

# ПРОФІЛАКТИЧНА МЕДИЦИНА

ЕПІДЕМІОЛОГІЯ • МІКРОБІОЛОГІЯ • ВІРУСОЛОГІЯ  
ПАРАЗИТОЛОГІЯ • ІНФЕКЦІЙНІ ХВОРОБИ

Заснований у 1922 році  
Поновлений у 2007 році

№ 3-4 (29)/2017

НАУКОВО-ПРАКТИЧНИЙ ЖУРНАЛ

Видається щоквартально

Свідоцтво про державну реєстрацію КВ №13720–2694 ПР від 05.03.2008 р.

## ЗМІСТ

### ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Виноград Н.О., Васишин З.П., Козак Л.П.  
КЛІНІКО–ЕПІДЕМІОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВИПАДКІВ  
ВІРУСНОГО КЛІЩОВОГО ЕНЦЕФАЛІТУ З ХАРЧОВИМ  
ШЛЯХОМ ПЕРЕДАЧІ ЗБУДНИКА. ....2

Фомина Е.Г., Григорьева Е.Е., Владыко А.С.  
ПОВЫШЕНИЕ КАЧЕСТВА И БЕЗОПАСНОСТИ МОЛЕКУЛЯРНО-  
ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ АРЕНАВИРУСНЫХ  
ИНФЕКЦИЙ: ПОЛУЧЕНИЕ ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ КОНТРОЛЕЙ НА  
ОСНОВЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ РЕТРОВИРУСНЫХ ЧАСТИЦ. ....7

Сорокулова І., Глоба Л., Пустовий О., Водяний В.  
ПРОБІОТИЧНІ ЕФЕКТИ НОВОГО ШТАМУ BACILLUS. ....12

Амвросьева Т.В., Богуш З.Ф., Поклонская Н.В., Шилова Ю.А.,  
Казинец О.Н., Лозюк С.К., Аринович А.С., Кишкурно Е.П.  
КОНТАМИНАЦИЯ ОБЪЕКТОВ ГОСПИТАЛЬНОЙ СРЕДЫ  
КИШЕЧНЫМИ ВИРУСНЫМИ АГЕНТАМИ И ИХ РОЛЬ В  
ВОЗНИКНОВЕНИИ ИНФЕКЦИЙ, СВЯЗАННЫХ С ОКАЗАНИЕМ  
МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ. ....20

Щербінська А.М., Люльчук М.Г., Бабій Н.О., Гетьман Л.І.,  
Кирпичова В.В., Гриценко Т.В.  
ЕПІДЕМІЯ ВІЛ/СНІДУ В УКРАЇНІ ТА ВПЛИВ ЛЮДЕЙ, ЯКІ  
ВЖИВАЮТЬ ІН’ЕКЦІЙНІ НАРКОТИКИ НА ЇЇ РОЗВИТОК. ....28

Гопко Н.В., Задорожна В.І.  
ЕКОЛОГО–ЕПІДЕМІОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ЛЕПТОСПІРОЗУ В  
СУЧАСНИХ УМОВАХ. ....33

## CONTENTS

### VIEW AT THE PROBLEM

Vynograd N.O., Vasylyshyn Z.P., Kozak L.P.  
CLINICAL–EPIDEMIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF TICK-  
BORNE ENCEPHALITIS WITH FOOD–BORNE TRANSMISSION OF  
THE AGENTS. ....2

Fomina E.G., Grigorieva E.E., Vlydyko A.S.  
FIMPROVEMENT OF QUALITY AND SAFETY OF  
MOLECULAR GENETIC DIAGNOSTICS OF ARENAVIRUS  
INFECTIONS: CONSTRUCTION OF POSITIVE  
CONTROLS BASED ON RECOMBINANT RETROVIRAL  
PARTICLES.....7

Sorokulova I., Globa L., Pustovyy O., Vodyany V.  
SPROBIOTIC EFFECTS OF A NEW BACILLUS STRAIN.....12

Amvrosieva T.V., Bohush Z.F., Paklonskaya N. V., Shilova Yu.A.,  
Kazinets O. N., Lozyuk C.K., Arinovich A.S. Kishkurno E. P.  
CONTAMINATION OF OBJECTS OF THE HOSPITAL  
ENVIRONMENT BY ENTERIC VIRAL AGENTS AND THEIR  
ROLE IN THE EFFECT OF HEALTH CARE–ASSOCIATED  
INFECTIONS. ....20

Scherbinska A.M., Liulchuk M.G., Babii N.O., Getman L.I.,  
Kyrpichova V.V., Grytsenko T.V.  
THE HIV/AIDS EPIDEMIC IN UKRAINE AND IMPACT OF  
INJECTION DRUG USERS ON ITS DEVELOPMENT. ....28

Hopko N.V., Zadorozhna V.I.  
ENVIRONMENTAL AND EPIDEMIOLOGICAL ASPECTS OF  
LEPTOSPIROSIS IN CURRENT CONDITIONS. ....33

## ЗМІСТ

<i>Міроненко А.П., Смутко О.Ю., Голубка О.С., Онищенко О.В., Радченко Л.В., Фесенко А.Ю., Лейбенко Л.В., П'янкova О.В., Камінська Т.М., Валюк М.Д., Резвих В.Г., Бредихіна М.О., Штепа О.П., Гамій Л.Г., Тараненко С.Г., Тимофеева Л.В., Чергінець Л.М., Чубенко С.В., Яворська Л.Д., Ленга В.Р., Міронович Т.Л., Мельниченко Н.М., Потієнко Л.П., Котлік Л.С., Тарасюк О.Ф., Мордух С.Ф., Кітросан В.М., Дрогомирецька О.М., Федоренко Т.В., Зозуля Н.І., Шевцов С.М.</i> <b>ПІДСУМКИ ЕПІДЕМІЧНОГО СЕЗОНУ ГРИПУ 2016–2017 РОКІВ В УКРАЇНІ.</b> .....	<i>Mironenko A.P., Smutko O.Yu., Golubka O.S., Onishchenko O.V., Radchenko L.V., Fesenko A.Yu., Leibenko L.V., Pyankova O.V., Kaminskaya T.M., Valyuk M.D., Rezvyh V.G., Bredikhina M.A., Shtepa O.P., Gamiy L.G., Taranenko S.G., Tymopheeva L.V., Cherginets L.M. Chubenko S.V., Jaworska L.D., Lenga V.R., Mironovych T.L, Melnichenko H.M., Potienko L.P., Kotlik L.S., Tarasyuk O.P., Morduk S.F., Kitroansan V.M., Dragomiretskaya O.M., Fedorenko T.B., Zozulya N.I., Shevtsov S.M.</i> <b>RESULTS OF INFLUENZA EPIDEMIC SEASON 2016–2017 IN UKRAINE.</b> .....
<i>Оперчук Н.І., Маричев І.Л., Брижата С.І., Процап О.І.</i> <b>ІМУНОЛОГІЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ ВАКЦИНАЦІЇ ПРОТИ КОРУ У ДІТЕЙ, ЩО МЕШКАЮТЬ В ЗОНІ ДІЇ ПІДПРИЄМСТВ ЯДЕРНО-ПАЛИВНОГО ЦИКЛУ (КІРОВОГРАДСЬКА ОБЛАСТЬ).</b> .....	<i>Operchuk N.I., Marichev I.L., Bryzhata S.I., Protsap E.I.</i> <b>IMMUNOLOGICAL EFFECTIVENESS OF VACCINATION AGAINST CRIME OF CHILDREN LIVING IN THE ZONE OF INFLUENCE OF NUCLEAR-FUEL CYCLE ENTERPRISES (KIROVOGRAD REGION).</b> .....
<i>Покас О.В., Вишнякова Г.В., Марієвський В.Ф., Мурашко О.В., Глушкевич Т.Г., Сбоєва А.М.</i> <b>РЕЗИСТЕНТНІСТЬ ДО КАРБАПЕНЕМІВ СЕРЕД МНОЖИННОСТІЙКИХ ЕНТЕРОБАКТЕРІЙ В СУЧАСНИЙ ПЕРІОД В УКРАЇНІ.</b> .....	<i>Pokas O.V., Vyshnyakova A.V., Marievsky V.F., Murashko O.V., Glushkevich T.G., Sboeva A.M.</i> <b>CARBAPENEM-RESISTANCE AMONG MULTIPLE RESISTANT ENTEROBACTERIA IN THE MODERN PERIOD IN UKRAINE.</b> .....
<i>Руденко А.О., Муравська Л.В., Дьяченко П.А., Пархомець Б.А., Ключ В.Ю.</i> <b>ДОСВІД ЗАСТОСУВАННЯ ІПІДАКРИНУ У ХВОРИХ З ГЕРПЕСВІРУСНИМИ УРАЖЕННЯМИ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ.</b> ..62	<i>Rudenko A.O., Muravskaya L.V., Dyachenko P.A., Parkhomets B.A., Klius V.Yu.</i> <b>EXPERIENCE OF APPLICATION OF EPIDOCRINE IN PATIENTS WITH HERPESVIRUS DISEASES OF THE NERVOUS SYSTEM.</b> ..62
<i>Давидович Г.М., Гончаров А.Е., Карпов І.А.</i> <b>СИСТЕМНЫЕ ПОРАЖЕНИЯ ПРИ ИНФЕКЦИОННОМ МОНОНУКЛЕОЗЕ У ВЗРОСЛЫХ.</b> .....	<i>Davidovich G.M., Goncharov A.E., Karpov I.A.</i> <b>ADULT INFECTIOUS MONONUCLEOSIS SYSTEMIC CHANGES.</b> ...
<i>Коровін І.В., Бузун А.І., Стегній Б.Т.</i> <b>ВІРУСОНОСІЙСТВО, ЯК ФАКТОР СПРІЯННЯ КЛІНІЧНОМУ ПРОЯВУ БЕШИХИ СВИНЕЙ У ПРОМИСЛОВОМУ СВИНАРСТВІ.</b> .....	<i>Korovin I.V., Buzun A.I., Stegny B.T.</i> <b>HIDE HARBORIBG OF VIRUSES AS TRIGER OF SWINE ERYSIPELAS CLICAL MANIFESTATION IN SWINE INDUSTRY.</b> ...

## ОГЛЯДИ

<i>Самойлова Т. И.</i> <b>СОСТОЯНИЕ СИТУАЦИИ ПО РАСПРОСТРАНЕНИЮ ВИРУСА ЗИКА В МИРЕ НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ.</b> .....	79
<i>Э.Н. Жеребцова, С.Л. Рыбалко, В.П. Атаманюк, Ю.И. Порва, Д.Б. Старосила, О.Н. Дерябин,</i> <b>СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К МОДЕЛИРОВАНИЮ ИНФЕКЦИИ ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ ГЕПАТИТА С.</b> .....	90

## LOOK OVER

<i>Samoilova T.I.</i> <b>SITUATION ON ZIKA VIRUS SPREAD IN THE WORLD AT THE PRESENT STAGE.</b> .....	79
<i>Zherebtsova E.N., Rybalko S.L., Atamanyuk V.P., Porva Yu.I., Starosyla D.B., Deryabin O.N.</i> <b>MODERN APPROACHES TO THE MODELING OF INFECTION OF VAPUS HEPATITIS C.</b> .....	90

## ПІСЛЯДИПЛОМНА ОСВІТА

<i>Дзюблык І.В., Александріна Т.А., Кукало О.В.</i> <b>КОНСУЛЬТУВАННЯ І ТЕСТУВАННЯ НА ВІЛ-ІНФЕКЦІЮ: СУЧАСНІ ІННОВАЦІЙНІ МЕТОДИКИ ВИКЛАДАННЯ НА КАФЕДРІ ВІРУСОЛОГІЇ.</b> .....	97
<i>Дзюблык І.В., Соловйов С.О., Ковалюк О.В., Трохименко О.П.</i> <b>ОПЕРАЦІЙНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЕФЕКТИВНОСТІ СУЧАСНИХ ТЕСТІВ В ЕТІОЛОГІЧНІЙ ДІАГНОСТИЦІ ВІРУСНИХ ІНФЕКЦІЙ ТА ЇХ ІНТЕРПРЕТАЦІЯ.</b> .....	103
<i>Dzyublyk I.V., Aleksandrina T.A., Kukalo O.V.</i> <b>COUNSELING AND TESTING FOR HIV INFECTION: NOVEL INNOVATIVE METHODS OF TEACHING AT THE VIROLOGY DEPARTMENT.</b> .....	97
<i>Dzyublyk I.V., Soloviov S.O., Kovaliuk O.V., Trokhimenko O.P.</i> <b>OPERATIONAL CHARACTERISTICS OF EFFECTIVENESS OF MODERN TESTS IN THE ETHOLOGICAL DIAGNOSIS OF VIRAL INFECTIONS AND THEIR INTERPRETATION.</b> .....	103

## НАШІ ЮВІЛЯРИ

<i>До ювілею А.М. Щербінської.</i> .....	121
<i>До ювілею С.В. Федорченка.</i> .....	122

УДК 616.988.25-002.954.2

Виноград Н.О., Василюшин З.П., Козак Л.П.

## КЛІНІКО-ЕПІДЕМІОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВИПАДКІВ ВІРУСНОГО КЛІЩОВОГО ЕНЦЕФАЛІТУ З ХАРЧОВИМ ШЛЯХОМ ПЕРЕДАЧІ ЗБУДНИКА

*Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, м. Львів*

*Описано клінічний перебіг вірусного кліщового енцефаліту, обумовленого аліментарним шляхом зараження людей на ендемічних територіях в західному регіоні України.*

**Ключові слова:** вірусний кліщовий енцефаліт, харчовий шлях зараження, двохвильова гарячка.

Вірусний кліщовий енцефаліт (ВКЕ) – це вірусна зооантропонозна природно осередкова хвороба, що спричиняється вірусами кліщового енцефаліту, які належать до екологічної групи арбовірусів родини Flaviviridae роду Flavivirus. За сучасними даними, ареал поширення ВКЕ охоплює 28 країн Євразії та Північну Америку. Межі ареалу ВКЕ на євразійському континенті сягають від берегів Атлантичного до Тихого океану, включаючи 8 основних регіонів, на півдні проходить у субтропіках, а на півночі – у Норвегії, близько 50°-60° північної широти [3, 7, 17].

За МКХ-10 розрізняють далекосхідний кліщовий енцефаліт (російський весняно-літній енцефаліт) – А84.0; центральноєвропейський кліщовий енцефаліт – А84.1; інший кліщовий вірусний енцефаліт – А84.8; кліщовий вірусний енцефаліт, не уточнений – А84.9. Встановлено три основних генотипи вірусів кліщового енцефаліту: далекосхідний, сибірський і західноєвропейський [3, 7, 19]. Молекулярно-генетичні дослідження збудників кліщового енцефаліту на ендемічних територіях дозволили виявити взаємозв'язок генотипу з вірулентністю, патогенезом, епідеміологічними і клінічними особливостями захворювання [3, 16, 19].

Вірусний кліщовий енцефаліт – гостре інфекційне захворювання, при якому переважно уражаються центральна і периферійна нервова системи, у частини пацієнтів хвороба може завершитися паралічем і / чи летальним вислідом. Клінічний перебіг захворювання в Європі легший, чим у східній частині ареалу ВКЕ, і летальність становить 1-3 % та 20-40% відповідно [12, 13, 20]. Тяж-

кість захворювання залежить від здатності вірусу долати гематоенцефалічний бар'єр, вражаючи або не вражаючи головний мозок.

Окрім того, ВКЕ може маніфестувати іншими клінічними симптомокомплексами, зокрема, ураженнями травного тракту, про що повідомлялося багатьма авторами [1, 3, 7]. Ураження травного тракту притаманні для гарячкової та двохвильової форм захворювання, в більшості випадків, з'являються на початку захворювання або ще в інкубаційному періоді та передують появі ознак ураження нервової системи [3, 7]. Останнім часом встановлено зміни клініко-епідеміологічних проявів ВКЕ, які зводяться до зростання частки аліментарного шляху інфікування з виникненням сімейно-групових спалахів, збільшення частоти двохвильового перебігу захворювання, збільшення частки вогнищевих форм із поліоенцефаломіслітичним і полірадикулоневротичним синдромами [1, 5, 10].

ВКЕ належить до групи захворювань з декількома механізмами передачі збудника інфекції. Поряд із основним – трансмісивним механізмом передачі вірусу, реєструється і харчовий шлях, де чинниками передачі є сире молоко та молокопродукти від кіз або корів, інфікованих вірусом кліщового енцефаліту. Домашні тварини, частіше кози, вівці, корови, інфікуються під час випасу в диких біотопах, і також є джерелами збудника інфекції [1, 5, 6, 12]. При аліментарному зараженні людей вхідними воротами вірусу є слизова оболонка травного тракту, тому спочатку спостерігається вісцеральна фаза з вірусемією і реплікацією вірусу у внутрішніх органах, а в подальшому виникає вторинна вірусемія з ураженням ЦНС (двохвильовий менінгоенцефаліт).

Такий клінічний перебіг ВКЕ частіше реєструється в природних осередках на території Європи, в тому числі в Україні (20 %), має доброякісний перебіг і характеризується розвитком двофазної температурної реакції,

тривалістю кожна 2-15 днів з інтервалом 1-2 тижні, переважанням загально-інтоксикаційного синдрому під час першої температурної хвилі та розвитком менінгеальних і загальномоозкових симптомів при повторному підвищенні температури тіла зі швидкою позитивною динамікою і одужанням без залишкових явищ [7, 8]. Хоча також описані випадки тяжкого перебігу захворювання при аліментарному зараженні – у формі менінгоенцефаліту із летальним завершенням [1, 5, 10].

Літературні джерела подають хроніку спалахів ВКЕ аліментарного походження від 50-х років. ВКЕ у формі двохвильового менінгоенцефаліту реєструвався у північно-західній частині гірської зони Закарпатської області, де за 1957-1961 роки зареєстровано більше 70 випадків захворювання, що були епідеміологічно пов'язані з вживанням контамінованого козячого молока [4]. У Чехії в 1951 році було зареєстровано 660 випадків ВКЕ аліментарного походження [3]. У 60-ті роки на ендемічних територіях щодо ВКЕ переважав аліментарний шлях зараження вірусом, де чинником передачі було молоко кіз. У Словаччині спалахи ВКЕ, пов'язані з харчовим шляхом інфікування, були зареєстровані в 1974, 1984, 1989, 1993 роках, усі були пов'язані спільним чинником передачі – домашнім сиром [3, 14]. У Білорусі за 1954-1992 роки третина ( $31,0 \pm 6,1$  %) випадків ВКЕ були обумовлені аліментарним шляхом зараження, хворі вживали козяче і коров'яче термічно не оброблене молоко, з формуванням епідемічних осередків із 2-5 випадками [3, 8].

На початок 90-х років у Криму на харчовий шлях зараження припадало 3,1% випадків, у Волинській області у десятеро більше – 32,2%, причому зараження людей ставалося внаслідок вживання у їжу сирого коров'ячого молока [2, 6]. На ендемічних територіях щодо ВКЕ у РФ щорічно реєструються сімейні групові спалахи у малозабезпечених сім'ях, де утримуються козячі господарства [1, 5, 10]. Сімейний спалах західного ВКЕ аліментарного походження 1995 року в Білорусі охопив 6 осіб, у тому числі 4 дітей, які вживали сире козяче молоко. Захворювання маніфестувало двофазним перебігом гострого періоду і розвитком неврологічних порушень у другій фазі захворювання [11]. У 2000 році описано родинний спалах аліментарного ВКЕ в РФ, де діти хворіли на тяжку менінгоенцефалітичну форму, а у дорослої особи реєструвався ВКЕ у вигляді двохвильової гарячки середнього ступеня тяжкості [1, 5].

У 2015 році в Білорусі було зафіксовано 10 випадків

зараження вірусом кліщового енцефаліту при вживанні в їжу не пастеризованого молока від кіз [8].

**Мета роботи** – вивчити клінічний перебіг ВКЕ з харчовим шляхом передачі збудника у хворих з ендемічних територій заходу України.

### Матеріали та методи

Проведено стандартизоване клінічне і лабораторне обстеження хворих із підозрою на ВКЕ при госпітальному нагляді за сезонними гарячковими станами; визначення IgM і IgG до ВКЕ в парних сироватках крові методом ІФА; оцінювання клінічних і епідеміологічних анкет; статистичне оброблення матеріалів.

### Результати та їх обговорення

Серед 655 обстежених пацієнтів із сезонними гарячковими станами у 76 осіб було виявлено в сироватках крові антитіла до ВКЕ у діагностичних титрах, що становило ( $11,6 \pm 1,2$ ) % від усіх досліджень.

Із числа встановлених обставин інфікування на трансмісивний шлях припадало ( $21,7 \pm 1,6$ ) %, а на аліментарний – ( $78,3 \pm 1,6$ ) %. На території дослідження добре розвинене скотарство, в господарствах утримуються корови, буйволи та кози і значна частина населення вживає сире молоко і молокопродукти від них. У двох випадках було повідомлено, що влітку в господарстві хворіли кози, що виявлялося у зниженні надоїв, активності тварин і маститу. Із верифікованих випадків ВКЕ шість ( $7,9 \pm 1,0$ ) % були завісні: три – із Угорщини, де пацієнти відвідували ферму; один – із м. Іллічівська, де хворий відпочивав у рекреаційній зоні; у двох пацієнтів встановити місце зараження достовірно не вдалося через постійну міграцію їх по всій Україні (ромське населення). Ніхто із цих хворих не вказував на факт присмокування кліщів у межах максимального інкубаційного періоду до початку хвороби.

Випадки ВКЕ було зареєстровано у січні та ранньої весни (у березні). У двох випадках інфікування було пов'язане із споживанням у їжу бринзи домашнього приготування, що зберігалася від листопада в пивниці.

Клінічна маніфестація ВКЕ із одноквильовою гарячкою відзначалася у ( $32,8 \pm 5,4$ ) % хворих із легким перебігом захворювання, у решти при двохвильовій гарячці відзначався середньотяжкий або тяжкий клінічний перебіг хвороби.

Прикладами ВКЕ з харчовим шляхом передачі збудника можуть бути наступні клінічні випадки, які спостерігалися нами при проведенні госпітального нагляду за сезонними гарячковими станами.

**Клінічний випадок 1.**

Хворий Б., 67 років, пенсіонер, звернувся за медичною допомогою на 5 день захворювання зі скаргами на підвищення температури тіла, однохвильову гарячку в межах 37,8°-39°С, нездужання, головний і ретроорбітальний біль, гикавку та візуальні дисфункції; втрату апетиту, нудоту, блювоту та пронос, а також болі у суглобах і м'язах. При огляді відзначено виражений кон'юнктивіт і склерит, почервоніння та набряк обличчя, жовтяничність шкірних покривів, а пальпаторно – збільшення печінки. Крім того, пацієнт мав головокружіння і гіпотонію (100/70 мм рт. ст.).

Попередній діагноз при поступленні: «ГРВІ. Інтоксикаційний синдром. Лептоспіроз?».

У подальшому виявлено порушення функції сечовидільної системи: олігоурія (2 дні), альбумінурія (0,09 г/л), гематурія (0-1 в п/з), циліндрурія (зернисті 2-3 в п/з). Клінічні лабораторні результати дослідження крові були наступні: ШОЕ – 26 мм/год, лейкоцити –  $4 \times 10^9$ /л, максимальний рівень лейкоцитозу –  $14,8 \times 10^9$ /л, тромбоцитопенія в межах 132-148 тис. Од/мкл, максимальний рівень креатиніну у крові становив 155 мкмоль/л, АЛТ – 1,5 мкмоль/л.

Із епідеміологічного анамнезу встановлено, що хворий проживав у місті, але щодня відвідував літній дачний будинок, де приймав участь у сільськогосподарських роботах недалеко від лісової зони, відпочивав у лісі, збирав гриби та ягоди, а також утримував у господарстві кози, які випасав на околиці села. Хворий часто вживав в їжу сире козяче молоко та молокопродукти від власної худоби. Зі слів пацієнта встановлено, що близько двох тижнів до початку захворювання, він споживав у їжу молоко від хворої кози, яка мала підвищену температуру, мастит та відмовлялася від кормів. Хворий заперечував факт присмокування кліщів у попередні два місяці перед початком хвороби.

Проведене обстеження парних сироваток крові на наявність антитіл до вірусу кліщового енцефаліту методом ІФА дозволило серологічно підтвердити діагноз ВКЕ.

На 20 день, після курсу лікування, у задовільному стані хворого було виписано із стаціонару.

**Клінічний випадок 2.**

Пацієнт І., 60 років, водій за професією, проживав у сільській місцевості, поблизу лісової території (відстань садиби від лісу – 0,01 км), у власному господарстві утри-

мував корови, які випасали на околицях села, в лісі; займався сільськогосподарськими роботами на присадибній ділянці. У харчовому раціоні використовував сире молоко і молокопродукти від корови. Зі слів хворого за минулі роки неодноразово відзначав у себе укуси кліщів. На передодні захворювання в терміні 6 тижнів присмокування кліщів чи укуси інших комах заперечував.

Хворий звернувся за медичною допомогою та був госпіталізований у кінці серпня зі скаргами на гарячку, яка на момент поступлення становила 39,4°С, найвищі показники температури тіла сягали 39,9°С. Гарячка мала двохвильовий характер: перша хвиля тривала 5 днів. Крім того, хворого турбували виражений головний біль, нездужання, втрата апетиту та болі у суглобах та м'язах, особливо нижніх кінцівок; кашель та болі в горлі (фарингіт). При пальпації відзначалося збільшення границь печінки. Об'єктивно: еритема обличчя і шиї. Також пацієнт скаржився на головокружіння, підвищену пітливість та безсоння. Артеріальний тиск був межах вікової норми (мінімальний рівень гіпотонії становив 110/70 мм рт. ст., максимальний рівень гіпертонії – 140/90 мм рт. ст.).

Попередній діагноз при поступленні до стаціонару: «Лихоманка неясного генезу».

Клінічні лабораторні дослідження крові: ШОЕ – 25 мм/год, лейкоцити –  $5,0 \times 10^9$ /л,  $6,4 \times 10^9$ /л, максимальний рівень лейкоцитозу –  $9,6 \times 10^9$ /л, тромбоцити – 240 тис. Од/мкл, максимальний рівень креатиніну у крові становив 120,5 мкмоль/л, АЛТ – 0,25 мкмоль/л.

У хворого відзначалася 1 денна олігоурія. Дослідження сечі: альбумінурія (опалесц.), гематурія (Er –  $2,5 \times 10^3$  ммЗ по Нечипоренко), циліндрурія (5-6 солеві, 2-3 зернисті в п/з).

Сироватки крові хворого досліджено серологічним методом (ІФА) для виявлення специфічних антитіл проти вірусу кліщового енцефаліту. Для дослідження було відібрано три зразки сироватки крові: на 5-й, 10-й та 17-й дні захворювання. У всіх трьох зразках виявлено імуноглобуліни класу IgM до збудника ВКЕ в діагностичних титрах.

Апірексичний період тривав 7 днів, друга хвиля гарячки – 4 дні, температура тіла була в межах 37,2°-37,4°С.

У задовільному стані пацієнта було виписано на 25 день від початку захворювання.

Відсутність в обох наведених вище випадках захворювань анамнестичних епідеміологічних даних щодо напа-

ду і присмокування кліщів або інших комах у проміжок часу, що відповідав максимальному інкубаційному періоду ВКЕ, дозволяють з високим ступенем ймовірності стверджувати про реалізацію харчового шляху інфікування збудником кліщового енцефаліту. Враховуючи довготривале збереження інфекційності вірусу кліщового енцефаліту (до 3 місяців) у термічно необроблених молоці та молокопродуктах, існує реальна небезпека зараження людей у міжепідемічний період, як це мало місце в описаних нами випадках.

#### Висновки:

На теренах заходу України реєструються випадки ВКЕ з харчовим шляхом зараження людей цим небезпечним вірусом. Така форма захворювання має схожий клінічний перебіг, який описаний дослідниками як західноєвропейський ВКЕ, обумовлений циркуляцією цього генотипу вірусу в країнах, що межують з нашою державою. Цей факт вимагає посилення профілактичних і протиепідемічних заходів на ендемічних територіях, серед яких визначальними є санітарно просвітницька робота з населенням щодо термічного оброблення молока і молокопродуктів.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Бондаренко А.Л. Современная эпидемиологическая ситуация по клещевому энцефалиту в Кировской области / А.Л. Бондаренко, Г.А. Русских, Н.С. Хмелевская [и др.] // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2002. – № 3. – С. 42-45.
2. Виноград І.А. Варіанти клінічного перебігу кліщового енцефаліту на Волині / І.А. Виноград, Р.С. Морочковський, М.А. Андрейчин // Інфекційні хвороби. – 1999. – № 4. – С. 72-74.
3. Клещевые энцефалиты Евразии. / В.И. Вотяков, В.И. Злобин, Н.П. Мишаева. – Иркутск: Наука СО РАМН, 2002. – 435 с.
4. К изучению некоторых вопросов эпидемиологической географии природно-очаговых инфекций в Закарпатской области / Н.Ф. Грищенко, С.М. Флек, Н.Н. Сакаль и др. // Материалы республиканской конференции по медицинской географии «Итоги и перспективы медико-географических исследований». – Полтава. – 1973. – С. 108-109.
5. Клещевой энцефалит в Ярославской области: эпидемиологические аспекты, профилактика / Т.А. Дружинина, В.В. Погодина, Н.Г. Бочкова [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2002. – № 5. – С. 13-16.
6. Клещевой энцефалит в Крыму (итоги двадцатилетнего изучения) / И.Л. Евстафьев // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2001. – № 2. – С. 53-57.
7. Клещевой энцефалит: Руководство для врачей. / А. П. Иерусалимский. – Новосибирск, 2001. – 359 с.
8. Клещевым энцефалитом ежегодно в Беларуси заболевают около сотни человек... Режим доступу: [http://naviny.by/rubrics/society/2016/05/18/ic\\_news\\_116\\_475146](http://naviny.by/rubrics/society/2016/05/18/ic_news_116_475146)
9. Корзан А.И. Отдельные вопросы эпидемиологии, клиники центральноевропейского (западного) клещевого энцефалита в Брестской области Республики Беларусь. / А.И. Корзан, И.И. Протас // Мед. паразитология и паразитарные болезни. – 2004. – № 2. – С. 14-19.
10. Леонова Г.Н. Исторические этапы изучения клещевого энцефалита на Дальнем Востоке / Г.Н. Леонова // ЖМЭИ. – 1997. – № 5. – С. 91-93.
11. Можейко Л. П. Семейная вспышка западного клещевого энцефалита / Л. П. Можейко, Е. Л. Можейко // Здравоохранение Респ. Беларусь. – 1997. – № 10. – С. 54-55.
12. Amber D. Butler. Tick-borne disease preventive practices and perceptions in an endemic area / Amber D. Butler, Tannaz Sedghi, Joann R. Petrini, Ramin Ahmadi. // Ticks and Tick-borne Diseases. – 2016. – V. 7, Issue 2. – P. 331-337.
13. Epidemiological situation of tick-borne encephalitis in the European Union and European Free Trade Association countries. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control; 2012. – Режим доступу: [http://www.ecdc.europa.eu/en/healthtopics/emerging\\_and\\_vector-borne\\_diseases/tick\\_borne\\_diseases/tick\\_borne\\_encephalitis/Pages/Publications.aspx](http://www.ecdc.europa.eu/en/healthtopics/emerging_and_vector-borne_diseases/tick_borne_diseases/tick_borne_encephalitis/Pages/Publications.aspx).
14. Lukan M. Climate warming and tick-borne encephalitis, Slovakia / M. Lukan, E. Bullova, B. Petko // Emerg. Infect. Dis. – 2010. – Режим доступу: <http://www.cdc.gov/EID/content/16/3/524.htm>.
15. Lyme Borreliosis and Tick-Borne Encephalitis. / P. Oschmann, P. Kraiczy et al. – Eds. Bremen, Germany. – 1999. – 144 p.
16. Oechslin P.C. Prevalence of tick-borne pathogens in questing Ixodes ricinus ticks in urban and suburban areas of Switzerland / P.C. Oechslin, D. Heutschi, N. Lenz et al. // Parasit Vectors. – 2017. – V. 10(1). – P. 558. DOI: 10.1186/s13071-017-2500-2.
17. Patkonjak A. Molecular Detection and Serological Evidence of Tick-Borne Encephalitis Virus in Serbia / A.

Patkonjak, T. Petrović, E. Ristanović at all. // Vector Borne Zoonotic Dis. – 2017. – DOI: 10.1089/vbz.2017.2167. [Epub ahead of print].

18. Tick-borne encephalitis in Europe, 2014. – Режим доступу: <https://www.aas.ru/file/TBE-in-Europe-English.pdf>.

19. Trachev S.V. New genetic lineage within the Siberian subtype of tick-borne encephalitis virus found in Western

Siberia, Russia / S.V. Trachev, G.S. Chicherina, I. Golovjova at all. // Infect. Genet. Evol. – 2017. – V. 56. – 36-43. DOI: 10.1016/j.meegid.2017.10.020. [Epub ahead of print].

20. Vynograd N. Tick-borne Diseases in West Ukraine / N. Vynograd, Z. Vasylyshyn, E. W. Mohareb, L. Kozak., K. Earhart // International Conference on Emerging Infectious Diseases 2006. – Atlanta (USA). – 2006. – P. 153.

### КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВИРУСНОГО КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА С ПИЩЕВЫМ ПУТЕМ ПЕРЕДАЧИ ВОЗБУДИТЕЛЯ

Виноград Н.А., Васыльшин З.П., Козак Л.П.

Львовский Национальный медицинский университет имени Данило Галицкого

Описано клиническое течение вирусного клещевого энцефалита при алиментарном пути заражения людей на эндемических территориях западного региона Украины.

**Ключевые слова:** вирусный клещевой энцефалит, алиментарный путь заражения, двухволновая лихорадка.

### CLINICAL-EPIDEMIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS WITH FOOD-BORNE

Vynograd N.O., Vasylyshyn Z.P., Kozak L.P.

Danylo Galytsky Lviv State Medical University

The clinical course of tick-borne encephalitis with food-borne transmission of the agents on the endemic territories of the west of Ukraine is described.

**Keywords:** tick-borne encephalitis, alimentary mode of agents, double waved fever

УДК 578.2

Е.Г. Фомина, Е.Е. Григорьева, А.С. Владыко

## ПОВЫШЕНИЕ КАЧЕСТВА И БЕЗОПАСНОСТИ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ АРЕНАВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ: ПОЛУЧЕНИЕ ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ КОНТРОЛЕЙ НА ОСНОВЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ РЕТРОВИРУСНЫХ ЧАСТИЦ

Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, г. Минск, Республика Беларусь

Технология получения рекомбинантных ретровирусных частиц, содержащих в составе генома диагностические гены-мишени вирусов Ласса и лимфоцитарного хориоменингита, является безопасным и технологически выгодным способом наработки положительных контрольных образцов с целью комплектации диагностических тест-систем для выявления РНК-геномов этих аренавирусов методом ОТ-ПЦР.

**Ключевые слова:** геморрагическая лихорадка Ласса, вирус лимфоцитарного хориоменингита, ретровирусный вектор, «пакующая» клеточная линия, положительный РНК-контроль.

Одним из основных методов молекулярной диагностики вирусных инфекций в последние годы стала полимеразная цепная реакция (ПЦР). В Республике Беларусь на базе лабораторий РНПЦ эпидемиологии и микробиологии разрабатывается ряд тест-систем для выявления геномов РНК-содержащих вирусов методом обратной транскрипции-полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР). Создание современных диагностических наборов на основе этого метода предполагает наличие в комплектации тест-системы положительного контрольного образца, использование которого позволяет контролировать прохождение всех этапов анализа (вы-

деление РНК, реакцию обратной транскрипции, ПЦР), оценить влияние ингибиторов, содержащихся в биологических жидкостях, на ферменты реакций ОТ-ПЦР, а также дает возможность количественного определения образовавшихся продуктов [1].

Описаны в литературе и применяются на практике различные типы контрольных образцов. Однако особые сложности возникают при разработке положительных стандартов, где в качестве матрицы необходимо использовать РНК. Это связано с тем, что молекулы РНК являются нестабильными и легко подвергаются расщеплению рибонуклеазами. Существует несколько типов положительных РНК-контролей: транскрибированные *in vitro* молекулы РНК, биологические стандарты (культивируемые вирусы, вирусосодержащие сыворотки), генно-инженерные стандарты (рекомбинантные бактериофаги и вирусы животных) [6, 8].

Высокотехнологичным способом получения РНК-контролей является использование для их создания рекомбинантных ретровирусных частиц, в геном которых включены специфические фрагменты диагностически значимых генов-мишеней РНК-овых вирусов.

Подобный тип положительных образцов обладает рядом преимуществ: обеспечивает стабильность геномной РНК, позволяет контролировать этап выделения РНК аналогично выделению вируса из биологической жидкости; дает возможность определять титр ретровирусных частиц, а также позволяет исключить при производстве тест-систем работу с инфекционным возбудителем, предполагающую такие биологически опасные процедуры, как наработка биомассы, концентрирование и очистка вируса.

Разработка этой технологии особенно актуальна для патогенов, которые не могут быть культивированы *in vitro* (вирус гепатита С), а также для особо опасных вирусов, работа с которыми требует соблюдения определенных правил безопасности [1, 2]. Проведение генно-инженерных манипуляций и использование для этих целей ретровирусных векторов на основе генома вируса лейкемии мышей Молони (MoMuLV) позволяет проводить исследования в условиях, необходимых для работы с микроорганизмами, относящимися по современной классификации к патогенным биологическим агентам первой и второй групп риска.

Технология получения контрольных образцов на основе оригинальных ретровирусных векторов была

использована при разработке диагностических тест-систем для выявления геномных РНК ряда ареновирусов методом ОТ-ПЦР: «Тест-системы диагностической для выявления РНК-генома вируса лимфоцитарного хориоменингита методом ПЦР с детекцией продуктов реакции в режиме реального времени» («Белар-ЛХМ-ПЦР/РВ») и «Тест-системы для индикации возбудителей природно-очаговых, арбовирусных и особо-опасных вирусных инфекций методом обратной транскрипции-полимеразной цепной реакции» («Белар-Буниа-Флави-Фило-Арена-ПЦР»).

Необходимость повышения качества диагностики вирусного лимфоцитарного хориоменингита обусловлена повсеместным распространением вируса ЛХМ через природных хозяев; описанными в литературе случаями заражения вирусом ЛХМ и последующей гибели реципиентов при пересадке органов [3, 7, 14]; существенными последствиями, возникающими при внутриутробном инфицировании: смертность при врожденной патологии у детей составляет 35%, а 64% из них имеют серьезные неврологические заболевания [4, 10]; а также сходством клинических проявлений этой инфекции с симптомами, развивающимися при поражении цитомегаловирусами и токсоплазмой, вследствие чего много случаев врожденного вирусного лимфоцитарного хориоменингита остаются нераспознанными.

Несмотря на то, что геморрагическая лихорадка Ласса не является заболеванием, эндемичным для Республики Беларусь, интенсивные международные связи экономического, культурного и туристического характера, а также возрастающие миграционные потоки африканского населения не исключают случаев заноса этого вируса на территорию страны. Своевременная и точная диагностика возбудителя является важным звеном комплекса мероприятий, направленных на предупреждение распространения инфекции и обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения [11].

**Цель работы** – разработка положительных контрольных образцов на основе рекомбинантных ретровирусных частиц, содержащих фрагменты диагностически значимых участков генома вирусов лимфоцитарного хориоменингита и Ласса, для использования их в качестве контрольной положительной пробы в составе тест-систем для выявления РНК-гено-



мов этих аренавирусов методом полимеразной цепной реакции.

#### Материалы и методы

Вирус Ласса (Lassa virus; штамм Josiah) и вирус ЛХМ (lymphocytic choriomeningitis virus – LCMV; штамм Armstrong) получен от доктора G. Van der Groen (Институт тропической медицины, Антверпен, Бельгия).

Для выделения РНК из вирусосодержащего материала использовали набор реагентов QIAamp MinElute Virus Spin Kit (Qiagen, США) в соответствии с инструкцией производителя.

Реакцию обратной транскрипции проводили со случайными праймерами с использованием набора «Реверта-Л» (производство ФГУН ЦНИИ эпидемиологии, РФ) согласно прилагаемой инструкции.

Для постановки полимеразной цепной реакции в пробирки для амплификации (Bio-Rad) вносили 5 мкл 10xTaq-буфера, 6 мкл MgCl<sub>2</sub> (25 мМ), 1 мкл смеси дНТФ (10 мМ), по 15 пМ соответствующих праймеров, 0,5 мкл Taq ДНК-полимеразы (5 ед/мкл), 5 мкл ОТ – продукта (кДНК), деионизованную воду до конечного объема 50 мкл. Пробирки переносили в термоциклер, запрограммированный для выполнения соответствующей программы амплификации.

Для создания гибридных векторов использовали коммерческий набор реагентов PCR JET Cloning Kit (Thermo Scientific, K1232). Предварительно проводили очистку встраиваемого ДНК-фрагмента с использованием набора реагентов QIAquick Gel Extraction Kit (Cat. № 28704, Qiagen) согласно прилагаемой инструкции. В качестве «стандартного» ретровирусного вектора был использован вектор серии рLN (рLNCX) [12].

Гидролиз и лигирование плазмид и амплифицированных фрагментов проводили соответствующими ферментами согласно рекомендациям фирмы-производителя Thermo Scientific.

Подготовку компетентной клеточной культуры, трансформацию бактериальных клеток плазмидной ДНК, выделение плазмид проводили в соответствии с методиками, описанными в руководстве [13].

Культивирование клеточных линий и инфицирование клеток ретровирусным вектором посредством полибреновой методики трансфекции осуществляли согласно [5].

Титр ретровирусных частиц определяли на индикаторной клеточной линии с использованием цитофлюо-

риметра и рассчитывали по формуле: титр вируса =  $A \times B / 100 \times C$ , где А – количество клеток в культуральном сосуде на момент инфицирования; В – количество флюоресцирующих клеток; С – корректирующий коэффициент, учитывающий разведение супернатанта, нанесённое на клетки.

#### Результаты и их обсуждение

На основании базы данных GenBank и анализа данных научных публикаций проведён анализ нуклеотидных последовательностей полноразмерных геномов штаммов вирусов Ласса и лимфоцитарного хориоменингита. Выбраны консервативные участки генома для подбора праймеров, позволяющие выявлять представленные в базе GenBank изоляты данных вирусов: для выявления генома вируса Ласса, комплементарные L-сегменту генома вируса и ограничивающие участок генома размером 198 пар нуклеотидов (п.н.) (позиции в геноме: 117-144 для прямого праймера, 314-288 для обратного праймера согласно последовательности нуклеотидов штамма Josiah); для выявления генома вируса ЛХМ: специфические олигонуклеотиды, комплементарные нуклеотидной последовательности генома вируса в 3'-нетранслируемой области S-сегмента и фланкирующие фрагмент генома размером 156 п.н. (позиции в геноме: 3222 -3240 для прямого праймера, 3361-3377 для обратного праймера согласно последовательности штамма Armstrong).

Подобранные пары праймеров использованы для получения ДНК-копий диагностически значимых фрагментов вирусных геномов. Полученные ампликоны клонированы по «тупым» концам в полилинкер плазмидного вектора рJET1.2/blunt. Данный вектор является удобным для клонирования, т.к. содержит «суицидный ген», благодаря чему после трансформации компетентных клеток *E.coli*, штамм *XLblue* лигазной смесью селективируются только те бактериальные клоны, которые содержат плазмидную ДНК со встроенной последовательностью. Специфичность клонированных фрагментов подтверждена методом прямого секвенирования с использованием набора BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit на генетическом анализаторе ABI PRISM® 3100-Avant (Applied Biosystems, США).

На следующем этапе диагностические фрагменты вирусов Ласса и ЛХМ переклонированы в полилинкер ретровирусного вектора рLNCX, в состав которого включены ряд регуляторных элементов (цис-элемен-

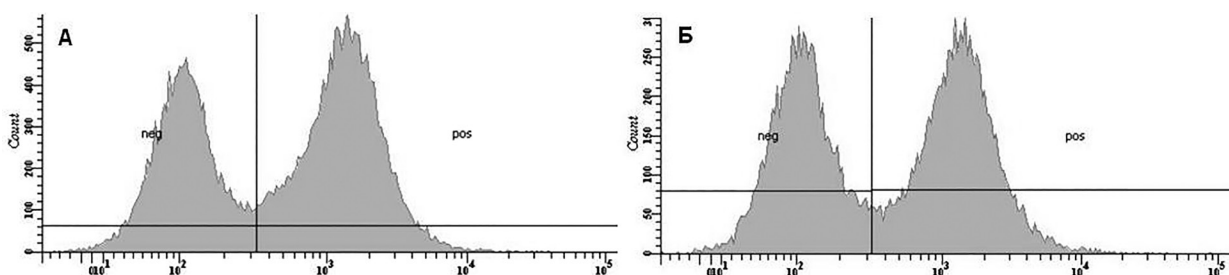
тов), обеспечивающих получение транскрипта ретровирусной части вектора и его упаковку в рекомбинантные вирионы: два регуляторных домена LTR (long terminal repeat – длинный концевой повтор), расположенных на концах провирусной ДНК и ограничивающих последовательности, кодирующие вирусные белки; сайт связывания т-РНК затравки (PBS, primer binding site); область упаковки – димеризации (Ψ-область, ответственная за упаковку геномных молекул РНК в вирион); полипуриновый тракт – сайт инициации синтеза плюс-цепи ДНК (PPT, polyurine tract). По концам LTR расположены два небольших, частично инвертированных повтора (att-сайты), необходимые для интеграции провируса в геном клетки. Дополнительно в полилинкер вектора клонированы маркерный ген *egfp*, кодирующий зелёный флуоресцирующий белок eGFP (enhanced green fluorescent protein), из плазмиды pWPXL [9] и ген, кодирующий аминокликозид 3'-фосфотрансферазу (нео), детерминирующий устойчивость клеточных клонов к женецитину (G418). Наличие последовательности *gfp* в составе вектора позволяет решить 2 задачи: определить титр ретровирусных частиц, продуцируемых «пакующей» клеточной линией, с использованием проточного цитофлуориметра и оценить диагностическую чувствительность тест-системы.

Ретровирусные векторы введены в клетки «пакующей» клеточной линии GP+env-AM12, продуцирующей ретровирусные частицы с амфотропным спектром хозяев. Данная линия клеток получена на базе мышиных фибробластов NIH 3T3 и предоставляет *in trans* все вирусные белки, необходимые для размножения вируса [5]. Такая клеточная линия продуцирует «пустые» вирионы. При введении ретровирусного вектора в клетки «пакующей» клеточной линии, он интегрирует в геном

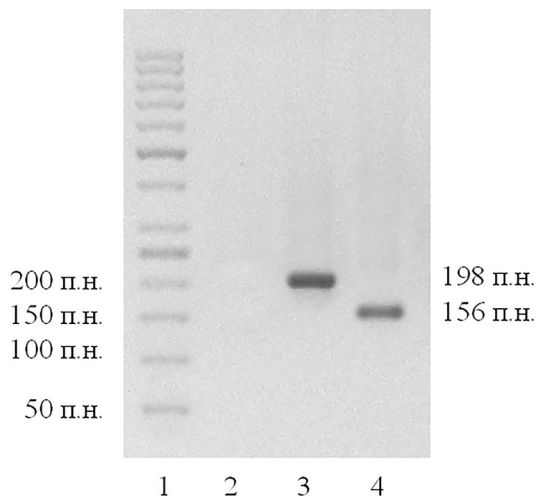
клетки-хозяина, может быть упакован в вирионы и далее эффективно реплицироваться. Наличие в ретровирусном векторе последовательности, кодирующей аминокликозид 3'-фосфотрансферазу (нео) и обеспечивающей устойчивость к женецитину – синтетическому аналогу неомицина, токсичного для клеток эукариот, позволило при добавлении антибиотика в среду культивирования провести селективный отбор тех клеточных клонов, которые содержат ретровирусный вектор в составе генома. Таким образом, получены «пакующие» клеточные линии, продуцирующие рекомбинантные ретровирусные частицы, геном которых содержит диагностические гены-мишени вирусов Ласса и ЛХМ (AM12 Lassaretro и AM12 LCMV3' retro, соответственно).

Титр ретровирусных частиц, продуцируемых клеточными клонами «пакующей» линии, был изучен с использованием индикаторной линии NIH 3T3 с помощью проточного цитофлуориметра по флуоресцентному сигналу зелёного флуоресцирующего белка (*gfp*) (рисунок 1). Титры ретровирусных частиц, продуцируемых отдельными клонами, варьировали незначительно и составили от  $3,2 \times 10^5$  до  $4,0 \times 10^5$  КОЕ/мл (колониеобразующих единиц на 1 мл супернатанта) для вируса ЛХМ и от  $3,8 \times 10^5$  до  $4,7 \times 10^5$  для вируса Ласса.

Для подтверждения наличия в составе генома ретровирусных частиц диагностических участков генома аренавирусов, из супернатантов «пакующих» клеточных линий выделяли РНК и проводили реакцию ОТ-ПЦР с праймерами, ограничивающими гены-мишени. Как видно из рисунка 2, супернатанты содержат рекомбинантные ретровирусные частицы, в состав генома которых встроены диагностически значимые фрагменты РНК-генома вируса ЛХМ размером 156 п.н. и вируса Ласса размером 198 п.н.



**Рисунок 1.** Определение количества флуоресцирующих клеток индикаторной клеточной линии NIH 3T3, инфицированных ретровирусными частицами, продуцируемыми «пакующей» клеточной линией AM12 Lassaretro (А) и AM12 LCMV3' retro (Б) на проточном цитофлуориметре



**Рисунок 2.** Электрофореграмма амплификации фрагментов генома вирусов

Ласса и ЛХМ со специфическими парами праймеров диагностических генов-мишеней: 1 – маркер молекулярных масс; 2 – отрицательный контроль амплификации; 3-4 – ампликоны специфических фрагментов генома вирусов Ласса и ЛХМ, соответственно, полученные в ходе реакции ОТ-ПЦР с использованием супернатантов «пакующих» клеточных линий

**Заключение.** Получены «пакующие» клеточные линии AM12 LCMV3' retro и AM12 *Lassaretro*, которые про-

дуцируют рекомбинантные ретровирусные частицы, содержащие в составе генома диагностически значимые фрагменты S-сегмента генома вируса ЛХМ размером 156 п.н. и вируса Ласса – 198 п.н. Культуральные жидкости «пакующих» клеточных линий являются основой положительных контрольных образцов, предназначенных для контроля этапов выделения генетического материала; работы компонентов реакционных смесей при прохождении реакции ОТ-ПЦР в биологическом образце в ходе выявления РНК данных аренавирусов. По данным апробирования в условиях эксперимента препараты обладают высокой чувствительностью и специфичностью, позволяют контролировать все этапы пробоподготовки биологического материала, повышают эксплуатационные качества и безопасность разработанных диагностических тест-систем «Белар-ЛХМ-ПЦР/РВ» и «Белар-Буниа-Флави-Фило-Арена-ПЦР» производства РНПЦ эпидемиологии и микробиологии (Минск, Беларусь).

**Перспективы дальнейших исследований.** Разработанная технология получения положительных контрольных образцов на основе рекомбинантных ретровирусных частиц может быть использована для получения РНК-контролей других вирусов, содержащих в качестве генома молекулу РНК.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Использование внешних и внутренних контрольных образцов при постановке полимеразной цепной реакции и обратной транскрипции полимеразной цепной реакции / Т.Е. Сизикова [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2013. – № 3. – С. 41-44.
2. Куликов С.М. Внутренний стандарт на основе ретровирусного вектора для определения вируса гепатита С в конкурентной ПЦР / С.М. Куликов, А.Б. Судариков, О.А. Глинщикова // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2004. – № 6. – С. 84-88.
3. A cluster of lymphocytic choriomeningitis virus infections transmitted through organ transplantation – Iowa, 2013 / I. J. Schafer [et al.] // MMWR. – 2014. – Vol. 63, N 11. – P. 249.
4. Congenital lymphocytic choriomeningitis virus infection: spectrum of disease / D. Bonthius [et al.] // Ann Neurol. – 2007. – Vol. 62, N 4. – P. 347-355.
5. Construction and use of a safe and efficient amphotropic packaging cell line / D. Markowitz [et al.] // Virology. – 1988. – Vol. 167, N 2. – P. 400-406.
6. Dreier J. Use of bacteriophage MS2 as an internal control in viral reverse transcription-PCR assays / J. Dreier, M. Störmer, K. Kleesiek // J Clin Microbiol. – 2005. – Vol. 43, N 9. – P. 4551-4557.
7. Encephalitis caused by pathogens transmitted through organ transplants, United States, 2002-2013 / S. Basavaraju [et al.] // Emerg Infect Dis. – 2014. – Vol. 20, N 9. – P. 1443-1451.
8. Felder E. Development of a versatile and stable internal control system for RT-qPCR assays / E. Felder, R. Wölfel // J Virol Methods. – 2014. – Vol. 208, N 1. – P. 33-40.
9. Green fluorescent protein (GFP)-based overexpression screening and characterization of AgrC, a receptor protein of quorum sensing in *Staphylococcus aureus* / L. Wang [et al.] // J Mol Sci. – 2013. – Vol. 14, N 9. – P. 18470-18487.
10. Infection par le virus de la choriomeningite lymphocytaire et feotopathies / N. Hannachi [et al.] // Pathologie Biologie. – 2011. – Vol. 59, N 4. – P. e85-e87.

11. Management of a Lassa fever outbreak, Rhineland-Palatinate, Germany, 2016 / L. Ehlikes [et al.] // Euro Surveill. – 2017. – Vol. 22, N 39. – P. 1-8.
12. Miller A. D. Improved retroviral vectors for gene transfer and expression / A. D. Miller, G. J. Rosman // J BioTechniques. – 1989. – Vol. 7, N 9. – P. 980-982.
13. Sambrook J. Molecular cloning: a laboratory manual: in 3 vol. / J. Sambrook, D.W. Russell. – 3rd ed. – New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001. – Vol. 1. – 749p.
14. Solid organ transplant-associated lymphocytic choriomeningitis / A. MacNeil [et al.] // Emerg Infect Dis. – 2012. – Vol. 18, N 8. – P. 1256-1262.

**ПІДВИЦЕННЯ ЯКОСТІ ТА БЕЗПЕКИ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ АРЕНАВІРУСНИХ ІНФЕКЦІЙ: ОТРИМАННЯ ПОЗИТИВНОГО КОНТРОЛЮ НА ОСНОВІ ЕКОМБІНАНТНИХ РЕТРОВІРУСНИХ ЧАСТОК**

Є.Г. Фоміна, Є.Є. Григор'єва, А.С. Владико

Республіканський науково-практичний центр епідеміології та мікробіології, м.Мінськ, Республіка Білорусь

Технологія отримання рекомбінантних ретровірусних часток, що містять у складі генома діагностичні гени-мішені вірусів Ласса і лимфоцитарного хориоменінгіту, є безпечним і технологічно вигідним способом напрацювання позитивних контрольних зразків з метою комплектації діагностичних тест-систем для виявлення РНК-геномів цих аренавірусів методом ЗТ-ПЛР.

**Ключевые слова:** геморрагічна лихоманка Ласса, вірус лимфоцитарного хориоменінгіту, ретровірусний вектор, «пакувальна» клітинна лінія, позитивний РНК-контроль

**IMPROVEMENT OF QUALITY AND SAFETY OF MOLECULAR GENETIC DIAGNOSTICS OF ARENAVIRUS INFECTIONS: CONSTRUCTION OF POSITIVE CONTROLS BASED ON RECOMBINANT RETROVIRAL PARTICLES**

Fomina E.G., Grigorieva E.E., Vladyko A.S.

Republican Research & Practical Center for Epidemiology & Microbiology, Minsk, Belarus

The technology of construction of recombinant retroviral particles containing in the genome diagnostic target genes of Lassa virus and lymphocytic choriomeningitis virus is a safe and technologically advantageous way of generating positive control samples for PCR diagnostic kits for the detection of the RNA genomes of these arenaviruses.

**Keywords:** hemorrhagic Lassa fever, lymphocytic choriomeningitis virus, retroviral vector, «packaging» cell line, positive RNA control.

UDK. 579.62: 619+616.34.

*Sorokulova Iryna, Globa Ludmila, Pustovyy Oleg, Vodyanoy Vitaly*

**PROBIOTIC EFFECTS OF A NEW *BACILLUS* STRAIN**

*Department of Anatomy, Physiology and Pharmacology, College of Veterinary Medicine, Auburn University, Auburn, AL, USA*

*Probiotic therapy is considered to be a valuable alternative for prevention and treatment of various gut microbiota-associated disorders. Disbalance of the gut microbiota can be caused by overgrowth or depletion of different groups of microorganisms. So, for the restoration of the altered microbiota, probiotic bacteria with diverse mechanisms of action are needed. Despite the fact that there are a lot of probiotic strains on the market, the development of new biotherapeutics is of a great importance. We isolated and identified as *B. subtilis*, bacterial culture with promising probiotic activity. This strain demon-*

*strated a high in vitro antagonistic activity against pathogens, including strains resistant to antibiotics, particularly methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). In animal studies, *B. subtilis* strain effectively prevented heat stress-related complications: morphological changes in the intestine, elevation of the lipopolysaccharide level in serum, translocation of bacteria from the gut. Our results showed that *B. subtilis* strain protected the intestinal barrier by regulation of tight junction proteins. Key words: *Bacillus subtilis*, probiotics, heat stress, tight junction proteins*

**INTRODUCTION.** The probiotic concept has been formulated by E. Metchnikoff [1], who proved that some bacteria could be beneficial for human health and prolongation of life. Recent findings indicate efficacy of probiotic bacteria in infectious diarrhea prevention and treatment [2], mitigation symptoms of inflammatory bowel disease [3], irritable bowel syndrome [4], necrotizing enterocolitis [5], and atopic dermatitis [6]. The ability of probiotics to restore the gut microbiota and to produce the compounds, essential for the host, explains their effectiveness in systemic metabolic diseases, such as obesity, diabetes [7], non-alcoholic fatty liver disease [8], celiac disease [9], mental disorders [10]. The most strains used as probiotics belong to the *Lactobacillus* or *Bifidobacterium* genera. However, other bacteria also demonstrate significant health benefits. Thus, *Bacillus* bacteria, which are known as effective producers of antimicrobial and other biologically active compounds [11, 12], successfully used as food supplement [13] and as therapeutics for treatment of gastrointestinal infections [14, 15]. Probiotic therapy becomes a valuable alternative approach to antibiotic treatment, especially with the emergence of new multiresistant pathogens.

It is well known, that probiotic effects are strain-specific [16]. To claim bacteria as probiotic, the beneficial effect of the strain should be confirmed *in vitro* and *in animals* [17]. We recently isolated a new *Bacillus* strain with promising probiotic activity [18]. The main goal of this study is to evaluate a probiotic activity of this new strain.

#### MATERIALS AND METHODS

**Ethics Statement.** All animal procedures were approved by the Auburn University Institutional Animal Care and Use Committee. The study was performed in accordance with the recommendations in the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals of the National Institutes of Health.

**Bacterial strains.** *Bacillus* strain was isolated from the soil and propagated in the Difco sporulation medium (DSM) [19] at 37°C under aerobic conditions.

Test-cultures of pathogenic bacteria were obtained from the culture collection of Auburn University (Auburn, AL). Bacteria were incubated in NZY medium (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA) or on Mannitol Salt Agar (MSA) with Oxacillin (VWR, Radnor, PA) at 37°C.

