 56,8 до 115,2). Общая продолжительность эпидемии составила 12 недель, а показатель заболеваемости гриппом и ОРВИ всего населения г. Екатеринбурга был равен 4,1%.

Уровень максимальной заболеваемости гриппом и ОРВИ превышал летний ординар в 4,2 раза. Снижение показателей заболеваемости до сезонных уровней было отмечено к началу марта 2011 г.

Последующий подъем показателей заболеваемости ОРВИ в летний период 2011 г. (23-33 неделя) был связан с активизацией респираторных вирусов, особенно аденовирусов и парагриппа, что подтверждено данными лабораторных исследований.

При проведении диагностических исследований, в период эпидемического подъема заболеваемости гриппом и ОРВИ, установлена высокая частота инфицирования наблюдаемых лиц.

Методом полимеразной цепной реакции у 149 (62,1%) заболевших было обнаружено наличие РНК вирусов гриппа A/California/07/09 (H1N1v) у 18 (12,1%), вирусов гриппа В – у 3(2,0%), аденовирусов – у 128 (85,9%).

Иммунофлуоресцентным методом у 93 (33%) заболевших обнаружены антигены возбудителей гриппа и ОРВИ, из них вирусов гриппа А – у 2 (2,1%), гриппа В – у 7 (7,5%), парагриппа – у 6 (6,4%), аденовирусов – у 76 (81,7%), РС-вируса – у 2 (2,1%).

Методом ИФА у 80 (12,8%) обследованных больных обнаружены ранние антитела (IgA и IgM) к вирусу гриппа А у 41 (51,2%), гриппа В – у 12 (15,0%), парагриппа – у 3 (3,75%), аденовирусам – у 14 (17,5%) и РС-вирусу – у 10 (12,5%). Следует отметить, что в указанный период времени заболеваемость в г. Екатеринбурге сначала была вызвана распространением вирусов гриппа А, затем гриппа В.

Результаты вирусологических исследований, проведенных на клеточной культуре MDCK, показали, что только при оптимальных дозах заражения 0,1 ЦПД50/кл и концентрации трипсина 4 мкг/мл удавалось получать высокие титры вирусов (1:512). Максимальных титров гемагглютинины вируса A/California/07/09 (H1N1v) достигали уже на 2-е сутки.

Всего на культуре клеток MDCK выявлено 30 положительных образцов, из них идентифицировано и типировано 4 (13,3%), относящихся к пандемическому вирусу гриппа A(HINIv). Остальные относились к аденовирусам. Выделенные штаммы пандемического вируса грип-

па были подобны эталону A/California/07/09 (H1N1v) и взаимодействовали с гомологичной сывороткой до 1/2-1/8 гомологичного титра.

Исследование иммунной прослойки населения г. Екатеринбурга к актуальным штаммам вирусов гриппа показало, что в начале подъема заболеваемости этой инфекцией в октябре 2010 года количество серопозитивных лиц к вирусам гриппа A(H1N1) и A(H3N2) не превышало 45,0-68,7%, а к вирусам В – 50,0%. За период март-апрель месяцы 2011 г. в результате активизации циркуляции вируса гриппа A(H1N1) число лиц с условно-защитными титрами антител к этому вирусу возросло до 68,2%, к вирусу гриппа В до 76,6%.

Выводы

Анализ полученных результатов выявил основные эпидемиологические особенности сезона 2010-2011 гг.

1.Эпидемия гриппа 2010-2011г.г. в г. Екатеринбурге, по данным выделения вирусов, была смешанной этиологии, вызванной вирусом подтипа A(H1N1), с преобладанием вируса гриппа A/California/07/09 (H1N1v), и типа В.

2. Необычно раннее начало подъема заболеваемости в октябре-ноябре 2010 г. было обусловлено новым пандемическим штаммом вируса гриппа A(HlNlv) и его активным распространением.

3.Максимальные показатели заболеваемости регистрировали на 50-й неделе 2010 г. и 6-й неделе 2011 г. с последующим снижением до сезонных уровней к 10-й неделе.

4.Эпидемия гриппа сезона 2010-2011гг. в г. Екатеринбурге являлась 2-ой волной пандемического гриппа A(H1N1v) в России. По сравнению с предыдущей эпидемией гриппа A(H1N1v) 2009-2010 г.г., эта эпидемия была меньшей интенсивности, прежде всего, по вовлеченности отдельных возрастных групп населения городов: дети в возрасте до 6 лет практически не были вовлечены в эпидпроцесс, по продолжительности, по уровню заболеваемости всего населения.

5. Наиболее вовлеченными в эпидемический процесс, в период развития эпидемии, были дети 7-14 лет и взрослые.

6. Подъем заболеваемости был обусловлен участием в эпидпроцессе следующих респираторных вирусов: вирусы гриппа 9,6-14,1%, парагриппа – 6,4%, аденовирусы – 81,7- 85,9%, РС-вирус – 2,1%. Эпидемиологическая активность вирусов не отличалась от таковой предыдущего сезона.

7. Циркуляция возбудителей ОРВИ в воинских коллективах, дислоцированных в г. Екатеринбурге, соответствовала закономерностям эпидпроцесса характерного для всего городского населения.■

***Мальчиков И.А.**, д.м.н. руководитель лаборатории респираторных вирусных инфекций ФБУН «Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций» Роспотребнадзора, г. Екатеринбург; **Аминев Р.М.**, начальник центра ФГУ «1026 ЦГСЭН» МО РФ, г. Екатеринбург; **Рубова С.Р.**, зав. отделением ООИ ФГУ «1026 ЦГСЭН» МО РФ, г. Екатеринбург; **Григорьева Ю.В.** – к.б.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ГБОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России, г. Екатеринбург; **Ольков И.А.** – м.н.с., ФБУН «Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций» Роспотребнадзора, лаборатория респираторных вирусных инфекций, г. Екатеринбург; **Пацук Н.В.** – уч.секретарь ФБУН «Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций» Роспотребнадзора, г. Екатеринбург; Автор, ответственный за переписку - Мальчиков И.А., 620030, г. Екатеринбург, ул. Летняя, д. 23, ФБУН ЕНИИВИ, тел (343) 261-99-47, e-mail: virus@etel.ru*

Литература:

1. Гендон Ю.З. Пандемия гриппа: предположения и факты. Журн. микробиол. 2008, 5:109-118.
2. Beveridge W. The chronicle of influenza pandemics. Hist.Phil.Life Sci. 1991, 13: 223-235.
3. Методические указания по оперативному анализу и прогнозированию эпидемиологической ситуации по гриппу и ОРЗ. Л.1987.
4. Методические указания по оперативному анализу и прогнозированию эпидемиологической ситуации по гриппу и ОРЗ М.-СПб. 1999.
5. Гендон Ю.З., Маркушин С.Г., Акопова И.И. и др. Разработка культуральной живой холодадаптированной реассортантной гриппозной вакцины //Вопр.вирусол.-2003, 2:12-17.
6. Выделение вирусов гриппа в клеточных культурах и куриных эмбрионах и их идентификация. Метод. реком. А.А. Соминина, Е.И.Бурцева (ред). СПб., 2006.
7. CDC protocol of Real-time RT-PCR for influenza A(H1N1), WHO, 2009, http://www.who.int/resources/publications/swinefllu/realtimeptper.
8. Инструкция по применению диагностикумов гриппозных для реакции торможения гемагглютинации сухих (ДИГ). 2009, 1-5, End/ 30/01/2009 №01-11/9-09.