**Antibodies.** Mouse monoclonal antibodies to actin and claudin; rabbit polyclonal antibodies to zona occludens (ZO-1) protein were from ThermoFisher Scientific (Waltham, MA). Goat anti-mouse and anti-rabbit IRDye 800CW –con-

jugated secondary antibodies obtained from Li-Cor (Lincoln, NE).

**Phenotypic and genotypic characterization** of the *Bacillus* strain was conducted according to the requirements for species identification of bacteria [16, 20]. To analyze hemolytic and listens activity, bacteria were plated on 3% sheep blood agar and mannitol egg yolk polymixin agar (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA) accordingly. The 16S rRNA gene was amplified by PCR with universal 16S primers that correspond to positions 20F and 1500R. Products of sequencing reactions were analyzed by Genewiz, Inc. (South Plainfield, NJ). Analysis of the obtained sequence was performed using a BLAST database.

**Activity against pathogens** was evaluated by the method of delayed antagonism as previously described [11, 21]. Briefly, *Bacillus* strain was inoculated as a line on the surface of a starch medium (g/L: starch -10, peptone -5, NaCl -0.5, agar - 15). After 72 h of growth at 30°C overnight test-cultures were inoculated as a perpendicular line to the *Bacillus* culture. Growth of test-cultures on an uninoculated starch agar considered as a control. The plates were incubated for 24 h at 37°C. The antagonistic activity was detected as a zone of pathogens' growth inhibition.

#### Efficacy in the prevention of heat stress adverse effects.

32 adult male Sprague–Dawley rats (Harlan Laboratories, USA) weighing 250–300 g were used in the study. Half of the animals (16 rats) received *Bacillus* strain by oral gavage ( $10^8$  CFU in 1 ml of PBS per rat) twice a day for 2 days while the remaining rats were treated with PBS. On day 3 each group was subdivided and one sub-group from each group was exposed to heat stress conditions (45°C for 25 min) in the environmental chamber (Environmental Chamber 6020-1, Caron, OH, USA), two other sub-group were kept at room temperature (Fig.1). After stress rats were cooled at room temperature for 4 hours, then all rats were euthanized by decapitation. Trunk blood was collected from each rat and serum was stored in 50µl aliquots at -20°C until assay.

The concentration of LPS in the serum of each rat was analyzed by rat LPS ELISA kit (NeoBioLab, Cambridge, MA, USA) according to the manufacturer's instruction.

Liver, spleen and mesenteric lymph nodes (MLN) were taken from each rat in pre-weighed tubes under sterile conditions. Samples were weighed, homogenized and plated onto 5% blood and MacConkey's agar plates for recovery of aerobic bacteria and Brucella blood agar plates supplemented with vitamin K1 and hemin for anaerobic bacteria. Plates

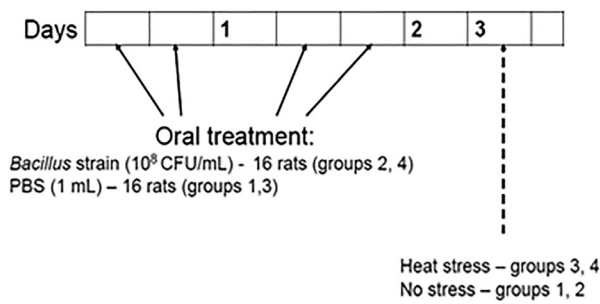


Fig 1 Experimental design.

were incubated at 37°C for 24 hours for aerobic bacteria and 48 hrs for anaerobic bacteria. Colonies were counted and the results were expressed as a number of colony-forming units (CFU) per gram.

Samples of the small intestine were taken from each rat and fixed in Bouin's Fixative (Electron Microscopy Sciences, Hatfield, PA, USA) for histological examination or were snap frozen and kept at -80°C for Western blot analysis. Intestinal samples after fixation were embedded in paraffin, sectioned at 6 micrometers and stained with hematoxylin and eosin. Using a high resolution microscope system [22], twenty measurements of intestinal villi height and total mucosal thickness were taken in each sample and expressed in micrometers.

#### SDS-PAGE and Western Blotting

Intestinal tissues were homogenized using T-PER Reagent with Protease Inhibitor Cocktail (Thermo Scientific, Rockford, IL). Samples were centrifuged at 15,000 x g for 30 min at 4°C and supernatants were collected. A protein assay (Bio-Rad) was conducted to determine the protein concentration for each sample. An equal amount of proteins (50 µg) was separated by SDS-PAGE (10%) and transferred to nitrocellulose membranes. The membranes were blocked for 1 h in Odyssey blocking buffer (LiCor, Lincoln, NE) and were incubated overnight at 4°C with primary antibodies against actin, claudin, and ZO-1 proteins. The membranes were washed with TBS/0.1% Tween-20 three times and were incubated with goat anti-mouse and anti-rabbits IRDye 800CW secondary antibodies for one hour, then washed with TBS/0.1% Tween-20 four times. Membranes were imaged by LiCor Odyssey scanner, and blots were analyzed by Image Studio 2.0 analytical software (LiCor, Lincoln, NE). The procedure was repeated at least four times. Bands were standardized to the density of actin and were represented as a ratio of each protein to actin.

#### Statistics

All results were presented as mean and standard deviation. The difference between groups was analyzed by the one-way ANOVA, followed by the Bonferroni test at the significance level 0.05. Statistical calculations and graph plotting were carried out using Microcal™ Origin version 9.0 (Northampton, MA).

#### RESULTS

##### Strain identification.

The microscopic study of the isolated bacterial culture showed this strain to be Gram-positive rods, less than 1 µm in diameter, sporulated aerobically without cell swelling and produced catalase. These data indicated that tested strain belongs to *Bacillus* genus. Analyzed strain hydrolyzed starch, was positive in Voges-Proskauer test, grew at 6.5% NaCl, utilized citrate, did not grow at 55°C, and did not produce hemolysin or lecithinase. The results of phenotypic analysis demonstrated that tested strain belongs to *B. subtilis*. Additional confirmation of this identification was obtained from the sequence of 16S rRNA gene. Tested strain exhibited 99% identity with *B. subtilis* 168.

**Antagonistic activity against pathogens.** *B. subtilis* strain BSB3 was highly effective against tested strains of *Salmonella* and *Shigella* (Fig.2A). Zones of growth inhibition were 20.3±0.8 – 29.6±0.6 mm. All tested *S. aureus* strains, including methicillin-resistant (MRSA) were sensitive to BSB3 strain with zones of growth inhibition 21.0±0.9 – 33.1± 2.3 mm (Fig. 2B).

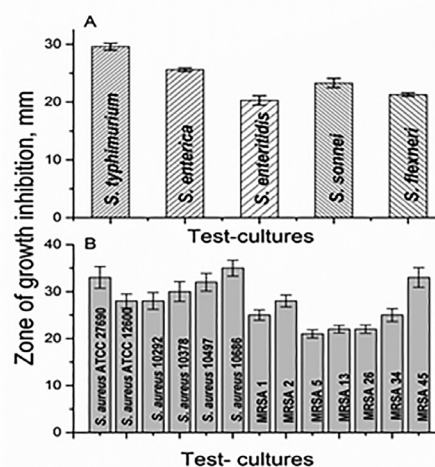


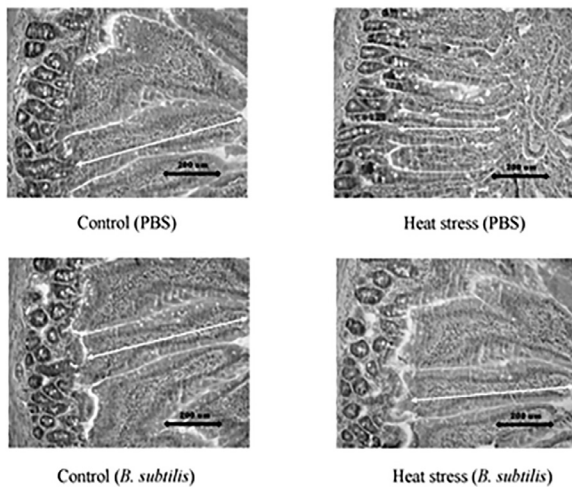
Fig. 2 Antagonistic activity of *B. subtilis* BSB3 strain against food-borne pathogens (A) and *S. aureus* (B). The results represent the means and standard deviations of triplicate determinations.

**Protective effect of *B. subtilis* strain in heat stress conditions.**

**Protection of gut morphology.** Histological analysis of intestine revealed that heat stress resulted in the major changes of the intestinal morphology. Significant reduction of villi height and total mucosal thickness was found in rats pre-treated with PBS and exposed to elevated temperature (Fig.3). Thus, villi height in rats kept at room temperature were  $648.2 \pm 3.2 \mu\text{m}$  and  $611.4 \pm 0.8 \mu\text{m}$  (groups 1 and 2 accordingly), total mucosal thickness in these groups was  $739.4 \pm 2.0 \mu\text{m}$  and  $740.4 \pm 0.7 \mu\text{m}$ . In rats pre-treated with PBS and exposed to heat villi height and total mucosal thickness were significantly reduced ( $358.3 \pm 2.5 \mu\text{m}$  and  $525.9 \pm 3.1 \mu\text{m}$  accordingly). Administration of BSB3 strain before heat stress prevented animals from these traumatic effects of heat. Morphology of intestine in the animals from group 4 did not change in comparison with animals, not exposed to heat stress conditions ( $609.6 \pm 0.7 \mu\text{m}$  for villi height and  $739.5 \pm 0.8 \mu\text{m}$  for total mucosal thickness).

**Prevention of bacterial translocation from the gut.** All samples of liver, MLN and spleen were sterile in control animals and in heat-stressed animals, pre-treated with BSB3 strain. In contrast, bacterial cultures were isolated from MLN and liver of heat-stressed animals, pre-treated with PBS (Table 1). Spleen samples were sterile in this group.

- **Serum LPS concentration.** Level of LPS significantly increased in serum of heat-stressed animals, which received



**Fig. 3** Histological images of intestinal mucosa stained with hematoxylin and eosin. Rats were pre-treated with PBS or *B. subtilis* BSB3 by oral gavage twice a day for 2 days before exposure to  $45^\circ\text{C}$  (Heat stress) or kept at room temperature (Control). Arrows indicate the villi height. Bar is 200 nm.

**Table 1** Translocation of bacteria in rats of different experimental groups.

Group	Condition	Pre-treatment	Number of isolated bacteria, CFU/g
1.	No stress	PBS	0
2.		<i>B. subtilis</i> BSB3	0
3.	Heat stress	PBS	$1672.5 \pm 464.7$
4.		<i>B. subtilis</i> BSB3	0

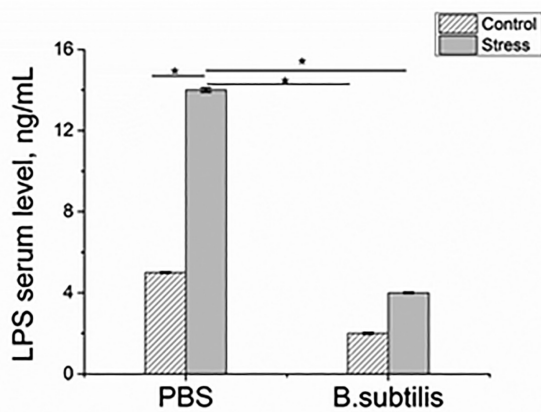
PBS before stress exposure (Fig 4). Concentration of LPS in serum of rats, pre-treated with BSB3 strain before heat stress, was not significantly changed, in comparison with non-stressed animals.

- **Tight junction proteins expression.** Pre-treatment of rats with BSB3 strain resulted in a significant increase of claudin expression in heat-stressed animals (Fig. 5A). ZO-1 expression was also higher in stressed animals, pre-treated with bacteria (Fig. 5B).

**DISCUSSION**

Probiotic therapy is considered to be a valuable alternative for prevention and treatment of various gut microbiota associated disorders [23]. Disbalance of the gut microbiota can be caused by overgrowth or depletion of different groups of microorganisms. So, for the restoration of the altered microbiota, probiotic bacteria with diverse mechanisms of action are needed. Despite the fact that there are a lot of probiotic strains on the market, the development of new biotherapeutics is of a great importance.

We isolated and identified as *B. subtilis*, bacterial culture with promising probiotic activity. This strain demonstrated a high in vitro antagonistic activity against pathogens, including strains resistant to antibiotics, particularly MRSA. Antibiotic resistant bacteria cause severe infections in humans and become one of the most serious health problems worldwide. According to the CDC estimation, more than two million people in the USA are sickened every year with antibiotic-resistant infections and 23,000 are dying because of these infections [24]. MRSA are high on the list of the most common causes of hospital-associated bloodstream infections and are associated with increased mortality and prolonged hospital stay [25]. Colonization of the intestinal tract with MRSA may have important clinical implications, such as the development of antibiotic-as-

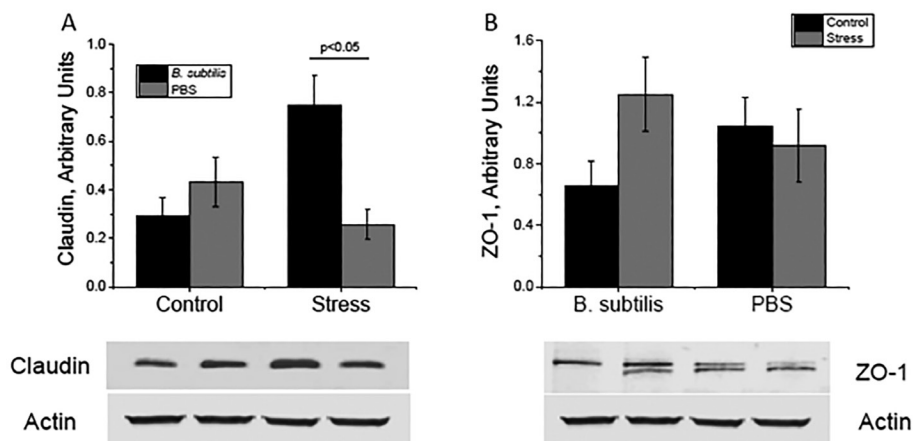


**Fig 4** Serum LPS concentration in animals of different groups. Rats were pre-treated with PBS or *B. subtilis* by oral gavage twice a day for 2 days before exposure to 45°C (Stress) or kept at room temperature (Control). Asterisks denote a significant difference between groups ( $p < 0.05$ ).

sociated diarrhea, environmental dissemination, subsequent risk of infections and toxic shock syndrome [26-30]. MRSA decolonization may reduce the risk of MRSA infection in individual carriers and could prevent MRSA spread in healthcare facilities and the community by eliminating a reservoir for the organism [31]. Unfortunately, recent research has been limited to focus on nasal eradication of MRSA rather than an intestinal carriage. The widespread use of topical mupirocin to treat nasal infections [32] has caused wide-spread mupirocin-resistant MRSA to appear [33]. Nasal mupirocin treatments do not prevent other systemic infections [34] and have no effect on MRSA intestinal carriage [35]. To combat MRSA intestinal colonization, some antibiotic therapy has been evaluated, such as oral rifampin [36] and vancomycin [37]. Treatment with rifampin is refractory for use in patients that have allergies to other antibiotic or those whose first-line therapies failed. The

use of rifampin is complicated due to hepatic toxicity because it is a potent cytochrome P450 inducer. The use of vancomycin and rifampin represents a significant clinical problem due to the emergence of bacterial strains that are resistant to these antibiotics [38]. New approaches are necessary to treat MRSA intestinal colonization. The potential role of probiotics is discussed as an alternative strategy to control MRSA [39]. Thus, isolation and characterization of new beneficial bacteria with pronouncing efficacy against MRSA is an important step in the development of new anti-MRSA therapeutics. Beneficial effects of BSB3 strain were shown in the prevention of heat stress-related complications in animal studies. The exposure the rats to heat stress conditions resulted in significant changes in gut morphology: decrease of villi height and total mucosal thickness. Different types of stress are recognized as an important factor influencing gastrointestinal morphology and physiology and as a result significantly affect human and animal health [40, 41]. Thus, morphological changes were found in the gut of rats, effected by environmental stress [42] and in chickens exposed to heat stress [43]. Our results showed that oral pre-treatment of animals with BSB3 protected the intestine from the harmful effect of heat. *Bacillus* bacteria produce a variety of biologically active metabolites with antimicrobial, immunogenic and anti-allergic effects [44, 45]. We assume that some of the metabolites, produced by BSB3 strain could contribute to maintaining the intestinal homeostasis, as it was found for other spore-forming bacteria [46].

Morphological changes in the gut of rats, pre-treated with PBS and exposed to heat, accompanied by other adverse effects: translocation of bacteria to MLN and liver and elevation of the LPS serum level. Administration of BSB3 before heat stress prevented the occurrence of these events, as it was shown in our previous study [47]. The increased level of LPS



**Fig. 5** Expression of claudin (A) and ZO-1 (B) in the intestine of rats.



in the systemic circulation and translocation of bacteria indicate the loss of the gut barrier function [48]. The decrease of the intestinal integrity is common to a wide variety of pathological conditions, such as insulin resistance, obesity, and diabetes [49]. Keeping the integrity of the intestinal barrier is a key for intestinal homeostasis and overall for the health status of the host. Intestinal microbiota and probiotic bacteria have been shown to preserve the gut barrier function by changes in the tight junction (TJ) protein expression and distribution [50]. The results of our experiments revealed that protective effect of BSB3 strain from an elevation of LPS and translocation of bacteria in rats, exposed to heat stress, is related to regulation of TJ proteins: claudin and ZO-1. These proteins are important

components which contribute to TJ structure and function. It was shown that Lactobacillus probiotic bacteria can regulate TJ proteins in humans and protect epithelial barrier against chemically induced disruption [50]. *B. subtilis* strain upregulated TJ proteins expression in mice with inflammatory bowel disease [51]. Our study is a first report about improvement of the intestinal barrier function with *B. subtilis* in heat-stressed animals.

In summary, we isolated and identified as *B. subtilis* a bacterial strain with promising beneficial activity demonstrated in vitro and in animals. Further studies of this strain will help to understand the nature of these probiotic effects and its perspectives as a biotherapeutic.

#### REFERENCES

1. Metchnikoff, E. (1910). The prolongation of life. (New York: The Knickerbocker Press).
2. Guarino, A., Guandalini, S., and Lo Vecchio, A. (2015). Probiotics for Prevention and Treatment of Diarrhea. *Journal of Clinical Gastroenterology* 49: S37-S45.
3. Wasilewski, A., Zielinska, M., Storr, M., and Fichna, J. (2015). Beneficial Effects of Probiotics, Prebiotics, Synbiotics, and Psychobiotics in Inflammatory Bowel Disease. *Inflammatory Bowel Diseases* 21: 1674-1682.
4. Sanders, M.E., Guarner, F., Guerrant, R., Holt, P.R., Quigley, E.M.M., et al. (2013). An update on the use and investigation of probiotics in health and disease. *Gut* 62: 787-796.
5. Fleming, P., Hall, N.J., and Eaton, S. (2015). Probiotics and necrotizing enterocolitis. *Pediatric Surgery International* 31: 1111-1118.
6. Yamamoto, K., Yokoyama, K., Matsukawa, T., Kato, S., Yamada, K., et al. (2016). Efficacy of prolonged ingestion of *Lactobacillus acidophilus* L-92 in adult patients with atopic dermatitis. *Journal of Dairy Science* 99: 5039-5046.
7. Nakamura, Y.K., and Omaye, S.T. (2012). Metabolic diseases and pro- and prebiotics: Mechanistic insights. *Nutrition & Metabolism* 9.
8. Bashiardes, S., Shapiro, H., Rozin, S., Shibole, O., and Elinav, E. (2016). Non-alcoholic fatty liver and the gut microbiota. *Molecular Metabolism* 5: 782-794.
9. Marasco, G., Di Biase, A.R., Schiumerini, R., Eusebi, L.H., Iughetti, L., et al. (2016). Gut Microbiota and Celiac Disease. *Digestive Diseases and Sciences* 61: 1461-1472.
10. Bsted, A.C., Logan, A.C., and Selhub, E.M. (2013). Intestinal microbiota, probiotics and mental health: from Metchnikoff to modern advances: part III - convergence toward clinical trials. *Gut Pathogens* 5.
11. Pinchuk, I.V., Bressollier, P., Verneuil, B., Fenet, B., Sorokulova, I.B., et al. (2001). In vitro anti-*Helicobacter pylori* activity of the probiotic strain *Bacillus subtilis* 3 is due to secretion of antibiotics. *Antimicrobial Agents & Chemotherapy* 45: 3156-3161.
12. Lee, H.S., and Lee, H. (2011). Purification and Biochemical Characterization of Bacteriolytic Enzyme from *Bacillus subtilis* YU-1432 Active against *Porphyromonas gingivalis*. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 54: 600-605.
13. Bi, H., Zhao, H.Z., Lu, F.X., Zhang, C., Bie, X.M., et al. (2015). Improvement of the nutritional quality and fibrinolytic enzyme activity of soybean meal by fermentation of *Bacillus subtilis*. *Journal of Food Processing and Preservation* 39: 1235-1242.
14. Gracheva, N.M., Gavrillov, A.F., Solov'eva, A.I., Smirnov, V.V., Sorokulova, I.B., et al. (1996). The efficacy of the new bacterial preparation biosporin in treating acute intestinal infections. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol*: 75-77.
15. Canani, R.B., Cirillo, P., Terrin, G., Cesarano, L., Spagnuolo, M.I., et al. (2007). Probiotics for treatment of acute diarrhoea in children: randomised clinical trial of five different preparations. *Br Med J* 335: 340-+.
16. Sorokulova, I. (2008). Preclinical testing in the development of probiotics: A regulatory perspective with *Bacillus* strains as an example. *Clin Infect Dis* 46: S92-S95.
17. FAO/WHO. (2002). Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Joint FAO/WHO Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in

- Food. Available at: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/wgre-port2.pdf>.
18. Moore, T., Globa, L., Barbaree, J., Vodyanoy, V., and Sorokulova, I. (2013). Antagonistic Activity of Bacillus Bacteria against Food-Borne Pathogens. *Journal of Probiotics and Health* 1: 110. doi: 110.4172/2329-8901.1000110.
  19. Nicholson, W., and Setlow, P. (1990). Sporulation, Germination and Outgrowth. In *Molecular Biological Methods for Bacillus*, C. Harwood and S. Cutting, eds. (New York, John Wiley), pp 391-450.
  20. Sneath, P.H.A. (1986). Endospore-forming gram-positive rods and cocci. In *Bergey's manual of systematic bacteriology*, N.S. Mair, M.E. Sharpe, and J.G. Holt, eds. (Baltimore, Lippincott Williams & Wilkins), pp 1104-1207.
  21. Sorokulova, I.B. (1997). A comparative study of the biological properties of Biosporin and other commercial Bacillus-based preparations. *Mikrobiologichnyi Zhurnal* 59: 43-49.
  22. Vainrub, A., Pustovyy, O., and Vodyanoy, V. (2006). Resolution of 90 nm ( $\lambda/5$ ) in an optical transmission microscope with an annular condenser. *Opt Lett* 31: 2855-2857.
  23. Reid, G. (2015). The growth potential for dairy probiotics. *International Dairy Journal* 49: 16-22.
  24. CDC. (2013). Antibiotic resistance threats in the United States. <http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013/pdf/ar-threats-2013-508.pdf>.
  25. Purrello, S.M., Daum, R.S., Edwards, G.F.S., Lina, G., Lindsay, J., et al. (2014). Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) update: New insights into bacterial adaptation and therapeutic targets. *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 2: 61-69.
  26. Boyce, J.M., Havill, N.L., Otter, J.A., and Adams, N.M.T. (2007). Widespread environmental contamination associated with patients with diarrhea and methicillin-resistant Staphylococcus aureus colonization of the gastrointestinal tract. *Infect Control Hosp Epidemiol* 28: 1142-1147.
  27. Boyce, J.M., Havill, N.L., and Maria, B. (2005). Frequency and possible infection control implications of gastrointestinal colonization with methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *J Clin Microbiol* 43: 5992-5995.
  28. Gravet, A., Rondeau, M., Harf-Monteil, C., Grunenberger, F., Monteil, H., et al. (1999). Predominant Staphylococcus aureus isolated from antibiotic-associated diarrhea is clinically relevant and produces enterotoxin A and the bicomponent toxin LukE-LukD. *J Clin Microbiol* 37: 4012-4019.
  29. Cheung, G.Y.C., and Otto, M. (2012). The potential use of toxin antibodies as a strategy for controlling acute Staphylococcus aureus infections. *Expert Opin Ther Targets* 16: 601-612.
  30. Kanamori, Y., Hashizume, K., Kitano, Y., Tanaka, Y., Morotomi, M., et al. (2003). Anaerobic dominant flora was reconstructed by synbiotics in an infant with MRSA enteritis. *Pediatr Int* 45: 359-362.
  31. Buehlmann, M., Frei, R., Fenner, L., Dangel, M., Fluckiger, U., et al. (2008). Highly effective regimen for decolonization of methicillin-resistant Staphylococcus aureus carriers. *Infect Control Hosp Epidemiol* 29: 510-516.
  32. Caffrey, A.R., Quilliam, B.J., and LaPlante, K.L. (2010). Risk factors associated with mupirocin resistance in methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *J Hosp Infect* 76: 206-210.
  33. Kluytmans, J., and Harbarth, S. (2011). Control of MRSA in intensive care units. *Br Med J* 343.
  34. Walker, E.S., Vasquez, J.E., Bullock, H., and Sarubi, F.A. (2003). Mupirocin-resistant, methicillin-resistant Staphylococcus aureus: Does mupirocin remain effective? *Infect Control Hosp Epidemiol* 24: 342-346.
  35. Acton, D.S., Plat-Sinnige, M.J.T., van Wamel, W., de Groot, N., and van Belkum, A. (2009). Intestinal carriage of Staphylococcus aureus: how does its frequency compare with that of nasal carriage and what is its clinical impact? *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 28: 115-127.
  36. Falagas, M.E., Bliziotis, I.A., and Fragoulis, K.N. (2007). Oral rifampin for eradication of Staphylococcus aureus carriage from healthy and sick populations: A systematic review of the evidence from comparative trials. *Am J Infect Control* 35: 106-114.
  37. Uckay, I., Bernard, L., Buzzi, M., Harbarth, S., Francois, P., et al. (2012). High Prevalence of Isolates with Reduced Glycopeptide Susceptibility in Persistent or Recurrent Bloodstream Infections Due to Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus. *Antimicrob Agents Chemother* 56: 1258-1264.
  38. Forrest, G.N., and Tamura, K. (2010). Rifampin Combination Therapy for Nonmycobacterial Infections. *Clin Microbiol Rev* 23: 14-34.
  39. Sikorska, H., and Smoragiewicz, W. (2013). Role of probiotics in the prevention and treatment of methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections. *International Journal of Antimicrobial Agents* 42: 475-481.

40. Soderholm, J.D., Yates, D.A., Gareau, M.G., Yang, P.C., MacQueen, G., et al. (2002). Neonatal maternal separation predisposes adult rats to colonic barrier dysfunction in response to mild stress. *Am J Physiol-Gastroint Liver Physiol* 283: G1257-G1263.
41. Crandall, C.G., and Gonzalez-Alonso, J. (2010). Cardiovascular function in the heat-stressed human. *Acta Physiol* 199: 407-423.
42. Wilson, L.M., and Baldwin, A.L. (1999). Environmental stress causes mast cell degranulation, endothelial and epithelial changes, and edema in the rat intestinal mucosa. *Microcirculation* 6: 189-198.
43. Liu, L.L., Fu, C.X., Yan, M.L., Xie, H.B., Li, S., et al. (2016). Resveratrol modulates intestinal morphology and HSP70/90, NF-kappa B and EGF expression in the jejunal mucosa of black-boned chickens on exposure to circular heat stress. *Food & Function* 7: 1329-1338.
44. Cochrane, S.A., and Vederas, J.C. (2016). Lipopeptides from *Bacillus* and *Paenibacillus* spp.: A Gold Mine of Antibiotic Candidates. *Medicinal Research Reviews* 36: 4-31.
45. Sorokulova, I. (2013). Modern Status and Perspectives of *Bacillus* Bacteria as Probiotics. *Journal of Probiotics and Health* 1: e106. doi: 110.4172/2329-8901.1000e4106.
46. Yano, J.M., Yu, K., Donaldson, G.P., Shastri, G.G., Ann, P., et al. (2015). Indigenous Bacteria from the Gut Microbiota Regulate Host Serotonin Biosynthesis. *Cell* 161: 264-276.
47. Moore, T., Globa, L., Pustovyy, O., Vodyanoy, V., and Sorokulova, I. (2014). Oral administration of *Bacillus subtilis* strain BSB3 can prevent heat stress-related adverse effects in rats. *J Appl Microbiol* 117: 1463-1471.
48. Bischoff, S.C., Barbara, G., Buurman, W., Ockhuizen, T., Schulzke, J.D., et al. (2014). Intestinal permeability - a new target for disease prevention and therapy. *BMC Gastroenterol* 14.
49. Serino, M., Luche, E., Chabo, C., Amar, J., and Burcelin, R. (2009). Intestinal microflora and metabolic diseases. *Diabetes & Metabolism* 35: 262-272.
50. Ulluwishewa, D., Anderson, R.C., McNabb, W.C., Moughan, P.J., Wells, J.M., et al. (2011). Regulation of Tight Junction Permeability by Intestinal Bacteria and Dietary Components. *Journal of Nutrition* 141: 769-776.
51. Gong, Y., Li, H., and Li, Y. (2016). Effects of *Bacillus subtilis* on Epithelial Tight Junctions of Mice with Inflammatory Bowel Disease. *Journal of Interferon and Cytokine Research* 36: 75-85.

### ПРОБИОТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ НОВОГО ШТАММА *BACILLUS*

Ирина Сорокулова, Людмила Глоба, Олег Пустовой, Виталий Водяной

Факультет анатомии, физиологии и фармакологии, Колледж ветеринарной медицины, Auburn University, Auburn, Алабама, США.

Применение пробиотиков является эффективной альтернативой профилактики и лечения патологий, вызванных дисбиозом кишечной микрофлоры. Этот дисбаланс может быть обусловлен значительным увеличением или снижением различных групп микроорганизмов. Поэтому для восстановления измененной микрофлоры необходимы пробиотические бактерии с различными механизмами действия. Несмотря на значительное разнообразие пробиотических штаммов на рынке, разработка новых биопрепаратов имеет большое значение. Нами был выделен и идентифицирован как *B. subtilis*, новый штамм с выраженной пробиотической активностью. Этот штамм характеризовался высокой антагонистической активностью *in vitro* в отношении патогенов, включая штаммы устойчивые к антибиотикам, такие как метициллин резистентные *Staphylococcus aureus*. В опытах на животных *B. subtilis* эффективно предотвращал осложнения, вызванные тепловым стрессом: морфологические изменения кишечника, повышение уровня липополисахаридов в сыворотке крови, транслокацию бактерий из кишечника. Результаты наших исследований показали, что исследуемый штамм *B. subtilis* защищает кишечный барьер регулированием мембранных белков плотных контактов.

**Ключевые слова:** *Bacillus subtilis*, пробиотики, тепловой стресс, мембранные белки плотных контактов

ПРОБИОТИЧНІ ЕФЕКТИ НОВОГО ШТАМУ *BACILLUS*

Ірина Сорокулова, Людмила Глоба, Олег Пустовий, Віталій Водяний

Факультет анатомії, фізіології та фармакології, Коледж ветеринарної медицини, Auburn University, Auburn, Алабама, США

Застосування пробіотиків – ефективна альтернатива профілактики та лікування патологій, спричинених дисбіозом кишкової мікрофлори. Цей дисбаланс може бути обумовлений значним збільшенням чи зниженням різних груп мікроорганізмів. Тому для відновлення зміненої мікрофлори необхідні пробіотичні бактерії з різними механізмами дії. Незважаючи на значну різноманітність пробіотичних штамів на ринку, розробка нових біопрепаратів має велике значення. Нами був ізольований і ідентифікований як *B. subtilis*, новий штам з вираженою пробіотичною активністю. Цей штам характеризувався високою антагоністичною активністю *in vitro* щодо патогенів, включаючи штами, стійкі до антибіотиків, такі як метицилін резистентні *Staphylococcus aureus*. У досліджах на тваринах *B. subtilis* ефективно запобігав ускладненням, що обумовлені тепловим стресом: морфологічним змінам кишечника, підвищенню рівня ліпополісахаридів у сироватці крові, траслокації кишечних бактерій. Результати наших досліджень показали, що досліджуваний штам *B. subtilis* захищає кишковий бар'єр регулюванням мембранних білків щільних контактів.

**Ключові слова:** *Bacillus subtilis*, пробіотики, тепловий стрес, мембранні білки щільних контактів

УДК 616.34.08: 578.24(047.31)(476)

<sup>1</sup>Амвросьева Т.В., <sup>1</sup>Богуш З.Ф., <sup>1</sup>Поклонская Н.В., <sup>1</sup>Шилова Ю.А., <sup>1</sup>Казинец О.Н., <sup>1</sup>Лозюк С.К., <sup>1</sup>Аринович А.С.,

<sup>2</sup>Кишкурно Е. П.

## КОНТАМИНАЦИЯ ОБЪЕКТОВ ГОСПИТАЛЬНОЙ СРЕДЫ КИШЕЧНЫМИ ВИРУСНЫМИ АГЕНТАМИ И ИХ РОЛЬ В ВОЗНИКНОВЕНИИ ИНФЕКЦИЙ, СВЯЗАННЫХ С ОКАЗАНИЕМ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ

<sup>1</sup>Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии»; г. Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Государственное учреждение образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования», г. Минск, Беларусь

**Резюме.** Статья посвящена актуальной для здравоохранения проблеме инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. В ней представлены результаты молекулярно-эпидемиологических исследований, направленных на изучение вирусной контаминации объектов госпитальной среды (ОГС) возбудителями вирусных острых кишечных инфекций (рота-, норо-, адено-, астро- и энтеровирусами) в инфекционных стационарах и установление ее связи с инфицированием пациентов, находящихся на лечении в данных учреждениях. Детекция и идентификация генетических маркеров вирусов в смывах с ОГС осуществлялась с использованием современных технологий пробоподготовки и молекулярно-генетических методов исследования, в том числе сравнительного биоинформационного (филогенетиче-

ского) анализа для определения степени идентичности этиологического агента расследуемой заболеваемости и вируса-контаминанта госпитальной среды. Полученные результаты свидетельствуют о достаточно высокой частоте контаминации ОГС детского (43,6%) и взрослого (30,9%) инфекционных стационаров и наличии выраженной ассоциативной связи регистрируемой кишечной заболеваемости в инфекционных стационарах со спектром кишечных вирусов – контаминантов ОГС этих учреждений.

**Ключевые слова.** Кишечные вирусы; инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи; объекты госпитальной среды, молекулярно-эпидемиологические исследования.

Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП) регулярно регистрируются в мировом масштабе и затрагивают страны вне зависимости от уровня их цивилизационного развития. Общим критерием для отнесения случаев инфекций к ИСМП является непосредственная связь их возникновения с оказанием медицинской помощи (лечением, диагностическими исследованиями, иммунизацией и т.д.). В настоящее время существует множество определений ИСМП (синонимы «внутрибольничная инфекция», «госпитальная инфекция», «нозокомиальная инфекция»). Согласно действующим в Республике Беларусь нормативным документам [5, 7], ИСМП - это любое клинически распознаваемое инфекционное заболевание, которое поражает пациента в результате его поступления в учреждение здравоохранения или обращения за лечебной помощью, или инфекционное заболевание сотрудника вследствие его работы в данном лечебном учреждении. В некоторых зарубежных документах это определение конкретизируется сроками появления клинических симптомов инфекции [11].

По разным данным распространенность ИСМП в Европе составляет 3,5%–14,8% (в среднем 7,1%). В странах ЕС ежегодно регистрируется более 4 миллионов пациентов с ИСМП. Экономические потери составляют около 7 миллиардов евро в год. По данным официальной статистики в Российской Федерации ежегодно регистрируется 40-50 тысяч случаев внутрибольничных инфекций, однако, по экспертной оценке, специалистов, основанной на выборочных исследованиях, эти инфекции переносят до 7-8% пациентов, или более 2 млн. человек. Так, в 2011 году зарегистрировано 25 617 случаев ИСМП, показатель заболеваемости составил 0,8 на 1000 госпитализированных [6]. Ежегодно внутрибольничные инфекции приводят к убыткам в размере около 500 миллиардов рублей в год [1].

Возбудителями ИСМП является довольно широкий и разнообразный круг инфекционных патогенов. Анализ международной базы данных по внутрибольничным случаям групповой заболеваемости (<https://www.outbreak-database.com>) показал, что в 21% случаев они имеют вирусную природу. Источниками инфекции при ИСМП являются пациенты и медицинский персонал, при этом немаловажная роль принадлежит различным объектам госпитальной среды (ОГС) [14]. По современным представлениям именно они вносят основной

вклад в реализацию контактно-бытового пути передачи вирусных инфекций с фекально-оральным механизмом передачи. Как известно, данный путь передачи ИСМП является ведущим в инфекционных стационарах, где чаще регистрируются гастроэнтериты вирусной этиологии [2, 9].

Настоящая работа посвящена изучению контаминации ОГС детского и взрослого инфекционных стационаров возбудителями актуальных вирусных ОКИ на основе разработанного алгоритма действий для молекулярно-эпидемиологического расследования кишечных вирусных ИСМП на уровне госпитальной среды и пациента.

#### Материалы и методы.

Исследовано 34 образца фекалий, полученных от пациентов детского и взрослого инфекционных стационаров с клиническими диагнозами «острый гастрит», «острый гастроэнтерит», «острый энтерит». «острый гастроэнтероколит», «острый энтероколит», «острая кишечная инфекция» на выявление генетических маркеров ротавирусов (РВ), аденовирусов (АдВ), норовирусов (НоВ), астровирусов (АсВ), энтеровирусов (ЭВ).

Отобрано и исследовано 240 смывов с поверхностей ОГС детского и взрослого инфекционных стационаров на аналогичный спектр вирусов.

Отбор проб фекалий осуществляли в стерильные пластиковые завинчивающиеся контейнеры в количестве 0,5-3,0 г стерильными инструментами.

Пробоподготовку образцов фекалий для исследований методом ПЦР осуществляли согласно действующему в Республике Беларусь инструктивному документу [3].

Пробоподготовку смывов с ОГС осуществляли методом концентрирования вирусных частиц путем их сорбции на вируссорбирующем материале и последующей элюции малым объемом буферного раствора (получение элюата) [4].

Для выделения вирусных нуклеиновых кислот из образцов фекалий и элюатов использовали коммерческие наборы «Рибо-преп» производства Амплисенс согласно инструкции по применению.

Индикацию РНК РВ, НоВ, АсВ и ДНК АдВ осуществляли с использованием набора «ОКИ-скрин» производства «Амплисенс» в соответствии с прилагаемой инструкцией.

Индикацию РНК энтеровирусов ЭВ и НоВ осуществ-

вляли методом ОТ-ПЦР:

- постановку реакции обратной транскрипции – с использованием набора "РЕВЕРТА L", производства "Амплисенс" (Россия) в соответствии с прилагаемой инструкцией; амплификацию полученной в реакции обратной транскрипции кДНК - с использованием ПЦР тест-систем с гибридационно - флуоресцентной детекцией продуктов реакции «ЭВ-ПЦР» и «НоВ II-ПЦР», производства РНПЦ эпидемиологии и микробиологии (Республика Беларусь) в соответствии с прилагаемой инструкцией.

Постановка ПЦР в реальном времени осуществлялась на амплификаторах RotorGene 3000 и 6000 (Corbett Life Sciences, Австралия) и CFX 96 Real-Time System (Bio-Rad, США).

Для накопления фрагментов генома НоВ и РВ с целью секвенирования использовали Diamant HF ДНК полимеразу, 2,5x реакционный буфер «HF» содержащий 0,5 мМ смесь дезоксинуклеотидов и 5 мМ раствор MgCl<sub>2</sub> (ГНУ «Институт микробиологии НАН РБ», Беларусь). Амплификацию осуществляли с применением взятых из литературных источников праймеров и зондов [10, 12], синтезированных фирмой PrimeTech (Беларусь).

Реакцию секвенирования проводили с помощью набора «GenomLab Dye Terminator Cycle Sequencing with Quick Start Kit» (Beckman coulter, США). Детекцию результатов осуществляли на приборе CEQ 8 000 (Beckman coulter, США), анализ результатов – в MEGA6 [13].

Молекулярное типирование выполняли с помощью программного продукта Norovirus Genotyping Tool Version 1.0, доступного для свободного использования в режиме онлайн по адресу <http://www.rivm.nl/mpf/norovirus/typingtool/>, и BLAST, открытого для свободного использования по адресу <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>.

#### Результаты и их обсуждение.

На основе проработки научной литературы и собственного опыта нами разработан алгоритм действий для молекулярно-эпидемиологического расследования кишечных вирусных ИСМП на уровне госпитальной среды и пациента [8]. В основу разработанного алгоритма положен принцип получения фактических данных в пользу наличия или отсутствия ассоциативной связи регистрируемой кишечной заболеваемости с

контаминацией госпитальной среды ее возбудителем. Он включает 4 этапа: генодиагностические исследования клинического материала пациентов, санитарно-вирусологические исследования госпитальной среды, молекулярное типирование обнаруженных у пациентов и в пробах из госпитальной среды возбудителей инфекции, филогенетический анализ «клинических» и «внешнесредовых» вирусных патогенов.

Для квалификации расследуемой кишечной заболеваемости как ИСМП принята следующая совокупность данных:

- эпидемиологические доказательства о возможности развития ИСМП, полученные в ходе классического эпидемиологического расследования;
- регистрация у пациентов клинических симптомов острого гастрита, гастроэнтерита, энтерита и других поражений желудочно-кишечного тракта, сопровождающихся диареей и симптомами интоксикации, которые появились спустя 48 часов и более после их госпитализации, а также у медицинского персонала в процессе осуществляемой им деятельности;
- лабораторное подтверждение вирусной этиологии кишечной инфекции и установление ее возбудителя;
- лабораторное подтверждение контаминации госпитальной среды возбудителем регистрируемой кишечной заболеваемости;
- молекулярно-эпидемиологическое подтверждение высокой степени генетического сходства (не менее 98,5%) анализируемых «клинических» и «внешнесредовых» вирусов.

В детском стационаре отобрано и исследовано методом ПЦР 117 смывов с поверхностей ОГС. Параллельно на аналогичный спектр вирусных патогенов проанализированы образцы фекалий пациентов детского возраста (n=19), находящихся в этот период на стационарном лечении.

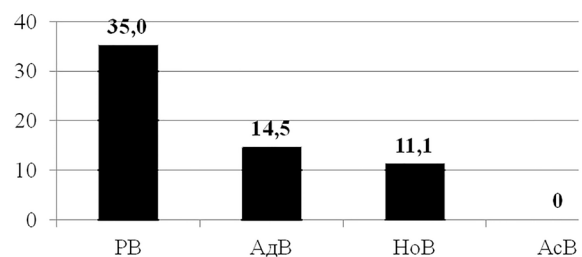


Рисунок 1. Результаты выявления генетического материала вирусов-контаминантов ОГС в детском стационаре, %

По результатам проведенных санитарно-вирусологических исследований частота выявления контаминированных генетическим материалом вирусов ОГС была достаточно высокой и составила 43,6±9,0% (51 позитивный образец). В исследованных образцах обнаруживались генетические маркеры РВ, АдВ, НоВ. Положительные результаты в отношении АсВ и ЭВ отсутствовали. Среди выявленных вирусов-контаминантов доминировали РВ (35,0±9,0%, выявлены в 41 пробе из 117 исследованных). АдВ и НоВ составили 14,5±6,5% (17/117) и 11,1±6,0% (13/117) соответственно (рис. 1).

Наиболее контаминированными поверхностями в палатах были ножки кроватей, столов, пол и стены у кроватей, подоконники, батареи, плинтусы, ручки дверей, игрушки (табл.1).

**Таблица 1.** Результаты изучения вирусной контаминации ОГС детского стационара

Возбудитель кишечных вирусных инфекций	Наименование контаминированных ОГС в палатах	Наименование контаминированных ОГС в санитарных комнатах
РВ	Ножки кроватей, ножки стола, стол, стульчики, плинтус, поверхности дверей, кроватей, пола и стен у кровати пациентов, подоконников, батарей, игрушек, руки пациентов и полотенца	Крышки бачков для сброса использованного белья, кран водопроводный, раковина, поверхности туалетной комнаты (ручки и двери, плинтусы, выключатели, кафельная плитка, унитаз)
НоВ	Плинтус, спинка, ножки и поверхность кроватей	Крышки бачков для сброса использованного белья, поверхности туалетной комнаты (ручки, плинтус, выключатели, унитаз)
АдВ	Ножки кроватей и стола, плинтус, стена у кровати	Поверхности туалетной комнаты (выключатели, плинтус, унитаз)

В 17,1% исследованных проб ОГС одновременно обнаруживалось несколько вирусных агентов. Так, два вируса регистрировались в 9,4% проб (в 5 смывах РВ+АдВ, в 4 смывах РВ+НоВ, в 2 смывах НоВ+АдВ), три вируса – в 3,4% проб РВ+НоВ+АдВ).

По результатам проведенной генодиагностики заболеваемости кишечными инфекциями пациентов обследуемого детского инфекционного стационара, частота выявления кишечных вирусов составила 57,9% (у 11 из 19 обследованных). Среди выявленных возбудителей оказались НоВ, РВ, АдВ. При этом ротавирусная и норовирусная инфекции установлены у 26,3% детей (по 5 позитивных из 19 обследованных), аденовирусная – у 21,1% детей (4 позитивных из 19 обследованных). В 15,8% случаев имела место смешанная инфекция, вызванная 2 возбудителями: РВ+НоВ, РВ+АдВ и НоВ+АдВ (рисунок 2). АсВ и ЭВ не были обнаружены ни у одного

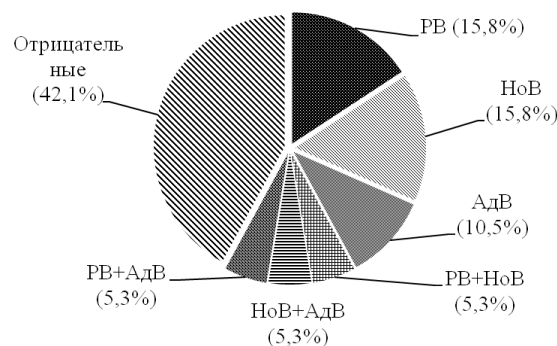
из обследованных пациентов.

Полученные в результате проведенных диагностических и санитарно-вирусологических исследований фактические данные свидетельствовали о наличии ассоциативной связи регистрируемой в детском инфекционном стационаре кишечной заболеваемости с контаминацией госпитальной среды ее возбудителями, спектр которых был представлен РВ, АдВ и НоВ.

Во взрослом инфекционном стационаре отобрано и исследовано методом ПЦР 123 смыва с поверхностей ОГС и 15 образцов фекалий пациентов, находящихся в этот период на стационарном лечении.

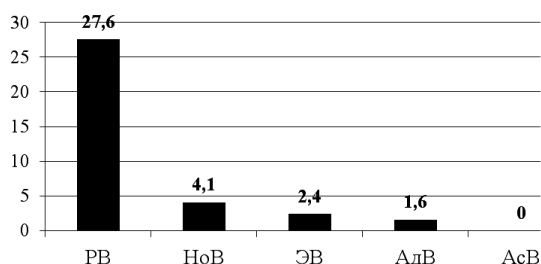
Частота выявления контаминированных кишечными вирусами ОГС во взрослом стационаре составила 30,9±8,0%. Доминирующими вирусами-контаминан-

тами взрослой госпитальной среды, как и в детском стационаре, были РВ, генетический материал которых был выявлен в 34 смывах с ОГС (27,6±8,0%). Частота



**Рисунок 2.** Частота выявления генетического материала вирусов-контаминантов ОГС у пациентов детского стационара, %

выявления НоВ составила 4,1% (5 позитивных образцов), ЭВ – 2,4% (3 позитивных смыва) и АдВ – 3,1% (2 позитивных ОГС). Как и в детском стационаре, положительные результаты в отношении АсВ отсутствовали (рисунок 3).



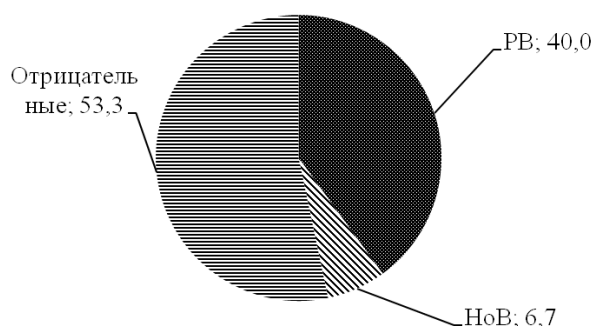
**Рисунок 3.** Результаты детекции кишечных вирус-контаминантов ОГС во взрослом стационаре, %

При этом процент выявления смешанной контаминации ОГС двумя или более кишечными вирусами составил 4,1 % (в 2 смывах присутствовали РВ+ЭВ, в 1 смыве РВ+НоВ+АдВ, в 1 смыве - РВ+АдВ, в 1 смыве - НоВ+ЭВ).

В палатах взрослого стационара, как и в детском, наиболее контаминированными поверхностями были все те же ножки кроватей, прикроватные тумбочки, ручки дверей, столы обеденные, постельное белье, руки пациентов. Одновременное выявление генетического материала 2 и более кишечных вирусов преимущественно было установлено при исследовании

смывов с поверхности унитаза, а также в единичных случаях - с поверхности кровати и рук пациента.

По данным выполненных генодиагностических исследований частота обнаружения вирусов-контаминантов ОГС у пациентов взрослого инфекционного стационара составила 46,7% (у 7 из 15 обследованных). В



**Рисунок 4.** Частота детекции генетического материала вирусов-контаминантов госпитальной среды у пациентов взрослого стационара, %

спектре выявленных возбудителей преобладали РВ (40,0%), доля НоВ составила 6,7% (рисунок 4).

Таким образом, в условиях взрослого инфекционного стационара спектр выявленных вирусов-контаминантов госпитальной среды совпадал со спектром возбудителей вирусных ОКИ, обнаруженных у пациентов, и был представлен РВ и НоВ.

Согласно ранее разработанного алгоритма молекулярно-эпидемиологического расследования кишечных вирусных ИСМП, ключевым его этапом является молекулярно-генетический анализ «внешне средовых» (обнаруженных на поверхностях ОГС) и «клинических» (выявленных у пациентов) вирусных патогенов.

Для этих целей были использованы смывы, содержащие генетический материал кишечных вирусов и пациенты, у которых по результатам лабораторной диагностики, была выявлена кишечная инфекция, вызванная этими же возбудителями. Такого рода исследования были проведены в отношении двух наиболее часто выявляющихся в смывах ОГС патогенов – РВ и НоВ. В отношении НоВ в исследования были взяты смыв с ножек кровати пациента (проба № 15712) и два позитивных на НоВ образца фекалий пациентов детского стационара (пробы № 15735 и № 15738), один из которых находился на лечении в той же палате, где был установлен факт контаминации ОГС.

Фрагменты геномов «внешнесредового» и «клинических» НоВ были накоплены и секвенированы. В результате выполненного их молекулярного типирования и филогенетического анализа установлено, что оба «клинических» изолята НоВ принадлежали к рекомбинантному генотипу GII.P16/ GII.4, в то время как НоВ, обнаруженные в смыве с ножек кровати, относился к генотипу GII.2 (табл. 2).

Аналогичные исследования были проведены и в отношении РВ. С помощью секвенирования были получены фрагменты нуклеотидной последовательности гена VP7 РВ, которые были выявлены в смывах с ОГС (пробы № 15671 и №15673) и у пациента (№15731) с диагнозом ротавирусная инфекция из той же палаты. Полученные результаты молекулярного типирования представлены в табл. 3.

Из представленных данных видно, что РВ, присутствующие в пробах ОГС, не имели значительной степени генетического сходства с вирусом, обнаруженным у пациента. Оба вируса из ОГС принадлежали к генотипу



G4, а вирус, идентифицированный у пациента – к генотипу G9. Следует отметить, что оба вируса из ОГС были очень сходны между собой – 99,9% сходства, тогда как каждый из них обнаруживал только 73,4% сходства с вирусом, обнаруженным у пациента.

Таким образом, полученные в наших исследованиях результаты сравнительного молекулярного типирования и филогенетического анализа генотипов РВ и НоВ, обнаруженных на поверхности ОГС и выявленных у обследуемых пациентов, не позволили квалифицировать регистрируемую у них норовирусную и ротавирусную инфекции как ИСМП.

В заключение следует отметить, что получение данных для установления случая(ев) ИСМП является достаточно трудоемкой и сложной процедурой, которая «привязана» к конкретному отрезку времени, отдельному(ым) пациенту(ам), определенному ОГС и требует слаженной работы многих специалистов.

Успех в достижении цели во многом зависит от возможности использования самых современных методов и технологий классической и молекулярной эпидемио-

логии, а также санитарной вирусологии и клинической диагностики с обязательным комплексным анализом полученных результатов.

**Выводы.**

1. В ходе исследований выявлен достаточно высокий уровень вирусной контаминации ОГС детского и взрослого инфекционных стационаров -43,6±9,0% и 30,9±8,0% соответственно.
2. Доминирующим вирусом-контаминантом ОГС из исследуемого перечня кишечных вирусных агентов был РВ (выявлялся в 35,0±9,0% смывов с ОГС детского стационара и в 27,6±8,0% - взрослого стационара).
3. Показано наличие ассоциативной связи между этиологической структурой кишечных вирусных инфекций, регистрируемых в детском и взрослом инфекционных стационарах, и спектром кишечных вирусов-контаминантов ОГС этих учреждений, представленным РВ, АдВ, НоВ.

**Перспективы дальнейших исследований.** Результаты проведенных исследований будут использованы для создания научно-обоснованного алгоритма лаборатор-

**Таблица 2.** Результаты генотипирования положительных образцов ОГС и клинического материала пациентов в условиях детского стационара

Рег. № образца	Источник получения	Тип вируса	Длина фрагмента НК	Результат генотипирования по гену полимеразы	Результат генотипирования по гену основного капсидного белка VP1
15712	Ножки кровати	НоВ	342	-	GII.2
15735	Фекалии пациента	НоВ	547	GII.P16	GII.4
15738	Фекалии пациента	НоВ	363	GII.P16	GII.4

**Таблица 3.** Результаты генотипирования положительных на РВ образцов ОГС и клинического материала пациентов в условиях детского стационара

Рег. № образца	Источник получения	Тип вируса	Длина фрагмента НК	Результат генотипирования по гену VP7	Степень сходства (%) нуклеотидной последовательности с ротавирусами из других исследованных проб
15671	Плнтус в предбок-нике	РВ	858	G4	15673 – 99,9% 15731 – 73,4%
15673	Крышка бачка для сброса использованного белья	РВ	867	G4	15671 – 99,9% 15731 – 73,4%
15731	Фекалии пациента	РВ	808	G9	15671 – 73,4% 15673 – 73,4%

ного контролю за кишечними вирусными ИСМП, который позволит контролировать эпидемическую безопасность госпитальной среды в отношении актуальных

социально значимых возбудителей и предотвратить развитие обусловленной ими заболеваемости в учреждениях здравоохранения.

## ЛІТЕРАТУРА

1. В Роспотребнадзоре назвали сумму убытков из-за внутрибольничных инфекций [Электронный ресурс] / РИА Новости. – Режим доступа: <https://ria.ru/society/20161216/1483809429.html/>. – Дата доступа: 18.12.2016.
2. Вне- и внутрибольничные кишечные инфекции у детей в Архангельской области Е.А. Кригер [и др.] // Экология человека. – 2013. – № 3. – С. 6-11.
3. Лабораторная диагностика вирусных острых кишечных инфекций: инструкция по применению: утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 15.12.2010 № 111-1210. – Минск: РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, 2011. – 24 с.
4. Методы отбора и концентрирования проб из объектов среды обитания человека для проведения санитарно-вирусологических исследований: инструкция по применению: утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 25.03.2014 № 016-1213. – Минск: РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, 2014. – 10 с.
5. Об утверждении Санитарных норм, правил и гигиенических нормативов «Гигиенические требования к устройству, оборудованию и содержанию организаций здравоохранения, к проведению санитарно-гигиенических и противоэпидемических мероприятий по профилактике инфекционных заболеваний в организациях здравоохранения»: постановление М-ва здравоохранения Респ. Беларусь, 09 авг. 2010 г., № 109.
6. О профилактике внутрибольничных инфекций: постановление Главного гос. санитар. врача Рос. Федерации от 29.11.2011 № 146 // Бюлл. нормат. актов федер. органов исп. власти. – 2011. – № 11. – С. 5–10.
7. О проведении учета, регистрации и анализа ВБИ в лечебно-профилактических учреждениях БССР: приказ М-ва здравоохранения Респ. Беларусь, 04 сент. 1987 г., № 179.
8. Современные подходы и методы молекулярно-эпидемиологического расследования заболеваемости кишечными вирусными инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи / Т.В. Амвросьева [и др.] // Современные проблемы инфекционной патологии человека [Электронный ресурс]: сб. науч. тр. / М-во здравоохран. Респ. Беларусь. РНПЦ эпидемиологии и микробиологии; под ред. Л.П. Титова. — Минск: ГУ РНМБ, 2016. — Вып. 10. — С. 211-215. – 1 электрон. опт. диск (DVD-ROM).
9. Contamination by Norovirus and Adenovirus on Environmental Surfaces and in Hands of Conscripts in Two Finnish Garrisons / S. Oristo [et al.] // Food Environ. Virol. – 2017. – Vol. 9. – P. 62-71.
10. Development of enhanced primer sets for detection of norovirus [Electronic resource] / B.-H. Kong // BioMed. Res. Int. – 2015. – Vol. 2015. – Article ID 103052, 9 pp. – Mode of access : <http://dx.doi.org/10.1155/2015/103052>. – Date of access : 27.11.2017.
11. Guidelines for Environmental Infection Control in Health-Care Facilities: Recommendations of CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC) [Electronic resource] // MMWR. – 2003. – Vol. 52 (RR10). – P. 1-42. – Mode of access: <https://www.cdc.gov/MMWR/preview/mmwrhtml/rr5210a1.htm>. – Date of access: 08.12.2016.
12. Manual of rotavirus detection and characterization methods [Electronic resource] / WHO, Dept. of Immunization, Vaccines and Biologicals // Geneva World Health Organization, 2009. – Mode of access : [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/70122/1/WHO\\_IVB\\_08.17\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/70122/1/WHO_IVB_08.17_eng.pdf). – Date of access : 06.11.2017.
13. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0 / K. Tamura [et al.] // Mol. Biol. Evol. – 2013. – Vol. 30, № 12. – P. 2725-2729.
14. Worldwide Database for Nosocomial Outbreaks [Electronic resource] / Institute for Hygiene and Environmental Medicine, Carite University Medicine Berlin, Germany. – Mode of access : [https://www.outbreak-database.com/AggregateSearch\\_Result.aspx](https://www.outbreak-database.com/AggregateSearch_Result.aspx). – Date of access: 07.07.2017.

**КОНТАМІНАЦІЯ ОБ'ЄКТІВ ГОСПІТАЛЬНОГО СЕРЕДОВИЩА КИШКОВИМИ  
ВІРУСНИМИ АГЕНТАМИ І ЇХ РОЛЬ У ВИНИКНЕННІ ІНФЕКЦІЙ, ПОВ'ЯЗАНИХ  
З НАДАННЯМ МЕДИЧНОЇ ДОПОМОГИ**

<sup>1</sup>Амвросьева Т. В., <sup>1</sup>Богуш З.Ф., <sup>1</sup>Поклонская Н.В., <sup>1</sup>Шилова Ю. А.,  
<sup>1</sup>Казинец О. Н., <sup>1</sup>Лозюк С.К., <sup>1</sup>Аринович А. С., <sup>2</sup>Кишкурно Е. П.

<sup>1</sup>Державна установа «Республіканський науково-практичний центр епідеміології і мікробіології»

Міністерства охорони здоров'я Республіки Білорусь, м. Мінськ, Білорусь

<sup>2</sup>«Білоруська медична академія післядипломної освіти», м.Мінськ, Білорусь

Стаття присвячена актуальній для охорони здоров'я проблемі вивчення інфекцій, пов'язаних з наданням медичної допомоги. У ній представлені результати молекулярно-епідеміологічних досліджень, спрямованих на вивчення вірусної контамінації об'єктів госпітального середовища (ОГС) збудниками вірусних гострих кишкових інфекцій (рота-, норо-, адено-, астро- і ентеровірусами) в інфекційних стаціонарах і встановлення її зв'язку з інфекціями пацієнтів, що знаходяться на лікуванні в цих установах. Детекція і ідентифікація генетичних маркерів вірусів в змивах з ОГС здійснювалася з використанням сучасних технологій пробоподготовки і молекулярно-генетичних методів дослідження, у тому числі порівняльного біоінформаційного (філогенетичного) аналізу для визначення міри ідентичності етіологічного агента захворюваності, що розслідується, і віруса-контаминанта госпітального середовища. Отримані результати свідчать про досить високу частоту контамінації ОГС дитячого (43,6%) і дорослого (30,9%) інфекційних стаціонарів і наявності вираженого асоціативного зв'язку реєстрованої кишкової захворюваності в інфекційних стаціонарах із спектром кишкових вірусів-контаминантів ОГС цих установ.

**Ключевые слова:** : Кишкові віруси; інфекції, пов'язані з наданням медичної допомоги; об'єкти госпітального середовища, молекулярно-епідеміологічні дослідження.

**CONTAMINATION OF OBJECTS OF THE HOSPITAL ENVIRONMENT BY ENTERIC VIRAL  
AGENTS AND THEIR ROLE IN THE EFFECT OF HEALTH CARE-ASSOCIATED INFECTIONS**

<sup>1</sup>Amvrosieva T.V., <sup>1</sup>Bohush Z.F., <sup>1</sup>Paklonskaya N. V., <sup>1</sup>Shilava Yu.A.,  
<sup>1</sup>Kazinets O. N., <sup>1</sup>Lazuk C.K., <sup>1</sup>Arinovich A.S. <sup>2</sup>Kishkurno E. P.

<sup>1</sup>Research and Practical Centre for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Belarus

<sup>2</sup>State Educational Establishment «Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education», Minsk, Belarus

The article is devoted to the urgent problem of health care-associated infections. The article describes the results of molecular epidemiological studies aimed at detection of virus (rota-, noro-, adeno-, astro- and enterovirus) contamination of hospital surfaces and its identification as a possible source of the secondary infection of patients. Detection and identification of viral nucleic acids in swabs was carried out by PCR after special sample preparation. Obtained viral nucleic acids from swabs and patients were sequenced and subjected to comparative bioinformatic analysis to determine the degree of identity of the etiological agent of the investigated morbidity and the contaminant virus of the hospital environment. The results indicate the high levels of surface contamination in the children's and adult infectious hospitals (43.6% and 30.9%, respectively) and the presence of a prominent associative relationship between spectra of enteric virus in patients of infectious hospitals and viral contamination of hospital surfaces

**Keywords:** enteric viruses, health care-associated infections, objects of the hospital environment, molecular-epidemiological studies.

УДК 616.9.579.828.:616.921.5.:616.9.578.8.25.12-07

А.М.Щербінська<sup>1,2</sup>, М.Г.Люльчук<sup>1,2</sup>, Н.О.Бабій<sup>1,2</sup>, Л.І.Гетьман<sup>2</sup>, В.В.Кирпичова<sup>1</sup>, Т.В. Гриценко<sup>2</sup>.

## ЕПІДЕМІЯ ВІЛ/СНІДУ В УКРАЇНІ ТА ВПЛИВ ЛЮДЕЙ, ЯКІ ВЖИВАЮТЬ ІН'ЄКЦІЙНІ НАРКОТИКИ НА ЇЇ РОЗВИТОК

<sup>1</sup>ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В.Громашевського НАМН України»<sup>2</sup>ДУ «Центр громадського здоров'я МОЗ України»

*В роботі проведено аналіз впливу людей, які вживають ін'єкційні наркотики (ЛВІН), на розвиток епідемічного процесу на сучасному етапі епідемії ВІЛ/СНІДУ в Україні та ефективність заходів, спрямованих на її подолання.*

*Ключові слова: люди, які вживають ін'єкційні наркотики, епідемія ВІЛ/СНІДУ.*

**А**ктуальність. Історія ВІЛ-інфекції/СНІДУ в Україні розпочалась з інформації в журналі MMWR (1981р.) про нову хворобу, яка за думкою керівництва міністерства охорони здоров'я СРСР, не мала соціального підґрунтя для поширення в країні і не являла собою епідемічної небезпеки. Загострення епідемічної ситуації в світі змусило звернути увагу на можливість появи хвороби в республіках СРСР і в 1987 р. було прийнято рішення про запровадження обстеження населення на антитіла до ВІЛ, передусім, це стосувалось іноземців та осіб, які довгий час перебували за кордоном. Проводити дослідження було доручено науковцям лабораторії загальної вірусології Київського науково-дослідного інституту епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського МОЗ УРСР. Вже в перший рік роботи були виявлені ВІЛ-інфіковані особи, що стало поштовхом до розвитку епідеміологічного нагляду за ВІЛ-інфекцією/СНІДОМ та створення служби СНІДУ в Українській РСР.

Впродовж 1987-1993 років захворюваність на ВІЛ-інфекцію та СНІД в Україні носила спорадичний характер, ВІЛ поширювався переважно статевим шляхом. Проте, починаючи з 1994р., у зв'язку з ростом ін'єкційної наркоманії, в епідемічний процес включився новий, більш швидкий шлях інфікування ВІЛ: через спільний шприц та забруднений кров'ю хворих наркотик, так звану «ширку». Захворюваність різко зросла і поширення ВІЛ набуло характеру епідемії, яка швидко поширилась на всі регіони країни і триває вже 30 років [3].

**Мета роботи.** Визначити участь людей, які вживають ін'єкційні наркотики, в розвитку епідемічного процесу на сучасному етапі епідемії ВІЛ/СНІДУ в Україні та ефек-

тивність заходів, спрямованих на подолання епідемії.

### Методи дослідження.

Проведено епідеміологічний аналіз матеріалів статистичних звітів.

### Результати та їх обговорення.

В розвитку епідемічного процесу ВІЛ-інфекції спостерігається декілька періодів, пов'язаних, зокрема, з активністю шляху передачі вірусу імунодефіциту людини. В перші роки поширення ВІЛ в країні випадки захворювання були зумовлені передачею ВІЛ статевим шляхом здебільшого від студентів з країн Африки, які навчались в провідних вузах, до громадян України. Основним джерелом інфекції на той період були іноземці, проте в подальшому вони вже не відігравали активної ролі в епідемічному процесі [5].

Ріст ін'єкційної наркоманії, що мав місце в країні на початку 90-х років внаслідок соціальних змін в суспільстві і відкритості кордонів, призвів до спалаху ВІЛ-інфекції серед людей, що вживають ін'єкційні наркотики (ЛВІН), дав поштовх до розвитку широкомасштабної епідемії ВІЛ/СНІДУ (1994 - 1998 рр.). Головним джерелом інфекції стали ЛВІН, які поширювали ВІЛ серед своїх партнерів по голці та статевих партнерів. Біоповедінкові дослідження, що постійно проводились впродовж подальших років в країні, визначили провідну роль ЛВІН в поширенні ВІЛ, проте після 2002 р. посилилась активність статевого шляху передачі збудника хвороби, хоча участь споживачів наркотиків в епідемічному процесі не виключалась [4]. Співставлення захворюваності на ВІЛ-інфекцію серед ЛВІН, здійснене за даними офіційної статистики [3-5], дозволило припустити, що за майже 30 років епідемії змінився вектор її руху: з областей з високим рівнем захворюваності серед ЛВІН - до відносно благополучних у епідемічному відношенні областей. Щоб переконатись у такому припущенні, було проведено аналіз нових випадків ВІЛ-інфекції, зареєстрованих серед ЛВІН в різних областях України, які

було поділено на 3 групи.

До першої групи віднесені 5 областей (регіонів) країни, де загальна кількість зареєстрованих нових випадків ВІЛ-інфекції серед ЛВІН в 1997 році була високою і перевищувала 400 осіб (Донецька, Дніпропетровська, Одеська області, АР Крим та м. Київ).

До другої групи було віднесено 10 областей, де кількість нових випадків ВІЛ-інфекції серед споживачів наркотиків складала від 100 до 300 осіб (Запорізька, Луганська, Миколаївська, Полтавська, Харківська, Черкаська, Чернігівська області та м. Севастополь).

До третьої групи віднесені 13 областей, де кількість зареєстрованих нових випадків ВІЛ-інфекції серед ЛВІН на початок спалаху епідемії була низькою і не перевищувала 100 (Вінницька, Волинська, Житомирська, Закарпатська, Івано-Франківська, Київська, Кіровоградська, Львівська, Рівненська, Сумська, Тернопільська, Херсонська, Хмельницька, Чернівецька області).

Точками визначення були взяті 1997, 2008 та 2014 роки: в 1997 р. зафіксовано найвищу кількість офіційно зареєстрованих ЛВІН в період спалаху ВІЛ-інфекції; 2008 р. - початок домінування статевого шляху передачі ВІЛ в країні; 2014 р. - масштабне впровадження АРТ (табл.1).

**Таблиця 1.** Кількість та частка ВІЛ-інфікованих ЛВІН в загальній масі нових випадків ВІЛ-інфекції серед споживачів ін'єкційних наркотиків (по групам областей)

Група областей	Кількість ВІЛ-інфікованих ЛВІН та їх частка в загальній масі ЛВІН, зареєстрованих в:		
	1997 р. (n = 7448)	2008 р. (n = 7009)	2014 р. (n = 4670)
	абс. (%)	абс. (%)	абс. (%)
Перша	5355 (71,89%)	3850 (54,94%)	2279 (48,81%)
Друга	1493 (20,04%)	2204 (31,44%)	1518 (32,50%)
Третя	600 (8,05%)	955 (13,62%)	873 (18,69%)

Порівняльний аналіз представлених в таблиці даних виявив деякі територіальні відмінності у поширенні ВІЛ-інфекції серед споживачів наркотиків. Найбільша кількість нових випадків ВІЛ-інфекції серед ЛВІН спостерігалась в 5 крупних регіонах (перша група) - Донецькій, Дніпропетровській, Одеській областях, АР Крим та м. Києві впродовж всього періоду спостере-

ження та мала тенденцію до зменшення, про що свідчить зменшення частки ЛВІН зазначених областей з 71,89 % в 1997 р. до 48,81 % в 2014 р. в загальній масі ЛВІН, зареєстрованих в країні.

В областях з невеликою кількістю інфікованих ЛВІН (друга та третя групи) на початку епідемії відзначалась зворотна тенденція – поступове зростання кількості ВІЛ-інфікованих ЛВІН та їх частки в загальній масі нових випадків ВІЛ-інфекції. Така ж тенденція зберігалась стосовно кількості ВІЛ-інфікованих по групам областей і їх частки в загальній кількості нових випадків ВІЛ-інфекції, зареєстрованих в зазначені роки (табл.2).

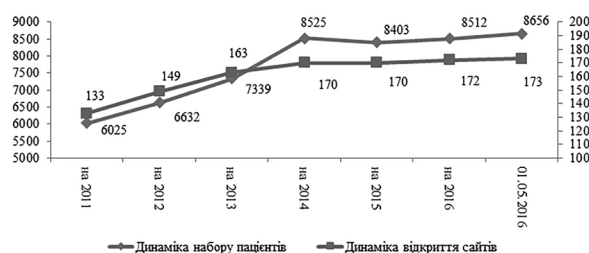
**Таблиця 2.** Кількість ВІЛ-інфікованих ЛВІН і їх частка в загальній кількості нових випадків ВІЛ-інфекції в країні

Група областей	Кількість ВІЛ-інфікованих ЛВІН та їх частка в загальній масі нових випадків ВІЛ-інфекції, зареєстрованих в:		
	1997 р. (n = 8910)	2008 р. (n = 18963)	2014 р. (n = 19273)
	абс. (%)	абс. (%)	абс. (%)
Перша	6263 (70,3%)	10824 (57,1%)	9935 (51,53%)
Друга	2253 (25,3%)	4819 (24,4%)	5779 (29,91%)
Третя	394 (4,4%)	3320 (17,5%)	3559 (18,56%)

Рівень поширеності ВІЛ серед даної групи підвищеного ризику в значній мірі залежав від охоплення ЛВІН профілактичними програмами зменшення шкоди, які реалізувались з початку епідемії неурядовими організаціями, насамперед, програмами обміну шприців та голок. Як свідчать дані програмного моніторингу профілактичних послуг, що надаються споживачам ін'єкційних наркотиків, рівень охоплення ЛВІН в 2012 р. склав 55,5%, в 2014 р. - 60% [1, 6]. В першій групі він дещо вищий (в середньому 65,58%) за рахунок більш активного впровадження профілактичних програм в крупних містах з високим рівнем поширеності ВІЛ і наркоманії, що вказує на позитивну тенденцію їх впливу. Разом з тим, спостерігається низьке охоплення ЛВІН антиретровірусною терапією (ЛВІН складають 10,9 % в загальній масі ВІЛ-інфікованих, які отримують АРТ), що не сприяє зменшенню участі ЛВІН в епідемічному процесі ВІЛ-інфекції.

Окремо слід зупинитись на впровадженні замісної підтримувальної терапії (ЗПТ) і її значенні для про-

філактики ВІЛ-інфекції серед осіб, які вживають ін'єкційні наркотики. За даними авторів [2, 7], ЗПТ відіграє суттєву роль у попередженні поширення ВІЛ через спільний брудний шприц чи забруднений наркотик, а крім того має значний соціальний та антикриміногенний вплив на спільноту ЛВІН. Відповідно до світової практики досягнення профілактичного ефекту можливе за умови охоплення ЗПТ понад 35% споживачів опіоїдних наркотиків. З метою визначення впливу ЗПТ на епідемічну ситуацію серед ЛВІН було проведено аналіз статистичних даних щодо осіб, які перебували на обліку в наркодиспансерах країни внаслідок вживання опіоїдів. На початок 2017 року кількість таких ЛВІН складала 42 247, з них ЗПТ отримувало 9 214 осіб [2], що складало 21,8% (7 987 осіб отримували метадон таблетований, 260 – метадон рідкий, 967 – бупренорфін) (Рис. 1.).



**Рисунок 1.** Динаміка набору пацієнтів на ЗПТ та відкриття сайтів ЗПТ.

Як видно з наведених даних, впродовж 4 останніх років набір споживачів наркотиків на ЗПТ здійснювався досить повільно, що не могло серйозно вплинути на поширення ВІЛ серед ЛВІН.

Доступ до програм ЗПТ суттєво відрізняється в різних регіонах та в цілому є недостатнім. Так, найбільший

відсоток охоплення ЗПТ осіб з опіоїдною залежністю спостерігається в Вінницькій (43,6%), Сумській (42,5%), Житомирській (41,4%), Миколаївській (37,8%), Полтавській (36,5%), де його рівень відповідає рекомендованому, тобто понад 35%.

Найменший показник охоплення ЗПТ в Одеській (7,0%) Запорізькій (11,1%), Волинській (11,4%), Черкаській (12,3%), Чернігівській (14,0%), областях. Співставлення темпів росту/зниження показників захворюваності за кількістю нових випадків ВІЛ-інфекції серед ЛВІН та охоплення споживачів ін'єкційних наркотиків ЗПТ показало, що даний профілактичний захід не впливає повною мірою на епідемічний процес. В обох групах областей з високим та низьким охопленням ЗПТ спостерігалась загальна тенденція до зменшення показників захворюваності ЛВІН на ВІЛ-інфекцію, разом з тим, в областях з високим рівнем охоплення ЗПТ (понад 35%) в 2015 р. відзначалось зростання частки хворих на ВІЛ-інфекцію ЛВІН серед нових випадків захворювання, тоді як в областях з низьким рівнем охоплення ЗПТ реєструвалось зниження частки хворих споживачів ін'єкційних наркотиків. В цілому по Україні в зазначені роки спостерігалась виражена тенденція до зменшення показників захворюваності на ВІЛ-інфекцію, (табл.3).

Нажаль, на сьогоднішній день потреба в ЗПТ, що озвучується на регіональному рівні, часто не є об'єктивною та залежить від політичної волі осіб, які приймають рішення щодо її впровадження.

Аналіз соціально-демографічних характеристик пацієнтів ЗПТ показав переважну участь в програмах чоловіків (81%), жінок було значно менше (19%). Середній вік учасників програми ЗПТ становив 37 років; середній стаж вживання наркотичних речовин дорівнює

**Таблиця 3.** Показники розвитку епідемії ВІЛ серед ЛВІН в регіонах з різними рівнями охоплення їх замісною підтримувальною терапією

Регіон	2014 р.			2015 р.			
	Показник захвор. на 100 тис. нас	Темп росту /зниж (%)	% ЛВІН серед нових випадків	Показник захвор. на 100 тис. нас.	Темп росту/зниж (%)	% ЛВІН серед нових випадків	Темп росту /зниж. (%)
Області з охопленням ЗПТ >35%	39,22	-1,2	<b>20,98</b>	36,24	-7,6	<b>22,36</b>	+6,5
Області з охопленням ЗПТ <35%	53,1	-1,02	<b>22,58</b>	49,86	-6,2	<b>20,52</b>	-9,13
Україна	44,8	+5,0	<b>24,2</b>	37,0	-17,4	<b>21,7</b>	-10,34

вав 16 рокам. Відтак, більшість пацієнтів програми - це особи середнього віку, які до вступу на програму вже мали тривалий стаж вживання наркотичних речовин та відповідно до даних анамнезу чисельні невдалі спроби лікування залежності.

Встановлений ВІЛ-позитивний статус мали 3 856 (41,8 %) пацієнтів ЗПТ, 2 713 осіб з них приймали АРТ (70,5%).

Протягом 2015 року з програми ЗПТ вибуло 2 158 осіб, з них 799 (37%), покинули програму за власним бажанням, 368 (17%) – померли.

ЗПТ надають 174 лікувально-профілактичні заклади, лише протягом 2016 року було відкрито 10 нових сайтів ЗПТ. Переважна більшість споживачів наркотиків отримувала ЗПТ на базі наркологічних диспансерів, декількох туб-закладів та 9 центрів профілактики та боротьби зі СНІДом.

З метою розширення доступу до програм ЗПТ за наказом МОЗ України в 2015 р. введено новації стосовно впровадження рецептурної форми видачі препаратів ЗПТ, створення стаціонарів вдома для пацієнтів, які за станом здоров'я не можуть відвідувати лікувальний заклад. Так, для 224 пацієнтів було створено стаціонар вдома, у 14 областях країни 518 пацієнтів отримували препарати за рецептом, 140 з них (у 6 регіонах) купували їх за власні кошти. Декілька пацієнтів отримували препарати ЗПТ за кошти місцевих бюджетів (рис.2).

Переважає більшість учасників отримують ЗПТ на базі наркологічних диспансерів, які перенавантажені і в більшості вичерпали свою спроможність щодо розширення. Відтак гостро стоїть питання відкриття нових сайтів ЗПТ, зокрема, через розширення мережі центрів первинної медико-санітарної допомоги, що надають ЗПТ.

Аналіз результатів дослідження свідчить про все ще значну участь ЛВІН в епідемічному процесі, незважаючи на

тенденцію зниження поширення ВІЛ серед цієї групи ризику в цілому по країні за останні 10 років. Впровадження профілактичних програм розпочалось ще в кінці 90-х років минулого століття і до 2012 р. досягло в окремих регіонах цільових показників охоплення ЛВІН - 60%. Як зазначають автори досліджень [2], показник поширеності ВІЛ стабілізувався, участь ЛВІН у профілактичних програмах призвела до зниження рівня поширеності ВІЛ. Разом з тим аналіз статистичних даних вказує на те, що регіони центральної та Західної України ввійшли в епідемію ВІЛ/СНІДу серед ЛВІН дещо пізніше, і цей процес продовжує повільно охоплювати інші області. Впровадження замісної підтримувальної терапії за умови низького відсотку залучення ЛВІН поки що не дає відчутних епідеміологічних результатів, хоча має велике медичне, соціальне і політичне значення. За даними [6, 7], ЗПТ призводить до зниження рівня поширення ВІЛ при включенні до програм понад 30% ЛВІН, тоді як на кінець 2017 р., послугами замісної підтримувальної терапії було охоплено – лише 21,8%. Якщо порівняти ці показники з оцінкою кількістю людей, які в країні вживають наркотичні речовини ін'єкційним шляхом, а їх нараховують близько 310 000 осіб (оцінка проведена в 2014 р.), висновок буде невтішним.

До цього слід додати, що на епідемічний процес ВІЛ-інфекції впливають міграційні процеси, пов'язані зі складною соціально-демографічною ситуацією, тривалою АТО та з переміщенням населення зі східних регіонів і АР Крим на інші території України і .

**Висновки.** В епідемічному процесі ВІЛ-інфекції в Україні суттєву роль продовжують відігравати люди, які вживають ін'єкційні наркотики. На сьогодні Україна залишається в категорії країн з концентрованою епідемією ВІЛ-інфекції, що зосереджена серед окремих груп населення високого

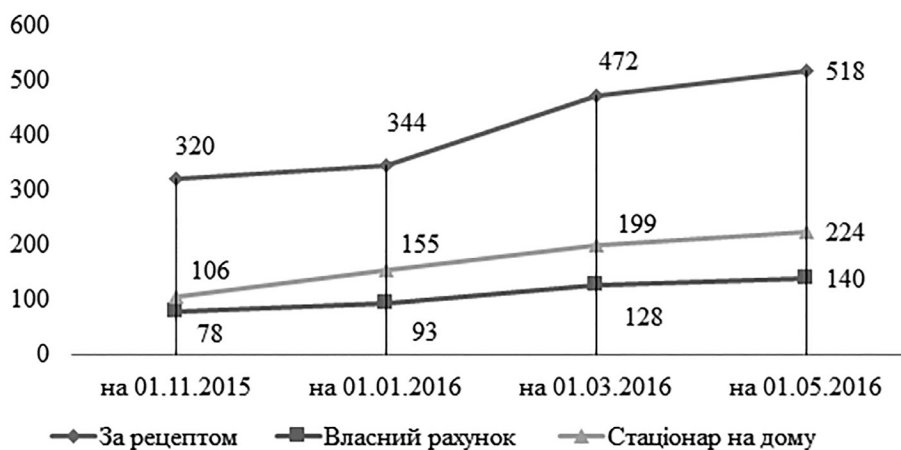


Рисунок 2. Інноваційні методи впровадження ЗПТ.

ризик. Отримані дані вказують на значні зміни в мапі поширення ВІЛ серед споживачів наркотиків, обґрунтовують необхідність подальшого розширення профілактичних заходів в областях, де відзначаються активні ріст частки ЛВІН

в загальній масі ВІЛ-інфікованих. Широке впровадження замісної підтримувальної терапії в регіонах України повинно стати нагальною задачею охорони здоров'я у боротьбі з епідемією ВІЛ/СНІДу в країні.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Балакірєва О.М. Моніторинг поведінки та розповсюдженість ВІЛ серед споживачів ін'єкційних наркотиків як компонент епідагляду другого покоління ( на основі результатів біоповедінкового дослідження 2011 року) / О.М. Балакірєва, Т.В. Бондар, Ю.В. Середа, Я.О. Сазонова // Аналітичний звіт МФБ «Міжнародний Альянс з ВІЛ/СНІД в Україні». Київ. – 2012. – 158 с.
2. Бойко А. Епідемія ВІЛ серед уразливих груп в Україні: огляд вторинних даних / А. Бойко, М. ДіКарло, О. Дорошенко, О. Морозова, Л. Шербурн // Аналітичний огляд. Київ. – 2013. – 56 с.
3. ВІЛ-інфекція та СНІД в Україні. Збірник матеріалів з актуальних проблем протидії епідемії. Київ. – 2001. – 200с.
4. ВІЛ-інфекція в Україні // Інформаційний бюлетень. Київ. – 2016. - №45. - 102 с..
5. ВІЛ-інфекція в Україні // Інформаційний бюлетень. Київ. – 2017. - №47. - 154 с.
6. Думчев К. Тенденції захворюваності на ВІЛ-інфекцію серед ЛВІН, ЧСЧ і РСК, які є клієнтами програм профілактики в Україні / К. Думчев, Я. Сазонова, О. Варецька, П. Смирнов //Матеріали третьої національної науково-практичної конференції «За кожне життя разом: прискорення до мети 90-90-90» (21-23 листопада 2016 р., м. Київ). // Профілактична медицина. – 2016. - №3-4 (27). – С.54 – 56.
7. Зеленська М.В. Актуальні питання впровадження замісної підтримувальної терапії в Україні / М.В. Зеленська, О.Г. Єщенко, І.Л. Демченко // Туберкульоз, легеневої хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2015. – №2 (21). – С.30 – 46.

### ЭПИДЕМИЯ ВИЧ/СПИДА В УКРАИНЕ И ВОЗДЕЙСТВИЕ ЛЮДЕЙ, УПОТРЕБЛЯЮЩИХ ИНЪЕКЦИОННЫЕ НАРКОТИКИ, НА ЕЁ РАЗВИТИЕ

А.М.Щербинская<sup>1,2</sup>, М.Г.Люльчук<sup>1,2</sup>, Н.А.Бабий<sup>1,2</sup>, Л.И.Гетьман<sup>2</sup>,  
В.В. Кирпичёва<sup>1</sup>, Т.В. Гриценко<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГУ «Институт эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л.В. Громашевского НАМН Украины»,

<sup>2</sup>ГУ «Центр общественного здоровья МЗ Украины»

В работе проведен анализ воздействия людей, употребляющих инъекционные наркотики, на развитие эпидемического процесса ВИЧ-инфекции на современном этапе эпидемии ВИЧ/СПИДа в Украине и эффективность мероприятий, направленных на её преодоление.

**Ключевые слова:** люди, употребляющие инъекционные наркотики, эпидемия ВИЧ/СПИДа

### THE HIV/AIDS EPIDEMIC IN UKRAINE AND IMPACT OF INJECTION DRUG USERS ON ITS DEVELOPMENT

A.M. Scherbinska<sup>1,2</sup>, M.G. Liulchuk<sup>1,2</sup>, N.O. Babii<sup>1,2</sup>, L.I. Getman<sup>2</sup>,  
V.V. Kyrpichova<sup>1</sup>, T.V. Grytsenko<sup>2</sup>

<sup>1</sup>SI "L.V.Gromashevskiy Institute of Epidemiology and Infectious Diseases of National Academy of Medical Sciences of Ukraine".

<sup>2</sup>SI "Center of Public Health of Ministry of Health of Ukraine".

The article presents the results of the research of the impact of injection drug users on the development of the epidemic process of HIV infection at the current stage of the HIV/AIDS epidemic in Ukraine and on the effectiveness of measures aimed at overcoming it.

**Keywords:** injection drug users, HIV/AIDS epidemic



УДК [616.98:13]-092.07-08

Н.В. Гопко<sup>1</sup>, В.І. Задорожна<sup>2</sup>

## ЕКОЛОГО-ЕПІДЕМІОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ЛЕПТОСПІРОЗУ В СУЧАСНИХ УМОВАХ

<sup>1</sup>Державна установа «Чернівецький обласний лабораторний центр Міністерства охорони здоров'я України», м. Чернівці

<sup>2</sup>ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського НАМН України», м. Київ

*У статті наведено аналіз сучасних інформаційних даних наукової літератури з тенденції, взаємозв'язки і особливості в епідеміології лептоспірозу на сучасному етапі на континентальному, державному та регіональному рівнях. Встановлено необхідність подальшого наукового дослідження для вивчення регіональних особливостей епідемічного процесу лептоспірозу в Україні, визначення причин і закономірностей прояву захворюваності з подальшим вдосконаленням епідеміологічного нагляду та розробкою науково обґрунтованих протиепідемічних заходів.*

**Ключові слова:** лептоспіроз, захворюваність, епідеміологічні особливості.

Лептоспіроз - гостра природно-осередкова інфекція диких, домашніх тварин і людини, яка характеризується поліморфізмом клінічних проявів та викликана різними серологічними групами лептоспір [2]. Зміни в епізоотології та епідеміології лептоспірозої інфекції вимагають поглибленого вивчення внутрішньої структури природних вогнищ та факторів, які впливають на зараження людини. Актуальність вивчення змін в епідемічному процесі лептоспірозу визначається тим, що практично неможливо ліквідувати епізоотичний процес в природі, тому лептоспіроз до теперішнього часу продовжує залишатися актуальною епізоотологічною, епідеміологічною, екологічною проблемою. В зв'язку з цим заходи по контролю за захворюванням повинні бути спрямовані на запобігання можливого інфікування людини і розроблені з урахуванням глобальних тенденцій прояву інфекції та регіональних особливостей, що впливають на ланки епідемічного процесу [7]. У сучасних умовах світовий простір є

єдиною соціально-екологічною системою, в якій відбуваються процеси взаємопов'язані і взаємозумовлені, що може привести до формування єдиного епідемічного простору. Найбільш перспективні напрямки в управлінні інфекційними захворюваннями – міжнародна координація профілактичних заходів і визначення істинного значення захворювання у масштабі країн світу.

**Метою даної роботи** було проаналізувати сучасні інформаційні дані, офіційну статистичну звітність та результати власних досліджень для визначення особливостей в епідеміології лептоспірозу на континентальному, державному та регіональному рівнях (на прикладі країн Європи, України).

Для виявлення глобальних тенденцій епідемічного процесу вивчили прояви лептоспірозу в країнах Європи з різними кліматичними і географічними умовами і різним рівнем економічного розвитку. В умовах сьогодення згідно з даними ВООЗ лептоспіроз належить до найпоширеніших зоонозних захворювань у всьому світі, характеризується тяжким перебігом і високою летальністю, спостерігається практично на всіх континентах [11]. Щорічно в світі реєструють понад 500 тисяч випадків захворювання людей [29]. Найбільш часто високу захворюваність відзначають в країнах з тропічним і субтропічним кліматом. Для ендемічних з лептоспірозу територій, якими є регіони Південної Америки, Південно-східної Азії, острови південної частини Тихого океану, характерна дуже висока захворюваність [22, 24]. Так, на острові Футуна за період 2004-2014 рр. пік захворюваності було відмічено у 2008 році (1,945 на 100 тис. населення) [25]. У країнах з помірним кліматом реальний епідемічний процес є інтенсив-

нішим, ніж офіційна захворюваність, оскільки не всі випадки фіксуються в офіційній статистиці. У джерелах спеціалізованої літератури підкреслюється значущість лептоспірозу як ре-емерджентного інфекційного захворювання, що проявляється великими спалахами в країнах, в яких хвороба реєструвалася раніше – Нікарагуа, Бразилії, Індії, Малайзії, США, державах Південно-Східної Азії та ін.), і як емерджентного – для туристів тропічних країн і країн з помірним кліматом [17, 21].

Лептоспіроз залишається актуальною хворобою і для окремих країн Європи. Зокрема, за даними щорічного епідеміологічного звіту Європейського центру профілактики та контролю захворювань ECDC, (2016) в 2014 р. кількість підтверджених випадків у країнах Європейського Союзу (ЄС) зросла вдвічі порівняно з попередніми роками. Повідомлення про випадки лептоспірозу було отримано з 27 країн. Загальна кількість підтверджених випадків – 937, що складає 0,2 на 100 тисяч населення. Найвищою захворюваність була в Хорватії (2,5), Словенії (1,5), Нідерландах (0,6), Португалії (0,6), Ірландії (0,5) та сусідній з Україною Румунії – 0,5 на 100 тисяч населення. Тоді як з 2010 по 2013 кількість підтверджених випадків щорічно зменшувалась з 600 в 2010 р. до 407 в 2013 р. і складала 0,1 на 100 тисяч населення. Для виявлення глобальних тенденцій епідемічного процесу вивчили прояви лептоспірозу в країнах Європи з різними кліматичними і географічними умовами і різним рівнем економічного розвитку. Лептоспіроз широко поширений в Європі, спорадичні випадки його відзначають практично у всіх країнах, за винятком Ісландії, Норвегії, Люксембургу [15]. З початку 1990-х років в європейських країнах спостерігається зростання захворюваності та ускладнення клінічного перебігу лептоспірозу у людей. В економічно розвинених країнах західної і центральної Європи рівень захворюваності на лептоспіроз нижче (не перевищує 1,5 на 100 тис. населення за останні 10 років), ніж в країнах східної Європи (в окремі роки перевищує 3,0 на 100 тис. населення) [19]. Згідно з даними [10] високий рівень захворюваності обумовлений більш низьким

соціальним рівнем життя населення, домінуванням сільськогосподарської діяльності та іншими факторами. Однак в останні роки в індустріальних країнах західної Європи захворюваність на лептоспіроз стала вище, ніж в сільськогосподарських. Механізація аграрної праці та вакцинація сільськогосподарських тварин призвели до зниження ризику зараження в сільській місцевості, а збільшення контакту з домашніми тваринами-носіями лептоспір, інтерес до екстремальних видів відпочинку (каное) та туристичної активності сприяли захворюванню міського населення.

В умовах сьогодення проблема лептоспірозу набуває все більшого значення і в Україні. Серед особливо небезпечних природно-вогнищевих хвороб лептоспіроз залишається єдиною інфекцією, що реєструється на всіх адміністративних територіях України щороку. Ця інфекція має виражену тенденцію до росту захворюваності, як і в інших країнах [3]. В Україні лептоспіроз вивчають з початку ХХ століття, але постійна реєстрація захворювання проводиться з 1946 р. Згідно з даними Міністерства охорони здоров'я в Україні за період 1997-2013 рр. відмічене помітне зростання захворюваності: у 1993 році зареєстровано 728 випадків, у 1997 році – 1389, за 11 місяців 1998 року – 1451 з наступним деяким зниженням (у 1999 р. – 1361, у 2000 р. – 779, у 2013 р. – 361). Захворюваність на лептоспіроз в Україні у 2016 р. несуттєво перевищує рівень 2015 року (показник на 100 тисяч населення 0,76). Загальна кількість підтверджених випадків дорівнювала 266. З'являється тенденція урбанізації лептоспірозу, серед мешканців міст лептоспіроз реєструвався у 58,8% випадків. Частіше хворіли чоловіки (85,1%), ніж жінки (14,9%). Як і в попередні роки, переважно хворіли особи найбільш працездатної вікової групи 30 – 60 років і старше (питома вага 94,8%), діти до 9 років склали 0,9%, діти у віці 10-17 років – 4,3% від загальної кількості хворих. Найвищою захворюваність була влітку та восени (зростання відмічалось з червня з піком у вересні). Основним джерелом збудника інфекції були гризуни (76,1%), сільськогосподарські й домашні тварини (5,4%).

При перебуванні у природних вогнищах лептоспірозу захворіло 167 осіб (51,7%), у господарських (антропоургічних) – 47 (14,6%), змішаних – 54 (16,7%), тип осередку не встановлено у 55 випадках (17%).

Загалом впродовж 1998 – 2015 рр. частка жителів сіл у загальній захворюваності щороку переважала і складала до 63,5%. В 2016 році епідемічний процес з лептоспірозу підтримувався за рахунок міського населення, яке інфікувалось переважно у сільській місцевості та зонах рекреації. У той же час, спостерігається кореляція між показниками захворюваності сільського та міського населення з певною стабілізацією протягом 6 останніх років. Низьким рівнем характеризується захворюваність на лептоспіроз практично щороку в АР Крим, Дніпропетровській, Донецькій, Житомирській, Запорізькій, Луганській, Одеській та Харківській областях.

Реальний рівень захворюваності на лептоспіроз значно перевищує реєстровані показники внаслідок гіподіагностики, зумовленої низьким клінічним виявленням хворих, а також недостатніми обсягами лабораторних досліджень (в окремих регіонах кількість проведених досліджень за останні роки зменшилася до 5 разів при однаковій інтенсивності епідемічного процесу).

Відзначається, що лептоспіроз завдає суттєвих соціальних та економічних збитків, навіть якщо захворювання перенесено в легких формах або реєструвалося під іншим діагнозом, а також у зв'язку з появою нових клінічних форм і можливістю повторного зараження різними серологічними групами лептоспір [1]. За результатами аналізу захворюваності на лептоспіроз за період з 50-х років минулого сторіччя можна зробити висновок про певні зміни географічного поширення інфекції в межах країни. Так, з 1990-х років сформувались нові території з високою захворюваністю (Закарпатська, Київська, Кіровоградська, Миколаївська, Чернігівська та Чернівецька області) з максимальними показниками 12,77 та 12,65 на 100 тисяч населення у 1997 р. в Кіровоградській та Закарпатській областях відповідно. Перевищення загальнодержавних показників

у декілька разів в окремі роки відмічалось в Івано-Франківській, Рівненській, Тернопільській, Херсонській, Хмельницькій та Черкаській областях.

Деякі дослідники [5] довели вплив абіотичних факторів (температури повітря, кількості опадів та кислотності ґрунтів) на рівень захворюваності на лептоспіроз людей, чисельність та інфікованість гризунів у різних кліматичних регіонах України.

З початку 90-х років ХХ ст. лептоспіроз є найпоширенішим природно-осередковим захворюванням із високим відсотком тяжких клінічних форм і летальності. Це є найбільш значуща зоонозна інфекція, яка становить постійну небезпеку для здоров'я людей [1]. Зміни в епізоотології та епідеміології лептоспірозої інфекції вимагають поглибленого вивчення внутрішньої структури природних вогнищ та факторів, які впливають на зараження людини.

Зміни превалюючих серогруп сприяли недостатньо ефективні заходи контролю за дрібними ссавцями, що проживає в межах міст (їжаки, миші, щури, хом'яки та ін.). В останні роки відмічали зміни у віковій структурі хворих: зростання захворювання серед осіб старше 60 років, що пов'язано з демографічними змінами в європейських країнах, збільшенням активності і зміною діяльності цієї когорти населення (робота на присадибних ділянках, туризм та ін.)

С.П. Бернасовська вперше описала природні осередки лептоспірозу в лісостеповій та поліській зонах України. Крім того, автор встановила особливості циркуляції серогруп лептоспір в різних ландшафтно-географічних зонах: серогрупи *Grippotithosa* переважала в західній частині України і Харківської області; серогрупи *Hebdomadis* - у Волинській, Рівненській, Вінницькій та АР Крим; серогрупи *Pomona* - в Харківській, Рівненській та АР Крим [1]. Основне значення в патології людини мають лептоспіри серогруп *Icterohaemorrhagiae*, *Grippytyphosa*, *Hebdomadis*, *Canicola*, *Pomona* тощо. В середині 1970-х в Україні виявили зміни в етіологічній структурі захворюваності людей, з середини 1980-х років провідне значення в захворюваності стало належати лептоспірам серологічної групи

Icterohemorrhagiae. Етіологічну структуру лептоспірозу у хворих за останні 10 років було представлено щонайменше 14 серогрупами діагностичного набору щороку. Загалом за період 2003 – 2016 рр. серед етіологічних агентів лептоспірозу переважали лептоспіри серогруп *Icterohaemorrhagiae*, *Habdomadis*, *L. Grippotyphosa*, *Pomona*. Їх розподіл за серогрупами дещо змінювався впродовж 2003 – 2013 рр. Так, за останні роки зменшилася частка захворювань, обумовлених серогрупою *Pomona*. Відмічається зростання етіологічної ролі *Canicola* – з 7,07% у 2003 р. до 11,3% у 2015 р., *Australis* – до 8% у 2016 році. Аналогічні зміни в структурі захворюваності лептоспірозом відбулися в країнах Європи [26]. Зміна провідного етіологічного фактора (однієї серологічної групи на іншу) пов'язано з посиленням ветеринарного контролю, системної і доступної специфічної профілактикою лептоспірозу у сільськогосподарських і промислових тварин (вакцинація розпочата з кінця 1940-х років) і планової вакцинацією людей з груп ризику проти конкретних серогруп лептоспір.

Однак в Україні, як і в інших європейських країнах, офіційно реєструється захворюваність населення не відповідає об'єктивним проявам епідемічного процесу через труднощі при клінічній ідентифікації (поліморфізм клінічних проявів, наявність маніфестних, стертих, субклінічних, а іноді і безсимптомних форм). Частково лептоспіроз поповнює статистику соматичних та інших інфекційних захворювань. Причинами цього, ймовірно, є відсутність настороженості у медичного персоналу, недо-

ліки в діагностиці захворювання в окремих регіонах, а також труднощі, пов'язані з виявленням серонегативних хворих при фульмінантному перебігу хвороби і при деяких атипичних проявах захворювання (лептоспірозний менінгіт, менінгоенцефаліт та ін.).

Нагляд за лептоспірозом ускладнюється тим, що тварини можуть тривало, іноді місяцями, виділяти лептоспіри із сечею, залишаючись зовні здоровими. Навіть вакциновані тварини можуть бути стійкими носіями лептоспір, виділяючи їх у великій кількості в навколишнє середовище. Висока сприйнятливість до інфекції людей та легкість інфікування створюють небезпеку зараження та захворювання людини під час перебування її в природних осередках лептоспірозу, а також за наявності інфікованих гризунів у житлових приміщеннях, на складах, фермах тощо, під час контакту з хворими та інфікованими свійськими тваринами. Тому з'являється необхідність у постійному вдосконаленні системи епідеміологічного нагляду, лабораторних методів діагностики, особливо на адміністративних територіях, де є необхідні передумови (наявність тварин-господарів, сприятливий ландшафт і ін.), але захворюваність не реєструється.

**Перспективи подальших досліджень** полягають у вивченні регіональних особливостей епідемічного процесу лептоспірозу в Україні для визначення закономірностей його розвитку на сучасному етапі з подальшим вдосконаленням епідеміологічного нагляду та розробкою науково обґрунтованих протиепідемічних заходів.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Бернасовська С.П. Проблема лептоспірозу в Україні / С.П. Бернасовська, В.М. Кондратенко, О.В. Мельницька // Інфекційні хвороби. – 1996. – № 2. – С. 37-39.
2. Васильєва Н.А. Лептоспіроз: монографія / Н.А. Васильєва, М.А. Андрейчин. – Тернопіль: ТДМУ, 2016. – 276 с.
3. Васильєва Н. А. Еволюція епідемічного процесу лептоспірозу (за матеріалами Тернопільської області) / Н.А. Васильєва, О.С. Луцук, О.В. Павлів // Профілактична медицина. – 2011. – № 2 (14). – С. 69-73.
4. Епізоотологічні та епідеміологічні аспекти лептоспірозу в Україні / [В. І. Задорожна, С. В. Протас, Н. В. Гопко та ін.]. – К., 2014. – 46 с.
5. Кравчук Ю. А. Оцінка ситуації стосовно лептоспірозу в світлі соцекосистемного аналізу / Ю. А. Кравчук // Інфекційні хвороби. – 2015. – № 1 (79). – С. 79-86.
6. Павленко О. Л. Особливості епідемічного процесу лептоспірозу в Криму / О. Л. Павленко, Л.С. Зініч,

- О.Б. Хайтович // Інфекційні хвороби. – 2012. – № 3 (69). – С. 42-48.
7. Яворський М. І. Епідеміологічні особливості захворювання на лептоспіроз на Прикарпатті / М. І. Яворський // Архів клін. медицини. – 2013. – № 2. – С. 85-87
8. Adler B *Leptospira* and leptospirosis. / B Adler, de la Pena Moctezuma. // *Vet Microbiol.*– 2009 – Vol. 140(3–4). – P.287–296.
9. Allan K.J. Renewing the momentum for leptospirosis research in Africa. / K.J. Allan, J.E Halliday, S. Cleaveland // *Trans R Soc Trop Med Hyg.* – 2015.– Vol.109(10). – P. 605–606.
10. Climate change, flooding, urbanisation and leptospirosis: fuelling the fire? / C. L. Lau, L. D. Smythe, S. B. Craig, P. Weinstein // *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* – 2010. – Vol. 104, № 10. – P. 631-638.
11. Costa F. Global morbidity and mortality of leptospirosis: a systematic review. / F. Costa, J.E. Hagan, J. Calcagno et al // *PLoS Neglected Tropical Diseases*. Published: September 17, 2015. – <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003898>
12. Dufour B . Global change: impact, management, risk approach and health measures – the case of Europe. / B. Dufour, F. Moutou, A.M. Hattenberger, F. Rodhain // *Rev Sci Tech.* – 2008.– Vol. 27(2).– P.529–550.
13. Durski K.N. A global, multi-disciplinary, multi-sectorial initiative to combat leptospirosis: Global Leptospirosis Environmental Action Network (GLEAN). / K.N. Durski, M. Jancloes, T. Chowdhary, E. Bertherat // *Int. J. Envir. Res. Public. Health.*– 2014 – Vol.11(6).– P6000–6008.
14. Ellis W.A. Animal leptospirosis. / W.A. Ellis // *Current topics in microbiology and immunology.* – 2015. Vol. 387.– P.99–137.
15. European Centre for Disease Prevention and Control. Annual epidemiological report 2014 – food and waterborne diseases and zoonoses. Stockholm: ECDC; 2014. –Available from: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/food-waterborne-diseases-annual-epidemiological-report-2014.pdf>.
16. Felzemburgh R.D. Prospective study of leptospirosis transmission in an urban slum community: role of poor environment in repeated exposures to the leptospira agent / R.D. Felzemburgh, G.S. Ribeiro, F. Costa, et al. // *3 екрану.*– *PLoS Negl Trop Dis* 8(5): e2927. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002927>.
17. Jobbins S.E. Evidence of *Leptospira* sp. infection among a diversity of African wildlife species: beyond the usual suspects. / S.E. Jobbins, K.A. Alexander // *Trans R Soc Trop Med Hyg.* – 2015. – Vol.109(5). – P.349–351.
18. Haake D.A. Leptospirosis in humans / D.A. Haake, P.N. Levett // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* - 2015. - Vol. 387. - P. 65-97.
19. Hotez P.J Europe’s neglected infections of poverty. / Hotez P.J., Hurwith M. – 3 екрану : *Int J Infect Dis*. 2011 Sep;15(9):e611-9. doi: 10.1016/j.ijid.2011.05.006. Epub 2011 Jul 16.
20. Kouadio I.K. Infectious diseases following natural disasters: prevention and control measures. / I.K. Kouadio, S. Aljunid, T. Kamigaki, K. Hammad, H. Oshitani // *Expert Rev Antiinfect Ther.* – 2012. – Vol. 10(1).– P.95–104.
21. Lau C.L The emergence of *Leptospira borgpetersenii* serovar Arborea in Queensland, Australia, 2001 to 2013. / Lau C.L, Skelly C, Dohnt M, Smythe L.D. – 3 екрану: *BMC Infect Dis*. 2015 Jun 14;15:230. doi: 10.1186/s12879-015-0982-0.
22. Leptospirosis from water sources / [S. J. Wynwood, G. C. Graham, S. L. Weier et al.] // *Pathog. Glob. Health.* - 2014. - Vol. 108, № 7. - P. 334-338.
23. Leptospirosis in Mexico: Epidemiology and Potential Distribution of Human Cases / [S. Sánchez-Monte, D.V. Espinosa-Martínez, C.A. Ríos-Muñoz et. al.]. – 3 екрану.: *PLoS One*. Published: July 24, 2015. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133720>
24. Leptospirosis and malaria as causes of febrile illness during a dengue epidemic in Jamaica. / J. Lindo, P.D. Brown, I.Vickers, M. Brown, S.T. Jackson, E. Lewis-Fuller // *Pathog Glob Health.* – 2013.– Vol.107(6). – P.329–334.
25. Massenet D. An unprecedented high incidence of leptospirosis in Futuna, South Pacific, 2004-2014, evidenced by retrospective analyses of surveillance data./ D. Massenet, J.F. Yvon, C. Couteaux .– 3 екрану: *PLoS ONE* 10(11): Published: November 3, 2015.

- <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142063>
26. Richard S. Zoonotic occupational diseases in forestry workers - Lyme borreliosis, tularemia and leptospirosis in Europe / S. Richard, A. Oppliger // Ann. Agric. Environ. Med.. - 2015. - Vol. 22, N 1. - P. 43-50
27. Seguro A.C. Pathophysiology of leptospirosis. / A.C. Seguro, L. Andrade Shock. 2013;39(Suppl 1):17–23.
28. Stritof Majetic Z. Epizootiological survey of small mammals as *Leptospira* spp. reservoirs in Eastern Croatia. / Z. Stritof Majetic, R. Galloway, E. Ruzic Sabljic, Z. Milas, V. Mojcec Perko, J. Habus, et al. //Acta Tropica. – 2014;131:111-6.
29. Studying risk factors associated with human leptospirosis / R. Kamath, S. Swain, S. Pattanshetty, N. S. Nair // J. Glob. Infect. Dis. - 2014. - Vol. 6, № 1. - P. 3-9.
30. Travel-related leptospirosis in Israel: a nationwide study / [Leshem E, Segal G, Barnea A. et al.] // Am. J. Trop. Med. Hyg. – 2010. – Vol. 82, №3. – P. 459- 463.
31. Tubiana S. Risk factors and predictors of severe leptospirosis in New Caledonia / S Tubiana, M Mikulski, J. Becam, et al //PLoS Negl Trop Dis. – 2013.– DOI:10.1371/journal.pntd.0001991
32. World Health Organization (WHO). WHO Recommended Standards and Strategies for Surveillance Prevention and Control of Communicable Diseases: Leptospirosis. Vol WHO/CDS/CSR/ISR/99.2. Geneva: World Health Organization; 1999.

### ЭКОЛОГО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЛЕПТОСПИРОЗА В НАСТОЯЩЕЕ ВРЕМЯ

Н.В Гопко<sup>1</sup>.В.И. Задорожная<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>ГУ «Черновицкий областной лабораторный центр Министерства здравоохранения Украины»

<sup>2</sup>ГУ «Институт эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л.В. Громашевского НАМН Украины», Киев

В статье приведен анализ современных информационных данных научной литературы по тенденции, взаимосвязям и особенностям в эпидемиологии лептоспироза на современном этапе на континентальном, государственном и региональном уровнях. Установлена необходимость дальнейшего научного исследования для изучения региональных особенностей эпидемического процесса лептоспироза в Украине, определение причин и закономерностей проявления заболеваемости с дальнейшим совершенствованием эпидемиологического надзора и разработкой научно обоснованных противозидемических мероприятий.

**Ключевые слова:** лептоспироз, заболеваемость, эпидемиологические особенности.

### ENVIRONMENTAL AND EPIDEMIOLOGICAL ASPECTS OF LEPTOSPIROSIS IN CURRENT CONDITIONS

Gopko N.V.<sup>1</sup>, Zadorozhna V.I.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>SI «Chernivtsi Regional Laboratory Center of the Ministry of Health of Ukraine»

<sup>2</sup>SI «The L.V. Gromashevsky Institute of Epidemiology and Infectious Diseases of NAMS of Ukraine», Kyiv

The article represents an analysis of modern information data of scientific literature on trends, interconnections and features in the epidemiology of leptospirosis at the present stage at the continental, state and regional levels. The necessity of further scientific research for the study of regional features of the epidemic process of leptospirosis in Ukraine, determination of causes and patterns of manifestation of morbidity with further improvement of epidemiological surveillance and development of scientifically grounded antiepidemic measures were established.

**Keywords:** leptospirosis, morbidity, epidemiological features.

УДК 616.921.5-036.22(477)

А.П. Міроненко<sup>1</sup>, О.Ю. Смутько<sup>1,2</sup>, О.С. Голубка<sup>1</sup>, О.В. Онищенко<sup>1</sup>, Л.В. Радченко<sup>1</sup>, А.Ю. Фесенко<sup>1</sup>, Л.В. Лейбенко<sup>1</sup>,  
 О.В. П'янкова<sup>3</sup>, Т.М. Камінська<sup>4</sup>, М.Д. Валюк<sup>5</sup>, В.Г. Резвих<sup>6</sup>, М.О. Бредихіна<sup>6</sup>, О.П.Штепа<sup>6</sup>, Л.Г. Гамій<sup>7</sup>, С.Г. Тараненко<sup>8</sup>,  
 Л.В.Тимофєєва<sup>8</sup>, Л.М. Чергінець<sup>9</sup>, С.В. Чубенко<sup>9</sup>, Л.Д. Яворська<sup>10</sup>, В.Р. Ленга<sup>11</sup>, Т.Л. Міронович<sup>12</sup>, Н.М. Мельниченко<sup>13</sup>,  
 Л.П. Потієнко<sup>14</sup>, Л.С. Котлік<sup>14</sup>, О.Ф. Тарасюк<sup>14</sup>, С.Ф. Мордух<sup>5</sup>, В.М. Кітросан<sup>15</sup>, О.М. Дрогомирецька<sup>16</sup>, Т.В. Федоренко<sup>17</sup>,  
 Н.І. Зозуля<sup>18</sup>, С.М.Шевцов<sup>19</sup>

## ПІДСУМКИ ЕПІДЕМІЧНОГО СЕЗОНУ ГРИПУ 2016-2017 РОКІВ В УКРАЇНІ

<sup>1</sup>ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хворобі м. Л.В. Громашевського НАМН України»

<sup>2</sup>КНУ ім. Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології та медицини»

<sup>3</sup>Дитяча клінічна лікарня №9 м. Києва

<sup>4</sup>Київська міська дитяча клінічна інфекційна лікарня

<sup>5</sup>Київська міська клінічна лікарня №9

<sup>6</sup>ДУ «Дніпропетровський обласний лабораторний центр МОЗ України»

<sup>7</sup>КЗ «Дніпропетровська ДМКЛ №2 Дніпропетровської обласної Ради»

<sup>8</sup>КЗ «Дніпропетровська МКЛ №21 ім. проф. Попкової Є.Г.» Дніпропетровської обласної Ради»

<sup>9</sup>КЗ «Дніпропетровська ДМКЛ №6» Дніпропетровської обласної Ради

<sup>10</sup>ДУ «Хмельницький обласний лабораторний центр МОЗ України»

<sup>11</sup>КЗ «Хмельницька міська інфекційна лікарня»

<sup>12</sup>КЗ «Хмельницька міська дитяча лікарня»

<sup>13</sup>КЗ «Хмельницька міська поліклініка №1»

<sup>14</sup>ДУ «Одеський обласний лабораторний центр МОЗ України»

<sup>15</sup>КУ «Одеська міська поліклініка №14»

<sup>16</sup>КУ «Одеська міська поліклініка №6»

<sup>17</sup>КУ «Одеська міська інфекційна лікарня»

<sup>18</sup>КЗОЗ «Харківська обласна дитяча інфекційна клінічна лікарня»

<sup>19</sup>Національний університет фізичного виховання і спорту України

В роботі представлено аналіз та визначені особливості перебігу епідемічного сезону грипу 2016–2017 рр. в Україні. За даними дозорного епідеміологічного нагляду, останній епідемічний сезон грипу в Україні був менш інтенсивним, ніж попередній сезон 2015–2016 рр. Провідну роль в епідемії відігравав вірус грипу А(Н3N2). В той час як цей вірус вичерпував свої епідемічні потенції, вже з перших тижнів 2017 року почали з'являтися випадки з підтвердженими вірусами грипу В генетичної гілки В/Вікторія. Віруси грипу, виділені в Україні, мали специфічні мутації, значна частина яких знаходилась в антигенних сайтах гемаглютиніну. Мутації пов'язані з набуттям резистентності до противірусних препаратів виявлені не були. Філогенетичний аналіз показав заносне походження епідемії грипу в Україні.

**Ключові слова:** грип, епідемічний сезон, етіологічна структура, гемаглютинін, антигенні сайти.

Єдиною інфекцією, яка викликає щорічні епідемії та має глобальне поширення, залишається грип. Оскільки населення планети неухильно зростає, а використання швидкісних видів транспорту дедалі стає все ширшим, людство постійно перебуває в очікуванні наступної пандемії грипу, що зумовлене легкістю повітряно-крапельного механізму передачі цієї інфекції. Тим більше, що так звані генетичні «резерви» для утворення принципово нових вірусів завжди залишається незчисленно різноманітна їх популяція серед птахів [19].

Властивість вірусу грипу до антигенної та генетичної мінливості за рахунок різних механізмів – точкових му-

тацій, рекомбінацій та реасортацій змушує вчених проводити постійний моніторинг за циркуляцією вірусів. Мета цього моніторингу – визначення ймовірних збудників наступної епідемії грипу. Ця інформація є вкрай необхідною для виготовлення грипозних вакцин саме з актуальних штамів. Лише такі вакцини будуть ефективними. Для цього в світі працює потужна система нагляду за грипом [9].

Антигенний та генетичний аналіз циркулюючих вірусів грипу дає змогу визначити характерні особливості епідемічного процесу, що є надзвичайно важливим, враховуючи високий відсоток мутацій збудника та його контагіозність. Це допомагає вдосконалювати епідемічний нагляд за грипом, прогнозувати етіологію та тяжкість наступних епідемій, а також розробляти вакцини до актуальних штамів вірусу грипу. Аналіз територіальних та глобальних епідемічних і вірусологічних тенденцій грипу обов'язково враховується при укладанні прогнозів для нашої країни.

**Метою роботи** було провести епідеміологічний аналіз та встановити генетичні та антигенні зміни вірусів грипу сезону 2016-2017 рр. шляхом проведення молекулярно-генетичного та антигенного аналізу виділених ізолятів.

#### Матеріали та методи

У роботі були застосовані епідеміологічний, вірусологічний, молекулярно-генетичний та статистичний методи дослідження.

Епідеміологічний аналіз був проведений на основі щотижневих даних 5582 випадків з ознаками грипозних захворювань (ГПЗ) та тяжких гострих респіраторних захворювань (ТГРЗ) за даними сайту [www.ukrinfluenza.com.ua](http://www.ukrinfluenza.com.ua).

Матеріалом для досліджень були зразки біологічного матеріалу від хворих на грипозне захворювання (ГПЗ) та тяжке гостре респіраторне захворювання (ТГРЗ) з чотирьох дозорних центрів (міста Київ, Одеса, Дніпропетровськ та Хмельницький). Саме критерії визначення випадків, запропоновані ВОЗ [6], дали змогу більш чітко проводити епідеміологічну вибірку для кращої репрезентативної інформації та оцінки даних [4].

Ізоляцію та накопичення вірусів грипу проводили на культурі клітин (КК) MDCK, отриманій з нирки самки кокер-спанієля (S.H. Madin, N.B. Darby) [5]. За морфологією КК являє собою епітеліоподібні клітини. Також, ізоляти, позитивні в ПЛР на вірус грипу А(Н3N2), ви-

діляли на генетично-модифікованій до цього підтипу культурі клітин MDCK-SIAT, одержаній з Світового центру грипу (Атланта) [10]. Відібраний супернатант використовували для типування в РГГА [3] з грипозними діагностичними сироватками та передачі до Світового центру контролю за інфекціями (CDC, Атланта) для подальшого вивчення.

Для виділення нуклеїнової кислоти (ПНК) використовували комерційний набір NucleoSpin Dx Virus kit (Macherey-nagel).

Приготування реакційної суміші проводили із застосуванням набору Verso 1-Step qRT-PCR ROX Kit (Thermo Scientific) та набору праймерів і зондів з двома мітками (Taqman) на цільові гени, надісланих Центром по контролю за інфекціями (CDC, Атланта, США).

Для проведення ампліфікації використовували прилад 96-лункового формату ПЛР в реальному часі Applied Biosystems™ real-time PCR 7500.

Дослідження методом ПЛР виконували згідно методики, затвердженої Вченою Радою ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В.Громашевського НАМН України (протокол № 4 від 05.07.2011 р.).

Аналіз результатів реакції гемаглютинації (РГА) здійснювали за трихрестовою системою. За титр вірусу вважали те найбільше його розведення, при якому спостерігалася позитивна реакція гемаглютинації [7]. У реакції гальмування гемаглютинації (РГГА) титром сироватки вважали останнє її розведення, в якому спостерігали гальмування гемаглютинації [3].

Сиквенування виділених нами вірусів грипу проводилось у двох Світових центрах грипу в Лондоні та Атланті в рамках програми світового нагляду за грипом. Сиквенси надіслані нам у форматі Fasta та розміщені з обмеженим доступом на новому ресурсі GISAID (<http://platform.gisaid.org/>), створеному лише для вірусів грипу. Пошук та вибірку необхідних послідовностей проводили за допомогою BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) аналізу (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Вирівнювання послідовностей проводили із застосуванням алгоритму ClustalW [1].

Філогенетичні дерева будували у програмі MEGA7 [14]. Для аналізу подібності досліджуваних послідовностей філогенетичні дерева будували методом дистанційним Neighbor-Joining (об'єднання найближчих сусідів), із застосуванням моделі Кімури (Kimura 2-parameter). Переведення нуклеотидних сиквенсів в



амінокислотні проводили за допомогою онлайн програми EMBOSS Transeq translates ([http://www.ebi.ac.uk/Tools/st/emboss\\_transeq/](http://www.ebi.ac.uk/Tools/st/emboss_transeq/)).

Побудова 3D структур за допомогою програмного забезпечення Chimera. За допомогою програмного забезпечення Chimera будували 3D структури білку гемаглютиніну, на кожній з яких позначали мутації за допомогою опцій програми (<https://www.rbvi.ucsf.edu/chimera/tutorials.html>)

Для вирішення питання про значимість вибірових показників та оцінки вірогідності відмінностей між одержаними показниками результати були оброблені статистичним методом [2,11].

### Результати та їх обговорення

За даними дозорного епідагляду, останній епідемічний сезон грипу в Україні був менш інтенсивним, ніж попередній сезон 2015-2016 рр. як за кількістю перехворілих, в тому числі на тяжкі форми грипу, так і за числом померлих від нього осіб. Однак, цей сезон розпочався раніше, а пік захворюваності прийшовся на 51 тиждень 2016 року (рис.1). У більшості хворих причиною захворювання був вірус грипу А(Н3N2), який і став провідним збудником цієї епідемії. В той час як цей вірус вичерпував свої епідемічні потенції, вже з перших тижнів 2017 року почали з'являтися хворі з підтвердженням у них вірусу грипу В генетичної гілки В/Вікторія. Як видно з рисунку 1, кількість хворих зростає несуттєво, але циркуляція вірусів грипу типу В продовжувалася цього сезону досить довго. Особливістю

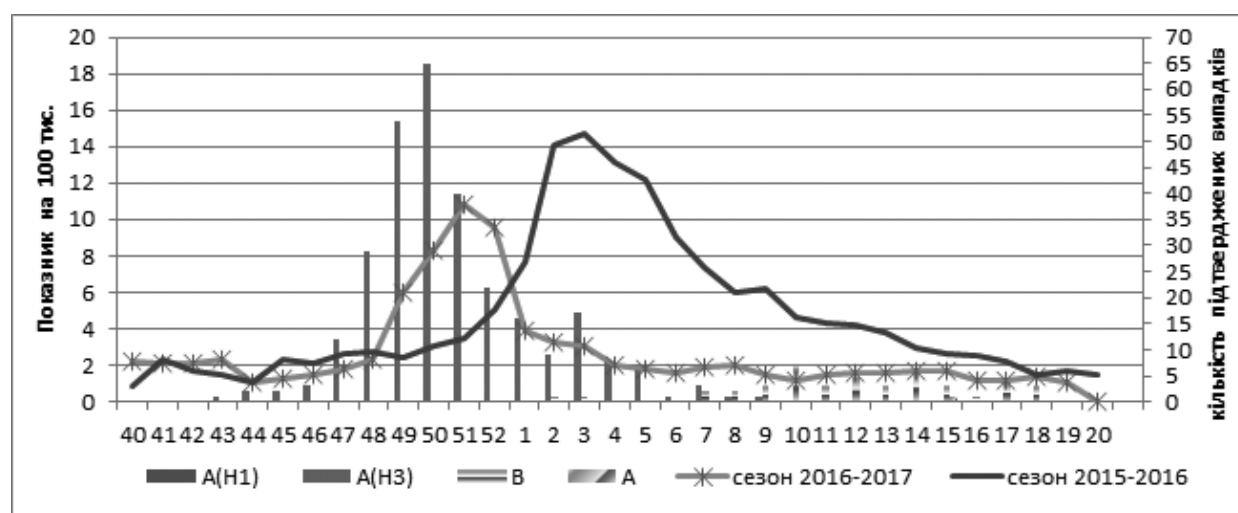
сезону грипу 2016-2017 року була тривала циркуляція збудників – 28 тижнів поспіль. Слід зазначити, що в сусідніх країнах минулий епідемічний сезон також був тривалим: в Молдові – 27 тижнів, в Білорусі – 21 тиждень, в Туреччині – 29, в Росії – 32 тижні.

Найвищі показники захворюваності, як і в попередньому році, реєструвалися в групі дітей 0-4 років.

За даними МОЗ України, в сезоні 2016-2017 рр. було зареєстровано 30 летальних випадків від грипу, в той час як у попередньому сезоні цей показник був вищим більше, ніж у 10 разів. Серед усіх померлих переважали особи з наявними факторами ризику, а саме – особи з хронічними хворобами серця та хронічними легене-вими хворобами, цукровим діабетом. 1-й летальний випадок був зареєстрований на 48 тиждні 2016 року, а останній – на 15 тиждні 2017 року. Трьома піковими тижнями сезону 2016-2017 рр. щодо летальності від грипу був останній тиждень 2016 року та два перших тижня 2017 року. В цей час щотижнево було зареєстровано по 6 летальних випадків.

В країні зберігається негативна тенденція щодо скорочення рівня щеплень проти грипу. Всього в сезоні 2016-2017 рр., за даними офіційної статистики, було щеплено проти грипу лише 106 753 осіб, що на 15 % менше, ніж в попередньому сезоні. Однак, за рекомендацією ВООЗ, щеплення особам, які належать до груп ризику, потрібно проводити щорічно.

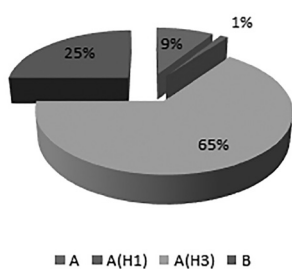
За сезон 2016 – 2017 рр. в лабораторіях чотирьох дозорних центрів України було досліджено методом



**Рисунок 1.** Динаміка реєстрованих випадків ГРЗ та кількість лабораторних підтверджень грипу в 4-х дозорних центрах України в сезоні 2016-2017 років [5].

ПЛР 880 зразків від хворих на ГПЗ та ТГРЗ, з яких 512 виявилися позитивними на грип. Віруси грипу типу А, що не були субтипівані, виявлено у 204 випадках (40 %), вірусів А(Н3) – у 255 випадках (50 %). Вірусів А(Н1) – було виявлено лише 2. В 51 випадку (10 %) було підтверджено вірус грипу типу В. Частина цих зразків від хворих була досліджена на культурі клітин MDCK/SIAT, в результаті чого було виділено 168 ізолятів вірусів грипу, з яких переважна більшість (65 %) належала до підтипу А(Н3N2), а саме – штаму А/Гонконг/4801/2014, що був провідним збудником епідемії у останньому сезоні.

Ще 42 ізоляти належали до вірусу грипу типу В, з яких 41 був ідентифікований як штам В/Брісбен/60/2008 генетичної гілки В/Вікторія. Лише 1 ізолят типу В належав до генетичної гілки В/Ямагата. В сезоні 2016-2017 року було виділено тільки 2 ізоляти вірусу грипу підтипу А(Н1N1)pdm09. Цікаво, що один з цих вірусів було виділено від хворого на початку сезону, а саме – у листопаді 2016 року, і належав він до «старого» штаму А/Каліфорнія/07/2009, а інший – наприкінці епідемічного сезону в кінці березня 2017 року. Це був вже новий штам А/Мічиган/45/2015, який належав до іншої генетичної групи. Така незначна кількість вірусів А(Н1N1)pdm09 в останньому сезоні цілком пояснюється переважанням його у сезоні 2015-2016 рр., що призвело до збільшення імунного прошарку до цього вірусу серед населення України. Структура популяції вірусів грипу сезону 2016-2017 рр. за типами та підтипами представлена на рис. 2.



**Рисунок 2.** Структура популяції вірусів грипу сезону 2016-2017 рр. за типами та підтипами.

З 2000 року Україна приймає участь у глобальному нагляді за грипом. Основною метою його є дослідження штамів вірусів грипу, виділених в Україні, чи відрізняються вони від тих, що циркулюють у світі і чи будуть вони відповідати тим, що включені у склад вакцин. Як відомо, штамовий склад вакцин змінюється щороку відповідно до рекомендацій ВООЗ.

У наступному епідемічному сезоні 2017-2018 рр. за рекомендацією ВООЗ [2] до складу грипозних вакцин будуть включені такі штами:

- А/Мічиган/45/2015 - А(Н1N1)pdm09, що є новим для України;
- А/Гонконг/4801/2014 - А(Н3N2);
- В/Брісбен/60/2008 (генетична гілка В/Вікторія).

Новий для України штам А/Мічиган/45/2015 (Н1N1)pdm09 може стати провідним збудником наступної епідемії в країні. Останні два штами не є новими і навряд чи можуть викликати суттєве епідемічне неблагополуччя в наступному сезоні.

Однак, не виключена також поява нових вірусів грипу типу В, що утворилися за рахунок делецій в амінокислотних залишках у двох положеннях гемаглютиніну (162 та 163). Ці положення в гемаглютиніні схильні до делецій, і це саме ті генетичні сайти, в яких відбулися зміни, коли у 1988 році від гілки В/Вікторія утворилася інша генетична гілка - В/Ямагата. Нові штами з делеціями вже були виявлені в країнах Північної Америки у лютому 2017 року [7], але в Україні вони поки що не були зафіксовані.

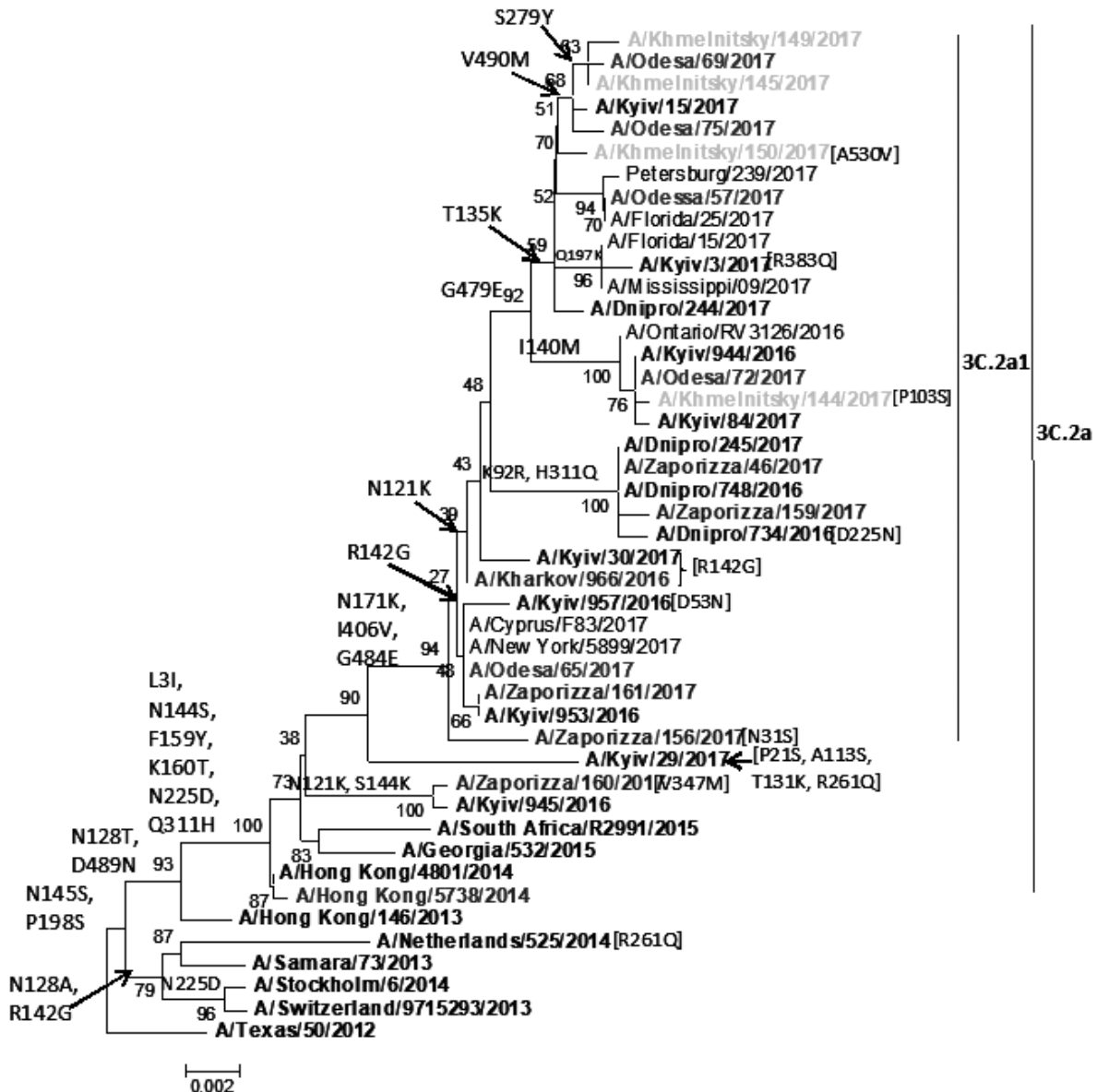
Таким чином, спираючись на рекомендації ВООЗ, в передепідемічному сезоні 2017-2018 рр. рекомендовано проводити щеплення особам, що належать до груп ризику несприятливих наслідків грипу, зареєстрованими грипозними вакцинами з метою уникнення ускладнень та можливих летальних випадків. До них належать: люди старше 65 років, хворі будь-якого віку, що перебувають у стаціонарних медичних установах; вагітні; діти до 3-х років; діти та підлітки, що одержують тривалу терапію ацетилсаліциловою кислотою; пацієнти з хронічними захворюваннями легенів або серцево-судинної системи; пацієнти з порушенням обміну речовин, включаючи цукровий діабет; хворі на стафілококову інфекцію; пацієнти з імунною недостатністю; пацієнти з ожирінням.

#### Генетична характеристика вірусів грипу А(Н3N2)

Провідну роль в епідемічному сезоні 2016-2017 років грали віруси грипу типу А, а саме А(Н3N2).

Аналіз молекулярно-генетичних змін вірусів грипу проводили за генами поверхневих білків гемаглютиніну (НА) та нейрамінідази (НА). послідовності подібних вірусів з інших країн були відібрані з ресурсу GISAID [8].

Молекулярно-генетичний аналіз генів гемаглютиніну (НА)



**Рисунок 3.** Філогенетичне порівняння вірусів грипу А(Н3N2) сезону 2016-2017 років за нуклеотидними послідовностями гемаглютинину (НА), проведене методом NJ, модель Kimura 2-parameter з 1000 бутстреп реплікацій.

В результаті молекулярно-генетичного та філогенетичного аналізу було показано, що в сезоні 2016-2017 років виникла нова генетична підгрупа вірусів 3C.2a1 в межах раніше відомої групи 3C.2a. Її особливістю є набуття нових унікальних амінокислотних заміщень в гені гемаглютинину – N171K, I406V та G484E (I77V та G155E в HA2) [18]. Таким чином, більшість ізолятів виділених в Україні належали саме до генетичної підгрупи 3C.2a1 та мали вище згадані заміни. Лише три ізоляти, як видно з філогенетичного дерева (рис. 3), належали до генетичної групи 3C.2a.

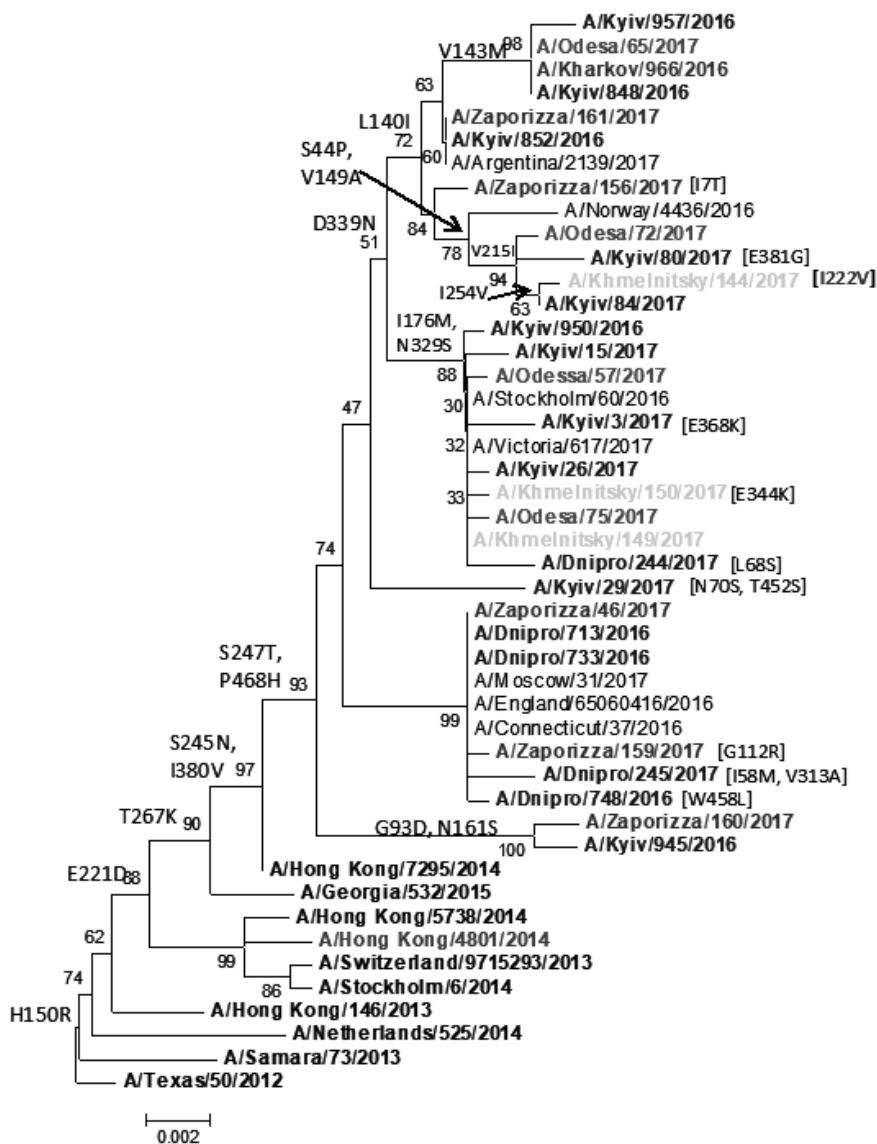
Більшість з цих мутацій мали значний вплив на антигенні властивості вірусів, так як знаходяться в анти-

генних сайтах. Так заміна в 144 положенні знаходиться в антигенному сайті А, в 159 та в 160 – в антигенному сайті В, в 311 – в антигенному сайті С [13]. Таким чином, закріпившись у вірусній популяції ці заміни значним чином вплинули на їх антигенні властивості та зменшували зв'язування вірусів нейтралізуючими антитілами.

Молекулярно-генетичний аналіз генів нейрамінідази (NA)

За геном нейрамінідази віруси грипу А(Н3N2) також розділились, утворивши нову генетичну підгрупу 3C.2a1.

Всі ізольовані віруси на рівні референс штаму А/Texas/50/2012 набули заміщення Н150R. Ця заміна не є новою, і спостерігається вже протягом останніх де-



**Рисунок 4.** Філогенетичне порівняння вірусів грипу А(Н3N2) сезону 2016-2017 років за нуклеотидними послідовностями нейрамінідази (NA), проведене методом NJ, модель Kimura 2-parameter з 1000 бутстреп реплікацій.

кількох епідемічних сезонів. Далі починаючи з групи референс вірусів, до яких входить старий вакцинний штам A/Switzerland/9715293/2013, всі ізоляти мали заміну E221D, що також вже давно закріпилась у вірусній популяції (рис.4).

Таким чином, спостерігалась висока генетична мінливість вірусів грипу А(Н3N2) як в гені гемаглютиніну, так і в гені нейрамінідази.

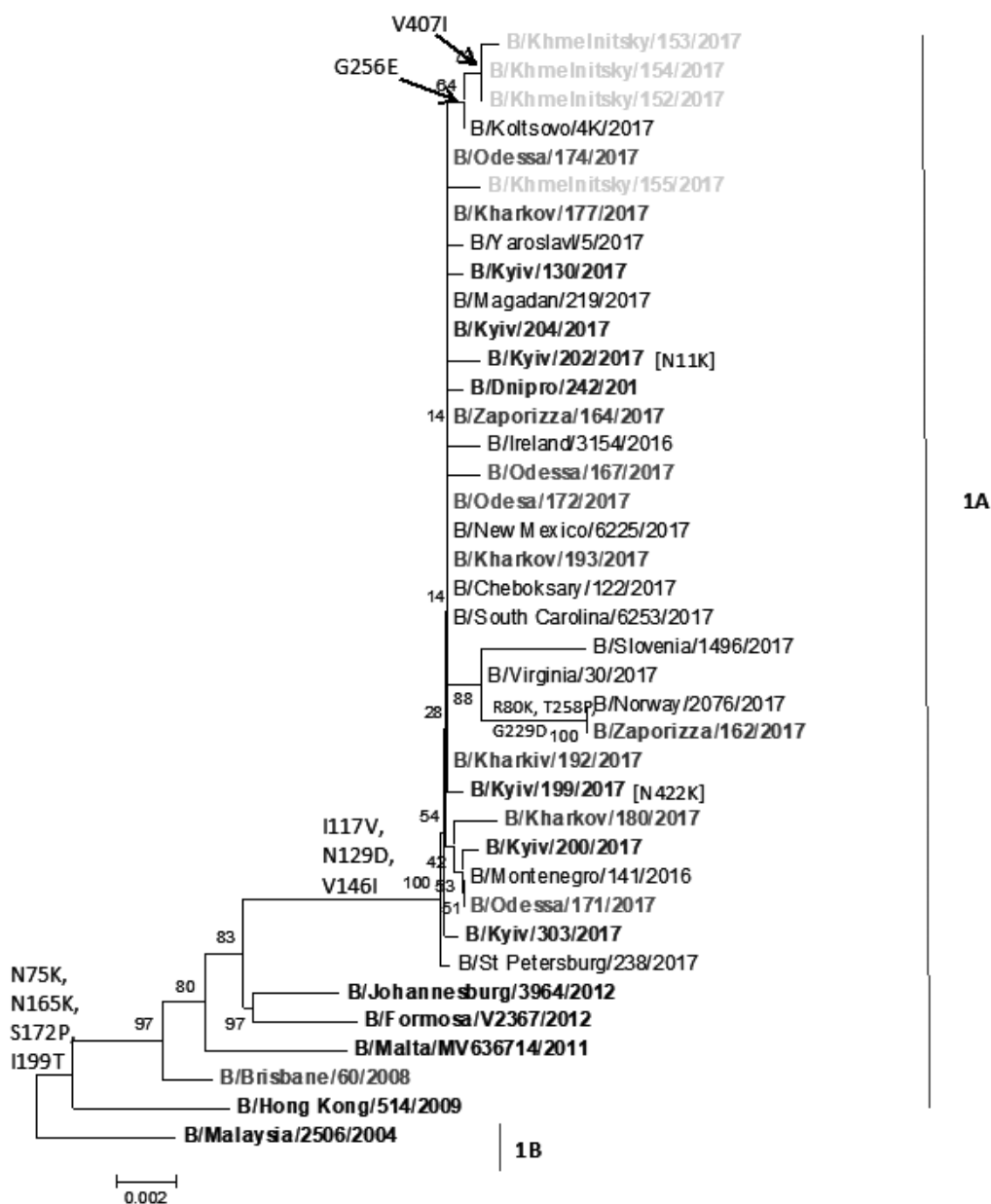
Генетична характеристика вірусів грипу типу В, генетичної гілки В/Victoria

Серед циркулюючих вірусів грипу типу В переважали віруси генетичної гілки В/Victoria. В епідемічно-

му сезоні 2016-2017 років у світі серед вірусів грипу В генетичної гілки В/Victoria спостерігалось виникнення делецій в 162-163 положеннях гемаглютиніну [18]. Експериментально було показано, що такі віруси не зв'язувались специфічними сироватками, тому люди не були від них захищеними.

Молекулярно-генетичний аналіз генів гемаглютиніну (HA)

Наразі серед вірусів грипу В генетичної гілки В/Victoria у світі циркулюють штами, що належать до генетичної групи 1А [18]. Всі ці ізоляти мають специфічні мутації за якими їх і відносять до цієї групи. На філогенетичному дереві гену HA (рис. 5) можна побачити і два



**Рисунок 5.** Філогенетичне порівняння вірусів грипу B/Victoria сезону 2016-2017 років за нуклеотидними послідовностями гемаглютинину (НА) проведено методом NJ, модель Kimura 2-parameter з 1000 бутстреп реплікацій.

референс ізоляти, що належать до генетичної групи 1B, проте зараз в світі вони не циркулюють.

Заміни N165K та I199T належать антигенних сайтів 160-петлі та 190-спіралі відповідно. Саме накопичення таких мутацій в антигенних сайтах веде до зміни антигенних властивостей вірусів [15].

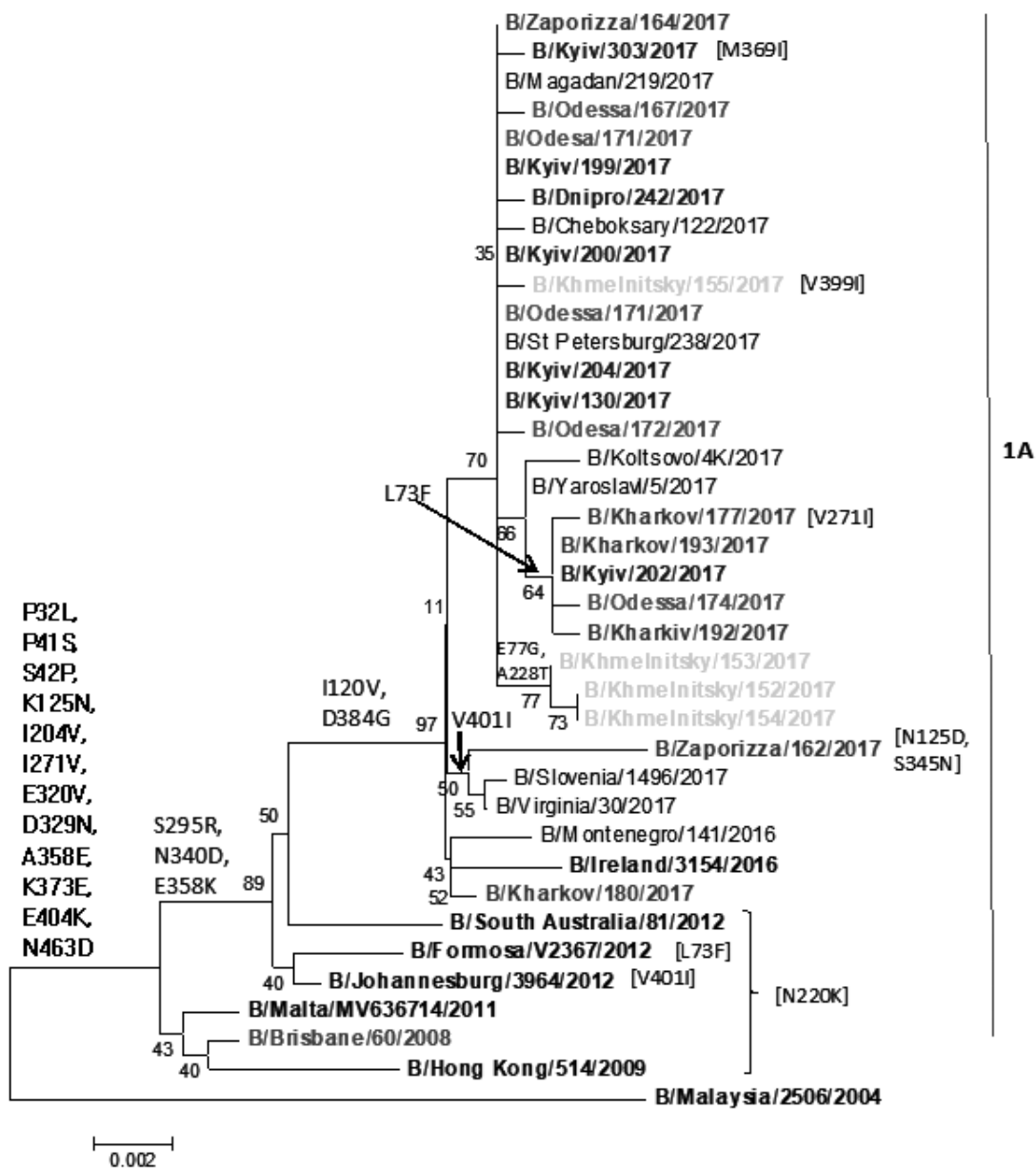
Починаючи з ізоляту з Санкт-Петербурга і вище всі віруси мали спільні амінокислотні заміни – I117V, N129D, V146I. Всі три заміни знаходились в антигенних сайтах, а саме: I117V та N129D – в антигенному сайті 120-петлі, V146I – в антигенному сайті 150-петлі. Очевидно, що віруси цієї групи мали дещо відмінні анти-

генні властивості в порівнянні з референс штамом 2004 року. Генетично віруси зберегли подібність до вакцинного штаму на рівні 99%.

Молекулярно-генетичний аналіз генів нейрамінідази (NA)

За геном нейрамінідази, так як і за геном гемаглютиніну спостерігалось подібне розділення вірусів грипу типу B на дві генетичні групи. Всі українські ізоляти за геном NA належали до генетичної групи 1A [18] (рис.6).

Цікаво, що за геном NA віруси мали значно більшу кількість замін (рис.6). Всі віруси, в порівнянні з референс штамом B/Malaysia/2506/2004, набули 12 аміно-



**Рисунок 6.** Філогенетичне порівняння вірусів грипу B/Victoria сезону 2016-2017 років за нуклеотидними послідовностями нейрамінідази (NA) проведене методом NJ, модель Kimura 2-parameter з 1000 бутстреп реплікацій.

кислотних заміщень – P32L, P41S, S42P, K125N, I204V, I271V, E320V, D329N, A358E, K373E, E404K, N463D.

Жодні заміщення, що пов'язанні з набуттям стійкості до противірусних препаратів виявлені не були.

Таким чином, було виявлено унікальні зміни в антигенних сайтах, що можуть впливати саме на антигенні властивості вірусів та їх розпізнавання нейтралізуючими антитілами.

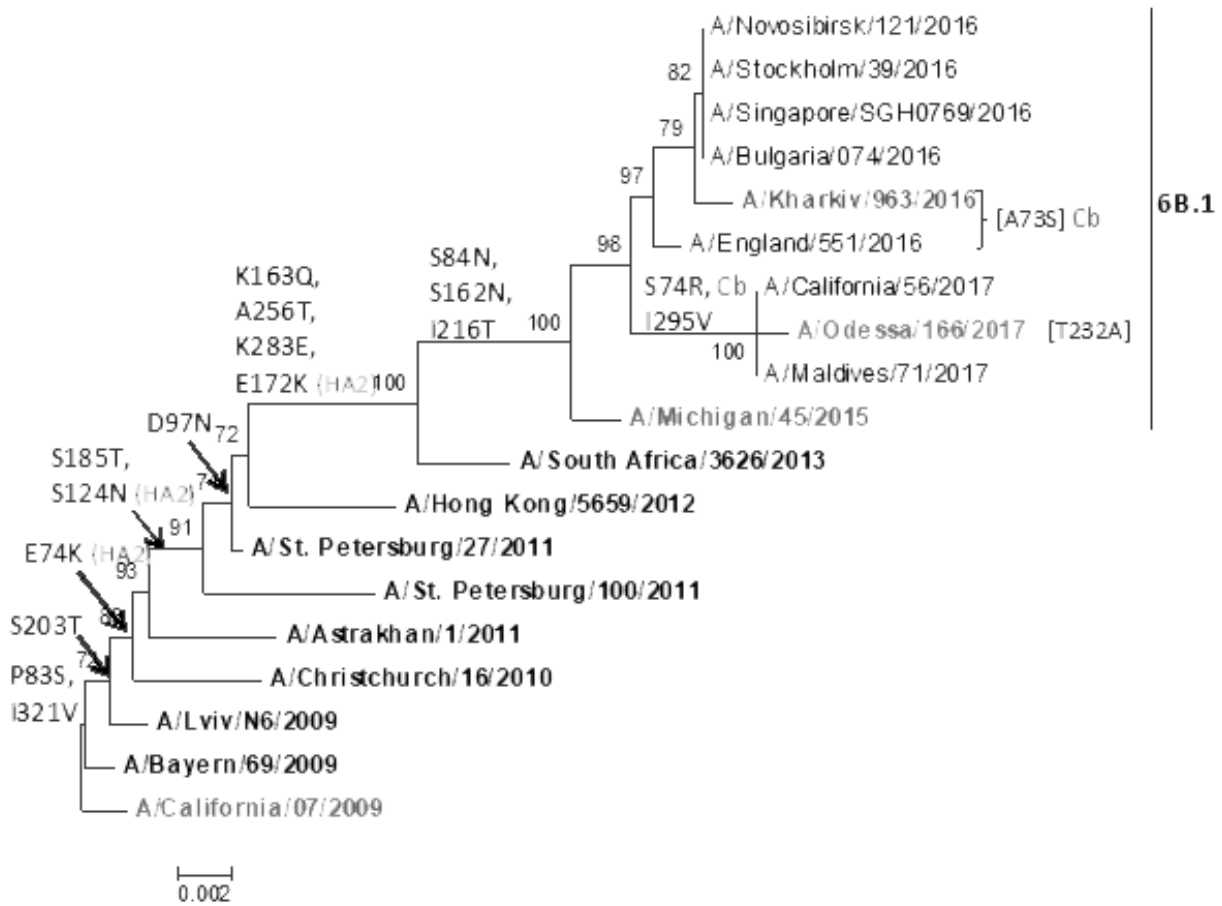
Генетична характеристика вірусів грипу A(H1N1)pdm09

В епідемічному сезоні 2016-2017 років відсоткова частка пандемічних вірусів грипу була найменшою. В Україні було виділено лише 2 ізоляти – з Одеси та Хар-

кова. В попередньому епідемічному сезоні спостерігалось розділення генетичної групи 6В, яка домінувала у світі, на дві підгрупи 6В.1 та 6В.2 [12]. Виділені ізоляти належали до генетичної підгрупи 6В.1.

Молекулярно-генетичний аналіз генів гемаглютиніну (HA)

Аналіз амінокислотної послідовності проводили в порівнянні з старим вакцинним штамом A/California/07/2009. Цікаво, що цей штам входив до складу вакцин починаючи з 2009 року, і лише в рекомендації на 2017-2018 епідемічний сезон його замінили на новий. Новий вакцинний штам – A/Michigan/45/2015



**Рисунок 7.** Філогенетичне порівняння вірусів грипу A(H1N1)pdm09 сезону 2016-2017 років за нуклеотидними послідовностями гемаглютиніну (HA) проведено методом NJ, модель Kimura 2-parameter з 1000 бутстреп реплікацій.

входить до нової генетичної підгрупи 6B.1 [18].

Як відомо, H1 молекула гемаглютиніну має 4 антигенні сайти, Sa, Sb, Ca, and Cb. Ці сайти складаються з найбільш варіабельних амінокислот та піддаються впливу антитіл імунної системи. Слід зазначити, що сайти Sa і Sb, які містять багато амінокислот залучених в нейтралізуючі епітопи, знаходяться поблизу рецепторної кишені [16].

Українські ізоляти мали заміщення в антигенних сайтах, деякі з яких виникли в попередніх епідемічних сезонах і закріпились, а деякі в сезоні 2016-2017 років і попередньо не виявлялись.

Якщо подивитись на філогенетичне дерево, то видно, що з кожним роком віруси набували нових замін, які закріпились у вірусній популяції. Починаючи з референс штаму A/Lviv/N6/2009 всі віруси несли заміну S203T (рис. 7). Це заміщення знаходиться в антигенному сайті Ca і також спостерігається з 2009 року.

Ізолят A/Odessa/166/2017 відділився філогенетич-

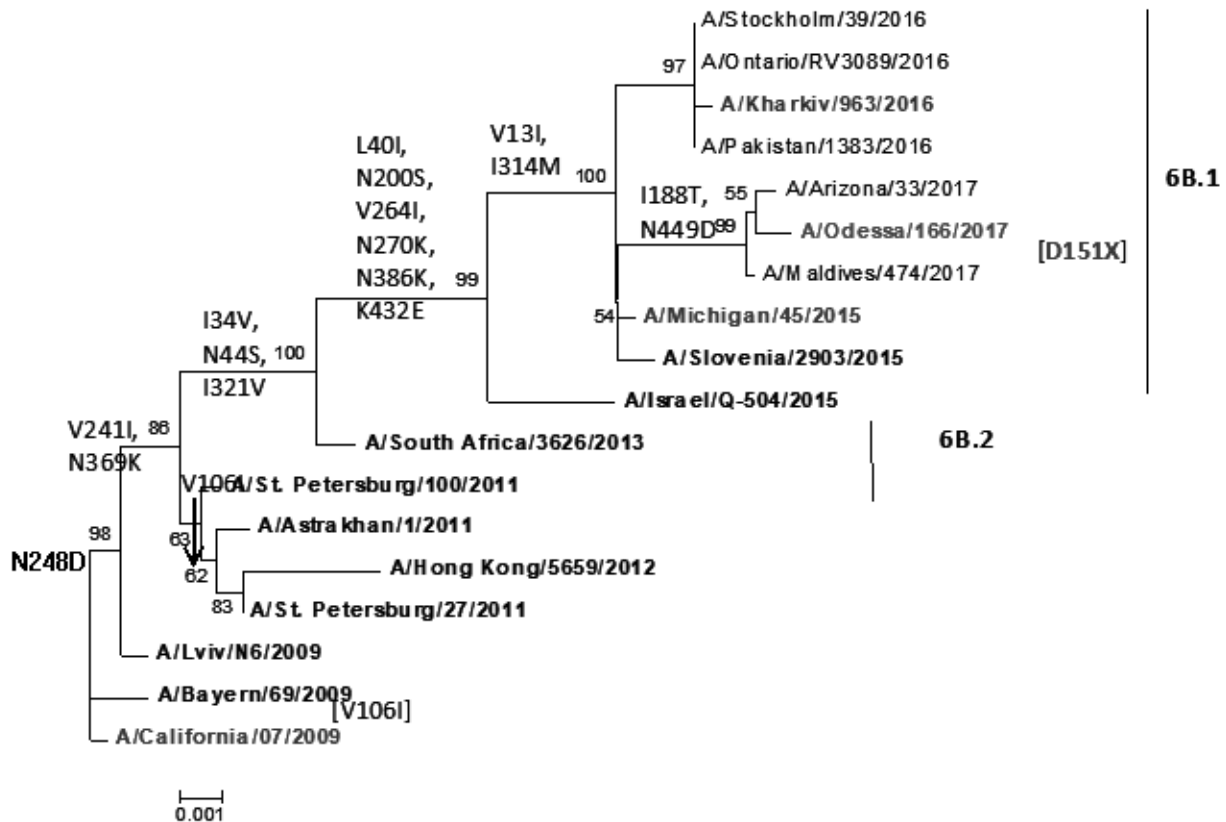
но від ізоляту з Харкова. Цікаво, що ізолят з Одеси мав найбільшу генетичну подібність з ізолятами з Мальдів та Каліфорнії. Також, ці ізоляти мали спільні заміни – S74R, I295V, одна з яких - S74R знаходилась в антигенному сайті Cb та могла впливати на його антигенні властивості.

Іншу групу утворив ізолят з Харкова A/Kharkiv/963/2016 разом з подібними до нього вірусами. Найближче до нього розташувався ізолят з Англії, разом з яким він мав унікальне заміщення A73S, що знаходиться в антигенному сайті Cb.

Молекулярно-генетичний аналіз генів нейрамінідази (NA)

Подібна картина спостерігалась і при аналізі нейрамінідази. Віруси також поділились на дві генетичні підгрупи 6B.1 та 6B.2. Українські ізоляти належали саме до генетичної підгрупи 6B.1. В порівнянні з референс штамом віруси набули заміщення N248D (рис. 8).

Таким чином, в сезоні 2016-2017 років було вияв-



**Рисунок 8.** Філогенетичне порівняння вірусів грипу A(H1N1)pdm09 сезону 2016-2017 років за нуклеотидними послідовностями нейрамінідази (NA) проведено методом NJ, модель Kimura 2-parameter з 1000 бутстреп реплікацій.

лено молекулярно-генетичні зміни у циркулюючих вірусів. При аналізі гемаглютиніну спостерігалась значна кількість замін у положеннях, які належали саме до антигенних сайтів, що може мати вплив на їх антигенні властивості.

#### Висновки

1. Епідемічний сезон грипу 2016-2017 рр. був помірної інтенсивності з раннім початком, піком на 51 тиждень 2016 року та тривалою циркуляцією збудника – аж до початку червня 2017 року.

2. В етіологічній структурі вірусів грипу, за даними ПЛР, переважав грип А (90%), а саме – субтип А(Н3N2). Лише 10 % від усіх позитивних у ПЛР зразків склали віруси грипу типу В.

3. В сезоні грипу 2016-2017 рр. на культурі клітин MDCK/SIAT було виділено 168 ізолятів вірусів грипу, з яких переважна більшість (65 %) належала до підтипу А(Н3N2), а саме – штаму А/Гонконг/4801/2014, що був провідним збудником епідемії у останньому сезоні. Ще

42 ізоляти (25 %) належали до вірусу грипу типу В, з яких 41 був ідентифікований як штам В/Брісбен/60/2008 генетичної гілки В/Вікторія. Лише 1 ізолят типу В належав до генетичної гілки В/Ямагата. В сезоні 2016-2017 року було виділено тільки 2 ізоляти вірусу грипу підтипу А(Н1N1)pdm09, що становило 1 % від загальної кількості ізолятів.

4. В останньому епідемічному сезоні 2016-2017 рр. було виявлено молекулярно-генетичні зміни у циркулюючих вірусів. При аналізі гемаглютиніну спостерігалась значна кількість замін у положеннях, які належали саме до антигенних сайтів, що може мати вплив на їх антигенні властивості. Лише один ізолят, що належав до вірусу грипу А(Н1N1)pdm09, а саме – штаму А/Мічиган/45/2015, що було виділено в Одесі від хворого, який помер, мав резистентність до інгібіторів нейрамінідази.

5. Філогенетичний аналіз вірусів грипу 2016-2017 рр. довів заносне походження епідемії грипу в Україні.



## ЛІТЕРАТУРА

1. Бутвиловский, А. В. Базисные методы молекулярной эволюции: учеб.-метод. пособие / А.В. Бутвиловский, Е.В. Барковский, В.Э. Бутвиловский. Минск: БГМУ, 2006. – 36 с.
2. Биометрия. / Под ред. М. М. Тихомировой. [Н.В. Глотов, Л.А. Животовский, И.Н. Хромов]. – Л.: Изд-во Ленинградского университета, 1982. – 264 с.
3. Вирусология. Методы: Пер. с англ./ Под. ред. Б. Мейхи. – М.: Мир, 1988. – 344 с.
4. Голубка О.С. Оцінка ефективності дозорного епід-нагляду за грипом в Україні / Голубка О.С., Онищенко О.В., Міроненко А.П. // Профілактична Медицина. – Т. 16, №4. – 2011. – 25–32 ст.
5. Рекомендації Центру грипу в Атланті, США щодо використання в практиці вірусологічних лабораторій КК з метою виділення вірусів грипу. – 1997. – 10 с.
6. Система эпидемиологического надзора за гриппом ЕРБ ВОЗ [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [http://www.euroflu.org/index\\_ru.php](http://www.euroflu.org/index_ru.php).
7. Смородинцев А.А. Грипп и его профилактика: Ленинград: Медицина, 1984. – 383 с.
8. Електронний ресурс. – Режим доступу: <http://platform.gisaid.org/epi3/start>
9. Електронний ресурс. – Режим доступу: [http://www.who.int/influenza/gisrs\\_laboratory/en/](http://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/en/).
10. Oh D.Y. MDCK-SIAT1 cells show improved isolation rates for recent human influenza viruses compared to conventional MDCK cells / D.Y. Oh, I.G. Barr, J.A. Mosse, K.L. Laurie // J Clin Microbiol. – 2008. – 46, № 7. – P. 2189–94.
11. Felsenstein J. Cases in which parsimony or compatibility methods will be positively misleading / J. Felsenstein // Syst. Zool. – 1978. – № 27. – P. 401–410.
12. Gallagher P. Addition of carbohydrate side chains at novel sites on influenza virus hemagglutinin can modulate the folding, transport, and activity of the molecule / P. Gallagher, J. Henneberry, I. Wilson [et al.] // J Cell Biol. – 1988. – Vol.107. P.2059–2073.
13. Eshaghi A. Genetic characterization of seasonal influenza A (H3N2) viruses in Ontario during 2010–2011 influenza season: high prevalence of mutations at antigenic sites / A. Eshaghi, V. Duvvuri, A. Li [et al.] // Influenza and Other Respiratory Viruses. – 2013. – №6. – P. 250–256.
14. Tamura K. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods / Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S. // Mol Biol Evol. – 2011. – 28, N 10. – P. 2731–2739.
15. Koel B.F. Substitutions near the receptor binding site determine major antigenic change during influenza virus evolution. Science. – 2013. –Vol. 342(6161). – P.976–979.
16. Manabu I. Predicting the Antigenic Structure of the Pandemic (H1N1) 2009 Influenza Virus Hemagglutinin / I. Manabu, I. Kimihito, Y. Reiko // PLoS ONE. – 2010. – Vol.5. – P.1-7.
17. Saitou N. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees / Saitou N., Nei M. // Molecular Biology and Evolution. – 1987. – 4, N 4. – P. 406–425.
18. World Health Organization Influenza Centre. NIMR interim report February 2017. [електронний ресурс] URL: [https://www.crick.ac.uk/media/358671/crick\\_nh\\_vcm\\_report\\_feb\\_2017\\_v2.pdf](https://www.crick.ac.uk/media/358671/crick_nh_vcm_report_feb_2017_v2.pdf)
19. WHO checklist for influenza pandemic preparedness planning.- Department of Communicable Disease Surveillance and Response Global Influenza Programme. WHO. - 2005.- 29 P.

## ИТОГИ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО СЕЗОНА ГРИППА 2016-2017 ГОДОВ В УКРАИНЕ

А.П. Мироненко<sup>1</sup>, О.Ю. Смутько<sup>1,2</sup>, О.С. Голубка<sup>1</sup>, О.В. Онищенко<sup>1</sup>, Л.В. Радченко<sup>1</sup>, А.Ю. Фесенко<sup>1</sup>, Л.В. Лейбенко<sup>1</sup>, О.В. Пьянкова<sup>3</sup>, Т.Н. Каминская<sup>4</sup>, М.Д. Валюк<sup>5</sup>, В.Г. Резвыж<sup>6</sup>, М.А. Бредихина<sup>6</sup>, А.П.Штепа<sup>6</sup>, Л.Г. Гамий<sup>7</sup>, С.Г. Тараненко<sup>8</sup>, Л.В.Тимофеева<sup>8</sup>, Л.Н.Чергинец<sup>9</sup>, С.В. Чубенко<sup>9</sup>, Л.Д. Яворская<sup>10</sup>, В.Р. Леньга<sup>11</sup>, Т.Л. Миронович<sup>12</sup>, Н.М. Мельниченко<sup>13</sup>, Л.П. Поттиенко<sup>14</sup>, Л.С. Котлик<sup>14</sup>, Е.Ф. Тарасюк<sup>14</sup>, С.Ф. Мордух<sup>5</sup>, В.М. Китросан<sup>15</sup>, Е.Н. Драгомирецкая<sup>16</sup>, Т.В. Федоренко<sup>17</sup>, Н.И. Зозуля<sup>18</sup>, С.Н.Шевцов<sup>19</sup>

<sup>1</sup>ГУ «Институт эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л. Громашевского НАМНУ »

<sup>2</sup>КНУ им. Тараса Шевченка, ННЦ «Институт биологии и медицины»

<sup>3</sup>Детская клиническая больница № 9 Киева

<sup>4</sup>Киевская городская детская клиническая инфекционная больница

- <sup>5</sup>Киевская городская клиническая больница № 9  
<sup>6</sup>ГУ «Днепропетровский областной лабораторный центр МОЗ Украины»  
<sup>7</sup>КУ «Днепропетровская ДГКБ № 2» Днепропетровского областного Совета»  
<sup>8</sup>КУ «Днепропетровская ГКБ № 21 им. проф. Е.Г. Попковой» Днепропетровского областного Совета»  
<sup>9</sup>КУ «Днепропетровская ДГКБ № 6» Днепропетровского областного Совета»  
<sup>10</sup>ГУ «Хмельницкий областной лабораторный центр МОЗ Украины»  
<sup>11</sup>КУ «Хмельницкая городская инфекционная больница»  
<sup>12</sup>КУ «Хмельницкая городская детская больница»  
<sup>13</sup>КУ «Хмельницкая городская поликлиника № 1»  
<sup>14</sup>ГУ «Одесский областной лабораторный центр МОЗ Украины»  
<sup>15</sup>КУ «Одесская городская поликлиника № 14»  
<sup>16</sup>КУ «Одесская городская детская поликлиника №6»  
<sup>17</sup>КУ «Одесская городская инфекционная больница»  
<sup>18</sup>КУОЗ «Харьковская областная детская инфекционная клиническая больница»  
<sup>19</sup>Национальный университет физического воспитания и спорта Украины

В работе представлен анализ и определены особенности течения эпидемического сезона гриппа 2016-2017 гг. в Украине. По данным дозорного эпиднадзора, последний эпидемический сезон гриппа в Украине был менее интенсивным, чем предыдущий сезон 2015-2016 гг. Ведущую роль в эпидемии играл вирус гриппа А (H3N2). В то время как этот вирус исчерпывал свои эпидемические потенциалы, уже с первых недель 2017 начали появляться случаи с подтвержденными вирусами гриппа В генетической ветви В/Виктория.

Вирусы гриппа, выделенные в Украине, имели специфические мутации, значительная часть которых находилась в антигенных сайтах гемагглютинину. Мутации связанные с приобретением резистентности к противовирусным препаратам обнаружены не были. Филогенетический анализ показал заносное происхождение эпидемий гриппа в Украине.

**Ключевые слова:** грипп, эпидемический сезон, этиологическая структура, гемагглютинин, антигенные сайты.

#### RESULTS OF INFLUENZA EPIDEMIC SEASON 2016-2017 IN UKRAINE

A.P. Mironenko<sup>1</sup>, O.Yu. Smutko<sup>1,2</sup>, O.S. Golubka<sup>1</sup>, O.V. Onishchenko<sup>1</sup>, L.V. Radchenko<sup>1</sup>, A.Yu. Fesenko<sup>1</sup>, L.V. Leibenko<sup>1</sup>, O.V. Pyankova<sup>3</sup>, T.M. Kaminskaya<sup>4</sup>, M.D. Valyuk<sup>5</sup>, V.G. Rezvyh<sup>6</sup>, M.A. Bredikhina<sup>6</sup>, O.P. Shtepa<sup>6</sup>, L.G. Gamiy<sup>7</sup>, S.G. Taranenko<sup>8</sup>, L.V. Tymopheeva<sup>8</sup>, L.M. Cherginets<sup>9</sup>, S.V. Chubenko<sup>9</sup>, L.D. Jaworska<sup>10</sup>, V.R. Lenga<sup>11</sup>, T.L. Mironovych<sup>12</sup>, H.M. Melnichenko<sup>13</sup>, L.P. Potienko<sup>14</sup>, L.S. Kotlik<sup>14</sup>, O.P. Tarasyuk<sup>14</sup>, S.F. Mordukh<sup>5</sup>, V.M. Kitroansan<sup>15</sup>, O.M. Dragomiretskaya<sup>16</sup>, T.B. Fedorenko<sup>17</sup>, N.I. Zozulya<sup>18</sup>, S.M. Shevtsov<sup>19</sup>

<sup>1</sup>SI «L.V. Gromashevsky Institute of Epidemiology and Infectious Diseases of NAMS of Ukraine»

<sup>2</sup>ESC «Institute of Biology», Taras Shevchenko National University of Kyiv

<sup>3</sup>Children's Clinical Hospital № 9, Kiev

<sup>4</sup>Kiev City Children's Clinical Infectious Diseases Hospital

<sup>5</sup>Kiev City Clinical Hospital No.9

<sup>6</sup>SI «Dnepropetrovsk Regional Laboratory Center of the Ministry of Health of Ukraine»

<sup>7</sup>PI « Dnipropetrovsk Children's Clinical Hospital №2, of Dnipropetrovsk Regional Council»

<sup>8</sup>PI «E.G. Popkova Dnipropetrovsk City Clinical Hospital №21 « Dnipropetrovsk Regional Council»

<sup>9</sup>PI «Dnipropetrovsk Children's Clinical Hospital № 6» Dnipropetrovsk Regional Council»

<sup>10</sup>SI «Khmelnitsky regional laboratory center of the Ministry of Health of Ukraine»

<sup>11</sup>PI «Khmelnitsky city infectious hospital»

<sup>12</sup>PI «Khmelnitsky City Children's Hospital»

<sup>13</sup>PI «Khmelnitsky City Polyclinic №1»

<sup>14</sup>SI «Odessa Regional Laboratory Center of the Ministry of Health of Ukraine»

<sup>15</sup>MI «Odessa City clinic №14»

<sup>16</sup>MI «Odessa City Children's Polyclinic №6»

<sup>17</sup>MI «Odessa City Infectious Diseases Hospital»

<sup>18</sup>PIHS «Kharkiv Regional Children's Infectious Clinical Hospital»

<sup>19</sup>National University of Physical Education and Sport of Ukraine

The paper analyzes and identifies features of the course of the epidemic of influenza in Ukraine 2016-2017 season. According to sentinel surveillance, the last epidemic season of influenza in Ukraine was less intense than the previous season 2015-2016. The influenza A (H3N2) virus played a leading role in the epidemic. Since the first weeks of 2017 confirmed cases of the influenza virus B genetic branch B/Victoria began to appear, while the influenza was exhausted its epidemic potentialities. Influenza viruses isolated in Ukraine had specific mutations, a significant part of which was found in antigenic sites of hemagglutinin. Mutations associated with the acquisition of resistance to antiviral drugs were not found. Phylogenetic analysis showed the adventitious origin of influenza epidemics in Ukraine.

**Keywords:** : influenza, epidemic season, etiologic structure, hemagglutinin, antigenic sites.

УДК 612.017.616.915.615.371+621.039.547(477.65).

*Н.І. Оперчук<sup>1</sup>, І.Л.Маричев<sup>2</sup>, С.І.Брижата<sup>2</sup>, О.І.Процаг<sup>2</sup>*

## ІМУНОЛОГІЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ ВАКЦИНАЦІЇ ПРОТИ КОРУ У ДІТЕЙ, ЩО МЕШКАЮТЬ В ЗОНІ ДІЇ ПІДПРИЄМСТВ ЯДЕРНО-ПАЛИВНОГО ЦИКЛУ (КІРОВОГРАДСЬКА ОБЛАСТЬ).

<sup>1</sup>ДУ «Кіровоградський обласний лабораторний центр МОЗ України»

<sup>2</sup>ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України» м. Київ

*Для вивчення імунологічної ефективності вакцинації проти кору (рівень специфічних IgG антитіл) в Кіровоградській області були відібрані 405 сироваток крові дітей віком 2–5 років. Дослідна група – діти, що проживають в зоні дії підприємств ядерно – паливного циклу (уранові шахти) –205 сироваток, контрольна група – діти, що проживають в умовно – „чистих” територіях –200 сироваток. В дослідній групі частка серонегативних зразків становила –  $4,9 \pm 7,2\%$ , із значеннями в межах (0,12–0,18) МЕ/мл –  $2,0 \pm 1,4\%$ , та із рівнем вище 0,18 МЕ/мл –  $93,1 \pm 1,8\%$ . В контрольній групі кількість серонегативних зразків становила –  $12,5 \pm 6,8\%$ , із значеннями в межах (0,12–0,18) МЕ/мл. –  $2,0 \pm 1,4\%$ , із рівнем вище 0,18 МЕ/мл –  $85,5 \pm 2,7\%$ .*

**Ключові слова:** кір, епідемічний процес, захворюваність, рівень щеплення, вакцинопрофілактика

**В** Україні склалась складна еколого-економічна ситуація практично у всіх регіонах. Особливо несприятливою вона є в промислових регіонах з односторонньо розвиненою інфраструктурою. У цих регіонах на організм людини діє комбінований комплекс негативних

факторів, що включає природну низько інтенсивну та техногенно обумовлену радіацію, а також шкідливі впливи довкілля, пов'язані з роботою промисловості [7].

У зв'язку із постійним забрудненням довкілля, фізіологічні механізми детоксикації організмів будь-якого рівня постійно перенапружуються і працюють недостатньо ефективно, що призводить до поступового накопичення токсичних речовин, продуктів патологічного обміну, зокрема продуктів перекисного окислення ліпідів і поступового розвитку синдрому ендогенної інтоксикації [2]

Особливою формою забруднення середовища служать радіоактивні речовини і створювані ними іонізуючі випромінювання, які є реальним потужним екологічним чинником, що впливає на все живе. Прогнозування ризику для здоров'я на основі екстраполяції впливів від максимальних значень радіації, що загрожують життю, до фонового випромінювання Землі представляє нині вкрай складне завдання. Необхідно підкреслити, що імунна система дитини розвивається відносно повільно

но, причому в процесі її становлення існують критичні періоди, коли чутливість імунних клітин по відношенню до впливу факторів зовнішнього середовища змінена. Крім вікової реактивності імунної системи існують конституційні та індивідуальні її варіації, тому прояви різної патології можливі через віддалений період після впливу радіації, що вимагає тривалого і постійного спостереження за дітьми з контрольованих територій.

**Метою даної роботи** – вивчення стану специфічного імунітету до збудника кору у дітей в Кіровоградській області, які проживають в зоні дії підприємств ядерно-паливного циклу (уранові шахти).

#### Матеріали та методи

Було проаналізовано статистичних форми МОЗ України: № 1, 2, № 63/о, № 112/о. Кількісне виявлення специфічних антитіл (IgG) до вірусу кору проводили згідно інструкції до тест-систем методом імуноферментного аналізу (ІФА), виробник „Вектор-Бест” Росія. Позитивним результатом вважали наявність антитіл вище 0,18 МЕ/мл. Досліджено 405 сироваток крові дітей.

Кров для дослідження імунітету проти кору відбиралась згідно вимог Наказу МОЗ України від 4.07.2006 р. № 441, а саме:

- у дітей вікової групи 2-5 років, які мають документальне підтвердження щеплювального анамнезу форма № 63/о, № 112/о в яких інтервал між щепленням та заборою сироватки крові від 6 міс. до 4р. 11 міс.;

- не підлягали вивченню імунітету діти, які перехворіли кором або спілкувались з хворим на кір протягом останніх 12 місяців;

- відомості про дитячий заклад;

- дата щеплення проти кору вакциною КПК („Пріорікс”, „Трімовак”);

- дата забору крові;

Дослідження проводили на адміністративних територіях:

Дослідна група - м. Кропивницький, Кіровоградській район, смт. Смоліне, Маловисківський район. Відібрано 205 сироваток крові дітей, які проживають в зоні дії підприємств ядерно-паливного циклу (уранові шахти), тобто територій впливу техногенно підсилених природних джерел іонізуючого опромінення природного походження.

Контрольна група - м. Олександрія, м. Світловодськ та Світловодський район. Відібрано 200 сироваток крові

у дітей, які проживають в умовно – „чистих” територіях без впливу техногенно підсилених природних джерел іонізуючого опромінення.

#### Результати та їх обговорення

На сьогодні найбільш результативним заходом боротьби з багатьма інфекційними хворобами є застосування специфічної вакцинопрофілактики [1, 3]. Зміни в епідемічному процесі в Україні, що відбулися після введення щеплень проти кору, характеризуються зниженням кількості хворих на кір у порівнянні з до щеплення періодом [1, 4-6].

Серологічне обстеження є об'єктивним елементом епідеміологічного нагляду, який дозволяє оцінювати стан епідемічного процесу при коровій інфекції, ефективність проведеної вакцинопрофілактики та визначити майбутній розвиток епідемічного процесу.

Рівень серонегативних осіб і частка їх прошарку суттєво впливає на характер розвитку епідемічного процесу.

В умовах низького рівня захворюваності кором в Кіровоградській області (табл.1) у 2015 р. були проведені дослідження з метою вивчення імунологічної ефективності вакцинації проти кору у дітей в Кіровоградській області, які проживають в зоні дії підприємств ядерно – паливного циклу (уранові шахти), тобто територій впливу техногенних підсилених природних джерел іонізуючого опромінення природного походження.

При аналізі епідситуації з кору в Кіровоградській області встановлено зниження захворюваності за період 2005-2015 рр. Зниження захворюваності спостерігалось серед усіх верст населення. Протягом 2006-2012 рр. Кіровоградській області, як і в Україні спостерігалось 2 епідемічних підйому захворюваності на кір. В 2006 р. Кіровоградській області захворіло 1578 осіб з них 398 дітей до 17 років. В 2006 р. у порівнянні з 2005 р. показник захворюваності серед всього населення збільшився в 58 разів (146,4 та 2,5 на 100 тис. населення), серед дітей до 17 років в 27 разів (242,6 та 8,7 на 100 тис відповідного віку). Зростання захворюваності на кір постерігалось в усіх вікових групах населення. Протягом 2007-2011 рр. захворюваність поступово знижувалась. В 2012 р. зареєстровано 34 випадків захворюваності на кір (3,3 на 100 тис. населення), в 2013 р. – 24 випадків ( 2,4 на 100 тис.), в 2014 р. – 57 випадків (5,7 на 100 тис.), в 2015 р. захворюваність в Кіровоградській області не реєструвалась. Захворюва-

**Таблиця 1.** Захворюваність на кір населення України та Кіровоградської області за 2005-2015 рр. ( на 100 тис. населення)

Роки	Україна				Кіровоградська область			
	Все населення		Діти		Все населення		Діти	
	Абс.	На 100 тис.	Абс.	На 100 тис.	Абс.	На 100 тис.	Абс.	На 100 тис.
2005	2392	5,04	340	4,6	28	2,5	15	8,7
2006	42724	90,7	9346	133,7	1578	146,4	398	242,6
2007	1005	2,1	383	5,6	7	0,6	6	3,82
2008	48	0,1	20	0,3	1	0,1	-	-
2009	30	0,06	-	-	2	0,1	-	-
2010	39	0,08	12	0,1	-	-	-	-
2011	1333	2,9	940	11,6	7	0,6	2	1,1
2012	12746	27,9	7931	99,1	34	3,3	14	7,9
2013	3309	7,2	2266	28,4	24	2,4	15	8,6
2014	2303	5,08	1599	20,1	57	5,7	21	12,1
2015	105	0,24	76	1,0	-	-	-	-
Всього	66034		22913		1740		471	

ність серед дітей за період 2005-2014 рр. була вища ніж серед дорослих (34-1,8 разів) в Кіровоградській області та в Україні ( 11,1 -1,6 разів), що вказує на провідну роль дитячого населення в розвитку епідопроцесу при коровій інфекції.

У дітей дослідної групи (табл.2) частка серонегативних зразків становила -  $4,9 \pm 7,2\%$ , в межах (0,12-0,18) МЕ/мл  $-2,0 \pm 1,4\%$ , та із рівнем вище 0,18 МЕ/мл  $-93,1 \pm 1,8\%$ . Найбільша кількість захищених дітей була в Маловисківському районі – 100% та в смт. Смоліне  $-96 \pm 6,9\%$ , що свідчить про високу ефективність вакцинопрофілактики проти кору в цих районах.

В контрольній групі кількість серонегативних зразків становила -  $12,5 \pm 6,8\%$ , із значеннями в межах (0,12-0,18) МЕ/мл. -  $2,0 \pm 1,4\%$ , із рівнем вище 0,18 МЕ/мл -  $85,5 \pm 2,7\%$ . Максимальні показники захищених проти збудника кору дітей виявлені в м. Світловодськ –  $95,0 \pm 7,5\%$ .

В результаті проведених досліджень встановлено, що прошарок серонегативних (незахищених до збудника кору дітей) в дослідній групі –  $4,9 + 7,2\%$ , а в контрольній -  $12,5 + 6,8\%$ , що ймовірно може свідчити про відсутність впливу техногенних чинників (уранові шахти) на формування протикорового післявакцинального імунітету. Про це також свідчить висока питома вага ( $93,1 + 1,8\%$ ) осіб із захисними титрами антитіл проти корової інфекції серед дітей, що мешкають на „забруднених” територіях, порівняно з населенням дітей які проживають в умовно – „чистих” територіях без впливу техногенно підсилених природних джерел іонізуючого опромінення. Отримані данні потребують подальшого наукового вивчення.

З метою оцінки стану імунопрофілактичних заходів, визначення частки дітей з порушенням календаря профілактичних щеплень і встановлення причин, які перешкоджали своєчасному їх проведенню, було

**Таблиця 2.** Рівень захищених та незахищених осіб до збудника кору серед обстежених в Кіровоградській області (%) (2015 рік)

Досліджувані групи	Кількість сироваток	Результати досліджень					
		Серонегативні		Рівень в межах (0,12-0,18) МЕ/мл.		Із рівнем вище 0,18 МЕ/мл	
		Абс	%±m	Абс	%±m	Абс	%±m
Дослідна група	205	10	$4,9 \pm 7,2$	4	$2,0 \pm 1,4$	191	$93,1 \pm 1,8^*$
Контрольна група	200	25	$12,5 \pm 6,8$	4	$2,0 \pm 1,4$	171	$85,5 \pm 2,7^*$
Всього по Кіровоградській області	405	35	$8,6 + 4,8$	8	$2,0 + 2,7$	362	$89,4 \pm 1,6^*$

Примітка: \* - показники статистично достовірні ( $p > 0,05$ )

проаналізовано медичну документацію в дослідній та в контрольній групах. Серед 405 дітей, чия медична документація підлягала аналізу, 99 дітей (24,5%) були щеплені згідно календаря щеплень, а 306 дітей (75,5%) були щеплені з його порушенням (табл.3). В дослідній групі з числа 205 дітей у віці від 1 р.3 міс. до 2-х років і старше було виявлено 150 дітей (73,2%) які були щеплені з порушенням календаря. В контрольній групі з числа 200 дітей, частка дітей з порушенням щеплень становила 78 % ( 156 дітей ).

дітей ( із рівнем вище 0,18 МЕ/мл ) – 93,1±1,8%, а у дітей, які проживають в умовно „чистих” територіях - 12,5±6,8%, 2±1,4%, 85,5± 2,7% відповідно.

2. Встановлено, що рівень серонегативних в дослідній групі дітей нижче (4,9+ 7,2 %) ніж в контрольній (12,5+ 6,8%), що може свідчити на незначний вплив техногенних чинників (уранові шахти) на формування протикорового імунітету у дитячого населення в дослідній групі, що потребує подальшого наукового вивчення.

**Таблиця 3.** Рівень щеплених вакциною КПК з порушенням календаря профілактичних щеплень в Кіровоградській області серед дітей в дослідній та в контрольній групах ( % )

Щеплення з порушенням календаря								
Групи	1 рік 3 міс.		1 рік 6 міс.		до 2- х років		Після 2-х років	
	абс. ч.	%	абс. ч.	%	абс. ч.	%	абс. ч.	%
Дослідна	11	5,4	37	18,1	54	26,3	48	23,4
Контрольна	13	6,5	44	22,0	44	22,0	55	27,5

Попередньо встановлено, що до основних причин, які перешкоджали своєчасному проведенню щеплень, відносилися: медичні протипоказання, несвоєчасна явка батьків до поліклініки, відмова батьків, відсутність вакцини, несвоєчасне отримання планових щеплень проти інших інфекцій на першому році життя.

**Висновки:**

1. Частка серонегативних до збудника кору дітей, що мешкають в зоні дії підприємств ядерно-паливного циклу (уранові шахти), становить – 4,9 ± 7,2%, в межах (0,12-0,18) МЕ/мл –2,0 ± 1,4%, кількість захищених

3 Визначено, що в дослідній групі 73,2% дітей та в контрольній групі 78% дітей були щеплені з порушенням календаря щеплень.

4. В роботі попередньо встановлені основні причини несвоєчасного отримання щеплень проти кору у дітей в Кіровоградській області..

**Перспективою подальших досліджень** є епідеміологічний аналіз захворюваності на кір, встановлення зв'язку, між показниками захворюваності та щільністю населення, а також між показниками захворюваності та дією техногенних чинників.

**ЛІТЕРАТУРА**

1. Епідемічний процес корової інфекції в Україні на сучасному етапі / І.Л.Маричев, С.І.Брижата, Л.С.Красюк, О.І.Процап //Мат. Міжнародн.науково-практ.конференції. - Харків. - 2013. – С.. 156-158.  
 2. Ракша-Слюсарєва О.А. Механізми радіомодифікуючої дії нових дієтичних харчових добавок рослинного походження при пролонгованому опроміненні / О.А. Ракша-Слюсарєва, О.А. Слюсарєв, В.О. Круль // Наукові праці: Науково-методичний журнал. – Т. 139. – Вип. 126. Техногенна безпека.– Миколаїв: Вид-во ЧДУ ім. Петра Могили, 2010. – С. 69 –73.  
 3. Стан вакцинопрофілактики кору в Україні та її вплив на епідемічний процес / І.Л. Маричев, С.І. Брижата, О.І. Процап та ін. // Профілактична медицина. – 2012.- №

3-4 (19). – С.3-7.  
 4. Сучасний стан захворюваності на актуальні інфекції, керовані засобами імунпрофілактики (кір, краснуха, поліомієліт) / В.І. Задорожна, Л.М. Чудна, І.Л. Маричев, С.І. Брижата та ін.// Профілактична медицина. – 2014.– № 1-2 (22). – С.50-56.  
 5. Стан захворюваності з кору та краснухи серед населення України / І.Л. Маричев, С.І. Брижата, О.І. Процап та ін. //Мат. Науково-практичної конф. Присвяченої щорічним „Читанням” пам'яті Л.В.Громашевського та 120-річчю ДУ „ІЕІХ ім.. Л.В.Громашевського НАМН України” Київ.- 12-13 жовтня 2016 року.- С. 72-73.  
 6. Чудна Л.М. Залежність інтенсифікації епідемічного процесу крапельних інфекцій від факторів середовища

життєдіяльності / Л.М. Чудна, І.Л. Маричев, А.П. По-  
даваленко // Профілактична медицина.– 2015.– № 1-2  
(24).- С.30-31.  
7. Чумак А.А. Клінічні імунологічні дослідження в радіа-

ційній медицині – п'ятнадцятирічний досвід / А.А. Чу-  
мак, Д.А. Бази́ка, В.В. Талько та ін. // Український жур-  
нал гематології та трансфузіології. – 2002. – № 5. – С.  
14-16.

**ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ КОРИ ДЕТЕЙ, ЖИВУЩИХ В ЗОНЕ  
ВЛИЯНИЯ ПРЕДПРИЯТИЙ ЯДЕРНО-ТОПЛИВНОГО ЦИКЛА (КИРОВОГРАДСКАЯ ОБЛАСТЬ)**

Н.И. Оперчук<sup>1</sup>, И.Л. Маричев<sup>2</sup>, С.И. Брыжата<sup>2</sup>, Е.И. Процап<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГУ „Кировоградский областной лабораторный центр МЗ Украины”

<sup>2</sup>ГУ „Институт эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л.В Громашевского НАМН Украины”, г.Киев

Для изучения иммунологической эффективности вакцинации против кори (уровень специфических IgG антител) в Кировоградской области были отобраны 405 сывороток крови у детей в возрасте 2-5 лет. Исследуемая группа – дети, проживающих в зоне действия предприятий ядерно-топливного цикла (урановые шахты) - 205 сывороток, контрольная группа – дети, проживающие на условно „чистых” территориях -200 сывороток. В исследуемой группе выявлено 4,9±7,2% серонегативных образцов сывороток, в пределах (0,12-0,18) МЕ/мл –2,0 ± 1,4%, количество защищенных детей ( с уровнем выше 0,18 МЕ/мл ) – 93,1±1,8%, а у детей, проживающих на условно „чистых” территориях - 12,5±6,8%, 2±1,4%, 85,5±2,7% соответственно.

**Ключевые слова:** корь, эпидемический процесс, заболеваемость, привитость, вакцинопрофилактика.

**IMMUNOLOGICAL EFFECTIVENESS OF VACCINATION AGAINST CRIME OF CHILDREN LIVING IN THE ZONE OF  
INFLUENCE OF NUCLEAR-FUEL CYCLE ENTERPRISES (KIROVOGRAD REGION)**

Operchuk N.I.<sup>1</sup>, Marichev I.L.<sup>2</sup>, Bryzhata S.I.<sup>2</sup>, Protsap O.I.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>SI «Kirovograd Regional Laboratory Center of the Ministry of Health of Ukraine»

<sup>2</sup>SI «The L.V. Gromashevsky Institute of Epidemiology and Infectious Diseases of NAMS of Ukraine », Kiev

To study the immunological effectiveness of measles vaccination (urine of special IgG antibodies) 405 serum samples were selected in the Kirovograd region (the study group-205 sera, control group-200 sera) in children in the age groups 2-5 years. In the study group, 4.9% seronegative serum samples were detected, with a titer value lower than the protective level of 2%. With a protective level of antibodies -93.1%. In the control group, the seronegative serum samples were -12.5%, below the protective titer - 2%, with the protective titer - 85.5%.

**Ключевые слова:** measles, epidemic process, morbidity, vaccination, vaccine prophylaxis.

УДК 615.015.8+579.842.1(477)

О.В. Покас<sup>1</sup>, Г.В. Вишнякова<sup>1</sup>, В.Ф. Марієвський<sup>1</sup>, О.В. Мурашко<sup>1</sup>, Т.Г. Глушкевич<sup>2</sup>, А.М. Сбоева<sup>2</sup>

**РЕЗИСТЕНТНІСТЬ ДО КАРБАПЕНЕМІВ СЕРЕД  
МНОЖИННОСТІЙКИХ ЕНТЕРОБАКТЕРІЙ В СУЧАСНИЙ ПЕРІОД В  
УКРАЇНІ**

<sup>1</sup>ДУ “Інститут епідеміології та інфекційних хвороб імені Л.В.Громашевського НАМН України”

<sup>2</sup>ДЗ “Український центр з контролю та моніторингу захворювань Міністерства охорони здоров'я України”

Наведені сучасні дані щодо резистентності до карбапенемів ентеробактерій – збудників нозокоміальних інфекцій. Досліджено резистентність до антибіотиків 125 множинностійких штамів ентеробактерій, виділених від

хворих хірургічного профілю зі стаціонарів різних регіонів України. Встановлено, що рівень резистентності до карбапенемів у 2016 р. складав 71,4±6,5%. Продукція карбапенемаз виявлена у 28,57±7,6% штамів, що є

одним з механізмів резистентності ентеробактерій до карбапенемів. Найбільш активними препаратами проти досліджених штамів були аміноглікозиди.

**Ключові слова:** ентеробактерії, резистентність, карбапенем-резистентні ентеробактерії, CRE

В останні кілька десятиріч у всьому світі одними з найбільш небезпечних множинистійких мікроорганізмів вважаються карбапенем-резистентні ентеробактерії (CRE) [7, 21]. Основними причинами уваги до цих мікроорганізмів є висока летальність спричинених ними інфекцій (за різними повідомленнями – до 72% в країнах Європи [6, 23] та 66,6% в РФ [1]) та відсутність на сьогодні підходів до антибіотикотерапії CRE, що мають достовірну клінічну ефективність.

Особливою рисою, яка відрізняє CRE від інших груп множинистійких мікроорганізмів, є складна природа їх резистентності до бета-лактамних антибіотиків, яка може бути спричинена комплексом принципово різних механізмів, що кодуються цілим набором генів [18]. Через велике різноманіття генів стійкості до антибіотиків, що легко поширюються шляхом горизонтального трансферу між представниками близько 70 родів *Enterobacteriaceae*, неможливо визначити один конкретний механізм резистентності ентеробактерій до карбапенемів. Це створює значні складнощі як у діагностиці CRE-інфекцій, так і у розробці режимів антибіотикотерапії [16].

Саме через наявність одночасно різноманітних генів стійкості як до бета-лактамних, так і до не бета-лактамних антибіотиків, CRE завжди являють собою множиннорезистентні або панрезистентні мікроорганізми, і тому становлять значну епідеміологічну загрозу [10, 27].

Дослідження CRE в останні кілька років стало пріоритетним у всіх країнах світу. Так, з 2011 р. робочою групою European Centre for Disease Prevention and Control (CDC) видано 6 офіційних документів, присвячених виключно проблемі CRE [10-14, 25]. В 2016 р. опубліковано робочий варіант рекомендацій Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) з лабораторної діагностики та інтерпретування результатів дослідження антибіотикочутливості для CRE [19]. За останні 5 років проведено 1460 оригінальних досліджень з епідеміології CRE (за базою даних Pubmed). В Європейському банку антибіотикорезистентних штамів (AR Isolate Bank, CDC) створено 3 панелі, що містять 164 контрольні

тест-штами для калібрування методик виявлення CRE. В 2012-2013 р. був проведений загальноєвропейський моніторинг з поширеності *Enterobacteriaceae* – продуцентів карбапенемаз (EuSCAPE). Найбільш критична ситуація з розповсюдженням даних збудників була визначена у Греції та Італії, де 60,5% та 28,8% ізолятів *K.pneumoniae* відповідно були карбапенем-резистентними [21]. Стан проблеми з поширеністю карбапенем-резистентних мікроорганізмів в Україні на сьогодні невідомий. Також відсутні національні рекомендації, присвячені методикам виявлення CRE та порядку повідомлення про виявлення карбапенем-резистентних ізолятів у референс-лабораторії.

#### Матеріали і методи

Нами досліджено 125 множинистійких штамів ентеробактерій, ізольованих протягом 2014-2016 р. з крові та ран хворих хірургічного профілю, які знаходились на лікуванні в лікувально-профілактичних закладах різних регіонів України.

Ідентифікацію до виду проводили з використанням тест-систем ЕНТЕРОтест24 та API 20 E (BioMerieux, Франція), або з використанням мікробіологічного аналізатора VITEK 2 Compact System виробництва BioMerieux, Франція.

Контроль якості середовищ та дисків з антибіотиками проводили з застосуванням еталонних штамів мікроорганізмів, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Вивчення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків здійснювали диско-дифузійним методом на середовищі Мюллер-Хінтона (BioMerieux, Франція). згідно з методичними вказівками МВ 9.9.5-143-2007 [3]. У деяких випадках для визначення чутливості до антибіотиків застосовували мікробіологічний аналізатор VITEK2 Compact виробництва BioMerieux, Франція. Аналіз антибіотикорезистентності виділених мікроорганізмів проводили за допомогою комп'ютерної програми WHO-NET 5.1. До множинистійких відносили штамів, що виявляли стійкість принаймні до 5 груп антимікробних препаратів.

Ентеробактерії, які проявляли стійкість до цефалоспоринов III покоління, а саме до цефотаксиму, цефтріаксону та цефтазідиму, вивчали на наявність ESBL (бета-лактамаз розширеного спектру). Дослідження проводили методом „подвійних дисків”, використовуючи комерційні диски з цефалоспоринами III покоління й з амоксациліном/клавуланатом [2]. Для



визначення цефалоспориноз С (AmpC) використовували методику AmpC-дисків з Тріс-ЕДТА [4] Для виявлення карбапенемаз у множинностійких ентеробактерій використовували модифікований тест Ходжа (МНТ) [8]. Визначення штамів ентеробактерій – продуцентів карбапенемаз *Klebsiella pneumoniae* (КРС) проводили за методикою подвійних дисків з фенілбороновою кислотою [9]. Позитивним результатом вважали появу зони затримки росту навколо диску з комбінацією карбапенем+фенілборонова кислота, якщо навколо диску з карбапенемом зони затримки росту не було; або ж збільшення зони затримки росту при додаванні фенілборонової кислоти  $\geq 5$  мм.

Усі отримані кількісні результати досліджень підлягали статистичній обробці загальноприйнятими методами варіаційної статистики з оцінкою достовірності розбіжностей за критерієм Ст'юдента (t) з урахуванням рівня значущості (p) та з використанням програми «Біостат».

#### Результати та їх обговорення

За оцінками моніторингу множинностійких до антибіотиків штамів, що проводиться нами щорічно, частка CRE серед полірезистентних ентеробактерій, що циркулюють в Україні, за останні кілька років надзвичайно різко зросла. Так, якщо в 2014 р. відсоток ентеробактерій, резистентних хоча б до одного карбапенему, складав  $4,6 \pm 2,4\%$ , а частка ізолятів, резистентних до обох препаратів, становила лише  $2,3 \pm 1,1\%$ , то станом на 2016 р.  $71,4 \pm 6,5\%$  (рис.1.) полірезистентних ентеробактерій стійкі хоча б до одного карбапенему, а  $34,69 \pm 6,2\%$  - до меропенему та іміпенему одночасно. При цьому різке зростання частки карбапенем-резистентних штамів (у

9,9 разів,  $p < 0,05$ ) спостерігається з 2015 р., що може бути спричинене інтенсифікацією міграційних процесів на території України, пов'язаних з подіями у зоні АТО.

Серед штамів, резистентних лише до одного антибіотика з групи карбапенемів в 2016 р., зафіксовано достовірно вищий рівень стійкості до іміпенему, ніж до меропенему (у 8 р.,  $p < 0,05$ ).

Основним карбапенем-резистентним патогеном, поширеним серед ентеробактерій, (рис.3.), були представники *Klebsiella pneumoniae* ( $66,0\%$  від всіх CRE), що відповідає даним моніторингів CRE в усіх країнах Європи [99-100].

Іншими представниками CRE, поширеними в хірургічних стаціонарах України, були *E.coli* ( $11,0\%$ ) та *E.cloacae* ( $23,0\%$ ).

В 2015 р. було уточнене та доповнене визначення CDC для карбапенем-резистентних ентеробактерій [25]. На сьогодні під поняття CRE підпадають представники родини *Enterobacteriaceae*, що резистентні хоча б до одного антибіотика з групи карбапенемів та/або продукують карбапенемазу будь-якого типу.

Запропонований також розподіл CRE на 3 групи в залежності від механізму резистентності [25]. До першої групи відносять CRE-продуцентів карбапенемаз (CP-CRE); до другої – CRE, у яких не виявлені карбапенемази (non-CP-CRE). Важливе значення в епідеміології також має розрізнення 3 групи мікроорганізмів, що мають природну стійкість до окремих карбапенемів. Так, представники родів *Proteus*, *Morganella*, *Providencia* мають знижену чутливість до іміпенему [18].

Нами досліджено основні механізми резистентності до карбапенемів, поширені серед CRE, ізольованих

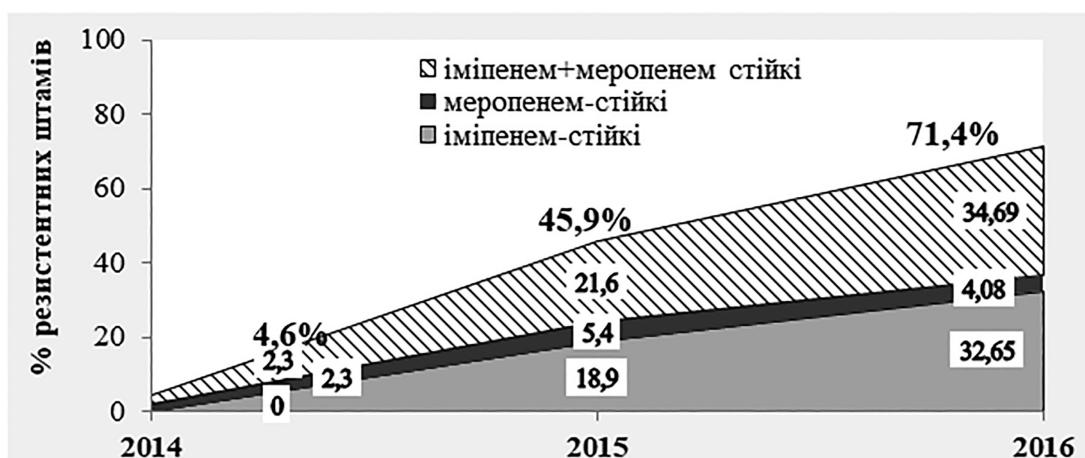


Рисунок 1. Динаміка зростання резистентності до карбапенемів в 2014-2016 р. серед множиннорезистентних ентеробактерій – збудників нозокоміальних інфекцій в 2014-2016 р. в Україні.

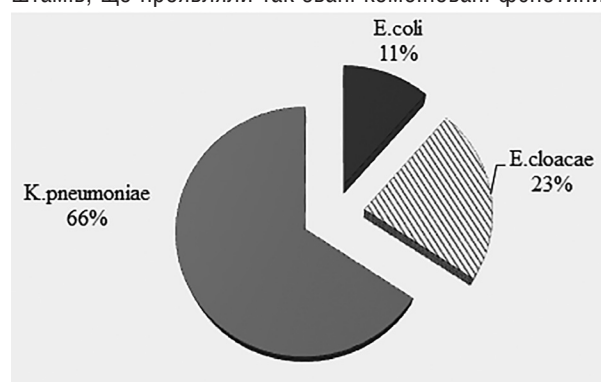


**Рисунок 2.** Розподіл карбапенем-резистентних штамів серед ентеробактерій, збудників нозокоміальних інфекцій у хворих хірургічного профілю в 2016 р.

у хірургічних стаціонарах України (рис.4.). Отримані результати свідчать, що близько половини карбапенем-резистентних штамів ( $51,43 \pm 8,4\%$ ) не синтезували бета-лактамази жодного типу, тобто мали неферментативні механізми стійкості до карбапенемів.  $20,0 \pm 6,8\%$  CRE з хірургічних стаціонарів були продуцентами цефалоспориноаз (бета-лактамаз розширеного спектру – ES $\beta$ L та цефалоспориноаз C – AmpC). Гіперекспресія даних бета-лактамаз, що за природою не є карбапенем-гідролізуючими ферментами, у поєднанні з втраченою поринів, також може спричиняти резистентність до карбапенемів [18].

Синтез карбапенемаз (CP-CRE) був виявлений у  $28,57 \pm 7,6\%$  % штамів, виділених з хірургічних стаціонарів. При цьому, єдиним типом карбапенемаз, поширених серед множинностійких збудників нозокоміальних інфекцій в хірургічних стаціонарах України були карбапенемази *Klebsiella pneumoniae* (KPC).

Серед досліджених CP-CRE виявлені  $11,43 \pm 5,4\%$  штамів, що проявляли так звані комбіновані фенотипи



**Рисунок 3.** Видовий склад карбапенем-резистентних ентеробактерій (CRE) – збудників нозокоміальних інфекцій у стаціонарних хворих хірургічного профілю (2016 р.).

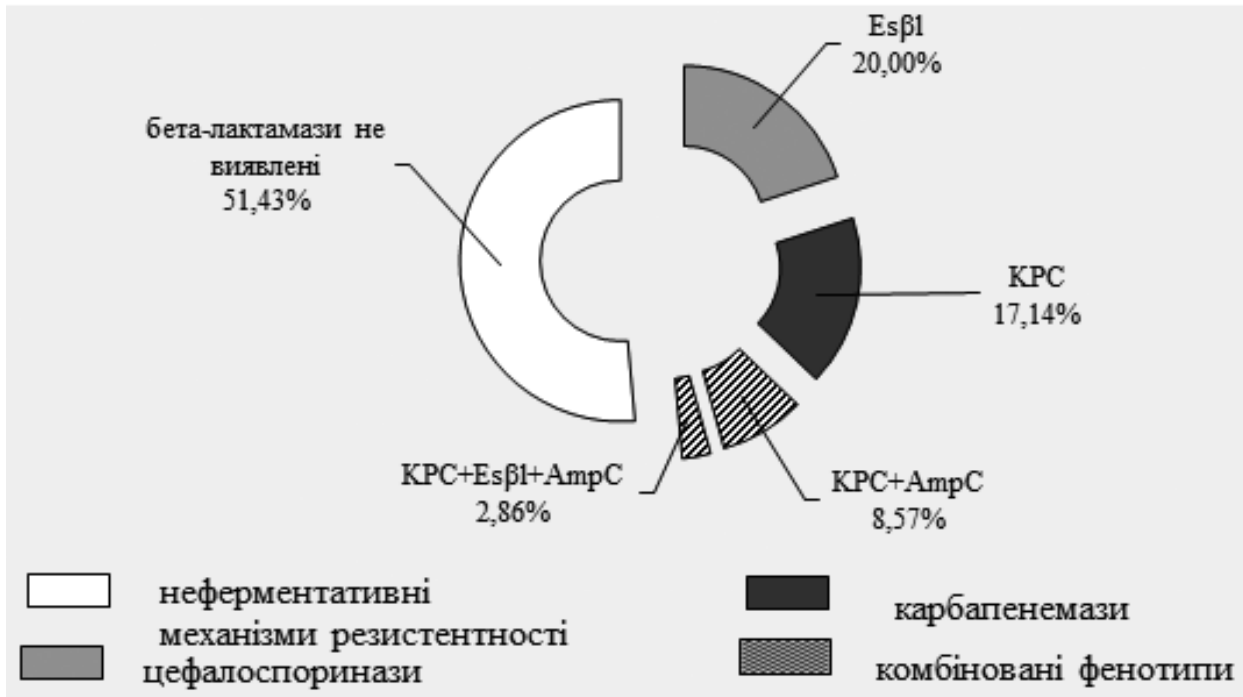
(KPC +ES $\beta$ L +AmpC -2,86% та KPC +AmpC – 8,57%). Це свідчить про активний обмін мобільними генетичними елементами, що несуть гени бета-лактамаз, між різними штамми ентеробактерій, що в свою чергу може сприяти швидкому поширенню генів резистентності серед чутливих до карбапенемів госпітальних штамів.

На сьогодні вважається, що основну епідеміологічну небезпеку становлять штами ентеробактерій, що є активними продуцентами карбапенемаз (CP-CRE) [10, 22]. Доведено, що для цієї групи карбапенем-резистентних мікроорганізмів характерно надзвичайно швидке поширення, тоді як частка CRE, що не продукують карбапенемази, за останні роки не проявляє значної тенденції до розповсюдження і має переважно локальне значення. Саме тому на сьогодні рекомендується введення у практику методів диференціації карбапенем-резистентних штамів, що являються або не являються продуцентами карбапенемаз, та проведення регулярного моніторингу та порівняння рівня розповсюженості цих груп патогенів [14].

Хоча на сьогодні основною мішенню епідеміологічного контролю вважають передусім групу CRE-продуцентів карбапенемаз (CP-CRE), на сьогодні наявні лише поодинокі порівняльні дослідження чутливості CP-CRE та поп-CP-CRE штамів до антибіотиків. Відсутні також рекомендації щодо підходів до терапії карбапенем-резистентних інфекцій в залежності від наявності або присутності у збудника карбапенемаз.

Нами було проведено порівняння чутливості до бета-лактамних та не бета-лактамних антибіотиків груп CP-CRE та поп-CP-CRE штамів, виділених від пацієнтів хірургічних стаціонарів у 2016 р (рис.5.). Згідно з визначенням CDC, до групи CP-CRE відносили штами ентеробактерій, що були продуцентами карбапенемаз, в тому числі комбіновані фенотипи. До групи поп-CP-CRE включили карбапенем-резистентні штами ентеробактерій, у яких були виявлені лише цефалоспориноази (ES $\beta$ L, AmpC) або не були виявлені бета-лактамази жодного типу.

Порівняння чутливості обох груп карбапенем-стійких штамів (рис.5.) показало, що серед групи ентеробактерій -непродуцентів карбапенемаз поп-CP-CRE залишались штами, що були чутливими до одного з карбапенемів (іміпенему –  $14,2 \pm 8,5\%$  та меропенему –  $33,3 \pm 11,4\%$  штамів). Крім того, поодинокі штами ( $2,4-4,7\%$ ) зберігали чутливість до інших бета-лактамних

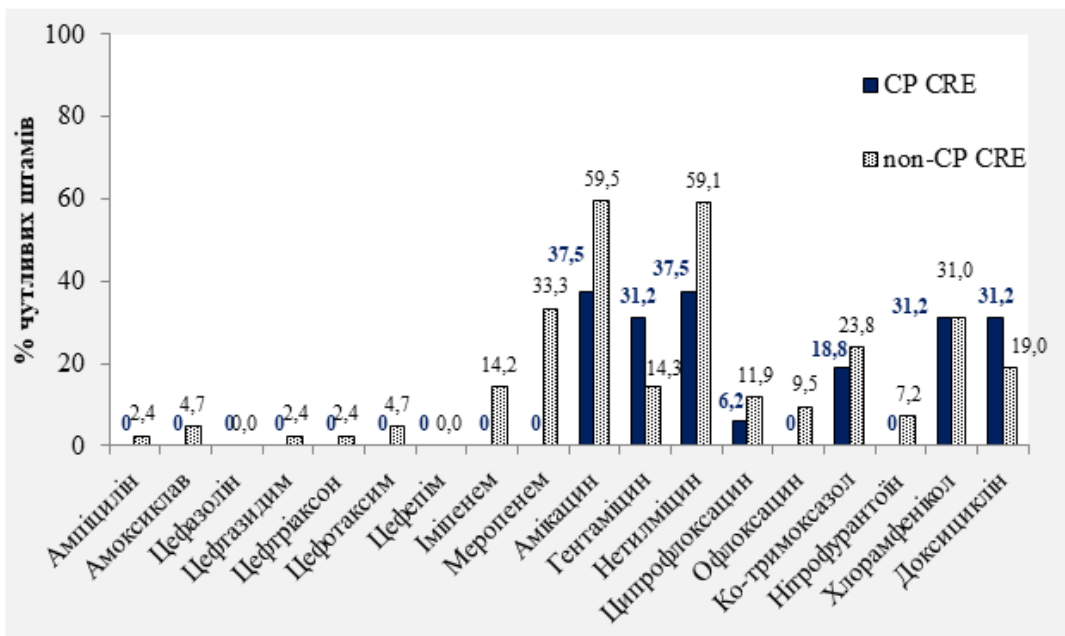


**Рисунок 4.** Розподіл механізмів резистентності до карбапенемів серед збудників нозокоміальних інфекцій у стаціонарних хворих хірургічного профілю (2016 р.).

антибіотиків. Всі штами CRE, у яких були виявлені карбапенемази (CP-CRE), були стійкими до обох карбапенемів та всіх бета-лактамних антибіотиків.

Обидві групи штамів проявляли низьку чутливість до всіх не бета-лактамних антибіотиків. Найбільш активними для обох груп карбапенем-резистентних мікроорганізмів були аміноглікозиди. При цьому більш

чутливими до амікацину та нетилміцину були штами-непродуценти карбапенемаз (59,1-59,5±7,7% чутливих штамів), ніж CP-CRE (37,5±11,7% відповідно), проте без достовірної різниці між вибірками. Крім того, чутливість на невисокому рівні (31,2%) штами-продуценти карбапенемаз зберігали до гентаміцину, доксицикліну, хлорамфеніколу.



**Рисунок 5.** Чутливість до антибіотиків штамів карбапенем-резистентних ентеробактерій (CRE) продуцентів карбапенемаз (CP CRE) та непродуцентів карбапенемаз (non-CP CRE).

Отже, найбільш перспективною для терапії CRE-інфекцій групою не бета-лактамних антибіотиків, що на сьогодні вживаються в клінічній практиці в Україні, є аміноглікозиди. Аналогічні результати отримані і в дослідженнях, проведених у країнах США та Європи. Проте через низьку чутливість карбапенем-резистентних штамів і до цих антибіотиків, більш перспективною на сьогодні вважається комбінована терапія аміноглікозидами та карбапенемами [20, 29]. Інші існуючі на сьогодні підходи до терапії карбапенем-резистентних інфекцій передбачають використання антибіотиків групи поліміксинів (поліміксину В та колістину) [15, 24]. Проте дані препарати також не можуть вважатися універсальними для терапії CRE-інфекцій через нефротоксичність та високу летальність, пов'язану з побічними ефектами терапії цими препаратами [5]. З'являються також дані про поширення штамів ентеробактерій з набутою резистентністю до колістину та поліміксину В [17, 26]. Тому оптимальними на сьогодні підходами для терапії інфекцій, викликаних карбапенем-резистентними ентеробактеріями, залишаються режими комбінованої терапії, що включають карбапенем та один чи два препарати з груп аміноглікозидів та/або тетрациклінів.

#### Висновки

1. Таким чином, на сьогодні спостерігається критичне зростання частки карбапенем-резистентних ентеробактерій у стаціонарах в різних регіонах України.
2. Серед карбапенем-резистентних штамів 28,57±7,6% є активними продуцентами карбапенемаз та потенційно

можуть розповсюджувати даний механізм резистентності серед чутливих штамів, викликаючи спалахи госпітальних інфекцій.

3. Поряд з цим, штамми, що не є продуцентами бета-лактамаз або продукують цефалоспориноми (ESBL, AmpC) також можуть бути стійкими до карбапенемів через сукупність інших механізмів.

4. Для терапії штамів-продуцентів карбапенемаз не є раціональним застосування монорежимів карбапенемів, так як всі досліджені нами штамми CP-CRE були стійкими одночасно до іміпенему та меропенему. Штами-непродуценти карбапенемаз можуть бути стійкими лише до одного препарату з групи карбапенемів та чутливими до іншого.

5. З групи не бета-лактамних антибіотиків активними щодо карбапенем-резистентних ентеробактерій можуть бути аміноглікозиди та у меншій мірі – доксициклін та хлорамфенікол, проте згідно з клінічними дослідженнями, проведеними в країнах Європи, кращий ефект дає використання цих препаратів у режимах комбінованої терапії разом з карбапенемами.

**Перспективи подальших досліджень.** Для контролю розповсюдження карбапенем-резистентних ентеробактерій необхідним є проведення регулярних моніторингових на регіональному та національному рівні та створення інформаційної бази з актуальними даними щодо рівня антибіотикорезистентності ентеробактерій у стаціонарах України. Також першочерговою задачею на сьогодні є пошук нових підходів до терапії інфекцій, викликаних збудниками даної групи.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Григорьевская З.В. Вспышка внутрибольничной инфекции, вызванной мультирезистентными (MDR) штаммами *K. pneumoniae*/ З.В. Григорьевская, И.Н. Петухова, Н.В. Дмитриева// Сибирский онкологический журнал. - 2014. № 2 (62). - С.5-8.10.
2. Методичні вказівки МВ 9.9.5-143-2007 "Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів". Київ. - 2007. - 79 с.
3. Покас О.В. Моніторинг етіологічної структури та антибіотикорезистентності основних збудників інфекцій області хірургічного втручання/ О.В. Покас // Лабораторна діагностика. - 2011. - №1(55). - С.21-26.
4. Фенотипова детекція штамів ентеробактерій-продуцентів інгібітор-стійких бета-лактамаз – дерепресованих

цефалоспориноз С (Amp C) модифікованим диско-дифузійним методом. / І.О. Мележик, О.В. Покас, А.М. Сбоева, І.М. Капітанова, В.В. Яновська. // Інформаційний лист № 177-2016 про наукову (науково-технічну) продукцію, отриману за результатами наукової, науково-технічної та науково-організаційної діяльності підприємств, установ, організацій Міністерства охорони здоров'я України, Міністерства освіти і науки України, Національної академії медичних наук України призначену для практичного застосування у сфері охорони здоров'я. - 2016.

5. Biswas S. Colistin: An Update on the Antibiotic of the 21st Century/ S. Biswas; J.-M. Brunel; J.-C. Dubus [et al.].// Expert Rev Anti Infect Ther. - 2012. - Vol.10(8). - P.917-934.

6. Borer A, Saidel-Odes L, Riesenberk K [et al.] Attributable mortality rate for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bacteremia. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2009; 30: 972–976.
7. Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae (CRE)// Washington State Department of Health. - DOH 420-097. - 2015.
8. CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard - Tenth Edition. CLSI document M07-A10. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015.
9. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance, Version 1.0, December 2013; <http://www.eucast.org>
10. European Centre for Disease Prevention and Control. Risk assessment on the spread of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (CPE) through patient transfer between healthcare facilities, with special emphasis on cross-border transfer. Stockholm: ECDC; 2011.
11. European Centre for Disease Prevention and Control. Laboratory Protocol for Detection of Carbapenem-Resistant or Carbapenemase-Producing, *Klebsiella* spp. and *E. coli* from Rectal Swabs. Stockholm: ECDC; 2012.
12. European Centre for Disease Prevention and Control. Carbapenemase-producing bacteria in Europe: interim results from the European Survey on carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE) project. Stockholm: ECDC; 2013.
13. European Centre for Disease Prevention and Control. Systematic review of the effectiveness of infection control measures to prevent the transmission of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae through cross-border transfer of patients. Stockholm: ECDC; 2014
14. Facility Guidance for Control of Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE)/ CDC. - 2015.
15. Gabriel L.H. Detection, Treatment and Prevention of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae: Recommendations from an International Working Group/ L.H.Gabriel, E.Andrea, R.P.Pilar [et al.]//*Journal of Chemotherapy*. - 2013. - Access: <http://www.ingentaconnect.com/>
16. Hrabak J. Detection of carbapenemases in Enterobacteriaceae: a challenge for diagnostic microbiological laboratories/ J. Hrabak, E. Chudackova and C. C. Papagiannitsis//*Clin Microbiol Infect*. - 2014. - Vol.20. - P.839-853.
17. Kaye K.S. Agents of Last Resort: Polymyxin Resistance/ Kaye K.S., Pogue J.M., Tran T.B. [et al.]// *Infect Dis Clin North Am*. - 2016. - Vol.30(2). - P.391-414.
18. Kocsis B. Antibiotic resistance mechanisms in Enterobacteriaceae/ B. Kocsis, D. Szabó// *Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education* (A. Méndez-Vilas, Ed.). - 2013. - FORMATEX. - P.251-257.
19. Laboratory Detection and Reporting of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae (CRE)//CLSI Outreach Working Group. - 2016. - Online Program. - Access:<http://clsi.org/>
20. Lee C.-S. Therapy of Infections due to Carbapenem-Resistant Gram-Negative Pathogens/ C.-S. Lee, Y.Doii// *Infect Chemother*. - 2014. - Vol.46. - P.149-164.
21. Lutgring J. D. The Problem of Carbapenemase-Producing-Carbapenem-Resistant-Enterobacteriaceae Detection/ J. D. Lutgring, B. M. Limbagob// *Journal of Clinical Microbiology*. - 2016. - Vol.53, No.3. - P.529-534.
22. Marimuthu K. Risk factors for carbapenemase producing (CP) carbapenem resistant enterobacteriaceae (CRE) versus non-carbapenemase producing (non-CP) CRE: An analysis of the Carbapenemase Producing Enterobacteriaceae in Singapore (CaPES) cohort/Marimuthu K.,Venkatachalam I.,Teo J. [et al.]//*Proceedings of the 15th Asia-Pacific Congress on Clinical Microbiology*. - 2014. - Kuala Lumpur, Malaysia.
23. Patel G, Huprikar S, Factor SH, Jenkins SG, Calfee DP. Outcomes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection and the impact of antimicrobial and adjunctive therapies. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008; 29: 1099–1106.
24. Petrosillo N. Treatment of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: the state of the art/ N. Petrosillo, M. Giannella, R. Lewis, P. Viale// *Expert Rev. Anti Infect. Ther*. - 2013. - Vol.11(2). - P.159-177.
25. Standardized definition for Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) and recommendation for sub-classification and stratified reporting/CDC–CSTE. - 102.
26. Schwarz S. Transferable resistance to colistin: a new but old threat. / Schwarz S., Johnson A.P.//*J Antimicrob Chemother*. - 2016. - Vol.71(8). - P.2066-70.
27. Schwartz-Neiderman A. Risk Factors for Carbapenemase-Producing Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae (CP-CRE) Acquisition Among Contacts of Newly Diagnosed CP-

CRE Patients/ A. Schwartz-Neiderman, T. Braun, N. Fallach [et al.].//infection control & hospital epidemiology. - 2016. - Vol37, No.10. - P.1-7.

28. Yang H. Mechanisms of antimicrobial resistance in *Serratia marcescens*/ H. Yang, J. Cheng, L. Hu [et al.].// African Journal of Microbiology Research. - 2012. - Vol.

(21). - P.4427-4437.

29. Yamamoto M. Treatment for infections with carbapenem resistant Enterobacteriaceae: what options do we still have?/ M. Yamamoto, A. E. Pop-Vicas// Critical Care. - 2014. - Vol.18. - P.1-8.

### РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К КАРБАПЕНЕМАМ СРЕДИ МНОЖЕСТВЕННОСТОЙКИХ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ В СОВРЕМЕННЫЙ ПЕРИОД В УКРАИНЕ

Покас Е.В.<sup>1</sup>, Вышнякова А.В.<sup>1</sup>, Мариевский В.Ф.<sup>1</sup>, Мурашко Е.В.<sup>1</sup>, Глушкевич Т.Г.<sup>2</sup>, Сбоева А.Н.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГУ «Институт эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л.В. Громашевского НАМН Украины»

<sup>2</sup>ГУ «Украинский центр контроля и мониторинга заболеваний Министерства здравоохранения Украины»

Приведены современные данные о резистентности к карбапенемов энтеробактерий - возбудителей нозокомиальных инфекций. Исследовано резистентность к антибиотикам 125 множественноустойчивых штаммов энтеробактерий, выделенных от больных хирургического профиля из стационаров разных регионов Украины. Установлено, что уровень резистентности к карбапенемов в 2016 составлял  $71,4 \pm 6,5\%$ . Продукция карбапенемаз обнаружена в  $28,57 \pm 7,6\%$  штаммов, является одним из механизмов резистентности энтеробактерий к карбапенемов. Наиболее активными препаратами против исследованных штаммов были аминогликозиды.

**Ключевые слова:** энтеробактерии, резистентность, карбапенем-резистентные энтеробактерии, CRE

### CARBAPENEM-RESISTANCE AMONG MULTIPLE RESISTANT ENTEROBACTERIA IN THE MODERN PERIOD IN UKRAINE

Pokas O.V.<sup>1</sup>, Vyshnyakova A.V.<sup>1</sup>, Marievsky V.F.<sup>1</sup>, Murashko E.V.<sup>1</sup>, Glushkevich TG.<sup>2</sup>, Sboeva A.N.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>SI «The L.V.Gromashevsky Institute of Epidemiology and Infectious Diseases of NAMS of Ukraine», Kyiv.

<sup>2</sup>SI Ukrainian Center for Disease Control and Monitoring of Ministry of Health of Ukraine, Kyiv.

In this paper are shown the current data on the carbapenem-resistance of enterobacteria - causative agents of nosocomial infections. In our research we studied antibiotic resistance of 125 multi-drug resistant strains of enterobacteria isolated from patients of surgical departments of hospitals located in different regions of Ukraine. In 2016 resistance to carbapenems was  $71,4 \pm 6,5\%$ . carbapenemases production was detected in  $28,57 \pm 7,6\%$  strains, that are one of the main carbapenem-resistance mechanisms in enterobacteria. The most preparations concerning studies strains were aminoglycosides

**Ключевые слова:** enterobacteria, antibiotic resistance, carbapenem-resistance of enterobacteria, CRE

УДК 615.453:616.523-612.8

А.О. Руденко, Л.В. Муравська, П.А. Дьяченко, Б.А. Пархомець, В.Ю. Ключ

## ДОСВІД ЗАСТОСУВАННЯ ІПІДАКРИНУ У ХВОРИХ З ГЕРПЕСВІРУСНИМИ УРАЖЕННЯМИ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ

ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського НАМН України», Київ, Україна

**Резюме:** вивчена ефективність іпідакрину при застосуванні в комплексній терапії герпесвірусним уражень нервової системи у 24 хворих спричинених вірусами родини герпесу. В процесі лікування іпідакрином відмічене зменшення або зникнення неврологічних симптомів, та-

ких як сенситивні і моторні порушення, когнітивні розлади, поліпшення пам'яті, зменшення емоційної лабільності. Він є безпечним та ефективним патогенетичним засобом при герпесвірусних ураженнях центральної та периферичної нервової системи і може бути включеним

*до комплексної етіопатогенетичної терапії при захворюваннях нервової системи, спричинених герпесвірусами, особливо при приєднанні когнітивних розладів.*

**Ключові слова:** іпідакрин, герпесвіруси, нервова система, когнітивні порушення.

Герпесвірусні інфекції – це одна з найбільш поширених і практично не контрольованих інфекцій людини, які викликаються вірусами родини герпесу – Herpesviridae, та перебігають у вигляді інапаратних, субклінічних, клінічно маніфестних форм [1, 2, 3].

Герпесвіруси мають природний тропізм до нейронів головного мозку і викликають тяжкі форми нейроінфекції з частими несприятливими наслідками [4, 5]

Розмаїття клінічних проявів, особливості збудників, можливість їхнього поширення практично усіма відомими шляхами передачі, спонукало Європейське регіональне бюро ВООЗ зарахувати герпетичні інфекції до групи хвороб, що вагомо впливають на майбутнє інфекційної патології [3, 5, 6]

Клінічні прояви ураження нервової системи, що спричинені HSV 1 і 2 типів та VZV, надзвичайно різноманітні як за локалізацією, так і за поширеністю процесу. Віруси простого герпесу 1-го та 2-го типів частіше викликають енцефаліти, менінгоенцефаліт, енцефаломієліти, рідше – ураження периферичної нервової системи у вигляді полірадикулоневритів, неврити лицьового нерву [6, 7].

Вірус герпесу людини 3 типу (ВГЛ-3) викликає два самостійних захворювання – вітряну віспу, оперізуючий лишай [7].

Вірус герпесу людини 4 типу (ВГЛ-4), або вірус Епштейна-Барр – етіологічний чинник інфекційного мононуклеозу, лімфоми Беркітта, назофарингіальної карциноми, волосистої лейкоплакії язика, ураження нервової системи. Крім того, ВЕБ-інфекція асоціюється із синдромом хронічної втоми [8].

Вірус герпесу людини 5 типу (ВГЛ-5) – збудник цитомегаловірусної інфекції, яка є причиною зниження імунітету і проявляється іншими неспецифічними захворюваннями: цитомегаловірусна інфекція, цитомегалія, цитомегаловірусний гепатит, цитомегаловірусний мононуклеоз, інтерстиціальна пневмонія, вроджена цитомегалія [7, 8].

Вірус герпесу людини 6 типу (ВГЛ-6) викликає раптову екзантему у дітей раннього віку й синдром хронічної втоми у дорослих. В літературі є дані, що вказують

на можливість участі ВГЛ-6 у розвитку лімфогранульоматозу, злаякісної В-клітинної лімфоми, саркоїдозу, синдрому Шегрена, хвороби Крона, аутоімунного тиреоїдиту, а також інфекційного мононуклеозу, не пов'язаного з вірусом Епштейна-Барр [7, 8].

Вірус герпесу людини 7 типу (ВГЛ-7): значення в патології точно не встановлено. Асоціюється з синдромом хронічної втоми, типова наявність лихоманки, гепатоспленомегалії й панцитопенії. Вірус герпесу людини 8 типу (ВГЛ-8) – Саркома Капоші [8].

Лікування уражень нервової системи герпесвірусної етіології повинно включати специфічні етіологічні препарати, інтерферони, імуноглобуліни та цілу палітру патогенетичних засобів [7, 8, 9]

Нашу увагу привернув іпідакрин, який діє на багато ланок патологічного процесу. Зокрема, препарат застосовується при захворюваннях периферичної нервової системи, бульбарних паралічах і парезах, порушеннях пам'яті різної етіології, при розсіяному склерозі та інших формах неврологічних захворювань. Нас зацікавила саме поєднана дія іпідакрину (нейромідину) при ураженнях нервової системи, які супроводжуються когнітивними порушеннями [10, 11, 12].

Іпідакрин (нейромідин) посилює вплив ацетилхоліну, адреналіну, серотоніну, гістаміну, окситоцину на гладкі м'язи [11] та володіє такими властивостями:

- стимуляцією і відновленням нервово-м'язової передачі;
- відновлення проведення імпульсу у периферичній нервовій системі після її блокади різними агентами (травма, запалення, дія місцевих анестетиків, деяких антибіотиків, калію хлориду, токсинів тощо);
- посилення скорочуваності гладком'язових органів;
- специфічно помірно стимулює центральну нервову систему з окремими проявам седативного ефекту;
- покращення пам'яті та здатності до навчання.

Препарат має широкий спектр застосування: захворювання периферичної нервової системи (нейропатії, неврити, поліневрити і полінейропатії, мієлополірадикулоневрити), міастенія та міастенічний синдром різної етіології [11, 12]. Бульбарні паралічі і парези. Порушення пам'яті різної етіології (хвороба Альцгеймера та інші форми старечого порушення розумової діяльності); при затримці розумового розвитку у дітей. Відновлювальний період органічних уражень центральної нервової системи, що супроводжуються руховими порушеннями

[11, 13, 14]. У комплексній терапії розсіяного склерозу та інших форм демієлінізуючих захворювань нервової системи [15].

Цей препарат відноситься до групи похідних аміпропіридина, в основі дії його представлена фармакологічна комбінація – блокада калієвих мембранних каналів та інгібування антихолінергестери [16, 17]. Це єдиний препарат, який діє на всі ланки в процесі, що забезпечує проведення збудження в ЦНС, при цьому проникає через гематоенцефалічний бар'єр та діє на порушення психіки [11,16]

Провідним фактором порушення когнітивної сфери є послаблення холінергічних процесів в ЦНС в результаті нейродегенерації або ішемії, що призводить до втрати холінергічних нейронів в першу чергу в корі і гіпокампі. Причому вираженість когнітивних порушень прямо корелює із ступенем зниження рівня ацетилхоліну (АХ) в ЦНС структурах. По різносторонності дій на АХ-процеси в ЦНС іпідакрину немає рівних серед інших холінергічних препаратів [11, 13, 15, 16].

Мета дослідження – вивчення ефективності іпідакрину при застосуванні його в комплексній терапії герпесвірусних уражень нервової системи.

Матеріали і методи. Нами було обстежено 24 хворих з ураженнями нервової системи, спричинених вірусами родини герпесу. З метою верифікації застосовували метод імуноферментного аналізу (ІФА) для виявлення антитіл класів IgM та IgG до HSV, CMV, EBV, HHV-6, HHV-7, HHV-8 у сироватці крові та лікворі, а також метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), за допомогою якого визначили наявність фрагментів ДНК герпесвірусів у сироватці крові, спинномозковій рідині (СМР), слині.

За віком хворі розподілялись наступним чином: від 18 до 39 років – 11, 40-59 років – 12, 60 і старші – 1,

за статтю: жінок – 19, чоловіків - 5. Клінічні форми по залученню в патологічний процес структур нервової системи представлені в таблиці 1.

Серед етіологічних факторів були представлені всі віруси родини герпесу. При РЕМ це були: EBV (3), HHV6 (2), EBV+HHV6 (3), EBV+HSV+CMV (1); при енцефаліті: EBV (2), HSV (2); при арахноїдиті – HSV (1), EBV+HHV7 (2); менінгоенцефаліті – EBV (2), HSV+CMV+HHV6 (1); при невропатії лицьового нерва – EBV+HHV6+HHV7 (1); при енцефалополінейропатії – EBV (4); при енцефаломієліті - EBV (1).

Терапія проводилась згідно із сучасними вимогами в повному обсязі, та включала специфічні противірусні препарати (ацикловіри та ганцикловір), імунозамісні засоби (гамма- та імуноглобуліни), інтерферони та їх індуктори.

Іпідакрин призначався в залежності від клінічної форми. Спочатку 0,5% розчин 1мл внутрішньо-м'язово або підшкірно 10 днів, далі – 1,5% розчин 1мл 10-15 днів з переходом на таблетовану форму по 20мг двічі на день курсом до 2 місяців і довше. При хронічно-рецидивуючому перебігу курси повторювались з перервою в 1-2 місяці.

При надходженні до стаціонару більшість хворих скаржилась на головний біль, запаморочення, загальну слабкість, хиткість при ході, зниження м'язової сили, порушення зору, парестезії, підвищення температури тіла до субфебрильних чисел, м'язовий біль, порушення сну, шум у вухах, зниження апетиту, біль в суглобах. Багатьох турбували когнітивні дисфункції – зниження пам'яті, затримка процесів мислення, зниження здатності концентрувати увагу. Ці хворі мали утруднення при пошуку слів для висловлювання, погано запам'ятовували поточні справи.

Клінічні прояви захворювання залежали від тяж-

**Таблиця 1.** Клінічні форми у обстежених пацієнтів з патологічними процесами в нервовій системі.

Клінічні форми	Число пацієнтів, абс., (%)
РЕМ	9 (37,5)
Енцефаліт	4 (16,7)
Менінгоенцефаліт	3 (12,5)
Арахноїдит	2 (8,2)
Енцефалополінейропатія	4 (16,7)
Енцефаломієліт	1(4,2)
Невропатія лицьового нерва	1(4,2)



кості хвороби та ураження відповідних структур мозку. Основні симптоми і синдроми наведені в таблиці 2.

Найчастіше виявлялись та найдовше тривали когнітивні розлади – до 3-х тижнів. Слід зазначити, що в процесі лікування іпідакрином у більшості хворих зникли труднощі в інтелектуальній сфері – вони стали більш активними, поліпшився процес мислення, пам'ять, концентрація уваги. Психічні розлади, лікворно-гіпертензійний синдром тривали в середньому 2 тижні. Пірамідні порушення та розлади координації тривали в середньому від двох до трьох тижнів. Наслідки: одужання – 7, покращення 15, інвалідизація – 2 хворих.

**Клінічний випадок.**

Хвора П., 56 років. Поступила 1.03.2017р. зі скаргами на слабкість в правій нозі, похитування при ході,

загальну слабкість, часте сечовипускання, зниження пам'яті, уваги, зниження виконавчих функцій. Виписана 18.03.2017р.

Хворіє з 2003 року. Періодично лікується у відділенні нейроінфекцій. Всякий раз отримує нейрометаболичну терапію, в тому числі нейромідин. Спочатку в/м'язево №10, далі – таблетовану форму на протязі 1,5-2 місяців.

При надходженні хворої в клініку стан середньої тяжкості, АТ 115/80 мм рт. ст., пульс 69 в 1 хв. В свідомості, пам'ять, увага знижені, знижена здатність концентрувати увагу. Парез правої нижньої кінцівки, сухожилкові рефлекси D>S, зони їх розширені, клонус правої стопи, с. Бабінського справа, інтенція при ПНП, хиткість в п. Ромберга. На МРТ в білій речовині півкуль множинні вогнища, більше в лобно-тім'яних ділянках зліва.

**Таблиця 2.** Симптоми та синдроми

Симптоми і синдроми	Число, абс
Когнітивні розлади	18
Парези	5
Вестибуло-атактичний синдром	6
Цефалгічний синдром	3
Психастенічний синдром	4
Пірамідна недостатність	4
Лікворно-динамічні порушення	4
Астено-невротичний синдром	2
Ураження трійчастого нерва	1
Порушення координації	2
Порушення функції тазових органів	3
Вегето-судинна дистонія за змішаним типом	3
Залишкові явища мієліта з ураженням конусу спинного мозку у вигляді нижнього глибокого парапарезу, виражених чутливих і трофічних порушень, порушення функції тазових органів за типом периферичного нетримання	1
РЕМ – ремітуючий тип з порушенням координації, нижнім парапарезом, порушенням функції тазових органів за типом імперативних позивів	2
Ураження нижніх кінцівок за типом «шкарпеток»	1

Хвора отримувала реосорбілакт довенно, метамакс, L-лізину есцинат, пірацетам, аспаркам, дексаметазон, в/м'язево епідокрин (1,5% 10 днів, далі per os), нейробіон, вітаміни, актовегін, нуклео-ЦМФ форте, аевіт, омез.

Стан хворої покращився: зросла сила в правій нижній кінцівці, зменшилось похитування, покращилось сечовипускання, а також покращились пам'ять, здатність концентрувати увагу. Виписана в задовільному стані, з діагнозом РЕМ.

#### Висновки.

- В процесі лікування епідокрином відмічено змен-

шення або зникнення неврологічних симптомів, таких як сенситивні і моторні порушення, когнітивні розлади, поліпшення пам'яті, зменшення емоційної лабільності.

• Епідокрин є безпечним та ефективним патогенетичним засобом при герпесвірусних ураженнях центральної та периферичної нервової системи і може бути включеним до комплексної етіопатогенетичної терапії при захворюваннях нервової системи, спричинених герпесвірусами, особливо при приєднанні когнітивних розладів та добре переноситься

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Деконенко Е.П. Вирус герпеса и поражение нервной системы / Е.П.Деконенко // Росс. мед. журн. – 2002. – №4. – С. 46-49.
2. Detection of human herpesvirus-6 in mesial temporal lobe epilepsy surgical brain resections / Donati D., Akhyani N., Fogdell-Hahn A. [et al.] // Neurology. – 2003. – Vol. 61. – P. 1405-1411.
3. Gilden D. Varicella zoster virus and central nervous system syndromes / Gilden D. // Herpes. – 2004. – Vol. 11(2). – P. 89-94A.
4. Dufour-Gaume F., Guilloton L L, Estival J. L et al. Cerebral vasculopathy as complication of zoster rash // Presse-Med. — 2009. — Vol. 38, N 7/8.— P. 1173—1177.
5. Montull-Ferrer C., Peri-Nogues J., Mercader-Sobreques J. M. et al. Central nervous system disorders caused by the herpes virus. Magnetic resonance imaging findings // Rev. Neurol. — 2004.—Vol. 39, N1.—P.95—96.
6. Gilden D., Cohrs R. J., Mahalingam R., Nagel M. A. Varicella zoster virus vasculopathies: diverse clinical manifestations, laboratory features, pathogenesis, and treatment // Lancet Neurol.— 2009. — Vol. 8, N 8. — P. 731—740.
7. De Broucker T., Mailles A., Chabrier S. et al. Acute varicella zoster encephalitis without evidence of primary vasculopathy in a case-series of 20 // Clin. Microbiol. Infect. — 2012. — Vol. 18, N 8. — P. 808—819.
8. Кульчилов А. Е., Морозов С. Г., Гриненко Е.А. Герпетические осложнения у больных с острым нарушением мозгового кровообращения // Патогенез. — 2012.— № 1. — С. 52—57.
9. Corey L. Herpes simplex virus. / Corey L., G.L.Mandell, J.E.Bennett, R.Dolin/ In Principles and Practice of Infectious Diseases // Elsevier/Churchill Livingstone, Pa, USA.- 2005.- P.1762-1780.
10. Бурчинський С. Г. Препарат Нейромідин (аміридин): клініко-фармакологічна характеристика та перспективи практичного застосування // Ліки. 2002. № 5—б. С. 37—42.
11. Бурчинський С. Г. Вік-залежна патологія центральної нервової системи: від фармакології до фармакотерапії // Рац. фармакотер. 2010. № 2. С. 30—33.
12. Бачинская Н. Ю. Холинергическая терапия при болезни Альцгеймера // Сімейна медицина. 2004. № 2. С. 54—57.
13. Нейромидин в клинической практике I Дамулин И. В., Живолупов С. А., Зайцев О. С. [и др.]. Москва : МИА, 2016. 64 с.
14. Опыт применения арисепта (донепезила) в лечении болезни Альцгеймера I Жариков Г. А., Калын Я. Б., Колыхалов И. В. [и др.] II Болезнь Альцгеймера и старение : материалы III Российской конференции I под ред. С. И. Гавриловой. Москва : Пульс, С. 76—77.
15. Живолупов С. А., Самарцев И. Н. Нейропластичность: патофизиологические аспекты и возможности терапевтической модуляции II Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. 2009. Т. 109. № 4. С. 7В—В3.
16. Захаров В. В., Головкова М. С. Опыт применения Нейромидина в лечении сосудистых когнитивных нарушений II Ліки України. 2009. № 2. С. 97—101.
17. Литвиненко Н. В. Пінчук В. А., Силенко Г. Я. Эффективность Нейромидину в комплексной терапии когнитивных расстройств у пациентов с рецидивно-ремитирующим рассеянным склерозом II Український вісник психоневрології. 2013. Т. 21, вип. 4. С. 130—132.

**ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ИПИДАКРИНА У БОЛЬНЫХ С ГЕРПЕСВИРУСНАЯ  
ПОРАЖЕНИЕМ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ**

А.О. Руденко, Л.В. Муравська, П.А. Дьяченко, Б.А. Пархомець, В.Ю. Ключ

ГУ «Институт эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л.В. Громашевского НАМН Украины»

Изучена эффективность ипидокрина при применении в комплексной терапии герпесвирусных поражений нервной системы вызванных вирусами семейства герпеса у 24 больных. В процессе лечения ипидокрином отмечено уменьшение или исчезновение неврологических симптомов, таких как сенсорные и моторные нарушения, когнитивные расстройства, улучшение памяти, уменьшение эмоциональной лабильности. Он является безопасным и эффективным патогенетическим средством при герпесвирусных поражениях центральной и периферической нервной системы и может быть включен в комплексной этиопатогенетической терапии при заболеваниях нервной системы, вызванных герпесвирусами, особенно при присоединении когнитивных расстройств.

**Ключевые слова:** ипидокрин, герпесвирусы, нервная система, когнитивные нарушения.

**EXPERIENCE OF APPLICATION OF EPIDOCRINE IN PATIENTS WITH  
HERPESURIAL DISEASES OF THE NERVOUS SYSTEM**

A.O. Rudenko, L.V. Muravskaya, P.A. Dyachenko, B.A. Parkhomets, V.Yu. Klius.

State Enterprise «Institute of Epidemiology and Infectious Diseases named after L.V. Gromashevsky NAMS of Ukraine», Kyiv, Ukraine

Summary: the effectiveness of epidocrin in the application of complex therapy of herpesviral damage to the nervous system in 24 patients caused by the herpes family viruses has been studied. During treatment with epidocrin, the reduction or disappearance of neurological symptoms, such as sensory and motor disorders, cognitive impairment, memory improvement, and decreased emotional lability have been noted. It is a safe and effective pathogenetic agent for herpesviral defeats of the central and peripheral nervous system and can be included in the complex etiopathogenetic therapy in diseases of the nervous system caused by herpes viruses, especially with the addition of cognitive disorders.

**Ключевые слова:** epidocrin, herpesvirus, nervous system, cognitive impairment.

УДК 616.98:578.825.13-07/-08(047.31)

<sup>1</sup>Г.М. Давидович, <sup>2</sup>А.Е. Гончаров, <sup>1</sup>И.А. Карпов

**СИСТЕМНЫЕ ПОРАЖЕНИЯ ПРИ ИНФЕКЦИОННОМ  
МОНОНУКЛЕОЗЕ У ВЗРОСЛЫХ**

<sup>1</sup>Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии», Минск, Беларусь

Проблема Эпштейн–Барр вирусной инфекции (ВЭБ-инфекции) приобретает всё большую актуальность в связи с широкой циркуляцией возбудителя среди населения разных стран, поражением различных органов и систем, развитием хронических и латентных форм инфекции, отсутствием средств специфической профилактики и лечения. Вместе с тем, осложнения со стороны сердечно-сосудистой и нервных систем у пациентов с ин-

фекционным мононуклеозом (ИМ) относительно слабо изучены.

Цель исследования: охарактеризовать особенности клинического течения поражения ЦНС, сердечно-сосудистой и мочевыделительной систем в острую стадию ИМ у взрослых.

Было обследовано 150 взрослых пациента ИМ, находившихся на лечении в инфекционной больнице г. Минска

*в период 2008–2014 гг. Всем пациентам проводилось полное клиническое и лабораторно–инструментальное обследование, включая рутинные лабораторные тесты, МРТ головного мозга, УЗИ брюшной полости, ЭКГ. Верификацию возбудителя осуществляли с помощью ИФА (антитела к капсидному антигену ВЭБ в сыворотке крови), ПЦР крови и ликвора, реакции латекс–агглютинации. Результат проведенных исследований показал, что в острую стадию болезни у взрослых, помимо характерных симптомов ИМ выявлено поражение ЦНС у 13% обследованных, сердечно – сосудистой системы у 27% пациентов и почек – у 21%. В клинической картине поражения ЦНС преобладала очаговая неврологическая симптоматика. Нарушение функции сердечно–сосудистой системы чаще регистрировалось на высоте интоксикации и сопровождалось нарушением автоматизма и возбудимости. Поражение почек сопровождалось изменениями воспалительного характера в общем анализе мочи (ОАМ) у 21% обследованных дизурическими явлениями – 12%. Ключевые слова: Эпштейн–Барр вирус, миокардит, энцефалит, инфекционный мононуклеоз.*

В современной инфекционной патологии человека тема Эпштейн–Барр вирусной инфекции (ВЭБ-инфекции) приобретает всё большую актуальность в связи с широкой циркуляцией возбудителя среди населения разных стран, разнообразием клинических проявлений, поражением различных органов и систем, развитием хронических и латентных форм инфекции, отсутствием средств специфической профилактики и лечения.

Способность ВЭБ вызывать поражение нервной системы, сердца, печени, почек затрудняет своевременную диагностику заболевания, так как чаще эти нарушения происходят без развития типичных клинических симптомов и лабораторных нарушений, характерных для инфекционного мононуклеоза (ИМ). Особую значимость ВЭБ-инфекция представляет для ВИЧ-инфицированных пациентов, у которых характерно тяжелое течение и развитие злокачественного роста, ассоциированного с ВЭБ.

В литературе крайне мало сообщений о развитии осложнений со стороны сердца при инфекционном мононуклеозе [1, 5]. Нет единого мнения о характере и сроках появления кардиальных осложнений при данной инфекции. Некоторые авторы указывают на то, при ИМ наблюдаются функциональные изменения со стороны сердца, а иногда развивается миокардит [2, 5]. Имеются

указания, что помимо типичных причин смерти (разрыв селезенки и энцефалит), миокардит может быть также причиной летального исхода при ИМ.

Неврологические осложнения наблюдаются менее, чем в 1% случаев и обычно возникают в течение первых 2 недель ВЭБ-инфекции. У данных пациентов часто имеет место отрицательный результат обследования на гетерофильные антитела, тем не менее, эти осложнения всегда очень тяжелые. Первичная инфекция чаще связана с развитием асептического менингита, острого вирусного энцефалита и менингоэнцефалопатии [8]. Неврологические проявления являются преимущественно вторичными и у иммунокомпетентных лиц встречаются редко. Развитие энцефалита сопровождается нарушением памяти, нарушением сознания, изменением личности, появлением стволовой симптоматики и эпилептических приступов [7]. КТ и МРТ исследования выявляют вовлечение базальных ганглиев и лимбических структур [6, 7, 8]. Другие неврологические симптомы при ИМ включают неврит зрительного нерва, парез подъязычного нерва, паралич Белла, поперечный миелит, паралич черепных нервов (особенно VII пары) или синдром Гийена–Барре, мозжечковую атаксию, полирадикулоневриты [7, 8]. Описаны случаи менингоэнцефалорадикулита у иммунокомпетентных пациентов с ВЭБ-инфекцией [4, 6].

Касательно поражения мочевыделительной системы, установлена экспрессия антигенов литического и латентного цикла вируса Эпштейна–Барр у пациентов с интерстициальным нефритом [3, 4, 5].

Цель исследования: охарактеризовать особенности клинического течения поражения ЦНС, сердечно–сосудистой и мочевыделительной систем в острую стадию ИМ у взрослых.

Материалы и методы: Обследовано 150 взрослых пациентов с инфекционным мононуклеозом в возрасте от 18 до 40 лет, находившихся на лечении в инфекционной больнице г. Минска с 2008 по 2014 год. Преобладали пациенты в возрасте 18–20 лет. Их доля от общего количества обследованных составила 51% (76 чел.). Обследовано 56 пациентов в возрасте от 21 до 30 лет (37%) и (18 чел.) в возрасте 31–40 лет (12%).

Всем пациентам проводилось полное клиническое и лабораторно–инструментальное обследование: общий анализ крови и мочи, биохимические тесты (АЛТ, АСТ,

ЩФ, ГТТП, билирубин), выполнялась люмбальная пункция, МРТ головного мозга, УЗИ брюшной полости, ЭКГ. С учетом особенностей клинического течения, проводилось обследование на герпетические инфекции, ЦМВ, посевы крови на стерильность, иерсиниоз и маркеры вирусных гепатитов.

Для подтверждения диагноза ИМ использовали метод ИФА (выявление антител IgM и IgG к капсидному антигену ВЭБ в сыворотке крови), ПЦР крови и ликвора (выявление ДНК вируса Эпштейна-Барр), реакцию латекс-агглютинации (ЛА) – обнаружение гетерофильных антител к ВЭБ в крови.

**Результаты исследования**

Заболевание характеризовалось постепенным началом: повышением температуры, умеренными болями в горле при глотании, болями в области шеи за счет увеличения лимфатических узлов, а также постепенным нарастанием признаков интоксикации. Наиболее частыми проявлениями интоксикации были слабость, сонливость, снижение аппетита. На момент поступления в стационар у пациентов отмечалась лимфаденопатия – в 87 % случаев, преобладало увеличение лимфатических узлов шейной группы. Тонзиллит зарегистрирован в 56% случаев. У 16 % пациентов наблюдалась сыпь, появлению которой у 11 человек (18%) предшествовало назначение антибиотиков на догоспитальном этапе.

Заболевание чаще регистрировалось у мужчин (57%). В основном ИМ протекал в среднетяжелой форме (79%), легкая форма болезни выявлена у 15% обследованных, 6% пациентов имели тяжелое течение.

Поражение ЦНС выявлено у 20 пациентов (13%). Наиболее часто поражение нервной системы наблюдалось в возрастной группе от 18 до 25 лет, с одинаковой

частотой у мужчин и женщин при тяжелом и среднетяжелом течении заболевания. У 65% процентов пациентов имело место постепенное начало и 85% заболевших были госпитализированы в инфекционный стационар в течение 14 дней от начала заболевания. Сроки госпитализации в стационар представлены на рисунке 1.

Диагноз ИМ не был установлен на амбулаторном этапе у 100% обследованных с поражением ЦНС. Семь пациентов (35%) поступили с диагнозом менингоэнцефалита, 4 пациента (20%) направлены с диагнозом ОРВИ, 3 пациента (15%) направлялись с лихорадкой не установленного генеза и 2% – с диагнозом острого тонзиллита и хронической герпетической инфекции.

Заболевание протекало с лихорадкой у 85% заболевших (17 чел.), у 1 пациента (5%) наблюдались 2 волны лихорадки. У 10 пациентов (50%) лихорадка превышала 38°C. Пациенты предъявляли жалобы на повышение температуры (85%), слабость (70%), головную боль (70%), головокружение (35%), рвоту (10%), ретро-орбитальные боли (5%), миалгии (10%). Клинические проявления заболевания включали: катаральные симптомы – 4 человека (20%), менингеальные симптомы – 12 пациентов (60%), лимфаденопатию, гепатомегалию и тонзиллит – 5 человек (25%), нарушение сознания – 11 человек (55%), нарушение функции тазовых органов – 3 пациента (15%), нарушение координации – 9 человек (45%) и очаговую неврологическую симптоматику (100% заболевших). Очаговая неврологическая симптоматика представлена в таблице 1.

У 5 % пациентов выявлена девиация языка, тетраплегия, апраксия, хоботковый рефлекс, симптомы Бабинского и Оппенгейма. Офтальмоплегический синдром был представлен нарушением конвергенции (6 чел.), нистагмом (5 чел.), диплопией (4 чел.), страбизмом (1 чел.)

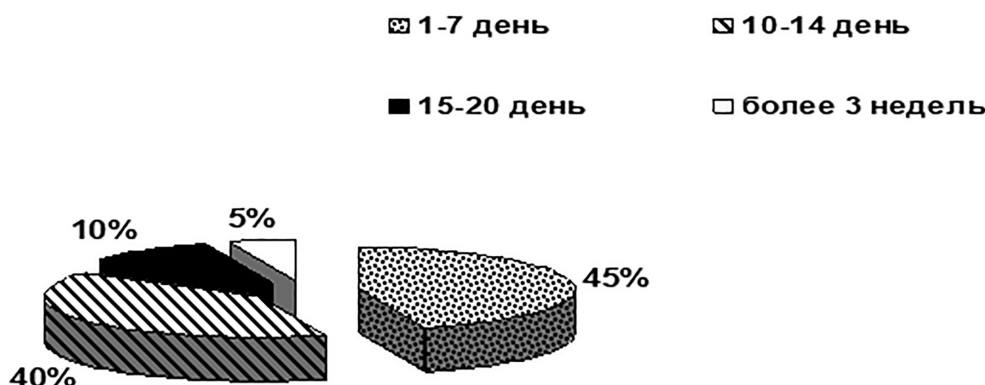


Рисунок 1. Сроки госпитализации

Таблиця 1. Очаговая неврологическая симптоматика

Симптомы	Выявление симптомов у пациентов	
	Абс. число	%
Дизартрия	2	10
Асимметрия рефлексов	2	10
Дисфагия	2	10
Гемипарез	2	10
Изменение мышечного тонуса	4	20
Асимметрия лица	4	20
Тремор	5	25
Нарушение координации	1	5
Офтальмоплегия	18	90
Тетраплегия	1	5
Апраксия	1	5
Повышение СПР	1	5
Девиация языка	1	5

и нарушением зрения (2 чел.). С учетом выявленной неврологической симптоматики при ИМ поражение ЦНС носило диффузный характер с поражением различных отделов мозга (кора мозга, ствол и средний мозг, мозжечок). Изменения ликвора выявлено у 90% пациентов (18 чел.). Воспалительные изменения ликвора имели серозный характер в 85% случаев. У 2 пациентов с неврологической симптоматикой ликвор имел нормальные значения. Исследование крови и ликвора методом ПЦР на выявление ДНК ВЭБ, серологические маркеры ВЭБ-инфекции проведены 17 пациентам. У всех обследованных пациентов в ликворе обнаружена ДНК ВЭБ и у 14 - ДНК ВЭБ обнаружена в крови. В 3 случаях диагноз

установлен на основании результатов серологического обследования. Данные представлены на рисунке 2.

Поражение сердечно-сосудистой системы в острую стадию ИМ выявлено у 27% обследованных (41 чел.) и регистрировалось чаще у мужчин (59%). Нарушение функции сердечно-сосудистой системы выявлено у пациентов с тяжелым течением и пациентов, у которых заболевание протекало в среднетяжелой форме. При ЭКГ исследовании, проведенном на высоте симптомов инфекционного токсикоза, выявлено нарушение функции автоматизма и возбудимости. Нарушение автоматизма проявилось брадикардией, которая выявлена в 4% случаев, нарушение возбудимости – наджелудочковой экстрасистолией (2%). У 12 пациентов (29%) с изменениями на ЭКГ выявлено значимое повышение АСТ (АСТ/АЛТ более 2), что может также свидетельствовать в пользу поражения сердца. Симптомы поражения миокарда были представлены экстрасистолией (1 чел.), тахикардией (15 чел.), признаками ишемии миокарда (10 чел.), сочетанием тахикардии и ишемии миокарда (3 чел.).

Диффузное снижение амплитуды зубца Т при отсутствии подъема ST и изменения амплитуды комплексов QRS выявлено у 35% (17 пациентов), что можно расценивать как проявление миокардиодистрофии. По мере купирования интоксикации – положительная динамика ЭКГ. У 10 (24%) пациентов (4 из них имели тяжелое течение ИМ) изменения на ЭКГ сохранялись при выписке.

У 31 пациента выявлено нарушение со стороны мочевыделительной системы, что составило 21%. Патология мочевыделительной системы чаще наблюдалась у мужчин. Пациенты предъявляли жалобы на боли в поясничной области – 4 чел. (13%), дизурические явления

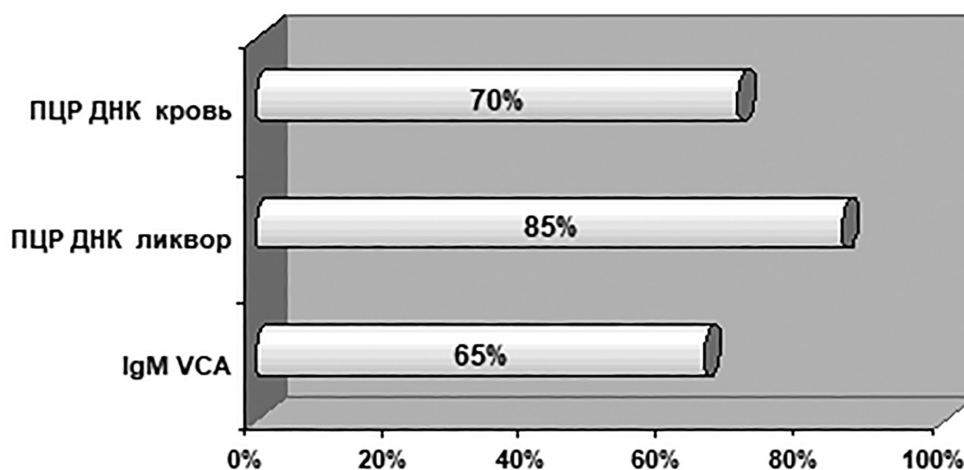


Рисунок 2. Частота обнаружения ДНК и специфических антител ВЭБ в биологических жидкостях (кровь, ликвор)

– 2 чел. (7%), задержку мочи – 1 чел. (3%). У всіх пацієнтів виявлені зміни запального характеру в аналізах мочи, в формі лейкоцитурії та еритроцитурії (31 пацієнт), рідше – протеїнурії (19 обстежених).

**Висновки:**

1. Пораження ЦНС виникають при відсутності типових клінічних ознак гострої Епштейн-Барр вірусної інфекції.
2. В клінічній картині ураження ЦНС переважає розвиток очагової симптоматики.
3. Зміни серцевої діяльності в гостру стадію ІМ, частіше є наслідком інтоксикації та прояв-

ляються в формі міокардиодистрофії.

4. Норушення автоматизма та збудливості в гострому періоді ІМ, протікають з невираженою клінічною симптоматикою та вимагають динамічного спостереження для виключення міокардиту, з переважаючим ураженням провідної системи та проведенням всього спектра лабораторного та інструментального обстеження.
5. Наявність змін в ОАМ та дизуричних порушень можуть вказувати на залучення в патологічний процес сечовидільної системи, що вимагає більш ретельного моніторингу в динаміці.

**ЛІТЕРАТУРА**

1. Кардіальні ускладнення при інфекційному мононуклеозі у дітей / Т.В. Толстикова [та др.] // Сибірський медичний журнал. – 2010. – № 5. – С. 33–35.
2. Cohen, J. Epstein-Barr Virus Infection / J. I. Cohen // N. Engl. J. Med. – 2000. – Vol. 343. – P.481-492.
3. Epstein-Barr virus-associated nephrotic syndrome / D. Mikhalkova [et al.] // Clin. Kidney J. – 2012. – Vol. 5, N 1. – P.50–52.
4. Joshi A. Acute Epstein-Barr virus infection-associated collapsing glomerulopathy / A. Joshi [et al.] // Clin. Kidney J. – 2012. – Vol. 5, N 4. – P.320–322.
5. Kawamura Y. A case of Epstein-Barr virus associated hemophagocytic lymphohistiocytosis with severe cardiac complications [Electronic resource] / Y. Kawamura [et al.] // BMC Pediatr. – 2016. – Vol. 16, N 172. – Mode of access : <https://bmcpediatr.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12887-016-0718-3>. – Date of access : 01.12.2017.
6. Luzuriaga K. Infectious mononucleosis / K. Luzuriaga [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2010. – Vol. 362, N 21. – P. 1993–2000.
7. Tselis, A. Epstein-Barr virus infections of the nervous system / A.C. Tselis // Handb. Clin. Neurol. – 2014. – Vol. 123. – P. 285–305
8. Zhang, S. Transient widespread cortical and splenic lesions in acute encephalitis/encephalopathy associated with primary Epstein-Barr virus infection / S. Zhang, J. Feng, Y. Shi // Int. J. Infect. Dis. – 2016. – Vol. 42. – P. 7–10.

**СИСТЕМНІ УРАЖЕННЯ ПРИ ІНФЕКЦІЙНОМУ МОНОНУКЛЕОЗІ У ДОРОСЛИХ**

<sup>1</sup>Г.М. Давидович, <sup>2</sup>А.Є. Гончаров, <sup>1</sup>І.А. Карпов

<sup>1</sup>Установа освіти «Білоруський державний медичний університет», Мінськ, Білорусь

<sup>2</sup>Державна установа «Республіканський науково-практичний центр епідеміології та мікробіології», Мінськ, Білорусь

Проблема Епштейн-Барр вірусної інфекції (ВЕБ-інфекції) набуває все більшої актуальності у зв'язку з широкою циркуляцією збудника серед населення різних країн, ураженням різних органів і систем, розвитком хронічних і латентних форм інфекції, відсутністю засобів специфічної профілактики і лікування. Разом з тим, ускладнення з боку серцево-судинної і нервових систем у пацієнтів з інфекційним мононуклеозом (ІМ) відносно слабо вивчені.

Мета дослідження: охарактеризувати поширеність і особливості клінічного перебігу ураження ЦНС, серцево-судинної та сечовидільної систем в гостру стадію ІМ у дорослих.

Було обстежено 150 дорослих пацієнтів ІМ, які перебували на лікуванні в інфекційній лікарні м. Мінська в період 2008-2014 рр. Всім пацієнтам проводилося повне клінічне та лабораторно-інструментальне обстеження, включаючи рутинні лабораторні тести, МРТ головного мозку, УЗД черевної порожнини, ЕКГ. Верифікацію збудника здійснювали за допомогою ІФА (антитіла до капсидного антигену ВЕБ в сироватці крові), ПЛР крові і ліквору, реакції латекс-аглютинації.

Показано, що у гостру стадію хвороби у дорослих, крім характерних симптомів ІМ виявлено ураження ЦНС у 13% обстежених, серцево-судинної системи у 27% пацієнтів і нирок – у 21%. У клінічній картині ураження ЦНС переважа-

ла вогнищева неврологічна симптоматика. Порушення функції серцево-судинної системи частіше реєструвалося на висоті інтоксикації і супроводжувалося порушенням автоматизму і збудливості. Ураження нирок супроводжувалося змінами запального характеру в загальному аналізі сечі (ЗАС) у 21% обстежених дизуричними явищами - 12%.

**Ключевые слова:** Епштейна–Барр вірус, міокардит, енцефаліт, інфекційний мононуклеоз.

### ADULT INFECTIOUS MONONUCLEOSIS SYSTEMIC CHANGES

<sup>1</sup>G.M. Davidovich, <sup>2</sup>A.E. Goncharov, <sup>1</sup>I. A. Karpov

<sup>1</sup>Educational institution «Belarusian State Medical University», Minsk, Belarus

<sup>2</sup>State Institution «Republican Scientific and Practical Center of Epidemiology and Microbiology», Minsk, Belarus

The problem of Epstein-Barr viral infection is becoming increasingly important due to the wide circulation of the pathogen among the population of different countries, failure of various organs and systems, the development of chronic and latent forms of infection, the lack of specific prevention and treatment remedies. At the same time, cardiovascular and nervous system complications in patients with infectious mononucleosis (IM) relatively poorly studied.

Research objective: to characterize the prevalence and clinical course of the central nervous system, cardiovascular and urinary system failure in the acute stage of IM in adults.

150 adult patients with the IM receiving medical treatment in Minsk infectious diseases hospital from 2008 to 2014 have been examined. All patients underwent complete clinical and laboratory-instrumental examination, including routine laboratory tests, MRI brain scan, ultrasound of the abdomen, electrocardiography. Verification of the causative agent was carried out with the help of ELISA (antibodies to the capsid antigen of EBV in blood serum), PCR of blood and liquor, latex agglutination test.

In acute stage of the disease in adults, in addition to the specific symptoms of IM, the CNS involvement was detected in 13% of the examined, cardiovascular system failure in 27% of patients and kidney damage - in 21%. Focal neurological symptoms prevailed in CNS involvement clinical picture. Violation of the function of the cardiovascular system was more often recorded at the height of intoxication followed by automatism disorder (4% of examined) and excitability (2% of examined). Kidney damage was accompanied by the inflammatory changes in the clinical urine analysis in 21% of patients, dysuric manifestation in 12%.

**Ключевые слова:** Epstein–Barr virus, myocarditis, encephalitis, infectious mononucleosis.

УДК 619:616.98:578.831.31

*I.V. Коровін<sup>1</sup>, А.І. Бузун, Б.Т. Стегній*

## ВІРУСОНОСІЙСТВО, ЯК ФАКТОР СПРИЯННЯ КЛІНІЧНОМУ ПРОЯВУ БЕШИХИ СВИНЕЙ У ПРОМИСЛОВОМУ СВИНАРСТВІ

<sup>1</sup>Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

<sup>2</sup>ТОВ «НДП Ветеринарні біотехнології»

*Серед репродуктивно–неонатальних інфекцій (РНИС) у свинарстві України особливе місце займають мікст–інфекції хвороби Ауескі (ХА), цирковірусної інфекції (ЦВІС) та бешихи свиней (БС). Мета досліджень – визначити вплив субклінічного носійства збудників ХА й ЦВІС на перебіг БС в промисловому свинарстві. Методи дослідження та результати. У 4–х свиногосподарствах Сумської та Харківської областей традиційними польовими та лабораторними методами було встановлено субклінічну циркуляцію збуд–*

*ників БС–ХА–ЦВІС та БС–ЦВІС мікст–інфекцій. Факторний епізоотологічний аналіз з використанням пакету програм EpiInfo 7 (<https://www.cdc.gov/epiinfo/index.html>) виявив тісну кореляцію рівня клінічного прояву важкої форми бешихи свиней з вірусоносійством збудників ХА–ЦВІС (1,44 <OR< 5,80; n= 969 у 4х господарствах, 0.01< P <0.03); додатковими факторами клінічного прояву та активізації епізоотичного процесу БС була низка технологічних чинників, які слід враховувати у програмах оздоровлення промисло–*



*вого свинопоголів'я та харчового ланцюга людини. Висновок– Синергізм збудників БС, ХА та ЦВІС in vivo ускладнює клінічно–епізоотологічний перебіг бешихи і може відігравати ключову роль у епізоотології цієї хвороби в її стаціонарних осередках у промисловому свинарстві.*

**Ключові слова:** бешиха, хвороба Ауескі, цирковірусна інфекція свиней, субклінічне вірусоносійство, ускладнення перебігу бешихи

Етіологічним агентом бешихи свиней є *Erysipelothrix rhusiopathiae* – Грам-позитивна, каталазо-негативна, паличковидна, неспороутворююча, кислото-нестійка, нерухома та патогенна для людини і тварин бактерія (бацила), яку можна знайти в більшості, якщо ще у всіх свиногосподарствах. Не менше половини всіх свиней у Світі є безсимптомними носіями цього мікробу в мигдаликах і виділяють його зі слиною, калом чи сечею у довкілля. Там мікроб тривалий час зберігається – зокрема у легких ґрунтах, легко приживляється у в орніто- та водній фауни, також серед свійської птиці і жуйних: для них *Erysipelothrix rhusiopathiae*, як правило, загрози не становить, але активно розмножується і вони стають додатковим джерелом контамінації довкілля [8]. Отже цей збудник – повсюдний (убіквітарний) і викоринити його у довкіллі на сьогодні неможливо. Останнім часом накопичуються наукові дані, що віруси репродуктивно-респіраторного синдрому (РРСС) та грипу (ГС), інші віруси свиней і птиці можуть асоціюватися зі збудником бешихи і, більше того, активізувати епізоотичний процес за участі *Erysipelothrix rhusiopathiae* у свинарстві чи птахівництві [2, 4]. Цей збудник також становить неабияку загрозу здоров'ю людини [8].

За моніторинговими даними ННЦ «ІЕКВМ», отриманими у 2011-2017 роках у осередках репродуктивно-неонатальних інфекцій свиней (РНІС), виявлено, що клінічний прояв бешихи (БС) явно залежить від епізоотичного профілю свиногосподарств щодо РНІС. Особливо в цьому сенсі виділялися господарства, де бешиха виникала на тлі циркуляції серед свинопололів'я одночасно збудників цирковірусної інфекції свиней (ЦВІС) та хвороби Ауескі (ХА). При цьому господарства були вільними від клінічних проявів ХА всі роки стаціонарності РНІС, тобто від 3-х до 14 років [1]. Було вирішено вивчити у цих господарствах епізоотичні фактори впливу на клінічний прояв БС доступними нам методами епізоотологічного обстеження і аналізу.

За даними літератури найбільш доказовим методичним підходом факторного аналізу у епідеміології/епізоотології є “Evans' County” [7]. Численні дослідження

у цьому форматі переконливо довели, що ЦВІС і ХА мають як спільні, так і специфічні для кожної з цих хвороб фактори сприяння їхньому виникненню й прояву. Так, за даними французьких дослідників для епізоотології ЦВІС найбільш важливими з цих факторів є [6]: 1-асоціативність ЦВІС зі збудниками репродуктивно-респіраторного синдрому (OR=6.5) та парвовірусної інфекції свиней (OR=4.4), 2- загальний для кількох приміщень свинарника колектор гною (OR=6.7), 3- висока частота підсажування порослят у чужі гнізда (OR=5.1), 4- походження сперми кнурів (OR=4.6), а також 5- щільність поголів'я у свинарнику (OR=4.1).

На нашу думку вивчення природи вірус-бактеріальної взаємодії вірусу ХА з бактерією бешихи, яка вирізняється унікальними екобіологічними властивостями [2, 3], може сприяти більш глибокому розумінню механізмів укорінення асоціацій цих збудників у довкіллі і поширення їх серед свинопололів'я – а отже удосконаленню протиепізоотичної роботи в свинарстві та стану довкілля і харчового ланцюга людини.

#### Матеріали та методи.

Роботу виконано у лабораторії вивчення хвороб свиней ННЦ «ІЕКВМ», а також на базі дрібнотоварних свиногосподарств Харківської (n= 1) та Сумської області (n= 3). Для моніторингу ХА й БС за польових умов використовували шкіряні проби, розроблені в ННЦ «ІЕКВМ» у 1998-2009 роках і в чинному порядку рекомендовані для ветеринарного супроводу свинарства. Алергени збудників ХА та БС (двох їх лабораторно-виробничих серій, що перевірено за показниками якості згідно відповідних ТУУ в ННЦ «ІЕКВМ») вводили в шкіру вух згідно відповідних листівок-вкладок невакцинованим проти цих хвороб свиням маточного стада та відгодівельної групи (6-місячного і старше віку). Алергопроби проводили серед свинопололів'я, щепленого проти БС 4 і більше місяців тому, інтервал між зазначеними алергопробами складав 10-15 діб.

Для валідації отриманих результатів польових досліджень згідно відповідного СОП ННЦ «ІЕКВМ» використовували традиційні схеми лабораторних серологічних досліджень на ХА, ЦВІС та БС, що засновані на реакціях нейтралізації 100 TCID<sub>50</sub>/мл референтних штамів «18в-УНДІЕВ» вірусу ХА, «1010-Stoop» збудника ЦВІС, а також 8 аглютинуючих одиниць референтного штаму «BP-2» бактерії *Erysipelothrix rhusiopathiae*. Штами вірусу ХА «18в-УНДІЕВ» та збудника ЦВІС «1010» підтримуються в ННЦ «ІЕКВМ» шляхом періодичних пасажів у пере-

щеплюваних культурах клітин нирки свині (ліній РК-15, СНЕВ) згідно паспортних вимог. Штам ВР-2 в музеї штамів ННЦ «ІЕКВМ» підтримується шляхом періодичних посівів на серцево-мозковий бульйон (AES Chemupex, Франція); періодично типові для штаму колонії відбираються на кров'яному агарі з 10% дефібрированою кров'ю барана [5]. Зазначені референтні штами перед використанням раз на рік перевіряються на відсутність забруднення бактеріями, грибами та мікоплазмами, а також на інфекційну активність (по ЦПД в клітинах РК-15 чи СНЕВ – для вірусу ХА та за результатами біопроби на мишах – для бактерії *Erysipelothrix rhusiopathiae*). Контрольні випробування проводили з використанням референс-сироваток ВХА позитивні й негативні для реакції нейтралізації РН, виготовлені у референс-центрі МЕБ при Національному науково-ветеринарному центрі Польщі РІWet (м. Пулава).

Експериментальні тварини – Миші білі віком 2 – 4 міс. зі стада, серонегативного щодо пікорна-, герпес- та парвовірусів. Експериментальні дослідження на тваринах проводили з урахуванням основних принципів біоетики та біобезпеки.

Діагностичні методи – згідно настанов по використанню комерційних діагностиків фірм IDEXX (США) та Ingenasa (Іспанія), в інших випадках – згідно вимог МЕБ (OIE Manual, 2004). Для визначення у вірусних матеріалах концентрації протективних (гемаглютинуючих щодо еритроцитів миші) антигенів збудників ХА та ЦВІС використовували реакцію гемаглютинації (РГА) з еритроцитами миші у модифікації Tetsu et al. (1989): 0,5–0,7%-ні еритроцити, загальний обсяг реакції 0,075 см<sup>3</sup>, крок розведення проб – 2, розчинник – фосфат-желатиновий буферний розчин, U- та V- лункові планшети, інкубація за кімнатної температури, облік результатів після осідання контрольних еритроцитів у «гудзик». Також використовували реакцію затримки гемаглютинації (РЗГА) для оцінки вмісту в сироватках крові антигемаглютининів ХА та ЦВІС (рівень протективного імунітету проти ХА та ЦВІС) за методикою

Tetsu et al. (1989): інактивацію проб сироваток проводили за температури 560С впродовж 30 хвилин, неспецифічні гемаглютинини адсорбували на еритроцитах миші у 1,5%-ній суспензії: загальний обсяг реакції 0,075 см<sup>3</sup>, крок розведення – 2, розчинник – фосфат-желатиновий буферний розчин, V- лунковий планшет, 8 ГАО вірусу ХА, інкубація розведень сироватки з антигеном – 12-14 год. за температури 4-80С, облік результатів після осідання контрольних еритроцитів у «гудзик».

Аналіз факторів сприяння клінічному прояву БС у чотирьох обстежуваних свиного господарств (двох з мікст-інфекцією БС-ХА-ЦВІС, господарства I, II і двох з мікст-інфекцією БС-ЦВІС, господарства III, IV) проводили за індексом непарного співвідношення (OR) наступних вірогідних чинників: фактор "а" – висока вірогідність холодних стресів (середньомісячна температура атмосферного повітря 10оС і нижче); фактор "b" – загальний гноєзбірник для кількох технологічних груп свиней; фактор "с" – щеплення проти бешихи та ХА за 4 міс. і раніше до проведення шкіряних проб на ХА чи БС; фактор "d" – перемішування поросят у гніздах у підсисний період; фактор "е" – вірусоносійство збудника ХА та/чи ЦВІС в обстежуваній групі свиней стада. Для проведення факторного епізоотологічного аналізу використовували пакет програм EpiInfo 7 (<https://www.cdc.gov/epi-info/index.html>). Обчислення польових даних по кожному з факторів кожного з господарств проводили за індексом непарного співвідношення (OR) у форматі «Таблиці Еванса 2x2»

**Результати досліджень і їх обговорення.**

1. Діагностичні та спостережні дані. За результатами комплексного епізоотологічного моніторингу у восьми з обстежених 14 свиного господарств у осередках РНІС відомча служба ветмедицини у 2013-2017 рр. періодично (раз на 2-3 роки) реєструвала типову клініку БС у групі відгодівлі (свині 7-8 місячного віку) та (раз на 3-4 роки роки) ХА на поросятах-сисунах (прояв нейроінфекції з переважністю до 10%). За даними ННЦ «ІЕКВМ» у всіх 8 сви-

**Таблиця 1.**

Статус свиней господарств I, II, III чи IV			Індекс непарного співвідношення для кожного господарства по кожному фактору (OR <sub>Ia-e</sub> – IV <sub>a-e</sub> )
експериментальний щодо факторів a,b,c,d чи e	клінічний щодо БС		
	хворі (D+)	не хворі (D-)	Всього (Σ1)
Експоновані (E+)			Min<OR<Max (для P=99%)
Не експоновані (E-)			
Всього (Σ <sub>2</sub> )			

ного господарствах з клінічними проявами БС відбувалася циркуляція збудника ЦВІС (як за результатами серологічних досліджень у міжепізоотичний період, так і за даними ПЛР та за клінічною маніфестацією у вигляді синдромокомплексів РМWS та РDNS, відповідно – в групах дорощування та відгодівлі). У свиноголів'я (6 господарств), де зареєстровано одночасну циркуляцію збудників ХА та ЦВІС, БС маніфестувала у 60-80% випадків важкої форми: у продромальний та початковий періоди реєструвалася піретична (41,0С) та гіперпіретична (41,50С і вище) гарячка постійного типу, ціаноз вух та/або шкіри нижньої частини тулуба/внутрішнього боку стегон (гостра серцева недостатність), ступор, анорексія і навіть раптова смерть окремих свиноматок чи свиней відгодівельної групи, яким своєчасно чи в недостатній дозі були введені відповідні антибіотики (переважно пеніцилінової групи). У решті 2х господарств також періодично реєструвалася БС та ЦВІС – але без ХА: за даними Держпродспоживслужби та ННЦ «ІЕКВМ» вони були вільні від ХА – як хвороби, так і вірусносійства. В цих господарствах БС з гіперпіретичною гарячкою не реєструвалася, зате проявлялася найчастіше у підгострій формі – з коротким (до 3 діб) періодом фебрильної гарячки (до 40,5°С), після якого відбувалися типові шкіряні висипи та проявлялися ознаки хронічної серцевої недостатності. В жодному випадку у цих госпо-

дарствах загибелі свиней від БС не зареєстровано: всі хворі видужали після застосування традиційної для БС антибіотикотерапії («біцилінотерапія»).

Діагноз на БС у всіх 12-ти зазначених господарствах був поставлений клінічним з підтвердженням алергічним (шкіряна проба з використанням експериментального алергену з бактерій бешихи) методами і в 5 з них – бактеріологічним методом (виділено збудника БС з крові хворих на лихоманку свиней, не оброблених антибіотиками і до прояву типових для БС уражень шкіри). Діагнози ХА та ЦВІС було поставлено клінічним, алергічним (шкіряна проба з використанням препарату «Аулергін») та серологічним методами і лише в одному з них (у фермерському господарстві, поросята-сисуні) – вірусологічним (виділено вірус ХА з проби мозку). Ці дані свідчать щонайменше про відсутність конкуренції між ХА, ЦВІС та БС у стаціонарних осередках їх мікст-інфекцій, а щонайбільше – про синергізм їх збудників.

2. Аналітичні дані. Епізоотологічні дані по кожному з факторів (табл.1) збирали в періоди загострення ситуації по БС у чотирьох господарствах: у двох з циркуляцією в стаді збудників одночасно і ХА, і ЦВІС (обидва з Сумської області), а також у двох з циркуляцією в стаді збудника ЦВІС (одне з Сумської, інше з Харківської області, «контрольні господарства»). Відповідні дані збирали відносно

**Таблиця 2.** Результати перехресно-факторного аналізу факторів прояву важкої форми БС у свиногосподарстві І Сумської області на загальній вибірці поголів'я 202 свині (3-4 страти по кожному з факторів)

Статус свиней господарства І				Індекс непарного співвідношення $OR_1$ (для $0.01 < P < 0.03$ )
експериментальний	клінічний			
	(D+)	(D-)	( $\Sigma 1$ )	
<b>фактор а (E+)</b>	11	32	43	$0.49 < (OR_{1a} = \mathbf{1.06}) < 2.29$
<b>фактор а (E-)</b>	39	120	159	
( $\Sigma_2$ )	50	152	202	
<b>фактор б (E+)</b>	10	67	77	$0.12 < (OR_{1b} = \mathbf{0.32}) < 0.87$
<b>фактор б (E-)</b>	40	85	125	
( $\Sigma_2$ )	50	152	202	
<b>фактор с (E+)</b>	18	123	141	$0.05 < (OR_{1c} = \mathbf{0.13}) < 0.34$
<b>фактор с (E-)</b>	32	29	61	
( $\Sigma_2$ )	50	152	202	
<b>фактор д (E+)</b>	9	83	92	$0.08 < (OR_{1d} = \mathbf{0.18}) < 0.40$
<b>фактор д (E-)</b>	41	69	110	
( $\Sigma_2$ )	50	152	202	
<b>фактор е (E+)</b>	23	27	50	$1.97 < (OR_{1e} = \mathbf{3.94}) < 7.90$
<b>фактор е (E-)</b>	27	125	152	
( $\Sigma_2$ )	50	152	202	

лише неблагополучних по БС груп свиней (хворих і контактних свиноматок і свиней відповідних станків у відгодівельних групах): по 202 головам у господарстві I, по 294 свиням у господарстві II, 249 свиням у господарстві III та по 224 свиням у господарстві IV; кожний з факторів проаналізовано на довірчому рівні 99% по 3-5 стратам. Аналітичні дані по господарству I узагальнено в табл. 2.

З таблиці видно, що найбільш важливими з досліджених факторів впливу на клінічний прояв БС (аби індекс OR був > 1 за  $P < 0.01$ ) у господарстві I були фактор "е" (OR = 3,94) та фактор "а" (OR = 1,06). Отже найбільш важливими з факторів сприяння клінічного прояву БС у господарстві I, причому в її найважчій («піретичній»/«гіперпіретичній» формах), були вірусносійство збудників ХА та ЦВІС у сукупності з холодowymi стресами обстежуваних груп/страт свиней стада. Індекс ORIC = 0,13 свідчить, що щеплення проти бешихи та ХА за 4 міс. і раніше до проведення шкіряних проб на ХА чи БС, за поточної епізоотичної ситуації у господарстві 1 не було фактором ефективного захисту свинопоголів'я від БС (інакше цей індекс мав би бути ORIC = 0,00). Загальний гноєзбірник для кількох технологічних груп свиней та перемішування поросят у гніздах у підсисний період також не впливали на виникнення й рівень клінічного прояву БС в господарстві 1, оскільки індекси непарного співвідношення цих факторів були вище 0,00

і нижче 1,00.

У таблиці 3 узагальнено аналітичні дані по господарству II, де як і у господарстві I періодично реєструвалися «піретичні/гіперпіретичні» форми БС, а також циркуляція збудників як ХА, так і ЦВІС.

Очевидно, що найважливішими з досліджених факторами формування епізоотичного статусу свинопоголів'я щодо БС у господарстві II, як і в господарстві I були вірусносійство збудника ХА та/чи ЦВІС в обстежуваній групі свиней стада (OR = 5,80) і холодіві/температурні стреси (OR = 1,20). Рівень впливу цих факторів на ситуацію щодо БС був дещо меншим, ніж у господарстві I. Можливо це пов'язано з дещо більш ефективною вакцинопрофілактикою бешихи та ХА у цьому господарстві (індекс ORIC = 0,09 проти індексу ORIC = 0,13 свідчить). Загальний гноєзбірник для кількох технологічних груп свиней та перемішування поросят у гніздах у підсисний період також не впливали на виникнення й рівень клінічного прояву БС в господарстві II, як і у господарстві I.

У таблиці 4 узагальнено аналітичні дані по господарству III - контрольному, як і господарство IV по відношенню епізоотичного профілю господарств I і II за фактором циркуляції в стаді збудника ХА (і, відповідно, клінічної маніфестації БС у «піретичній/гіперпіретичній» формах).

**Таблиця 3.** Результати перехресно-факторного аналізу факторів прояву важкої форми БС у свиногосподарстві II Сумської області на загальній вибірці поголів'я 294 свині (3-4 страти по кожному фактору)

Статус свиней господарства II				Індекс непарного співвідношення $OR_{II}$ (для $0.01 < P < 0.05$ )
експериментальний	клінічний			
	(D+)	(D-)	( $\Sigma 1$ )	
фактор а (E+)	16	35	60	$0.51 < (OR_{IIa} = 1.20) < 2.84$
фактор а (E-)	67	176	234	
( $\Sigma_2$ )	83	211	294	
фактор б (E+)	11	83	77	$0.12 < (OR_{IIb} = 0.24) < 0.47$
фактор б (E-)	72	128	125	
( $\Sigma_2$ )	83	211	294	
фактор с (E+)	25	173	198	$0.05 < (OR_{IIc} = 0.09) < 0.17$
фактор с (E-)	58	38	96	
( $\Sigma_2$ )	83	211	294	
фактор d (E+)	9	69	77	$0.12 < (OR_{IId} = 0.25) < 0.53$
фактор d (E-)	74	142	216	
( $\Sigma_2$ )	83	211	294	
фактор е (E+)	43	33	76	$3.28 < (OR_{IIE} = 5.80) < 10.24$
фактор е (E-)	40	178	218	
( $\Sigma_2$ )	83	211	294	

**Таблиця 4.** Результати перехресно-факторного аналізу факторів прояву БС у свиного господарстві III Сумської області на загальній вибірці поголів'я 249 свиней основного стада і відгодівельної групи (3-4 страти по кожному фактору)

Статус свиней господарства III				Індекс непарного співвідношення $OR_{III}$ (для $0.01 < P < 0.03$ )
експериментальний	клінічний			
	(D+)	(D-)	( $\Sigma$ 1)	
фактор а (E+)	7	91	98	$0.09 < (OR_{IIIa} = \mathbf{0.21}) < 0.50$
фактор а (E-)	40	111	151	
( $\Sigma_2$ )	47	202	249	
фактор б (E+)	19	49	68	$1.09 < (OR_{IIIb} = \mathbf{2.12}) < 4.12$
фактор б (E-)	28	153	181	
( $\Sigma_2$ )	47	202	249	
фактор с (E+)	1	59	60	$0.05 < (OR_{IIIc} = \mathbf{0.00}) < 0.74$
фактор с (E-)	46	143	189	
( $\Sigma_2$ )	47	202	249	
фактор д (E+)	15	62	77	$0.12 < (OR_{III d} = \mathbf{1.06}) < 0.53$
фактор д (E-)	32	140	172	
( $\Sigma_2$ )	47	202	249	
фактор е (E+)	17	57	74	$0.74 < (OR_{IIIe} = \mathbf{1.44}) < 2.82$
фактор е (E-)	30	145	175	
( $\Sigma_2$ )	47	202	249	

У господарстві III «піретичної/гіперпіретичної» форми БС, як і циркуляції вірусу ХА, не було зареєстровано – лише підгострі форми БС з фебрильною гарячкою у продромальний період захворювання.

Аналіз даних, узагальнених у таблиці 4, дає підстави вважати, що з досліджених чинників впливу на клініч-

но-епізootичну форму перебігу БС у господарстві III була ефективна вакцинація проти БС і ЦВІС ( $OR_{IIIc} = 0.00$ ). Вона дозволила виявити серед досліджених ключовий та допоміжні фактори загрози поширення БС за поточної епізootичної ситуації у цьому господарстві: відповідно, загальний гноезбірник для кількох технологічних груп свиней

**Таблиця 5.** Результати перехресно-факторного аналізу факторів прояву БС у свиного господарстві IV Харківської області на загальній вибірці поголів'я 224 свині основного стада та відгодівельної групи (3-4 страти по кожному фактору)

Статус свиней господарства IV				Індекс непарного співвідношення $OR_{IV}$ (для $0.01 < P < 0.05$ )
експериментальний	клінічний			
	(D+)	(D-)	( $\Sigma$ 1)	
фактор а (E+)	7	55	62	$0.22 < (OR_{IVa} = \mathbf{0.54}) < 1.29$
фактор а (E-)	31	131	162	
( $\Sigma_2$ )	38	186	224	
фактор б (E+)	11	28	39	$1.02 < (OR_{IVb} = \mathbf{2.30}) < 5.16$
фактор б (E-)	27	158	185	
( $\Sigma_2$ )	38	186	224	
фактор с (E+)	0	44	44	$0.00 < (OR_{IVc} = \mathbf{0.00}) < \dots$
фактор с (E-)	38	142	180	
( $\Sigma_2$ )	38	186	224	
фактор д (E+)	31	133	164	$0.73 < (OR_{IVd} = \mathbf{1.76}) < 4.25$
фактор д (E-)	7	53	60	
( $\Sigma_2$ )	38	186	224	
фактор е (E+)	25	105	130	$0.71 < (OR_{IVe} = \mathbf{1.48}) < 3.08$
фактор е (E-)	13	81	94	
( $\Sigma_2$ )	38	186	224	

(ORIIIb=2.12) та вірусоносійство збудника ЦВІС в обстежуваній групі свиней стада (ORIIIe=1.44) разом з фактором частоти перемішування поросят у гніздах у підсисний період (ORIIIId=1.06).

В господарстві IV як і у господарстві III «піретичної / гіперпіретичної» форми БС та циркуляції вірусу ХА не було зареєстровано – лише підгострі форми БС з фебрильною гарячкою у продромальний період захворювання. Узагальнені у таблиці 5 аналітичні дані по господарству IV (контрольному по відношенню до господарств I і II, де крім БС і ЦВІС ще реєструвалася циркуляція і збудника ХА) дають можливість побачити якісну і кількісну різницю/подібність до комплексу досліджуваних факторів ризику інших господарств.

Як і в господарстві III, серед досліджених чинників впливу на клінічно-епізоотичну форму перебігу БС у господарстві IV ключовими факторами ризику поширення були фекальні забруднення у свинарнику через загальний гноєзбірник для кількох технологічних груп свиней (ORIVb=2.30), а додатковими - та вірусоносійство збудника ЦВІС в обстежуваній групі свиней стада (ORIVe=1.48) разом з фактором частоти перемішування поросят у гніздах у підсисний період (ORIVd=1.48). Щеплення проти БС та ЦВІС дало позитивний ефект щодо запобігання клінічному прояву БС у господарстві IV, проте воно не зупинило субклінічну циркуляцію збудника ЦВІС в стаді. Про це свідчить величина індексу ORIVe=1.48, згадана вище. Щодо цієї особливості вакцинації проти БС, ХА та ЦВІС

у осередках їх асоційованих інфекцій, то аналітичні дані по всім свиногосподарствам (таблиці 3-6) підтверджують думку про те що вакцинація не запобігає циркуляції збудників БС, ХА та ЦВІС у щепленому стаді і у найкращому випадку захищає стадо від клінічного прояву цих хвороб.

#### Висновки

1. У дослідах за виробничих умов встановлено, що збудники хвороби Ауескі, цирковірусної інфекції та бешихи свиней не конкурують між собою *in vivo*, а застосовані засоби і схеми вакцинопрофілактики не захищають щеплене свиноголові'я від циркуляції на ньому зазначених збудників (1,44 <OR< 5,80; n= 969 у 4-х господарствах, 0.01< P <0.03).

2. Субклінічна циркуляція в стаді промислового свиноголові'я збудників ХА та ЦВІС сприяє загостренню епізоотичної ситуації щодо бешихи свиней, а одночасна присутність в стаді всіх трьох збудників є відповідальною за клінічний перебіг бешихи у важкій «піретичній/гіперпіретичній» формі (3,94<OR< 5,80; n= 496 у 2-х господарствах, 0.01< P <0.03).

3. Додатковими факторами впливу на клінічно-епізоотичний перебіг бешихи свиней в промисловому свинарстві мають частота перемішування поросят у гніздах у підсисний період та фекальні забруднення у свинарнику через загальний для кількох технологічних груп свиней гноєзбірник (1,06<OR< 2,30; n= 473 у 2-х господарствах, 0.01< P <0.03).

#### ЛІТЕРАТУРА

- Бузун А.І. Вивчити фактори хазяїн-специфічної взаємодії та особливості експресії протективних антигенів збудників герпес-, рабдо- та пікорнавірусної інфекції свиней [Текст] // А.І. Бузун, О.В. Кольчик, О.В. Прохорятова, М.Ю. Стегній, О.В. Заремба та ін.// Звіт заключний про НДР за завданням НААН України 32.01.1-05, № державної реєстрації 0111U000789, 90 с.;
- Вірус РРСС – триггер для клінічної маніфестації бешихи свиней (<http://ww-w.thepigsite.com/pighealth/article/325/erysipelas/>)
- Гулай О.В. Роль нижчих ракоподібних *Daphnia magna* в існуванні патогенних бактерій *Erysipelothrix rhusiopathiae*. // Вісник аграрної науки.– 2015.– №12.– с. 34-37.
- Патент США CA2635598A1 / [автори Michael Roof, Phillip Hayes, Marc Eichmeyer, Greg Nitzel], власник - фірма Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc. (<http://www.google.com/patents/US20080226669>);
- Quinn, J. P., Carter, E. M., Markey, K. B., Carter, R. G., *Clinical Veterinary Microbiology*, Published: Mosby-Year Book Europe Limited, 1998
- Risk factors for porcine post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in 149 French farrow-to-finish herds. / N. Rose, G. Larour, G. Le Diguierher, E. Eveno, J.P. Jolly, P. Blanchard, A. Oger, M. Le Dimna, A. Jestin, F. Madec // *Preventive Veterinary Medicine* Vol.61, Issue 3.– P. 209-225
- Statistics in Epidemiology: Methods, Techniques and Applications* / [Sahai H., [Khurshid A.]– <https://books.google.com.ua/books?isbn=0849394449>.
- Wood R.L. *Erysipelas in Diseases of Swine* (8th edition) / Chapter 31.– 2017.– ([https://en.wikisource.org/wiki/Diseases\\_of\\_Swine\\_\(8th\\_edition\)/Chapter\\_31](https://en.wikisource.org/wiki/Diseases_of_Swine_(8th_edition)/Chapter_31)).

**ВИРУСОНОСИТЕЛЬСТВО, КАК ФАКТОР СОДЕЙСТВИЯ КЛИНИЧЕСКИМ  
ПРОЯВЛЕНИЯМ РОЖИ СВИНЕЙ В ПРОМЫШЛЕННОМ СВИНОВОДСТВЕ**

И.В. Коровин<sup>1</sup>, А.И. Бузун<sup>2</sup>, Б.Т. Стегний<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Национальный научный центр «Институт экспериментальной и Клинической ветеринарной медицины», г. Харьков

<sup>2</sup>ТОВ «НДП Ветеринарные биотехнологии»

Среди репродуктивно-неонатальных инфекций (РНИС) в свиноводстве Украины особое место занимают микст инфекции болезни Ауески (БА), цирковирусной инфекции (ЦВИС) и рожи свиней (БС). Цель исследований - определить влияние субклинического носительства возбудителей БА и ЦВИС на ход БС в промышленном свиноводстве.

В 4-х свиногосподарствах Сумской и Харьковской областей традиционными полевыми и лабораторными методами было установлено субклиническую циркуляцию возбудителей БС-ХА-ЦВИС и БС-ЦВИС микст инфекций. Факторный эпизоотологический анализ с использованием пакета программ EpiInfo 7 (<https://www.cdc.gov/epiinfo/index.html>) обнаружил тесную корреляцию уровня клинического проявления тяжелой формы рожи свиней из Вирусоносительство возбудителей ХА-ЦВИС (1,44 <OR <5, 80; n = 969 в 4х хозяйствах, 0.01 <P <0.03) дополнительными факторами клинического проявления и активизации эпизоотического процесса БС был ряд технологических факторов, которые следует учитывать в программах оздоровления промышленного свиноголовья и пищевой цепи человека.

Синергизм возбудителей БС, ХА и ЦВИС in vivo усложняет клинически эпизоотологический течение рожи и может играть ключевую роль в эпизоотологии этой болезни в ее стационарных ячейках в промышленном свиноводстве.

**Ключевые слова:** рожа, болезнь Ауески, цирковирусная инфекция свиней, субклиническое вирусоносительство, осложнения течения рожи

**HIDE HARBORING OF VIRUSES AS TRIGGER OF SWINE ERYSIPELAS  
CLINICAL MANIFESTATION IN SWINE INDUSTRY**

I.V. Korovin<sup>1</sup>, A.I. Buzun<sup>2</sup>, B.T. Stegnyy<sup>2</sup>

<sup>1</sup>National Scientific Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkiv

<sup>2</sup>LLC «Scientific Experimental Enterprise for Veterinary Biotechnology»

The concurrent infection of Swine Erysipelas (SE) with Pseudorabies (PR) and Porcine Circoviral Infections (PCV) have significant place in porcine pathology of low-cost piggeries in Ukraine. Purpose of investigations is study of its agent's interrelationships as clue event in formation of SE-PR-PCV mixt-infection in swine industry. Methods and Results:- Trials conducted in 8 porcine holdings at Kharkiv and Sumy Regions in 2014-2017 where the PR-SE and SE-PR-PCV mixt-infections were diagnosed by skin-tests with verification by traditional bacteriologic and serologic methods. By Evans' county approaches with using PC packet EpiInfo 7 (<https://www.cdc.gov/epiinfo/index.html>) were reveal the close correlation of hard forms of SE-clinical manifestation in swine industry with hide virus-harboring of PR & PCV agents (1.44 < OR < 5,80; n= 969 in 4 holdings, 0.01 < P < 0.03) .Conclusion: SE, PR and PCV agents are interrelationship in vivo with consequence in SE epidemic process exaltation in swine industry.

**Key words:** Swine erysipelas, Pseudorabies, Porcine Circoviral Infections , infection exaltation

УДК 616.981.21/.988.7-036.22:578.4](100)

Т. И. Самойлова

## СОСТОЯНИЕ СИТУАЦИИ ПО РАСПРОСТРАНЕНИЮ ВИРУСА ЗИКА В МИРЕ НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии», г. Минск, Беларусь

Вирус Зика (ВЗ) относится к роду *Flavivirus* семейства *Flaviviridae*, представляет собой одноцепочечную РНК, покрытую белковой оболочкой. Передается человеку через укусы кровососущих комаров, в основном рода *Aedes*. Впервые выявленный в 1947 г. в Уганде, ВЗ считался слабопатогенным, вызывая лишь с незначительное повышение температуры, сыпь и артралгию примерно у 20% заболевших. Впервые инфекцию, вызванную ВЗ, связали с синдромом Гийена-Барре, проявляющимся вялыми парезами, нарушениями чувствительности и вегетативными расстройствами, в 2014 г. во время вспышки во Французской Полинезии. А с 2015 г. возбудитель был занесен с островов Тихого океана в Бразилию и быстро распространился по всей Америке, впервые став причиной массового инфекционного заболевания, связанного с увеличением числа случаев микроцефалии и других нарушений центральной нервной системы у новорожденных. В этой связи Всемирная организация здравоохранения объявила инфекцию, вызванную ВЗ, как чрезвычайную, имеющую международное значение для общественного здравоохранения. Лабораторная диагностика заболевания основывается на использовании вирусологических методов для выделения вируса из биологического материала, серологических и молекулярно-генетических для обнаружения в нем маркеров вируса. На сегодняшний день противовирусное лечение и вакцина против инфекции отсутствуют. Основными профилактическими мероприятиями против заболевания является борьба с кровососущими комарами. Хотя вызываемая ВЗ инфекция считается относительно легким заболеванием для населения в целом, но связанные с ним тяжелые нарушения развития плода указывают на необходимость снижения риска инфицирования, особенно для женщин детородного возраста во время беременности.

В обзоре представлены основные известные в настоящее время сведения о ВЗ, включая молекулярное строение, пути передачи, экологию и эпидемиологию, особенности вызываемой им инфекции, лабораторную диагностику и

профилактику, а также дается прогноз в отношении инфекции, вызываемой ВЗ, для Республики Беларусь.

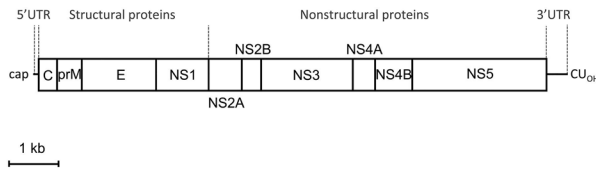
**Ключевые слова:** вирус Зика, инфекция, лихорадка Зика, экология, эпидемиология, диагностика, профилактика.

С начала 21 века почти ежегодно в мире происходят крупные вспышки опасных вирусных возвращающихся и вновь возникающих инфекций. Среди них такие как вирусы гриппа птиц А(Н7N9), Денге, Чикунгунья, Западного Нила, Эбола, коронавирусы атипичной пневмонии (SARS) и ближневосточного респираторного синдрома (MERS-CoV), и последний, вызвавший масштабную вспышку инфекции в 2015-2016 гг. – вирус Зика (ВЗ; англ. Zika virus, ZIKV).

В данном обзоре представлены основные известные в настоящее время сведения о ВЗ, включая молекулярное строение, пути передачи, экологию и эпидемиологию, особенности вызываемой им инфекции, лабораторную диагностику и профилактику. С этой целью использовались доступные источники информации с сайтов ВОЗ, Европейского центра контроля и профилактики болезней (ECDC), Панамериканской организации здравоохранения (ПАНО), Центров контроля болезней США (CDC), Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия населения (Роспотребнадзор), профессиональной базы данных научной информации Национальной медицинской библиотеки и Национального института здравоохранения США (PubMed) и др.

Геномная организация и филогенетика вируса Зика. Вирус Зика – это арбовирус, передаваемый комарами, по классификации относится к роду *Flavivirus* семейства *Flaviviridae*. К флавивирусам, представляющим собой РНК-вирусы, покрытые белковой оболочкой, относятся также такие важные для человека и животных патогены, как вирус желтой лихорадки (YFV), вирус денге (DENV), вирус Западного Нила (WNV), вирус энцефалита Сент-Луиса (SLEV), вирус японского энцефалита (JEV) и вирус клещевого энцефалита (TBEV) [25].





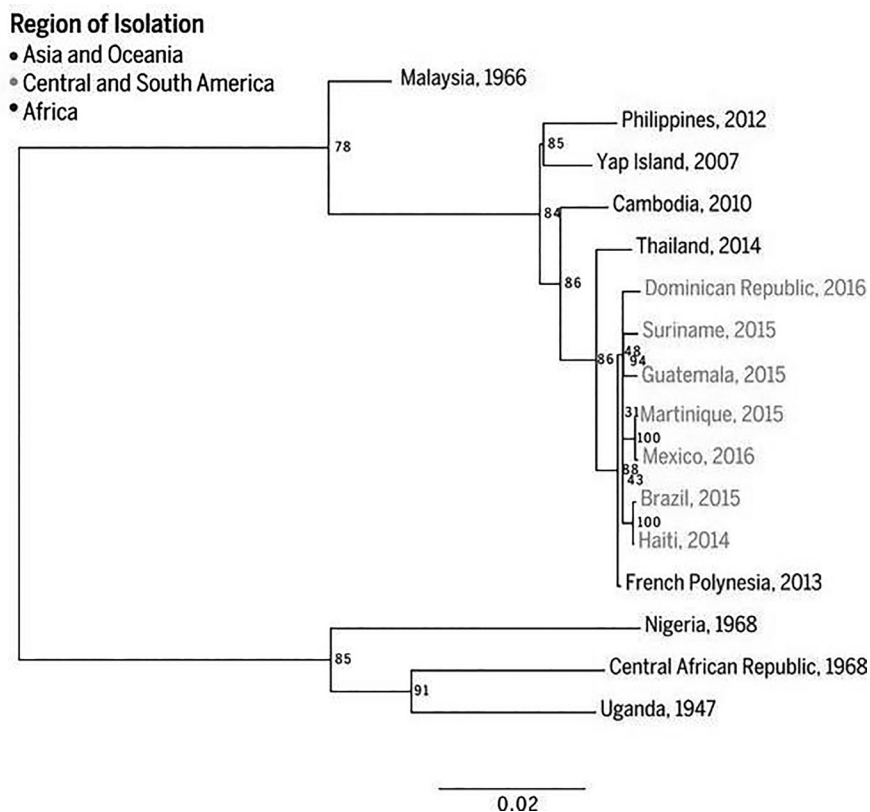
**Рисунок 1.** Схематичное строение РНК-генома вируса Зика [53]

Геном флавивирусов состоит из односпиральной молекулы РНК с положительной полярностью. Геном ВЗ длиной в 10794 пар нуклеотидов состоит из короткого 5'-некодирующего региона, одной длинной открытой рамки считывания (ОРС) и 3'-некодирующего региона. ОРС из 3400 аминокислот кодирует три структурных белка в 5'-конце, которые составляют частицы вириона – капсид (С), пре-мембранный (prM) и оболочечный (Е) белки, с последующими семью неструктурными (NS) белками (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5) в 3'-конце, необходимых для репликации вируса и иммунного уклонения (рисунок 1) [30, 53].

Анализ известных полногеномных последовательностей ВЗ показал, что вирус эволюционировал от общего предшественника в Восточной Африке до трех различных генетических линий из: Азии и Океании, Центральной и

Южной Америки и Африки (рисунок 2) [9]. Случаи инфекции, вызванной ВЗ, в Бразилии и Америке, наиболее тесно связаны с изолятом 2013 г., полученным из Французской Полинезии, который относится к азиатской линии [9, 23, 32, 33].

Общая характеристика инфекции, вызываемой вирусом Зика. Инфекция, вызываемая ВЗ, или лихорадка Зика (ЛЗ), до 2007 г. не привлекала особого внимания у общественного здравоохранения. Она протекала лишь с незначительным повышением температуры, сыпью и артралгией примерно у 20% заболевших, а у 80% инфицированных – бессимптомно [19]. Но начиная с 2007 г. ВЗ вызвал крупные вспышки на островах Тихого океана (на острове Яп в 2007 г. и во Французской Полинезии в 2012-14 гг.), а в 2015-16 гг. крупные вспышки были зарегистрированы в Центральной и Южной Америке (особенно в Бразилии). В связи со стремительным эпидемическим распространением ЛЗ и особенно, с выявлением в Бразилии аномального кластера случаев микроцефалии и других неврологических расстройств, Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) 01.02.2016 объявила ситуацию чрезвычайной в области общественного здравоохранения и имеющую международное значение (ЧСЗМЗ) [5]. Усиленные научные исследования позволили выявить общепринятую к насто-



**Рисунок 2.** Филогенетическая связь между штаммами вируса Зика, изолированными в мире [9]

ящему времени причинную связь между ВЗ и значительным увеличением неврологических нарушений. Поэтому назрела потребность в создании полноценного и более долгосрочного механизма по принятию мер реагирования на глобальном уровне. В этой связи 18.11.2016 Комитет по чрезвычайной ситуации ВОЗ объявил, что ВЗ и связанные с ним последствия остаются значительной и долгосрочной проблемой общественного здравоохранения, требующей активных действий, однако более не представляют собой ЧСМЗ согласно Международными медико-санитарными правилами (2005 г.) [3].

Инкубационный период вызываемой ВЗ инфекции варьирует от 3,5 до 6-10 дней. Характерные симптомы инфекции: невысокая температура от 4 до 7 дней, сопровождающаяся сыпью, артралгией, миалгией и негнойным конъюнктивитом. Необходимо иметь в виду, что симптомы инфекции, вызванной ВЗ, схожи с симптомами других арбовирусных заболеваний, в частности с лихорадкой Денге, поэтому для подтверждения диагноза необходимым является лабораторное тестирование [33, 13, 16, 41].

Впервые инфекцию, вызванную ВЗ, связали с синдромом Гийена-Барре (СГБ) в 2014 г. во время вспышки во Французской Полинезии [49]. При СГБ иммунная система человека поражает часть периферической нервной системы, что проявляется вялыми парезами, нарушениями чувствительности, вегетативными расстройствами. Исследования случаев заболеваний во Французской Полинезии и последние наблюдения подтверждают роль инфицирования ВЗ в качестве предшествующего СГБ заболевания [27]. На основе научных исследований было подтверждено, что ВЗ является причиной микроцефалии и других врожденных пороков развития центральной нервной системы [10, 45, 46].

Инфекцию, вызванную ВЗ, можно подтвердить прямым обнаружением РНК ВЗ или специфических вирусных антигенов в клинических образцах. Специфические к вирусу антитела обычно обнаруживаются на 4-5 день инфицирования.

На сегодняшний день конкретное противовирусное лечение и вакцина против инфекции отсутствуют. Несмотря на то, что вызываемая ВЗ инфекция считается относительно легким заболеванием для населения в целом, но связанные с ним тяжелые нарушения развития плода указывает на необходимость снижения риска инфицирования, особенно для женщин детородного возраста во время беременности.

Экологические особенности циркуляции вируса Зика. В биотопах влажных тропических лесов Восточной Африки, где впервые был обнаружен вирус, в его энзоотический цикл вовлечены виды низших приматов и комары рода *Aedes* spp. В регионах Юго-Восточной Азии на основе серологических исследований ВЗ был обнаружен среди других видов млекопитающих – орангутангов, зебр, слонов, буйволов и грызунов [28]. Но, как правило, резервуары вируса – обезьяны и люди.

Инфекция, вызываемая ВЗ, передается людям в основном комарами рода *Aedes* spp., особенно видом *Ae. aegypti*. По литературным данным, вирус был выделен еще из нескольких других видов комаров этого рода: *Ae. africanus*, *Ae. apicoargenteus*, *Ae. dalzielii*, *Ae. flavicollis*, *Ae. fowleri*, *Ae. furcifer*, *Ae. grahamsi*, *Ae. hensilli*, *Ae. jamoti*, *Ae. luteocephalus*, *Ae. metallicus*, *Ae. minutus*, *Ae. neoafricanus*, *Ae. opok*, *Ae. taeniarostris*, *Ae. tarsalis*, *Ae. taylori*, *Ae. vitattus* [28, 37, 53]. Кроме того, в Сенегале ВЗ был обнаружен в комарах *Mansonia. uniformis*, *Culex perfuscus* и *Anopheles coustani* [28, 37, 53].

Специалисты не исключают вероятность того, что вирус может адаптироваться и к *Ae. albopictus*, которые распространены в США гораздо больше, нежели остальные виды. Также комар вида *Ae. albopictus* выявлен в большинстве мест побережья вокруг Средиземного моря [39]. Однако способность этого вида передавать ВЗ еще окончательно не определена для европейских популяций комаров [7, 50].

Риск автохтонной передачи ВЗ в Европейском регионе. Риск локальной трансмиссивной передачи вируса в Европе варьирует в зависимости от географических местных факторов. Основной вектор передачи ВЗ человека комар вида *Ae. aegypti* в первой половине 20-го века sporadически обнаруживался на побережье Средиземного моря, но исчез из этого региона после Второй мировой войны [39]. С тех пор повторно он был выявлен в Мадейре [6], южных регионах России и в Грузии [1, 2].

Для Европы риск автохтонной передачи ВЗ в зимний период крайне низок, поскольку климатические условия для активности *Ae. albopictus* неподходящие. А в течение летнего сезона автохтонная передача в европейском регионе возможна в районах, где обитает *Ae. albopictus*, в случае заноса вируса из пораженных стран [20].

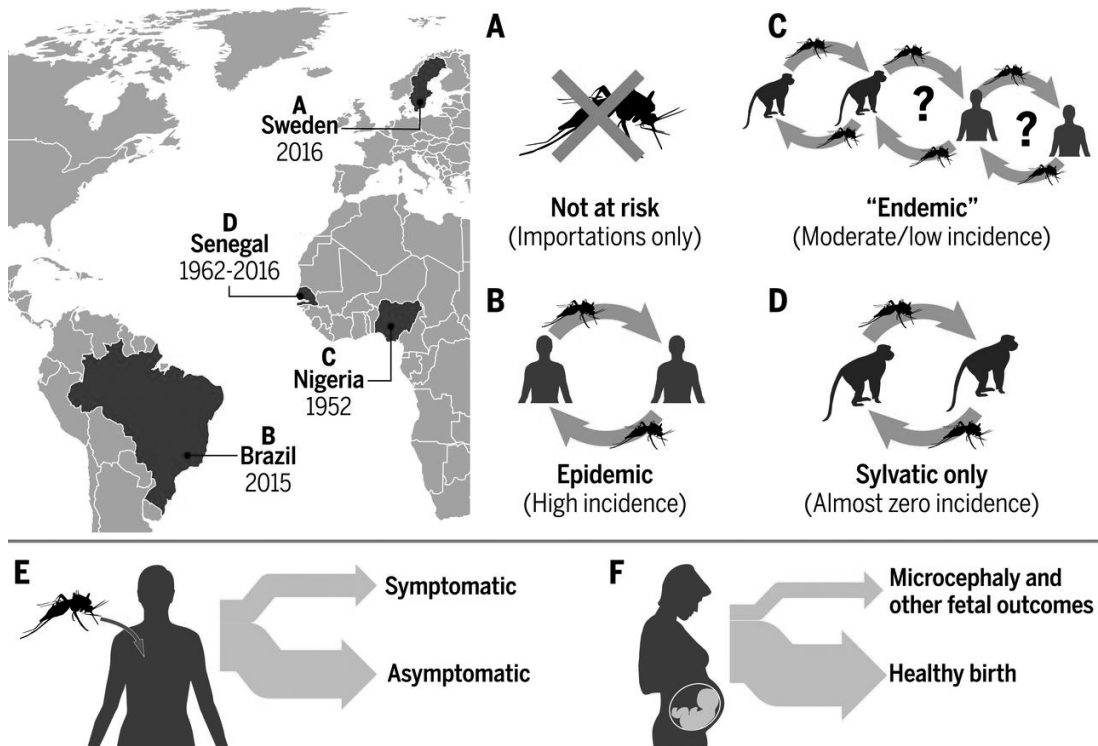
Распространению инфекции, вызванной ВЗ, из эндемичных стран на континентальную Европу могут способствовать несколько факторов: иммунологически наивное население, часто бессимптомное протекание инфекции,

наличие компетентного вектора, увеличение подходящих климатических условий и высокая мобильность населения. Данные о транспортировке зараженных ВЗ комаров самолетом, подобно малярии, пока отсутствуют [26]. Риск заноса зараженных комаров или передача арбовирусных инфекций внутри салона самолета низка. ВОЗ опубликовала конкретные рекомендации по дезинфекции самолетов [29].

Кроме трансмиссивного пути передачи имеются сведения о других путях: половом [21, 33, 40, 42], контактном, вертикальном [46], гемоконтактном [22, 24, 31, 32, 36, 48], а у пациентов с иммунодефицитами выявлена аспирационная передача вируса [35].

На рисунке 3 представлена информация о воздействии вируса Зика в зависимости от особенностей локальной трансмиссии и патогенеза.

**Эпидемиологические особенности распространения вируса Зика в мире.** Впервые вирус был обнаружен в крови у макак-резус в лесу Зика в районе оз. Виктория в Уганде в 1947 г. в рамках проведения мониторинга за лесной формой желтой лихорадки [18]. Через год в этом же районе вирус был изолирован из комаров вида *Ae. africanus* [28]. На основании серологических исследований, проведенных в той же Уганде, были получены первые доказательства инфицирования человека [17]. Позднее, в ходе серологических и энтомологических исследований, вирус был обнаружен (включая спорадические случаи инфицирования человека) на территории всей Африки (в Нигерии в 1952, 1971 гг., Сьерра-Леоне в 1972 г., Центрально-Африканской Республике в 1979 г., Сенегале в 1988-91 гг., Кот д'Ивуаре в 1999 г.), в некоторых частях Центральной, Юго-Восточной Азии и Тихоокеанском регионе (в Малайзии в 1969 г., Па-



(A) Во многих странах не может поддерживаться постоянная трансмиссивная передача ВЗ и существует лишь риск передачи от завозных случаев с ограниченной последующей передачей (например, половым путем). (B) Если условия являются подходящими, занос вируса может привести к эпидемиям с высокой заболеваемостью среди различных возрастных групп, после чего вирус может локально исчезнуть или стать эндемичным. (C) Имеются данные о текущей заболеваемости инфекцией, вызванной ВЗ, у людей в течение многих лет (например, серологическое исследование в Нигерии в 1952 г.), но неизвестно, является ли это результатом продолжающейся циркуляции среди людей или частых побочных инфекций в сylvaticком цикле. (D) В других регионах ВЗ, вероятно, распространяется среди животных с небольшим числом случаев инфекции среди людей. (E) Большинство случаев инфекции являются бессимптомными, и тяжелые последствия, такие как синдром Гийена-Барре, редки. (F) Существует значительный риск возникновения микроцефалии и других осложнений плода, когда инфицирование происходит во время беременности.

**Рисунок 3. Особенности распространения ВЗ в регионах мира (A-D) и вирусного патогенеза (E, F) [9]**

кистане в 1983 г., Камбодже в 2010 г., Таиланде в 2013 г., Индонезии в 1981, 2013 гг.) [28]. Первая крупная вспышка инфекции, вызванной ВЗ, была зарегистрирована в Микронезии на острове Яп в 2007 г., во время которой было инфицировано более 73% от общей численности населения [51]. Затем миграция вируса продолжилась на восток: в 2012-14 гг. его обнаружили во Французской Полинезии, в 2014 г. – на острове Пасхи (Чили) [8], в 2015 г. – в Бразилии, где было зарегистрировано до 1,5 млн. случаев инфицирования [11, 44].

В настоящее время в целом оценка глобального риска не изменилась. ВЗ продолжает географически распространяться в районы, где присутствуют компетентные векторы. Несмотря на то, что в некоторых странах или в некоторых частях страны отмечается снижение случаев заражения ВЗ, бдительность должна оставаться высокой.

Изучение эпидемиологических особенностей распространения ВЗ на определенных территориях в определенный промежуток времени необходимо для оценки возможности заражения ВЗ различных групп населения и адаптации рекомендаций общественного здравоохранения для населения и туристов. В этой связи в марте 2017 г. ВОЗ, CDC и ECDC совместно разработали схему классификации стран и территорий, пораженных ВЗ, по 4-м основным категориям. Классификация служит для отнесения страны на основе определенных критериев и экспертной оценки к категории по наличию и потенциалу трансмиссивной передачи ВЗ и для информирования общественного здравоохранения по выработке рекомендаций [14, 43].

Информация об интенсивности передачи ВЗ полезна для профессионалов общественного здравоохранения для оценки уровня риска для людей, которые могут планировать поездку или недавно возвратились из регионов с возможной локальной циркуляцией ВЗ. Информация обновляется каждый раз, когда новая страна сообщает о местной трансмиссивной передаче ВЗ.

На рисунке 4 представлены данные глобального распространения вируса, а в таблице представлены эти данные с более подробной информацией по регионам и странам, отнесенным к группе риска по ВЗ по состоянию на 21.08.2017 [12].

В ходе исследований, проведенных в 16 странах с локальной трансмиссией ВЗ в Северной и Южной Америке, были проанализированы 3 основных показателя: 1) смоделированное появление первичного вектора для ВЗ – *Ae. aegypti*; 2) расчет численности населения и 3) зарегистри-

рованные исторически случаи лихорадки денге на территориях, расположенных на высоте над уровнем моря между 1500 и 2500 м. Полученные результаты свидетельствуют о низком потенциале трансмиссивной передачи ВЗ в регионах, расположенных выше 2000 м в Северной и Южной Америке. Хотя этот показатель является грубым предиктором экологической пригодности для передачи ВЗ, но его постоянство является практическим вкладом в принятие

**Таблица.** Страны с группой риска по распространению вируса Зика по состоянию на 21.08.2017 [12].

Регион	Страны
<b>Азия:</b>	Бангладеш, Бирма (Мьянма), Камбоджа, Индия, Индонезия, Лаос, Малайзия, Мальдивские Острова, Пакистан, Филиппины, Сингапур, Таиланд, Тимор-Лешти (Восточный Тимор), Вьетнам
<b>Острова Тихого океана:</b>	Фиджи, Маршалловы Острова, Микронезия, Палау, Папуа-Новая Гвинея, Самоа, Соломоновы Острова, Тонга
<b>Карибский бассейн:</b>	Ангилья, Антигуа и Барбуда, Аруба, Багамские острова, Барбадос, Бонайре; Британские Виргинские острова, Куба, Кюрасао, Доминика, Доминиканская Республика, Гренада, Гаити, Ямайка, Монтсеррат, Содружество Пуэрто-Рико, территории США, Саба, Сент-Китс и Невис, Сент-Люсия, Сен-Мартен, Сент-Винсент и Гренадины, Синт-Эстатиус, Синт-Маартен, Тринидад и Тобаго, Острова Теркс и Кайкос; Виргинские острова США
<b>Центральная Америка:</b>	Белиз, Коста-Рика, Сальвадор, Гватемала, Гондурас, Никарагуа, Панама
<b>Южная Америка:</b>	Аргентина, Боливия, Бразилия, Колумбия, Эквадор, Французская Гвиана, Гайана, Парагвай, Перу, Суринам, Венесуэла
<b>Африка:</b>	Ангола, Бенин, Буркина-Фасо, Бурунди, Камерун, Кабо-Верде, Центральноафриканская Республика, Чад, Конго (Конго-Браззавиль) Кот-д'Ивуар, Демократическая Республика Конго (Конго-Киншаса), Экваториальная Гвинея, Габон, Гамбия, Гана, Гвинея, Гвинея-Бисау, Кения, Либерия, Мали, Нигер, Нигерия, Руанда, Сенегал, Сьерра-Леоне, Южный Судан, Судан, Танзания, Того, Уганда

политических решений во время чрезвычайной ситуации в области общественного здравоохранения, связанной с данной инфекцией [12, 15].

Массовое распространение ВЗ, как и других тропических инфекций, в Республике Беларусь в настоящее время маловероятно, ввиду отсутствия специфических переносчиков. Однако случаи завоза вируса Зика из эндемичных стран исключить нельзя, что обуславливает необходимость принятия превентивных мер, в том числе наличие современных методов для своевременного и эффективного выявления возбудителей тропических инфекций в пробах от пациентов.

Лабораторная диагностика инфекции, вызванной вирусом Зика. Лабораторная диагностика инфекции аналогична диагностике других флавивирусных инфекций и основана на использовании вирусологических методов для выделения вируса из биологического материала, серологических и молекулярно-генетических для обнаружения в нем маркеров ВЗ.

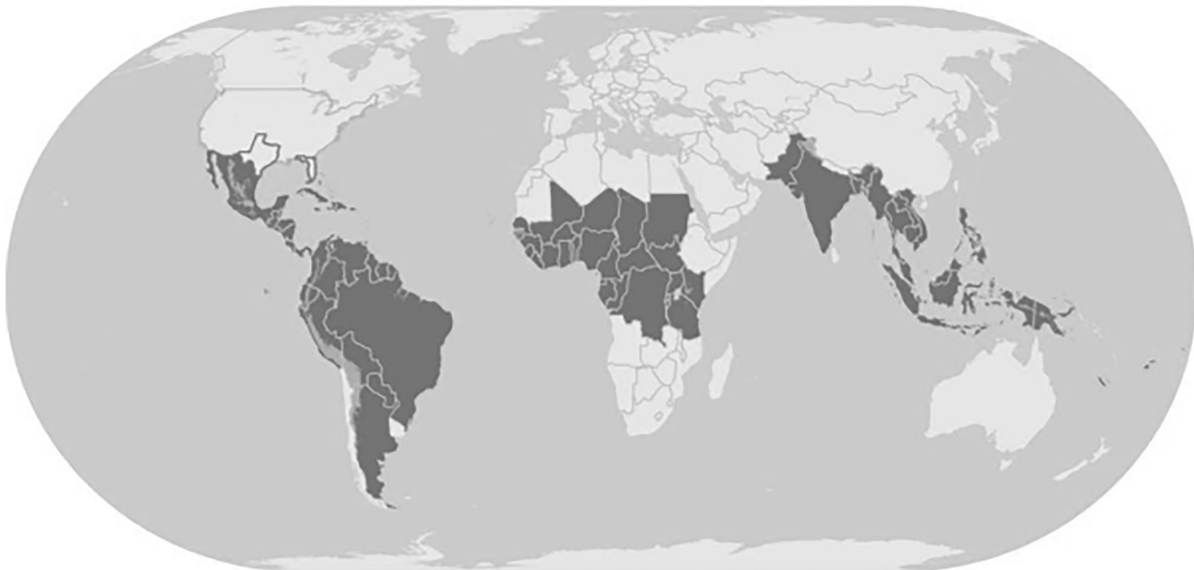
Поскольку симптомы заболевания схожи с инфекци-

ями, вызываемыми вирусами Денге и чикунгунья, тестирование следует проводить на все три арбовирусные инфекции.

В целях обеспечения глобальной стандартизации для классификации и отчетности в отношении случаев инфицирования вирусом Зика ВОЗ разработала предварительные определения случая заболевания. В настоящее время разрабатывается руководство ВОЗ по эпиднадзору за этим заболеванием. По мере поступления новой информации ВОЗ будет периодически пересматривать и корректировать эти предварительные определения случая заболевания [4, 47].

Предполагаемый случай заболевания – наличие у человека сыпи и/или повышенной температуры и, как минимум, одного из следующих признаков или симптомов: боль в суставах; или конъюнктивит (негнойный/с гиперемией).

Возможный случай заболевания – предполагаемый случай заболевания с присутствием антител IgM к ВЗ при отсутствии данных об инфицировании другими флавиви-



**Международные регионы и территории США**

- Регионы с риском заражения инфекцией Зика (ниже 6500 футов над уровнем моря, или  $\leq 2000$  м)\*
- Регионы с низкой вероятностью заражения инфекцией Зика (выше 6500 футов над уровнем моря, или  $\geq 2000$  м)\*
- Регионы с неизвестными зонами заражения инфекцией Зика

**Регионы США**

- Осуществляется государственная регистрация случаев инфекции Зика
- Об инфекции Зика неизвестно

\*Комары, которые могут распространять ВЗ, обычно живут в местах ниже 6500 футов над уровнем моря. Шансы заразиться инфекцией Зика от комаров, обитающих выше этой высоты, очень низки.

**Рисунок 4.** – Регионы мира с риском распространения вируса Зика [12].

русами и наличием эпидемиологической связи, т.е. контакте с лицом, заболевание которого подтверждено, или проживание в районе с местной передачей ВЗ, или поездка в такой район максимум за две недели до наступления симптомов.

Подтвержденный случай заболевания – лабораторно подтвержденный случай присутствием РНК или антигена ВЗ в сыворотке крови или других образцах (слюны, тканей, мочи, цельной крови и др.); или положительной реакцией на антитела IgM к ВЗ и титром PRNT90 на ВЗ  $\geq 20$  (коэффициент титра PRNT90 на ВЗ по отношению к другим флавивирусам  $\geq 4$ ); и исключением других флавивирусов.

Заражение ВЗ можно предположить с учетом наличия симптомов и недавних поездок в район активной передачи ВЗ, либо проживания в таком районе. Диагноз инфекции, вызванной вирусом Зика можно подтвердить только путем лабораторного исследования крови или других биологических жидкостей, таких как моча, слюна или сперма.

Профилактика. Основными профилактическими мероприятиями против ЛЗ является борьба с переносчиками – кровососущими комарами, особенно в местах проживания. Важно накрывать, опорожнять или очищать потенциальные места размножения комаров внутри и вокруг жилья, например, ведра, бочки, горшки, сточные канавы и использованные автомобильные покрышки. Органы здравоохранения могут также давать указания по распылению инсектицидов [12, 34].

Для защиты от укусов комаров можно носить одежду (желательно светлых тонов), закрывающую как можно большую часть тела, применять физические барьеры, например, устанавливать сетки на окна, закрывать двери и окна, использовать противомоскитную сетку во время сна и применять репелленты согласно инструкции производителя на этикетке. Необходимо уделять особое внимание и оказывать помощь тем, кто не в состоянии обеспечить себе надлежащую защиту, в частности детям, больным и пожилым людям. Туристам и жителям пострадавших рай-

онов следует защищаться от укусов комаров, принимая указанные выше простейшие меры предосторожности.

Поскольку в нескольких странах выявлены случаи передачи ВЗ половым путем, ВОЗ разработала и регулярно обновляет временное руководство по профилактике передачи ВЗ половым путем [38].

**Заключение.** Таким образом, распространение инфекции, вызываемой ВЗ, в Республике Беларусь в настоящее время маловероятно в связи с отсутствием на территории страны компетентных переносчиков. Однако, учитывая возможность завоза случаев из эндемичных стран, в рамках реализации санитарной охраны территории страны и эпидемиологического надзора за опасными инфекциями необходимо постоянно отслеживать эпидемиологическую ситуацию по ЛЗ в мире, осуществлять регламентированные превентивные меры по недопущению завоза опасных инфекций в страну.

Кроме того, высокой должна быть готовность лабораторной службы своевременно и эффективно выявлять возбудителей тропических лихорадок в пробах от пациентов с применением современных методов исследований.

В РНПЦ эпидемиологии и микробиологии (Минск, Республика Беларусь) в настоящее время имеются необходимые комплектующие реагенты и разработана технология для проведения диагностики ЛЗ с использованием метода полимеразной цепной реакции. Порядок забора, транспортировки и тестирования биологического материала от пациентов с подозрением на вирусные трансмиссивные лихорадки Денге, чикунгунья, Зика и др., а также оперативная информация о ситуации, связанной с распространением ВЗ в мире, размещены и обновляются на сайте центра по адресу: [www.belriem.by](http://www.belriem.by).

Ситуация находится на постоянном контроле Министерства здравоохранения Республики Беларусь по проведению комплекса мероприятий, направленных на недопущение завоза и распространения ЛЗ среди населения республики.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Обеспечение эпидемиологического надзора и профилактики лихорадки Зика в Российской Федерации / А. Ю. Попова [и др.] // Пробл. особо опасных инф. – 2016. – № 2. – С. 5-10.
2. Первые данные о наличии размножающейся популяции комаров *Aedes aegypti* L. в районе Большого Сочи и

в отдельных городах Абхазии / Ю. В. Юничева [и др.] // Мед. паразитол. паразитар. болезни. – 2008. – № 3. – С. 40-43.

3. Пятое совещание Комитета по чрезвычайной ситуации в соответствии с Международными медико-санитарными правилами (2005 г.) по вопросам микроцефа-

- лии, других неврологических нарушений и вируса Зика : заявление ВОЗ, 18 ноября 2016 г. [Электронный ресурс] / Всемирная организация здравоохранения. Центр СМИ. 2016. – Режим доступа: <http://www.who.int/mediacentre/news/statements/2016/zika-fifth-ec/ru/>. – Дата доступа: 25.10.2017.
4. Тестирование на вирусную инфекцию Зика в лабораторных условиях. Временное руководство ВОЗ [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.who.int/csr/resources/publications/zika/laboratory-testing/ru/>. – Дата доступа: 25.10.2017.
5. Четвертое совещание Комитета по чрезвычайной ситуации в соответствии с Международными медико-санитарными правилами (2005 г.) по вопросам микроцефалии, других неврологических нарушений и вируса Зика: заявление ВОЗ, 2 сентября 2016 г. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://who.int/mediacentre/news/statements/2016/zika-fourth-ec/ru/>. – Дата доступа: 06.10.2016.
6. *Aedes aegypti* on Madeira Island (Portugal): genetic variation of a recently introduced dengue vector / G. Seixas [et al.] // Mem. Inst. Oswaldo Cruz. – 2013. – Vol. 108, suppl. 1. – P. 3-10.
7. *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse): a potential vector of Zika virus in Singapore / P. S. Wong [et al.] // PLoS Negl. Trop. Dis. – 2013. – Vol. 7, N 8. – e2348.
8. A report on the outbreak of Zika virus on Easter Island, South Pacific, 2014 / J. Tognarelli [et al.] // Arch. Virol. – 2016. – Vol. 161, N 3. – P. 665-668.
9. Assessing the global threat from Zika virus [Electronic resource] / J. Lessler [et al.] // Science. – 2016. – Vol. 353. – aaf8160. – Mode of access : <http://science.sciencemag.org/content/353/6300/aaf8160.full>. – Date of access : 05.11.2017.
10. Boeuf, P. The global threat of Zika virus to pregnancy: epidemiology, clinical perspectives, mechanisms, and impact / P. Boeuf // BMC Med. – 2016. – Vol. 14, N 1. – P. 112.
11. Campos, G.S. Zika virus outbreak, Bahia, Brazil / G.S. Campos, A.C. Bandeira, S.I. Sardi // Emerg. Infect. Dis. – 2015. – Vol. 21, N 10. – P. 1885-1886.
12. 48. CDC. Zika virus [Electronic resource]. – Mode of access : <https://www.cdc.gov/zika/index.html>. – Date of access: 25.10.2017.
13. Centers for Disease Control and Prevention. Zika Virus – What Clinicians Need to Know [Electronic resource] / Atlanta: CDC, 2016. – Mode of access : [http://emergency.cdc.gov/coca/calls/2016/callinfo\\_012616.asp](http://emergency.cdc.gov/coca/calls/2016/callinfo_012616.asp). – Date of access : 25.08.2017.
14. Current Zika virus transmission – List of countries: ECDC adaptation of WHO's Zika virus country classification scheme [Electronic resource]. – Mode of access : <https://ecdc.europa.eu/en/publications-data/current-zika-virus-transmission-list-countries-ecdc-adaptation-whos-zika-virus>. – Date of access: 25.10.2017.
15. Elevation as a proxy for mosquito-borne Zika virus transmission in the Americas / A. G. Watts [et al.] // PLoS One. – 2017. – Vol. 12, N 5. – e0178211. doi: 10.1371/journal.pone.0178211.
16. Dengue, chikungunya and Zika co-infection in a patient from Colombia / W. E. Villamil-Gomez [et al.] // J. Infect. Public Health. – 2016. – Vol. 9, N 5. – P. 684-686.
17. Dick, G.W. Epidemiological notes on some viruses isolated in Uganda; Yellow fever, Rift Valley fever, Bwamba fever, West Nile, Mengo, Semliki forest, Bunyamwera, Ntaya, Uganda S and Zika viruses / G.W. Dick // Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. – 1953. – Vol. 47, N 1. – P. 13-48.
18. Dick, G.W.A. Zika virus. Isolations and serological specificity / G.W.A. Dick, S.F. Kitchen, A.J. Haddow // Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. – 1952. – Vol. 46, N 5. – P. 509-520.
19. European Centre for Disease Prevention and Control. Factsheet for health professionals: Zika virus infection [Electronic resource] / Stockholm: ECDC, 2016. – Mode of access : <https://ecdc.europa.eu/en/zika-virus-infection/facts/factsheet/> – Date of access : 25.10.2017.
20. European Centre for Disease Prevention and Control. Mosquito maps: Exotic mosquitoes: Surveillance map: Current known distribution as of April 2017 [Electronic resource] / Stockholm: ECDC, 2017. – Mode of access : <https://ecdc.europa.eu/en/disease-vectors/surveillance-and-disease-data/mosquito-maps>. – Date of access : 25.10.2017.
21. Evidence of sexual transmission of Zika virus / E. D'Ortenzio [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2016. – Vol. 374, N 22. – P. 2195-2198.
22. First cases of Zika virus infected US blood donors outside states with areas of active transmission / P. C. Williamson [et al.] // Transfusion. – 2017. – Vol. 57, N 3 (pt. 2). – P. 770-778.
23. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil / C. Zanluca [et al.] // Mem. Inst. Oswaldo Cruz. – 2015. – Vol. 110. – P. 569-572.

24. First Zika-positive donations in the continental United States / S. A. Galel [et al.] // *Transfusion*. – 2017. – Vol. 57, N 3 (pt. 2). – P. 762-769.
25. Gould, E. A. Pathogenic flaviviruses / E. A. Gould, T. Solomon // *Lancet*. – 2008. – Vol. 371. – P. 500-509.
26. Gratz, N. G. Why aircraft disinsection? / N. G. Gratz, R. Steffen, W. Cocksedge // *Bull. World Health Organ*. – 2000. – Vol. 78, N 8. – P. 995-1004.
27. Guillain-Barré syndrome outbreak associated with Zika virus infection in French Polynesia: a case-control study / V.-M. Cao-Lormeau [et al.] // *Lancet*. – 2016. – Vol. 387. – P. 1531-1539.
28. Hayes, E. Zika virus outside Africa / E. Hayes // *Emerg. Infect. Dis*. – 2009. – Vol. 15, N 9. – P. 1347-1350.
29. International Programme on Chemical Safety (IPCS), IOMC (Inter-Organization Programme for the sound Management of Chemicals). Aircraft disinsection insecticides [Electronic resource] / Geneva: WHO, 2013. – Mode of access : <http://www.who.int/ipcs/publications/ehc/ehc243.pdf?ua=1>. – Date of access : 25.10.2017.
30. Kuno, G. Full-length sequencing and genomic characterization of Bagaza, Kedougou, and Zika viruses / G. Kuno, G. J. Chang // *Arch. Virol*. – 2007. – Vol. 152. – P. 687-696.
31. Molecular detection of Zika virus in blood and RNA load determination during the French Polynesian outbreak / D. Musso [et al.] // *J. Med. Virol*. – 2017. – Vol. 89, N 9. – P. 1505-1510.
32. Molecular evolution of Zika virus during its emergence in the 20(th) century [Electronic resource] / O. Faye [et al.] // *PLoS Negl. Trop. Dis*. – 2014. – Vol. 8. – e2636. – Mode of access : doi:10.1371/journal.pntd.0002636. – Date of access : 05.11.2017.
33. Musso, D. Zika Virus / D. Musso, D. J. Gubler // *Clin. Microbiol. Rev*. – 2016. – Vol. 29, N 3. – P. 487-524.
34. PAHO .WHO. Zika Virus Infection [Electronic resource] / Pan American Health Organization; WHO Regional Office for Americas. – Mode of access: [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=11585&Itemid=41688&lang=en](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=11585&Itemid=41688&lang=en). – Date of access: 25.10.2017.
35. Petersen, L.R. Zika virus / L. R. Petersen, D. J. Jamieson, M. A. Honein // *N. Engl. J. Med*. – 2016. – Vol. 375, N 3. – P. 294-295.
36. Potential for Zika virus transmission through blood transfusion demonstrated during an outbreak in French Polynesia, November 2013 to February 2014 / D. Musso [et al.] // *Euro Surveill*. – 2014. – Vol. 19, N 14.
37. Potential of selected Senegalese Aedes spp. mosquitoes (Diptera: Culicidae) to transmit Zika virus [Electronic resource] / C. T. Diagne [et al.] // *BMC Infect. Dis*. – 2015. – Vol. 15. – P. 492. – Mode of access : doi: 10.1186/s12879-015-1231-2. – Date of access : 25.10.2017.
38. Prevention of sexual transmission of Zika virus. Interim guidance [Electronic resource] / WHO. – Mode of access: <http://who.int/csr/resources/publications/zika/sexual-transmission-prevention/en/>. – Date of access: 25.10.2017.
39. Reiter, P. Yellow fever and dengue: a threat to Europe? / P. Reiter // *Euro Surveill*. – 2010. – Vol. 15, N 10. – 19509.
40. Sexual transmission of Zika virus in an entirely asymptomatic couple returning from a Zika epidemic area, France, April 2016 / T. Freour [et al.] // *Euro Surveill*. – 2016. – Vol. 21, N 23. – doi:10.2807/1560-7917.ES.2016.21.23.30254.
41. Simultaneous outbreaks of dengue, chikungunya and Zika virus infections: diagnosis challenge in a returning traveller with nonspecific febrile illness / E. Moulin [et al.] // *New Microbes New Infect*. – 2016. – Vol. 11. – P. 6-7.
42. Suspected female-to-male sexual transmission of Zika virus – New York City, 2016 / A. Davidson [et al.] // *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep*. – 2016. – Vol. 65, N 28. – P. 716-717.
43. WHO. Zika situation report, 10 March 2017 [Electronic resource]. – Mode of access : <http://www.who.int/emergencies/zika-virus/situation-report/10-march-2017/en/>. – Date of access: 25.10.2017.
44. WHO. Zika virus and complications: 2016 Public Health Emergency of International Concern [Electronic resource]. – Mode of access: <http://www.who.int/emergencies/zika-virus/en/>. – Date of access: 25.10.2017.
45. World Health Organization. Zika situation report: Neurological syndrome and congenital anomalies, 5 February 2016 [Electronic resource] / Geneva: WHO, 2016. – Mode of access : [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204348/1/zikasitrep\\_5Feb2016\\_eng.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204348/1/zikasitrep_5Feb2016_eng.pdf?ua=1). – Date of access : 25.10.2017.
46. Zika virus and birth defects – Reviewing the evidence for causality / S. A. Rasmussen [et al.] // *N. Engl. J. Med*. – 2016. – Vol. 374, N 20. – P. 1981-1987.
47. Zika virus disease. Interim case definition. 12 Feb. 2016 [Electronic resource] / WHO. – Mode of access: <http://www.who.int/csr/disease/zika/case-definition/en/>. – Date of access: 25.10.2017.



48. Zika virus in asymptomatic blood donors in Martinique / P. Gallian [et al.] // *Blood*. – 2017. – Vol. 129, N 2. – P. 263-266.
49. Zika virus infection complicated by Guillain-Barre syndrome – case report, French Polynesia, December 2013 [Electronic resource] / E. Oehler [et al.] // *Euro Surveill*. – 2014. – Vol. 19, N 9. – pii=20720 p. – Mode of access : <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20720>. – Date of access : 25.11.2017.
50. Zika virus in Gabon (Central Africa) – 2007: a new threat from *Aedes albopictus*? / G. Grard [et al.] // *PLoS Negl. Trop. Dis*. – 2014. – Vol. 8, N 2. – e2681.
51. Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia / M.R. Duffy [et al.] // *N. Engl. J. Med*. – 2009. – Vol. 360, N 24. – P. 2536-2543.
52. Zika virus seroprevalence, French Polynesia, 2014-2015 / M. Aubry [et al.] // *Emerg. Infect. Dis*. – 2017. – Vol. 23, N 4. – P. 669-672.
53. Zika virus: the latest newcomer [Electronic resource] / J. C. Saiz [et al.] // *Front. Microbiol*. – 2016. – Vol. 7. – P. 496. – Mode of access : <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00496>. – Date of access : 01.12.2017.

### СТАН СИТУАЦІЇ ПО ПОШИРЕННЮ ВІРУСУ ЗІКУ У СВІТІ НА СУЧАСНОМУ ЕТАПІ

Т. І. Самойлова

Державна установа «Республіканський науково-практичний центр епідеміології та мікробіології»,  
м. Мінськ, Білорусь

Вірус Зика (ВЗ) відноситься до роду *Flavivirus* сімейства *Flaviviridae*, являє собою одноцепочечну РНК, покриту білковою оболонкою. Передається людині через укуси кровосисних комарів, в основному роду *Aedes*. Вперше виявлений в 1947 р. в Уганді, ВЗ вважався слабопатогенним, викликаючи лише з незначне підвищення температури, висип і артралгія приблизно у 20% хворих. Вперше інфекцію, викликану ВЗ, зв'язали з синдромом Гієна-Барре, що виявляється млявими парезами, порушеннями чутливості і вегетативними розладами, в 2014 р. під час спалаху у Французькій Полінезії. А з 2015 р. збудник був занесений з островів Тихого океану в Бразилію і швидко поширився по всій Америці, вперше ставши причиною масового інфекційного захворювання, пов'язаного зі збільшенням числа випадків мікроцефалії та інших порушень центральної нервової системи у новонароджених. У зв'язку з цим Всесвітня організація охорони здоров'я оголосила інфекцію, викликану ВЗ, як надзвичайну, що має міжнародне значення для громадської охорони здоров'я. Лабораторна діагностика захворювання ґрунтується на використанні вірусологічних методів для виділення вірусу з біологічного матеріалу, серологічних і молекулярно-генетичних для виявлення в ньому маркерів вірусу.

На сьогоднішній день протівірусне лікування і вакцина проти інфекції відсутні. Основними профілактичними заходами проти захворювання є боротьба з кровососущими комарами. Хоча викликувана ВЗ інфекція вважається відносно легким захворюванням для населення в цілому, але пов'язані з ним важкі порушення розвитку плоду вказують на необхідність зниження ризику інфікування, особливо для жінок дітородного віку під час вагітності.

В огляді представлені основні відомі в даний час відомості про ВЗ, включаючи молекулярну будову, шляхи передачі, екологію та епідеміологію, особливості спричиненої їм інфекції, лабораторну діагностику і профілактику, а також дається прогноз щодо інфекції, спричиненої ВЗ, для Республіки Білорусь.

**Ключевые слова:** вірус Зика, інфекція, лихоманка Зика, екологія, епідеміологія, діагностика, профілактика.

### SITUATION ON ZIKA VIRUS SPREAD IN THE WORLD AT THE PRESENT STAGE

T.I. Samoilova

State Institution "Republican Research & Practical Center for Epidemiology & Microbiology", Minsk, Belarus

Zika virus (ZV) is a protein coated single-stranded RNA (*Flavivirus* genus, *Flaviviridae* family) transmitted to humans mainly by *Aedes* mosquitoes. First identified in 1947 in Uganda, ZV was considered to be slight pathogen, causing only mild fever, rash and arthralgia in about 20% of patients. ZV infection was associated with Guillain-Barre syndrome, manifested by flaccid paresis, sensitivity disorders and autonomic disorders, for the first time in 2014 during an outbreak in French Polynesia. And since 2015, the pathogen was introduced into Brazil from the Pacific Islands and spread rapidly

throughout the Americas, caused the first a massive infection, associated with increased cases of microcephaly and other disorders of the central nervous system in neonates. In this regard, the World Health Organization declared the situation as a Public Health Emergency of International Concern.

Laboratory diagnostics is based on virological methods for the virus isolation from biological material, serological, and molecular-genetic methods for the detection of the virus markers in it.

To date, there is neither specific antiviral treatment nor is a vaccine to prevent the infection. The main preventive measure is the fight against blood-sucking mosquitoes.

While ZV infection is considered a mild disease for the general population, the severity of foetal impairment indicates the need to reduce the risk of infection, especially during pregnancy for women of childbearing age.

This review describes the current knowledge about ZV, including molecular structure, ecology, epidemiology, transmission, diagnosis of ZV infection and, laboratory diagnostics, prevention, and the forecast of the infection for Belarus.

**Key words:** *Zika virus infection, ecology, epidemiology, diagnostic, prevention.*

УДК 632.953.311.219.1:616.08:615.281.8

*Э.Н. Жеребцова<sup>3</sup>, С.Л. Рыбалко<sup>1</sup>, В.П. Атаманюк<sup>3</sup>, Ю.И. Порва<sup>1</sup>, Д.Б. Старосила<sup>1</sup>, О.Н. Дерябин<sup>2</sup>*

## СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К МОДЕЛИРОВАНИЮ ИНФЕКЦИИ ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ ГЕПАТИТА С

<sup>1</sup>ДУ «Институт эпидемиологии и инфекционных болезней им.Л.В.Громашевского»

<sup>2</sup>Государственный научно-контрольный институт биотехнологии и штаммов микроорганизмов

<sup>3</sup>НВК «Экофарм»

*В работе представлен обзор литературных данных, касающиеся модельных систем, поддерживающих размножение ВГС., свидетельствующие о том, что удалось получить такие клеточные системы, которые дают возможность всесторонне изучить не только особенности возбудителя, но и действие на него различных противовирусных препаратов. Представлены перспективные направления создания систем *in vitro* и *in vivo*. Исследования, проводимые на трансгенных мышах, дополняют сведения, получаемые *in vitro*, и позволяют приблизиться к клиническому изучению препаратов.*

**Ключевые слова:** *гепатит С, клеточные системы, противовирусные препараты.*

Гепатит С (ГС) относится к одной из важнейших проблем медицинской науки и практического здравоохранения и приобретает в современном мире всё возрастающее социально-экономическое значение [1, 7]. Сегодня в мире количество людей, зараженных вирусом ГС (ВГС), варьирует в пределах от 500 млн до 1 млрд человек при высокой частоте тяжёлого течения болезни, крайне неблагоприятного исхода, значитель-

ного вовлечения в эпидемический процесс лиц детородного и трудоспособного возраста. При этом только хронической формой ГС (ХГС) страдают 150-170 млн жителей нашей планеты. Исследователи подчеркивают, что, «учитывая чрезвычайную сложность структуры эпидемического процесса и многофакторность его развития, закономерности течения данной инфекции пока что еще изучены далеко не до конца». [3]

Сегодня состояние проблемы ГС таково, что нет возможности окончательно решить задачи, касающиеся репродукции вируса, добиться снижения заболеваемости и предотвращения перехода болезни в хроническое состояние. Около 70% зараженных лиц переносят заболевание в скрытой, клинически не проявляющейся форме. Независимо от того, насколько легко или тяжело протекает заболевание, в 50-80% случаев оно становится хроническим и нередко приводит к возникновению фиброза, цирроза печени и/или гепатоцеллюлярной карциномы [1, 5, 8, 11, 13]

ВГС представляет собой небольшой сферический вирус (диаметром 55-65 нм), покрытый суперкапси-

дальной оболочкой, содержащий (+)-цепь РНК. Сегодня ВГС относят к роду *Hepacivirus* семейства *Flaviviridae* [8, 13]. Ещё совсем недавно его считали единственным представителем указанного рода, поражающим, как известно, только людей и шимпанзе, однако по литературным данным, к настоящему времени открыты представители этого рода, поражающий собак, вызывающий заболевание у лошадей; кроме того стало известно, что представители рода *Hepacivirus* найдены у летучих мышей и грызунов. Таким образом, если ранее в качестве суррогатного вируса для изучения ВГС использовали возбудителя бычьей вирусной диареи (*bovine viral diarrhea virus, BVDV*) – представителя рода *Pestivirus* того же семейства *Flaviviridae*. Вирус, сходный с ВГС по структурной организации и вызывающий длительные хронические инфекции у чувствительного хозяина. Подобно ВГС, BVDV имеет рецептор LDL для проникновения в клетку, функционально сходный с рибосомой внутренний сайт (IRES) для трансляции; BVDV использует кофактор NS4A с соответствующей протеазой NS3, имеет сходную с NS3 геликазу/АТФазу, а также сходные механизмы созревания вирионов, их сборки и выхода из зараженных клеток [2] Еще один возможный суррогатный вирус, для заражения *in vivo* – это близкородственный ВГС флавивирус GBV-B, поражающий тамаринов (*Sanguis sp.*) [15] и вызывающий обычно острую само ограничивающуюся инфекцию, которая в определенных условиях может стать персистентной инфекцией.

Сегодня для этой цели можно использовать представителей рода *Hepacivirus*, которые поражают грызунов. Исследования *in vivo* на мышинных моделях, гораздо предпочтительней и по этическим, и по техническим соображениям [8]. Не следует, забывать о том, что определенное приближение к мышинным моделям *in vivo* было сделано и раньше, в конце 1990-х и начале 2000-х гг. [17, 25]. Трансгенные мыши, зараженные ВГС генотипа 1b, полученными методом генетической инженерии, и мыши SCID, содержащие *uPA (+/+)* печени человека, считаются удобной моделью для изучения ВГС. В результате имплантации зараженных ВГС клеток линии гепатомы человека Nuh-7 в печень новорождённых мышат отмечали репликацию вирусной РНК в клетках печени и в крови этих животных. Известно также о попытках культивировать ВГС при введении инфекционного материала в мозг новорожденных мышат [4].

По многочисленным литературным данным, можно утверждать, что вирион состоит из сердцевины (так называемого кора, core), содержащей генетический материал вируса (одноцепочную (+)-цепь РНК); сердцевина окружена иксоэдрической защитной белковой оболочкой (капсидом); капсид, в свою очередь, заключен в липидную суперкапсидальную оболочку клеточного происхождения. Геномная РНК ВГС содержит открытую рамку считывания длиной 9600 нуклеотидных оснований с информацией о единственном вирусном белке-предшественнике (длиной 3011 аминокислот). Единственный белковый продукт, синтезированный при трансляции этой рамки считывания, подвергается затем воздействию протеиназ вирусного и клеточного происхождения и разделению (дроблению, процессингу) предшественника с образованием активных вирусоспецифических белков меньшего размера, структурных и неструктурных (т.е. не входящих в состав вирусных частиц). Геном ВГС кодирует синтез десяти белков, трех структурных и семи неструктурных. Гены, кодирующие структурные белки, находятся на 5'-участке, а гены, ответственные за синтез неструктурных белков, расположены на 3'-участке вирусного генома. На 5'-конце генома ВГС находится некодирующий высоко консервативный отрезок РНК длиной 341 пар нуклеотидов со сложной вторичной структурой; этот участок может функционировать как внутренний рибосомальный входной пептид. На 3'-конце генома расположен некодирующий участок длиной приблизительно 500 пар нуклеотидов. Здесь имеется высоко изменчивая нуклеотидная последовательность, за которой лежит участок поли-У и высоко консервативный элемент из 98 пар нуклеотидов со стабильной вторичной структурой. Структурные белки формируют в процессе сборки вирусные частицы, тогда как неструктурные участвуют в репликации вирусоспецифической РНК и в расщеплении полипротеина-предшественника.

Гликопротеиновый комплекс E1/E2 ВГС, находящийся на поверхности вириона, прикрепляется к рецептору/рецепторам, которые этим комплексом распознаются. Затем в кислой среде эндосомального компартмента происходит слияние вируса с клеткой. Клеточные факторы, которые участвуют в этом процессе и во вхождении вируса в клетку – это гликозаминогликаны, рецептор (SR-B1 – scavenger receptor class B type 1), рецептор CD81 и рецептор липопротеинов низкой плотности

LDL. После освобождения геномной РНК полипротеин экспрессируется в ходе IRES-засисимой трансляции, которая происходит на грубом эндоплазматическом ретикуломе (rough endoplasmatic reticulum, rER), где расщепление катализируется пептидазами и протеазами. Во время расщепления или после него образуется связанный с мембраной репликативный комплекс, катализирующий амплификацию РНК через образование промежуточной (-)-цепи РНК и двухцепочечной структуры РНК. Этот связанный с мембраной комплекс состоит из вирусной РНК, вирусных белков и из факторов, предоставляемых клеткой-хозяином. Вновь синтезированная (+)-цепь РНК либо участвует в трансляции, либо взаимодействует с сердцевинным белком при образовании вирусного нуклеокапсида. На мембранах rER находятся белки E1 и E2; суперкапсидальные оболочки ВГС образуются при их отпочковывании в просвет этих органелл. Считается, что вирусные частицы-потомки переносятся по секреторным путям, а вирионы высвобождаются после слияния транспортной везикулы с плазматической мембраной [1, 11-14].

Согласно общим сведениям, касающимся размножения одноцепочечных РНК-содержащих вирусов и проблемы квази-видов (квази-вариантов) [20, 21], бесконечное разнообразие штаммов ВГС предопределяются работой вирусоспецифической РНК-зависимой РНК-полимеразы (она характеризуется частыми сбоями и ошибками при матричном копировании нуклеотидов; которые приводят к мутациям); высокими темпами репродукции вируса; генетическими особенностями и иммунным состоянием хозяина.

В настоящее время [8] определено 6 основных генотипов ВГС и свыше 100 его субтипов. Более чем 90% всех изолятов, полученных в Северной и Южной Африке, Европе, РФ, Китае, Японии, Австралии и Новой Зеландии, принадлежат к генотипам 1a, 1b, 2a, 2b, 2c и 3a. Генотипы 4, 5a и 6 были выявлены в Центральной Африке, Южной Африке и в Юго-Восточной Азии. В странах СНГ преобладает генотип 1b. Больные ВГС генотипа 1b, значительно хуже поддаются специфической терапии в сравнении с лицами, зараженными ВГС других генотипов.

После заражения ВГС в крови больного начинает циркулировать популяция вирусных частиц (квази-вариантов), геномы которых отличаются между собой на 1-2% благодаря непрерывным мутациям. Эти мутант-

ные формы могут быть результатом адаптивных мутаций. В литературе широко обсуждается вопрос о том, что они способствуют более успешной репликации вируса, активности инфекционного процесса, его исход и эффективность терапии [11].

Изучение инфекции, вызванной ВГС, длительное время было невозможным, в связи с отсутствием необходимых для этого модельных систем. Это также препятствовало при проведении доклинических испытаний различных препаратов с предполагаемыми противовирусными свойствами. Давно привычный стандартный вирусологический подход с заражением чувствительных животных и чувствительных культивируемых клеток, длительное время не могли успешно применить из-за ряда особенностей возбудителя. После «предварительного открытия» ВГС, осуществленного в США на фирме Chiron Corporation [16] при использовании методов вирусологии и молекулярной биологии, относительно надежная модель (robust model) репликация ВГС in vitro была получена гораздо позже – в 2005 г.

Из концентрата плазмы шимпанзе (*Pan troglodytes*), зараженных кровью людей, больных посттрансфузионным гепатитом «ни А, ни В», выделили препараты РНК. При помощи обратной транскриптазы получили ДНК-копию этой РНК и встроили ее в плазмидную векторную конструкцию. При экспрессии этой конструкции в клетках получили белки, образованные разными клонами и определили их способность взаимодействовать с антителами, содержащимися в сыворотках реконвалесцентов. Далее различные кДНК ВГС клонировали в дрожжах, что дало затем возможность создать серологический метод обнаружения антител против ВГС. Однако, все еще остались трудности, касающиеся накопления ВГС в значительных количествах, нужных для проведения ряда исследований, так что пока нельзя говорить о широких повседневных возможностях выделения ВГС, вопреки его открытию и ряду успешно проведенных исследований [7].

Хотя первичные человеческие гепатоциты, инфицированные сыворотками пациентов, являются наиболее физиологической моделью in vitro. В настоящее время, трудности с получением клеток ограничивают их использование в повседневных экспериментах. Однако недавняя работа с использованием этой модели подтвердила участие липопротеинового рецептора низкой плотности (LDLR) в процессе ввода ВГС. [21] Кро-

ме гепатоцитов, восприимчивыми к вирусу оказались также мононуклеарные клетки периферической крови (РВМС), но эффективность их использования оказалась ниже [23].

В ряде работ показана возможность использования вместо нормальных гепатоцитов биоптатов печени больных с ХГС. Успешная репликация ВГС в этой системе подтверждается значительным уровнем вирусной РНК. Обнаруживаются также (-)-цепь РНК и сердцевинный белок ВГС. Однако, трудности получения биоптатов и получение незначительного, в конечном счете, количества ВГС при использовании таких систем, не способствовали широкому применению описанного подхода.

В результате исследований стали известны линии клеток для культивирования ВГС: эмбриональные гепатоциты человека (WRL68, RH5CH), клетки гепатобластомы (HepG2, Huh-7), клетки гепатоцеллюлярного рака (JHH1, JHH4, JHH6), линии лимфоцитарных клеток человека (MOLT-4, HPBMa, ADneo, B Daudi, MT-2, MT-2c, CE, TOFE), фибробластов человека (VH3), клетки Vero, клетки человеческой печени (линия 7721), аденокарциномы человеческого надпочечника (SW13), а также клетки почки сирийского хомячка (BHK-21) и невриномы гассерова узла крыс (НГУК). При этом наблюдалось появление ЦПД вируса и получены частицы, которые можно использовать для заражения *in vivo*. Отмечено, что скорость репликации вируса, и персистенция в различных Т-клеточных клонах усиливались при заражении с добавлением сывороток. Например, при секвенировании и сравнении полных вирусных геномов ВГС, находящегося в нативном материале и в персистентно инфицированных клетках MT-2C, показали, что при заражении культивируемых клеток происходит отбор, вирусных частиц, способных связываться с клетками в культуре. [12, 22, 23] предполагают, что эти результаты свидетельствуют о большей инфекционности некоторых квази-видов ВГС по сравнению с другими; в силу каких-то причин при этом некоторые квази-виды не способны к связыванию с определенными рецепторами на поверхности клетки и/или к проникновению в клетку. Не исключено также, что после попадания вирусного капсида в клетку не для всех квази-видов срабатывают далее те обусловленные вирусом внутриклеточные механизмы, которые обеспечивают высвобождение вирионной РНК из капсида. ведущие к развитию инфекции [13, 14,]

В литературе [22, 25] упоминают также, что добавление в культуральные среды PEG и DMSO не так эффективно, как при заражении клеток вирусом гепатита В. Зато репликация ВГС усиливается при добавлении ловастатина, опосредующего регулярное высвобождение рецепторов липопротеинов низкой плотности (LDL), что способствует прикреплению ВГС к клетке.

Кроме того, дополнительные рецепторы можно, вероятно, получить при обработке клеток протеолитическими ферментами, например, трипсином, поскольку известно, что структурные белки ВГС расщепляются протеазами и пептидазами хозяина [9, 10, 22].

Предварительная обработка трипсином приводит к увеличению доли клеток, инфицированных ВГС, что видно по увеличению вирусной нагрузки в культивируемых клетках, содержащих вирус.

Культура клеток, где образуются инфекционные частицы ВГС, стала по-настоящему доступна только после того, как в Японии достигли успеха при выделении и клонировании штамма ВГС генотипа 2a, вызывающего фульминантный гепатит С (JFH-1) [18].

При трансфекции линии гепатокарциномы человека (Huh-7) были получены автономно размножающиеся репликоны ВГС. Эти вирусные РНК размножаются до очень высоких уровней и постоянно поддерживаются в клетках при пересевах в условиях постоянного селективного давления (например, применения G418). Благодаря этому данная репликативная система была оптимальна при изучении взаимодействия вируса с хозяином и для изучения противовирусных препаратов, нацеленных на определенные вирионные и вирусоспецифические структуры (например, РНК-полимеразу или NS3-протеазу). Были идентифицированы мутации, ускоряющие размножение вируса (так называемые адаптивные мутации), созданы разные формы репликонов, разработаны успешные методы скрининга антивирусных препаратов.

Трансфекция после введения «полнометражной» РНК JFH-1, транскрибированной *in vitro* в трансформированных человеческих клетках Huh-7, привела к полноценной репликации РНК и к появлению инфекционных частиц, способных и к заражению культур *in vitro*, и к заражению шимпанзе *in vivo* [25]. Вирулентность вирусных частиц, подтвердилась *in vitro* в результате успешного заражения клеток Huh 7.5.1, в которых методом иммунофлюоресценции обнаружили ВГС-специ-

фичные белки [12, 23, 25]. Считается, что в настоящее время данная система лучше всего подходит для скрининга противовирусных препаратов.

Следует отметить, что ранние этапы вирусной репродукции также изучали, пользуясь вирусными псевдочастицами (HCVpp). Такая система представляет важный инструмент для изучения инфекционного процесса и для оценки эффективности лечения ВГС [23].

При клонировании и трансфекции субгеномных репликонов в линиях клеток стремились получить модель длительной репродукции ВГС *in vitro*. Это дало возможность получить персистентные системы. Эти бицистронные репликоны состояли из участков клонированного генома ВГС генотипа 1b (без структурного региона с NS2-3'-UTR/NS3-3'UTR) и гена фосфотрансферазы под двумя последовательностями IRES, взятыми от вируса энцефаломиокардита свиней и ВГС, соответственно. После трансфекции и селекции в присутствии фосфата неомицина (G418) доказано было автономное размножение реплицирующихся РНК. На этой модели *in vitro* была показана экспрессия вирусных белков.

При субгеномной репликации генотипа ВГС 2a штамма JFH-1 в клетках NuH-7 эффективность бляшкообразования возросла в 58 раз по сравнению с генотипом 1b [19]. При культивировании клеток в условиях, когда не образуется сплошной монослой, сохраняется хороший уровень репликации РНК, доказывая взаимосвязь между обменом клетки-хозяина и репликацией/трансляцией вирусной РНК [13].

Однако использование субгеномных репликонов при первичном скрининге анти HCV-препаратов имеет определенные ограничения по сравнению со скринингом при использовании геномного полноразмерного репликона. Эти ограничения включают: 1) необходимость вторичного скрининга в культурах, продуцирующих полные геномы ВГС, и 2) необходимость избавиться от воздействия адаптационных мутаций, нужных для размножения вируса в культуре, так как эти мутации способны изменить чувствительность вирусных белков к противовирусным препаратам [23].

После получения надежной системы репродукции ВГС генотипа 2a особое внимание обращают на создание похожей системы для генотипа 1a.

Таким образом, в литературе имеются данные, касающиеся моделей для изучения ВГС *in vivo* и *in vitro* [8, 13, 14].

Интересна модель персистентной инфекции ВГС [3, 4] на культуре клеток головного мозга мышей сосунков (ГМС), активно продуцирующая ВГС в высоких титрах. Наличие персистентной инфекции доказывают:

1. явления цитодеструкции и репопуляции зараженных клеток, наблюдавшиеся свыше полугода, причем контрольные незараженные клетки ГМС погибли в результате неспецифической деструкции в течение первого месяца культивирования;

2. постоянная продукция цитопатогенного вируса и его выход в культуральную среду, когда титры вируса для перевиваемых клеток PS, ВНК-21, Vero, HAK и первичных клеток ФЕК в зависимости от времени протекания инфекции достигали 10,0-12,0 lg ТЦД50/мл;

3. на 5-7-е сутки после заражения персистирующим ВГС перевиваемых клеток разного происхождения в пробах культуральной жидкости регулярно обнаруживали (методом ПЦР) РНК ВГС, данные, полученные методом ПЦР, полностью совпадали с результатами титрования вируса по ЦПД;

4. так как ЦПД нейтрализовалась антисыворотками против ВГС, можно говорить о специфичности действия персистирующего ВГС на клетки, при этом индекс нейтрализации инфекционной активности ВГС доходил до значений 8,0-9,0lg;

5. специфичность нейтрализации подтверждается тем, что метод ПЦР не обнаруживает РНК ВГС в продуктах жизнедеятельности клеток, зараженных вирусом, который нейтрализован антителами;

6. при помощи метода непрямой иммунофлюоресценции с использованием специфических антител против ВГС показано наличие антигенов ВГС в перинуклеарной зоне и цитоплазме 15-50% клеток ГМС, а также инфицированных персистентным вирусом клеток PS, ВНК-21 и Vero. Используются были не только антитела, полученные от ВГС-инфицированных лиц, но и моноклональные антитела против рекомбинантного нуклеопротеина ВГС.

Таким образом, при заражении мышинных клеток ВГС наблюдали явления, характерные для персистирующих флавивирусов – неожиданное удлинение продолжительности жизни зараженных клеток ГМС по сравнению с контрольными культурами, которое объясняется, особенностями взаимодействий между клетками и вирусом в условиях персистентной инфекции [7]. Обнаруживается характерный для персистирующих

флавивирусов «феномен зоны» – отсутствие разрушения клеток при высокой заражающей дозе вируса.

Предположили, что популяция персистирующего ВГС содержит по меньшей мере два вирусных варианта – частицы, вызывающие разрушение клеток, и частицы, которые его не вызывают. О неоднородности вирусной популяции свидетельствует и наличие различных по морфологии бляшек в культурах ФЕК.

Возможно разведение проб, содержащих ВГС, меняет соотношения инфекционных и неинфекционных частиц в популяции и приводит к «феномену зоны»

или к аутоинтерференции; очевидно в популяции ВГС присутствуют дефектные интерферирующие частицы – один из ведущих факторов персистенции вирусов.

В настоящее время удалось получить такие клеточные системы, которые позволяют глубже изучить особенности этого вируса и проверять действие различных противовирусных препаратов. Исследования, проводимые на трансгенных мышах, дополняют сведения, получаемые *in vitro*, и позволяют приблизиться к клиническому изучению препаратов.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Быстрова Т.Н. Молекулярно-генетическая характеристика вируса гепатита С. / Т.Н.Быстрова, Ю.В.Михайлова., // МедиАль. – 2014. – № 2 (12). – С. 88-102
2. Выделение и характеристика вируса диареи крупного рогатого скота. / А.Г. Глотов, Т.И. Глотова, Е.И.Рябчикова, А.Н.Сергеев. // Вопр. вирусол. – 2006. – т. 51, № 1. – С. 42-45.
3. Высокопродуктивный вариант вируса гепатита С. Выделение, характеристика, идентификация. / П.Г. Дерябин, Д.К. Львов // Доклады Академии наук РФ. – 1998. – Т. 358. – № 5. – С. 688-691.
4. Дерябин П.Г. Персистенция вируса гепатита С в культурах клеток головного мозга мышей сосунков / П. Г. Дерябин, С. О. Вязов, Е. И. Исаева и др. // Вопросы вирусологии – 1997. – № 6. – С. 254-258.
5. Дерябин П.Г. Гепатит С: современное состояние и перспективы / П.Г. Дерябин// Вопросы вирусологии. – 2012. – 3 экрану: КиберЛенинка: <https://cyberleninka.ru/article/n/hepatit-s-sovremennoe-sostoyanie-i-perspektivy>
6. Иванов А.В. Молекулярная биология вируса гепатита С / А.В. Иванов А.О. Кузякин, С.Н. Кочетков // Успехи биологической химии. – 2005. – Т. 45. – С. 37–86.
7. Лебедева Г.А. Моделирование хронической инфекции культур клеток головного мозга сосунков сирийских хомячков, вызванной вирусами комплекса клещевого энцефалита. / Г.А. Лебедева, П.Г. Дерябин, Н.В. Логинова. // Вопросы вирусологии. – 1981. – № 6. – С. 731-735.
8. Михайлов М.И. Лабораторная диагностика гепатита С. – Ортодокс, Медицинский портал. – 18.10.2017. – <http://www.orthodox.od.ua/lab/print:page:1.7960>
9. Порва Ю.І. Моделювання інфекції вірусного гепатиту С *in vitro* та вивчення антивірусної активності препаратів групи флавоноїдів та елаготанінів. – Автореферат дис.
- на здобуття наукового ступеня канд. біол. наук. – К., 2010.
10. Спосіб культивування вірусу гепатиту С. – Пат. 49311, Україна, МПК С12N 5/00. / [С.Л. Рибалко, Ю.І. Порва, С.Т. Дядюн.]. Заявник та патентовласник – ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України» № u200900923, заяв. 06.02.2009, опубл. 25.03.2009, Бюл. № 6, 6с.
11. Alter H.J. Recovery, persistence, and sequelae in hepatitis C infection: a perspective on long-term outcome. / H.J Alter., L.B. Seef // Semin. Liv. Dis. – 2000. – Vol. 20 (1). – P.17-36.
12. Bartenschlage R. Efficient hepatitis C virus cell culture system: what a difference the host cell makes. / R. Bartenschlage, T. Pietschmann // Proc. Nat. Acad. Sci. USA, – 2005. – Vol.102. – P. 9739-9740.
13. Bartenschlager R. Hepatitis C virus. / R.Bartenschlager, S.Bühler.– In the “Encyclopedia of Virology, 3rd edition (eds.: B.W.J.Many & M.H.V. Van Regenmortel), Academic Press. – 2008.– Vol.2.– P.367-374.
14. Brass V. Molecular Virology of hepatitis C virus (HCV): 2006 Update. V.Brass, D.Moradpour, H.E.BlumInt. // J.Med. Sci. – 2006. – Vol. 3, № 2.– P. 29-34.
15. Chambers T.J. Flaviviruses: general features. / Chambers T.J. – In the “Encyclopedia of Virology, 3rd edition [eds.: B.W.J.Many & M.H.V. Van Regenmortel]. – Academic Press. 2008. – Vol.2.– P.241-252.
16. Choo Q.L. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-b viral hepatitis genome. / Q.L. Choo, G. Kuo, A.J. Weiner, L.R. Overby, D.W. Bradley, M. Houghton // Science, – 1989. – Vol.244. – P. 359-362.
17. Helbig K.J. A novel I-TAC promoter polymorphic variant is functional in the presence of replicating HCV *in vitro*. //

- K.J. Helbig, J.George, M.R.Beard // J.Clin.Virol. – 2005. – Vol.32, №1. – P.137-143.
18. Kato T. Efficient replication of the genotype 2 hepatitis C subgenomic replicon. / T.Kato, T.Date, M.Miyamoto, A.Furusaka, K.Tokushige, M.Mizokami, T.Wakita. // Gastroenterology, – 2003. – Vol.125. – P.1808-1817.
19. Kato T. Production of infectious hepatitis C virus of various genotypes in cell cultures. / T.Kato, T.Matsumura, T.Heller, S.Saito, R.K. Sapp, K. Murthy, T. Wakita, T.J. Liang // J.Virol. – 2007.– Vol 81. – P.4405-4411.
20. Laskus T. Exposure of hepatitis C virus (HCV) RNA-positive blood donors results to rapid predominance of a single donor strain and exclusion and/or suppression of the recipient strain / T.Laskus, L.F.Wang, M.Radkiwski, H.Vargas, M.Nowicki.// J.Virol. – 2001. – Vol.75, №5.– P.2050-2066.
21. Régeard M. Recent contributions of in vitro models to our understanding of hepatitis C virus life cycle/ M. Régeard, C.Lepère, M. Trotard, Ph. Gripon, J. Le Seyec // FEBS J. – 2007 Vol.;274(18). – P.4705-4718. – 3 екрану: DOI: 10.1111/j.1742-4658.2007.06017.x
22. Reed K.E. Overview of hepatitis C virus genome structure, polyprotein processing, and protein properties. / K.E.Reed, C.M.Rice. // Current Topics in Microbiology & Immunology. – 2000. – Vol.242. – P. 55-83.
23. Tariq H. An overview: In vitro models of HCV replication in different cell cultures. / H.Tariq, S.Manzoor, F.Parvaiz, F.Javed, K.Fatima, I.Qadri.// Infection, Genetics & Evolution. – 2012.– Vol.12.– P. 13-20.
24. Yu-Wen Hu. Immunoglobulin mimicry by hepatitis C virus envelope protein E2 / Yu-Wen Hu, L.Rochelleau, B.Larke. // Virology. – 2005. – № 332.– 3. 538-549.
25. Zhong J. Robust hepatitis C infection in vitro. / J.Zhong, P.Gastaminza, G.Chemg, S.Kapadia, T.Kato, D.R.Burton, S.F.Wieland, S.L.Uprichard, T.Wakita, F.V.Chisari. Proc.Nat. Acad.Sci.USA, – 2005. – Vol.102. – P.9294-9299.

### СУЧАСНІ ПІДХОДИ ДО МОДЕЛЮВАННЯ ІНФЕКЦІЙ, СПРИЧИНЕНИХ ВІРУСОМ ГЕПАТИТУ С

Жеребцова Е.М.<sup>3</sup>, Рибалко С.Л.<sup>1</sup>, Атаманюк В.П.<sup>3</sup>, Порва Ю.І.<sup>1</sup>, Старосила Д.Б.<sup>1</sup>, О.М. Дерябін<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім.Л.В.Громашевського

<sup>2</sup>Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів

<sup>3</sup>НВК «Екофарм»

У роботі представлений огляд літературних даних, стосовно модельних систем, що підтримують розмноження ВГС. Це свідчить про те, що вдалося отримати такі клітинні системи, які дають можливість всебічно вивчити не тільки особливості збудника, але і дію на нього різних противірусних препаратів. Представлені перспективні напрямки створення систем *in vitro* і *in vivo*. Дослідження, що проводяться на трансгенних мишах, доповнюють відомості, одержувані *in vitro*, і дозволяють наблизитися до клінічного вивчення препаратів.

**Ключевые слова:** гепатит С, клітинні системи, противірусні препарати

### MODERN APPROACHES TO THE MODELING OF INFECTION OF VAPUS HEPATITIS C

Zherebtsova E.N.<sup>3</sup>, Rybalko S.L.<sup>1</sup>, Atamanyuk V.P.<sup>3</sup>, Porva Yu.I.<sup>1</sup>, Starosyla D.B.<sup>1</sup>, Deryabin O.N.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>SI «Institute of Epidemiology and Infectious Diseases named after LV Gromashevsky

<sup>2</sup>State Scientific and Control Institute of Biotechnology and strains of microorganisms

<sup>3</sup>NVK «Ecofarm»

The paper presents a review of literature data on model systems supporting HCV proliferation. This testifies to the fact that it was possible to obtain such cellular systems that make it possible to comprehensively examine not only the characteristics of the pathogen, but also the effect on it of various antiviral drugs. The perspective directions of creation of systems *in vitro* and *in vivo* are represented. Studies conducted on transgenic mice supplement information obtained *in vitro*, and allow closer to clinical study of drugs.

**Key words:** hepatitis C, cellular systems, antiviral drugs.



УДК 614.254:616.988:578.828.6-07:378.14

*І.В. Дзюблик, Т.А. Александріна, О.В. Кукало*

## КОНСУЛЬТУВАННЯ І ТЕСТУВАННЯ НА ВІЛ-ІНФЕКЦІЮ: СУЧАСНІ ІННОВАЦІЙНІ МЕТОДИКИ ВИКЛАДАННЯ НА КАФЕДРІ ВІРУСОЛОГІЇ

*Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика, Київ*

*У роботі представлені сучасні інноваційні методики викладання питань консультування і тестування на ВІЛ-інфекцію на циклі тематичного удосконалення «Консультування і тестування на ВІЛ-інфекцію із застосуванням швидких тестів», що проводиться на кафедрі вірусології НМАПО ім. П.Л. Шупика. Інновація підходу полягає у поєднанні психологічних методик з прикладними (консультування і тестування) та запровадженні інтерактивних методів навчання, що оптимізують можливості набуття знань і формування спеціальних практичних навичок та вмінь, насамперед, серед фахівців загальної практики-сімейної медицини, що є актуальним у децентралізації послуг під час реформування системи охорони здоров'я.*

*Ключові слова: інтерактивні методи навчання, ВІЛ-інфекція, консультування і тестування.*

Послуга консультування і тестування (КІТ) на ВІЛ-інфекцію запроваджена в Україні на початку нового тисячоліття, поєднує в собі 2 компонента: перший – це консультування (перед- та після тестове), другий – тестування на антитіла до ВІЛ [1, 12].

Консультування – це конфіденційний діалог, який відбувається між консультантом і пацієнтом, який підлягає тестуванню. Передтестове консультування спрямоване на інформування пацієнта про шляхи інфікування ВІЛ, методи їх профілактики, наслідки ризикованої поведінки пацієнта, складання плану змінення такої поведінки на небезпечну, підготовки пацієнта до тестування, допомоги у прийнятті усвідомленого рішення щодо тестування.

Післятестове консультування проводиться для обговорення результатів тестування на ВІЛ, надання необхідної інформації, психологічної підтримки та з метою формування прихильності до лікування [12].

КІТ запроваджено у зв'язку з тим, що епідемія ВІЛ-інфекції увійшла в Україну як поведінкова пробле-

ма через споживання ін'єкційних наркотиків, незахищені гомо- та гетеросексуальні стосунки [1, 9]. Тривожне зростання кількості випадків ВІЛ-інфекції у східній частині Європейського Регіону вказує на збереження тенденції до таких вагомих проблем, як несвоєчасна діагностика ВІЛ-інфекції серед осіб практикуючих небезпечну поведінку. Перевагу поведінкового чинника поширення епідемії підтверджено основними шляхами передачі ВІЛ. У країнах ЄС це сексуальні контакти між чоловіками, у східній частині Регіону – гетеросексуальні контакти, що призвели до збільшення кількості ВІЛ-інфікованих відповідно на 25 % і 19 %. Навпаки, кількість нових випадків інфікування серед людей, які вживають наркотики ін'єкційним шляхом знизилась на 38%, що є результатом ефективності програм зниження шкоди та послуг консультування і тестування на ВІЛ [19, 21, 23].

Це особливо важливо та необхідно для досягнення першої з трьох цілей тисячоліття «90х90х90» на 2016-2020 роки, яка полягає в тому, що 90% людей, які живуть з ВІЛ повинні знати свій ВІЛ-статус. Для цього послуги консультування і тестування повинні бути орієнтованими на найбільш уразливі групи населення, на які згідно з оцінками Об'єднаної програми Організації Об'єднаних Націй з ВІЛ/СНІДу (ЮНЕЙДС) припадає від 53% до 62% всіх випадків ВІЛ-інфікованих осіб в країнах Центральної Азії та Східної Європи [4, 6, 7, 16, 22]. Такий підхід дозволить забезпечити більш ранню діагностику початкових стадій ВІЛ-інфекції, а розширення доступу до антиретровірусної терапії для 90% усіх осіб з діагнозом ВІЛ-інфекції призведе до зниження вірусного навантаження до рівня невизначеного у 90% ЛЖВ. Таким чином цілі 90х90х90 будуть досягнуті до 2030 року [5, 15, 17, 19].

Проаналізувавши епідемічну ситуацію в Україні, яка за даними 2016 року має тенденцію до погіршення, насамперед, за рахунок гетеросексуального шляху пере-

дачі, провідні вчені та фахівці України підтримали пропозицію ВООЗ щодо необхідності зниження кількості нових випадків інфікування ВІЛ шляхом застосування комплексної профілактики ВІЛ-інфекції, ефективного та цільового тестування на ВІЛ, а у подальшому реалізації принципу «лікувати усіх ЛЖВ» [6, 7, 23]. Для досягнення цілей «90х90х90» Урядом країни у листопаді 2016 року схвалено Концепцію розвитку системи громадського здоров'я на 2017-2020 роки, яка передбачає децентралізацію функцій у сфері громадського здоров'я органам місцевого самоврядування та залучення медичних працівників первинної медико-санітарної допомоги до виконання окремих завдань у сфері громадського здоров'я шляхом розширення їх повноважень до надання профілактичних послуг [5, 13]. Однією з складових реалізації зазначеної Концепції є удосконалення механізмів профілактики та виявлення ВІЛ-інфекції шляхом децентралізації послуг консультування і тестування (КІТ) на ВІЛ-інфекцію з третинного і вторинного рівнів надання медичної допомоги населенню (центрів СНІДУ та кабінетів «Довіра») на рівень первинної медико-санітарної допомоги (ПМСД). Це надання послуг КІТ із застосуванням швидких тестів лікарями загальної практики сімейної медицині. Покладання функції консультування і тестування на ВІЛ на лікарів первинної ланки обґрунтовано тим, що саме ці фахівці мають найбільший доступ до загального населення, спроможні сформувати адекватні групи ризику, які підлягають тестуванню на ВІЛ, мотивувати їх до тестування та здійснити ефективне перенаправлення виявлених шляхом скринінгу ВІЛ-позитивних осіб до фахівців вторинного і третинного рівнів надання медичної допомоги. Реалізація такого заходу вимагає розширення доступу до послуг КІТ, створення навчальних планів і програм для підготовки фахівців на кафедрах навчальних закладів післядипломної освіти, удосконалення методик та механізмів навчання фахівців первинної ланки та швидкого їх запровадження.

З метою розширення доступу до послуг консультування і тестування на ВІЛ кафедра вірусології НМАПО ім. П.Л. Шупика розробила навчальний план і програму тематичного удосконалення для лікарів різних фахів, запровадила сучасні інтерактивні методики викладання питань консультування і тестування на ВІЛ-інфекцію практично одразу після затвердження наказом МОЗ України Порядку добровільного консультування і тестування на ВІЛ-інфекцію (Протоколу ДКТ, 2005 р.) [12].

Програма циклу тематичного удосконалення «Добровільне консультування і тестування на ВІЛ-інфекцію», тривалістю два тижні (72 години), з елементами інтерактивних методик навчання була розроблена на підставі досвіду інших країн та низки тренінгів, проведених у пілотних регіонах України. Програму було апробовано в рамках діяльності проектів міжнародної технічної допомоги, що діють на території України за участі співробітників кафедри вірусології.

На початку тема консультування і тестування (КІТ) на ВІЛ-інфекцію викладалась переважно лікарям вірусологам, лаборантам, інфекціоністам. Подальше поширення епідемії ВІЛ-інфекції в Україні стало однією з причин децентралізації цих послуг на рівень первинної медико-санітарної допомоги і викликало необхідність розробки нового скороченого п'ятиденного циклу тематичного удосконалення «Консультування і тестування на ВІЛ-інфекцію із застосуванням швидких тестів» для навчання лікарів загального профілю, насамперед, фахівців первинної ланки. У 2016 році виникла необхідність викладання актуальної теми з КІТ для фахівців середньої ланки.

Питання щодо запровадження сучасних інноваційних методик викладання поставали перед колективом кафедри неодноразово, оскільки якість надання медичної допомоги громадянам України залежить, перш за все, від рівня практичної підготовки лікарів, здатних до творчої праці, освоєння і впровадження наукових та інформаційних технологій, професійного розвитку, конкурентоспроможності на ринку праці [3]. Підвищення якості професійної підготовки фахівців усіх рівнів з надання медичної допомоги у сфері консультування і тестування на ВІЛ-інфекцію передбачає виявлення осіб, що не знають про свій ВІЛ-статус, на ранніх стадіях інфікування. У подальшому це призведе до зменшення кількості випадків ВІЛ-інфекції, виявлених за клінічними ознаками, тобто випадків СНІДу. Для цього ВООЗ запропонувала використання інноваційних методів, що передбачають тестування в рамках надання загальних послуг пацієнтам [23].

**Мета дослідження.** Визначити доцільність та ефективність впровадження сучасних інноваційних технологій та інтерактивних методів навчання лікарів різних спеціальностей, насамперед, загальної практики – сімейної медицини, на циклі ТУ «Консультування і тестування на ВІЛ».

### Матеріал і методи.

Навчальний план і програма циклу ТУ «Консультавання і тестування на ВІЛ» 39 год., післядипломної освіти лікарів з фаху «Вірусологія», а також матеріали тренінгів за ідентичною назвою для лікарів з фаху «Загальна практика - сімейна медицина», затверджені протоколом № 2 від 15.02.2017 року методичного кабінету НМАПО імені П.Л. Шупика.

Серед інтерактивних методів в навчальній програмі застосовувались:

- Робота в групах
- Інтерактивні презентації
- Дискусії
- Мозковий штурм
- Ролеві ігри
- Ситуаційні завдання
- Відеоролики та їх обговорення.

Тестування на антитіла до ВІЛ із застосуванням швидких тестів проводилось в рамках навчальних програм кафедри.

Висновки сформовані на підставі оцінки навчальної ефективності набутих теоретичних знань, спеціальних практичних навичок та умінь із застосуванням інтерактивних методів, отриманих за результатами вхідного та вихідного контролю тестування.

Результати досліджень та їх обговорення.

На кафедрі вірусології НМАПО імені П.Л. Шупика розроблені навчальні плани і програми циклів ТУ «Консультавання і тестування на ВІЛ із застосуванням швидких тестів», а саме: у 2011 році цикл ТУ розрахований на 78 годин, у 2016 році програму переглянуто та удосконалено; у 2014 році розроблено двотижневу програму циклу ТУ для навчання сімейних лікарів «Консультавання та тестування на ВІЛ для сімейних лікарів» тривалістю 78 годин; у 2016 році підготовлено та розроблено дві нові програми для циклів ТУ «Консультавання і тестування на ВІЛ-інфекцію», розрахований на 39-год і призначений для підготовки середнього медичного персоналу та циклу ТУ за такими ж назвою та тривалістю, що призначений для підготовки лікарів різних спеціальностей, насамперед, фахівців первинної ланки. Роль кафедри полягає не лише у розробці програм та алгоритмів, що відповідають міжнародним рекомендаціям та національним стандартам. Кафедра вірусології стала однією з перших державних наукових установ, що запровадила викладання теми консульту-

вання і тестування на ВІЛ, видала декілька посібників [1, 9] та стала співрозробником методичних рекомендацій [10, 11], імплементувала в тему вірусології питання консультавання, пов'язаного з тестуванням на ВІЛ, оскільки це дві невід'ємні частини єдиної послуги, спрямованої на удосконалення скринінгу на ВІЛ-інфекцію та її профілактику серед населення.

Навчання на циклах полягає у застосуванні інтерактивних методів. Термін «інтерактивний» з англійської означає: *inter* – між, *act* – діяти, тобто інтерактивний означає «взаємодіючий». Інтерактивні методи навчання проходять в ігровій формі, вони дають можливість формувати та правильно висловлювати власну думку, слухати інших колег, доказувати свою точку зору, поважати альтернативну думку, а найголовніше допомогти пацієнту самому прийняти рішення на підставі проведеної мотивації та сформувати навички безпечної щодо інфікування ВІЛ поведінки [2].

Для удосконалення знань з питань консультавання і тестування на ВІЛ-інфекцію за навчальним планом (39 годин) передбачено: 8 годин лекцій, 13 годин семінарських занять та 18 – практичних занять.

Мета за програмою циклу є удосконалення теоретичних знань і практичних навичок з питань консультавання і тестування на ВІЛ-інфекцію, як одного з вагомих заходів впливу на епідемію ВІЛ-інфекції/СНІДу в Україні, передбачених Заходами Загальнодержавної цільової програми подолання епідемії ВІЛ-інфекції/СНІДу на 2014-2018 роки [8].

Контингент: лікарі всіх спеціальностей, викладачі вищих медичних навчальних закладів і закладів післядипломної освіти, підвищення якості знань і практичних навичок лікарів у сфері консультавання і тестування на ВІЛ-інфекцію

Під час навчання використані інтерактивні групові методи (тренінг-методи) як такі, що визнані найбільш ефективною формою навчання навичкам консультавання і тестування на ВІЛ. Цей метод дозволяє максимально використовувати потенціал, знання та досвід кожного курсанта [14].

Набір учбово-методичних матеріалів містив затверджені матеріали для викладачів та роздаткові матеріали і методичні рекомендації для курсантів. Програма циклу має три модулі.

Перший містить інформацію про сучасний стан проблеми ВІЛ-інфекції, особливості епідемії у світі та

Україні, життєвий цикл вірусу, шляхи інфікування, критерії ризикованої поведінки, законодавчі норми у сфері консультування і тестування, типи і моделі консультування. Інформацію надано у вигляді інтерактивних презентацій, дискусій, «мозкового штурму», ситуаційних завдань.

Другий присвячений темі консультування, пов'язаного з тестуванням. Надані основи психологічного спілкування, навички активного слухання, алгоритм перед- та післятестового консультування, продемонстровано можливості консультування як частини медичної практики та ефективного метода профілактики та виявлення ВІЛ-інфекції. Для ефективного засвоєння теми застосовувались методи роботи у малих групах, рольові ігри, дискусії, представлені відеоролики, обговорено особливості консультування різних груп населення. Кожен з учасників в ігровій формі відчув себе в ролі консультанта і пацієнта. Проведено інтерактивну гру для ознайомлення з темою стигми і дискримінації у проблемі ВІЛ-інфекції. Для візуалізації матеріалу показано короткометражний фільм та обговорено висвітлені проблеми.

Третій – передбачає презентацію теоретичного матеріалу з лабораторної діагностики ВІЛ-інфекції, ознайомлення з лабораторним обладнанням та практичної частини – практичні заняття з тестування на ВІЛ із застосуванням швидких тестів. Кожен учасник ознайомлений з інструкцією, що додається до тестів, мав можливість провести дослідження, оцінити отриманий результат, обговорити можливі помилки.

По завершенню циклу проводилась заключна конференція та тестовий контроль знань.

На думку учасників циклу ТУ найбільш потрібними та цікавими були теми:

- Епідемічна ситуація з ВІЛ/СНІДу;
- Життєвий цикл та епідеміологічні характеристики вірусу;
- Нормативно-правова база у сфері консультування і тестування;
- Шляхи інфікування ВІЛ та професійний захист медичних працівників;
- Психологічні аспекти консультування;
- Навички активного слухання, невербальні аспекти комунікації;
- Алгоритм перед- та післятестового консультування.

Найбільш потрібними методами навчання були визначені:

- мозковий штурм під час обговорення шляхів інфікування та методів їх профілактики. Цей метод дав змогу сконцентрувати знання всіх учасників групи та висловити узагальнену думку;
- робота в малих групах (опрацювання навичок активного слухання, невербальної комунікації) з наступним обговоренням, що дало змогу прийняти основний принцип спілкування – повагу до пацієнта, розуміння пацієнта з ВІЛ-інфекцією;
- відпрацювання навичок консультування через використання наданих алгоритмів визнано слухачами над корисним та ефективним;
- використання рольової гри та відеороликів сформувало толерантне ставлення ВІЛ-позитивних осіб незалежно від соціального статусу та поведінкових вад,
- обговорення особливостей консультування різних груп населення у вигляді ситуаційних завдань закріпило практику консультування;
- проведення тестування на ВІЛ швидкими тестами переконало слухачів у тому, що вони готові надавати повний спектр послуг консультування і тестування на ВІЛ, знають як це зробити і можуть навчити інших.

У процесі проведення циклу ТУ були виявлені певні труднощі, пов'язані з недостатнім інформуванням лікарів про проблему ВІЛ-інфекції, законодавчої бази, з існуванням стигматизації як внутрішньої серед медичних працівників так і стигматизації у системі охорони здоров'я, відсутністю практичних навичок.

Це підтверджувалось проявами пасивності у перші дні роботи циклу, небажанням висловлювання своєї думки або помилкового бачення проблеми, невміння працювати з пацієнтом, який має поведінкові вади (зверхне ставлення, монолог а не діалог з пацієнтом, бажання взяти відповідальність за прийняття рішення лише на себе, а не надати можливість пацієнту, тощо).

Аналіз ефективності циклу ТУ проводився з урахуванням результатів вхідного та вихідного контролю. За підрахунками ми отримали результати ефективності у відсотках, як по кожному з питань тесту, так й в цілому по темі. Ефективність знань графічно зображено у табл. 1.

**Таблиця 1.** Результат вхідного та вихідного контролю знань слухачів з питань консультування і тестування на ВІЛ.

Тестові питання	До циклу	Після циклу	Зміни
Які клітини організму людини є чутливими до ВІЛ?	90%	100%	10%
Назвіть шляхи передачі ВІЛ до організму людини:	100%	100%	0%
У яких біологічних матеріалах знаходиться найбільша кількість вірусу при ВІЛ-інфекції?	100%	100%	0%
Визначте дії постраждалого при аварії на робочому місці:	20%	100%	80%
Назвіть стадію епідемії ВІЛ-інфекції в Україні:	25%	100%	75%
Визначте цілі скринінгового тестування на ВІЛ-інфекцію:	5%	100%	95%
Які сучасні методи тестування відносять до скринінгових?	20%	95%	75%
Що таке консультування у зв'язку з тестуванням на ВІЛ?	30%	95%	65%
Позначте контингенти, які відносяться до груп підвищеного ризику щодо інфікування ВІЛ:	20%	100%	80%
З якою метою здійснюється передтестове консультування?	70%	100%	55%
З якою метою здійснюється післятестове консультування?	45%	100%	35%
Що означає негативний результат тесту на ВІЛ?	65%	100%	10%
Що означає позитивний результат тесту на ВІЛ?	90%	100%	85%
Кров яких з перелічених контингентів обов'язково досліджується на ВІЛ?	15%	95%	15%
Ефективна робота консультанта визначатиметься такими інструментами:	80%	100%	100%
Середній показник	51,7%	99,0	47,3%

Такий механізм оцінки дає змогу оцінити рівень знань слухачів з кожного питання. Наприклад, низький рівень знань встановлено з питань законодавчої бази. На питання «кров яких з перелічених контингентів підлягає обов'язковому тестуванню». Правильну відповідь надали лише 15 % слухачів. Досить низький вхідний рівень знань та розуміння теми скринінгу на ВІЛ-інфекцію. Питання « визначте цілі скринінгового тестування на ВІЛ» правильно зазначили 5% слухачів. На питання «які сучасні методи відносяться до скринінгових» правильно відповіли 20 % осіб.

В цілому ефективність знань з питань ВІЛ-інфекції, консультування і тестування на ВІЛ за результатами вхідного та вихідного контролю збільшилась на 47,3%. Крім того кожен слухач циклу засвоїв методику перед- та післятестового консультування і навчився практично тестувати із застосуванням швидких тестів

#### **Висновки**

Застосування інтерактивних методик навчання на

циклах з консультування і тестування на ВІЛ-інфекцію на кафедрі вірусології НМАПО імені П.Л. Шупика підвищує ефективність навчального процесу, а різні підходи до виявлення у пацієнта практики ризикованої поведінки та синдромів і симптомів, що визнані клінічними проявами СНІДу допомагають лікарю будь-якої спеціальності вчасно виявити випадки інфікування ВІЛ. Таким чином, інноваційний підхід до навчання дозволяє слухачам циклів ТУ в найкоротший строк засвоїти теоретичні знання та набути практичні навички з надання послуг консультування і тестування на ВІЛ-інфекцію. Це в свій час надасть змогу сприяти вчасному виявленню випадків ВІЛ-інфекції, зміні поведінки пацієнта на небезпечну та розпочати вчасне їх лікування, що призведе до подовження тривалості, покращення якості життя людей, що живуть з ВІЛ та попередить інфікування їх статевих партнерів. Це і є найкоротший шлях до реалізації нових цілей тисячоліття «90Х90Х90» та подолання епідемії ВІЛ-інфекції/СНІДу в Україні.

#### **ЛІТЕРАТУРА**

1. Базові питання добровільного консультування і тестування на ВІЛ-інфекцію: Навчальний посібник для лікарів/ за ред.. Дзюблик І.В. – К., 2007. – 171 с.
2. Богданова, І. М. Використання інтерактивних технологій у підготовці майбутніх соціальних працівників // Вісник Національної академії Державної прикорд. служби

- України. Педагогічні науки. – 2011. – № 11. – С. 15–20.).
3. Вороненко Ю.В. Розвиток нових технологій у післядипломній освіті лікарів і провізорів: тенденції, експертні висновки та реальні оцінки ефективності навчання/ Ю.В. Вороненко, О.П. Мінцер// Мед. освіта. – 2013. – №2. – С. 19-23.
4. Всемирная организация здравоохранения. Сводное руководство по ВИЧ-инфекции в ключевых группах населения: профилактика, диагностика, лечение и уход. Обновление 2016 г. Женева: ВОЗ; 2016 г.
5. Всемирная организация здравоохранения. Сводное руководство по использованию антиретровирусных препаратов для лечения и профилактики ВИЧ-инфекции. Рекомендации с позиции общественного здравоохранения. Second edition. Geneva: WHO; 2016. Available at: <http://apps.who.int/iris/bitstr>
6. Европейское региональное бюро Всемирной организации здравоохранения. План действий сектора здравоохранения по борьбе с ВИЧ-инфекцией в Европейском регионе ВОЗ Копенгаген: Европейское региональное бюро; 2016 г.
7. Европейский центр профилактики и контроля заболеваний/Европейское региональное бюро ВОЗ. HIV/AIDS surveillance in Europe 2014 [Эпиднадзор за ВИЧ/СПИДом в Европе, 2014 г.] Stockholm: ECDC, 2015.
8. Закон України «Про затвердження Загальнодержавної цільової соціальної програми протидії ВІЛ-інфекції/СНІДу на 2014-2018 роки». Відомості Верховної Ради (ВВР). 2014. № 48. ст.2055. <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/1708-18>.
9. Консультування і тестування на ВІЛ-інфекцію: шлях до удосконалення послуг для окремих груп населення/ за ред.. Дзюблик І.В.-К. 2010. 200 с.
10. Методичні рекомендації для медичних працівників щодо надання послуг консультування і тестування на ВІЛ-інфекцію. Київ. 2011. 20 с.
11. Методичні рекомендації «Застосування швидких тестів у лабораторній діагностиці інфекційних хвороб». Київ. 2004. 32 с.
12. Наказ МОЗ України від 19.08.2005 р. № 415 «Про затвердження порядку добровільного консультування і тестування на ВІЛ-інфекцію (Протоколу ДКТ)»
13. Розпорядження Кабінету Міністрів України від 16 листопада 2016 р. № 918-р «Про схвалення Концепції розвитку системи громадського здоров'я на 2017-2020 роки» [www.kmu.gov.ua/control/uk](http://www.kmu.gov.ua/control/uk).
14. . Aronson L. Twelve tips for teaching reflection at all level of medical education / L. Aronson // Med. Teacher. – 2011. – Vol. 33 (3). – P. 200-205.
15. Cohen MS, Chen YQ, McCauley M, Gamble T, Hosseinipour MC, Kumarasamy N, et al. Prevention of HIV-1 infection with early antiretroviral therapy. N Engl J Med. 2011;365(6):493-505.
16. European Centre for Disease Prevention and Control (Европейский центр профилактики и контроля заболеваний). The global HIV epidemics among men who have sex with men ECDC Guidance. Stockholm: ECDC; 2014. <http://ecdc.europa.eu/en/publications>
17. INSIGHT START Study Group. Initiation of antiretroviral therapy in early asymptomatic HIV infection. N Engl J Med. 2015;373(9):795-807.
18. Hedrich D, Kalamara E, Sfetcu O, Pharris A, Noor A, Wiessing L, et al. Human immunodeficiency virus among people who inject drugs: Is risk increasing in Europe? Euro Surveill. 2013; 18 (48):pii=20648. <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle>.
19. HIV/AIDS surveillance in Europe (Surveillance REPORT, 2015) [www.ecdc.europa.eu](http://www.ecdc.europa.eu) , [www.euro.who.int](http://www.euro.who.int)
20. McCormack S, Dunn DT, Desai M, Dolling DI, Gafos M, Gilson R, et al. Pre-exposure prophylaxis to prevent the acquisition of HIV-1 infection (PROUD): effectiveness results from the pilot phase of a pragmatic openlabel randomised trial. Lancet. 2016; 378:53–60.
21. UNAIDS. Ambitious treatment targets: Writing the final chapter of the AIDS epidemic. Geneva; 2014. <http://www.unaids.org>
22. World Health Organization. Руководство о времени назначения антиретровирусной терапии и по доконтактной профилактике ВИЧ-инфекции. Женева: Всемирная организация здравоохранения; 2015 г. <http://www.euro.who.int>
23. World Health Organization. Guidelines on HIV self-testing and partner notification. Supplement to Consolidated Guidelines on HIV Testing Services. Geneva: World Health Organization; 2016. <http://www.unaids.org>

**КОНСУЛЬТИРОВАНИЕ И ТЕСТИРОВАНИЕ НА ВИЧ-ИНФЕКЦИЮ:  
СОВРЕМЕННЫЕ ИННОВАЦИОННЫЕ МЕТОДИКИ ОБУЧЕНИЯ НА КАФЕДРЕ ВИРУСОЛОГИИ**

И.В. Дзюблик, Т.А. Александрина, А.В. Кукало

Национальная медицинская академия последипломного образования им. П.Л. Шупика, Киев

В работе представлены современные инновационные методики преподавания вопросов консультирования и тестирования на ВИЧ-инфекцию на цикле тематического усовершенствования «Консультирование и тестирование на ВИЧ-инфекцию с применением экспресс-тестов», проводимого на кафедре вирусологии НМАПО им. П.Л. Шупика. Инновация подхода заключается в сочетании психологических методик с прикладными (консультирование и тестирование) и внедрении интерактивных методов обучения. Методики оптимизируют возможности приобретения знаний и формирование специальных практических навыков и умений, прежде всего, среди специалистов общей практики семейной медицины, что является актуальным в децентрализации услуг в реформировании системы здравоохранения.

**Ключевые слова:** интерактивные методы обучения, ВИЧ-инфекция, консультирования и тестирования.

**COUNSELING AND TESTING FOR HIV INFECTION: NOVEL INNOVATIVE METHODS  
OF TEACHING AT THE VIROLOGY DEPARTMENT**

I.V. Dzyublyk, T.A. Aleksandrina, O.V. Kukalo

Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education

The paper presents novel innovative methods of teaching of counseling and testing on HIV issues during improvement course «Counseling and testing for HIV infection with the use of rapid tests» at the Department of Virology of the Shupyk NMAPE. The innovation of the approach is in combination of psychological and applied techniques (counseling and testing) also as the introduction of interactive teaching methods. The techniques optimize the opportunities for acquiring knowledge and the formation of special practical skills, primarily among specialists of general practice of family medicine, which is relevant due to decentralization of health care system services.

**Key words:** interactive teaching methods, HIV infection, counseling and testing.

УДК: 616.988-02-076/.078:578.8.07

*І.В. Дзюблик, С.О. Соловйов, О.В. Ковалюк, О.П. Трохименко*

**ОПЕРАЦІЙНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЕФЕКТИВНОСТІ СУЧАСНИХ  
ТЕСТІВ В ЕТІОЛОГІЧНІЙ ДІАГНОСТИЦІ ВІРУСНИХ ІНФЕКЦІЙ ТА ЇХ  
ІНТЕРПРЕТАЦІЯ**

*Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, м. Київ, Україна*

*Інновації останніх років в етіологічній діагностиці вірусних захворювань показали позитивні діагностичні та клінічні результати та мають важливе значення для вдосконалення системи охорони здоров'я. Операційні характеристики ефективності лабораторних тестів засновані на статистичному аналізі масивів даних клініко-лабораторних досліджень. Проте, досі залишається незрозумілими для практичного вірусолога деякі аспекти інтерпретації операційних характеристик ефективності діагностичних тестів та їх взаємозв'язок. В*

*роботі наведена інтерпретація та принципи визначення операційних характеристик ефективності лабораторних тестів для етіологічної діагностики вірусних інфекцій. Наведені практичні приклади їх розрахунку для діагностичних тестів як з якісним, так і з кількісним форматом результату.*

**Ключові слова:** етіологічна діагностика, вірусна інфекція, чутливість, специфічність, ефективність

**С**ьогодні існуючий попит на медичні технології для діагностики та лікування вірусних захворювань в

значній мірі обумовлений прагненням якомога раніше виявити та мінімізувати наслідки наявної вірусної інфекції. Значна частина такого попиту на медичну допомогу залежить від проведення лабораторних досліджень. Поряд із витратами на інструментальні методи дослідження, загальноклінічні та біохімічні дослідження, етіологічна діагностика може бути дуже затратною і разом вони становлять значний відсоток витрат на охорону здоров'я [1-4]

Інновації останніх років в етіологічній діагностиці вірусних захворювань, серед яких молекулярно-біологічні технології, технології на основі імунохроматографічного аналізу, використання біочипів та інші, показали позитивні діагностичні та клінічні результати та мають важливе значення для вдосконалення системи охорони здоров'я. Чітке та обґрунтоване визначення етіологічних агентів вірусних захворювань стало невід'ємною частиною поліпшення якості доказової бази медичних втручань, результатів лікування та підвищення працездатності пацієнтів [5].

Критерії ефективності лабораторних тестів – їх операційні характеристики: чутливість, специфічність та багато інших показників засновані на статистичному аналізі масивів даних клініко-лабораторних досліджень. Статистичний аналіз в етіологічній діагностиці вірусних інфекцій та в лабораторній медицині в цілому є одним з інструментів аналізу експериментальних даних, а також мовою, якою виражаються результати досліджень. Проте, досі залишається незрозумілими для практичного вірусолога деякі аспекти інтерпретації операційних характеристик ефективності діагностичних тестів та їх взаємозв'язок.

**Операційні характеристики в етіологічній діагностиці вірусних інфекцій**

Оцінка ефективності різних діагностичних технологій спирається на декілька операційних характеристик, заснованих на статистичному аналізі та об'єднаних в три групи, що визначають діагностичну або аналітичну точність, клінічну точність та клінічну корисність (табл. 1). [6]

До основних операційних характеристик, які визначають діагностичну точність лабораторного тесту, відносяться:

- *діагностична чутливість (Se, sensitivity),*
- *діагностична специфічність (Sp, specificity).*
- *точність (Ac, accuracy).*

Для клінічної точності важливими операційними характеристиками є:

- *діагностичний спектр вірусної інфекції (p),*
- *позитивна прогностична цінність (positive predictive value, PPV),*
- *негативна прогностична цінність (negative predictive value, NPV).*

Простим інструментом для визначення операційних характеристик лабораторних тестів є спряжена таблиця, в якій можливі результати етіологічної діагностики (позитивний або негативний) у вибірці відповідають реальній наявності або відсутності етіологічного агенту (табл. 2).

Визначення та позначення: a – кількість дійснопозитивних результатів діагностики;

b – кількість хибнопозитивних результатів діагностики;

c – кількість хибнонегативних результатів діагностики;

d – кількість дійснонегативних результатів діагностики;

a/n – частка виявлення позитивних зразків;

**Таблиця 1.** Операційні характеристики етіологічної діагностики вірусних захворювань

Діагностична точність	Клінічна точність	Клінічна корисність (клінічна ефективність)
<i>Визначення:</i> Здатність лабораторного тесту точно і надійно визначити етіологічний агент захворювання, його штаму або генотип	<i>Визначення:</i> Здатність лабораторного тесту виявляти і прогнозувати патологічні стани, що пов'язані з етіологічним агентом захворювання та значенням діагностики для прийняття лікувальних рішень.	<i>Визначення:</i> Баланс витрат та вигід, пов'язаних із використанням лабораторного тесту в рутинній клінічній практиці; корисність і цінність інформації, яку надає етіологічна діагностика
<i>Операційні характеристики:</i> • Діагностична чутливість • Діагностична специфічність • Точність	<i>Операційні характеристики:</i> • Діагностичний спектр • Позитивна прогностична цінність • Негативна прогностична цінність	<i>Операційні характеристики:</i> • Проміжні та кінцеві результати терапії



**Таблиця 2.** Відповідність результатів діагностики наявності етіологічного агенту

Результат етіологічної діагностики	Етіологічний агент		Сума
	наявний	відсутній	
позитивний	a	b	a+b
негативний	c	d	c+d
Всього	a+c	b+d	n=a+d+c+d

$(a + b)/n$  - частка позитивних результатів діагностики;

$(a+c)/n$  – діагностичний спектр (p);

$a/(a+c)$  - чутливість діагностичного тесту (Se);

$d/(b+d)$  – специфічність діагностичного тесту (Sp);

$(a+d)/n$  – точність діагностики (Ac);

$a/(a+b)$  – позитивна прогностична цінність (PPV);

$d/(c+d)$  – негативна прогностична цінність (NPV).

Визначальною цінністю етіологічної діагностики вірусних інфекцій є отримання даних про наявність або відсутність етіологічного агента для прийняття подальших лікувальних або профілактичних рішень. Високий рівень операційних характеристик лабораторного тесту є необхідним для забезпечення якості результатів етіологічної діагностики. Діагностичні тести мають забезпечувати високу точність, відтворюваність та надійність. Точність, що є ступенем спорідненості результатів діагностики в порівнянні з еталонним «золотим стандартом», включає в себе діагностичну чутливість та специфічність. Таким чином, точність показує, скільки всього правильних результатів буде отримано при використанні певного діагностичного тесту для певної вибірки клінічних зразків. Точність діагностичного тесту залежить від діагностичної технології, на якій він заснований, та наявного відповідного лабораторного обладнання.

Під діагностичною чутливістю лабораторного тесту розуміють показник, який характеризує здатність тесту давати максимальну кількість дійснопозитивних результатів, а під діагностичною специфічністю - здатність тесту визначати тільки той збудник, для визначення якого він призначений, що характеризується мінімальною кількістю хибнопозитивних результатів. Іншими словами чутливість тесту - це ймовірність дійснопозитивного результату етіологічної діагностики при дослідженні усіх позитивних зразків, а специфічність тесту - ймовірність дійснонегативного результату при дослідженні усіх негативних зразків. Чутливість харак-

теризує, таким чином, дискримінаційну здатність тесту виявляти вірусний збудник, а специфічність – підтверджувати його відсутність. Відтворюваність є характеристикою того, що дослідження з використанням одного й того ж лабораторного тесту будуть давати ті ж самі, або подібні результати (рис. 1).

Показник	Немає помилок	Рандомізовані (випадкові) помилки	Систематичні помилки
Влучність в "мішень"			
Точність	дуже добра	задовільна	погана
Відтворюваність	добра	погана	дуже добра

**Рисунок 1.** Наочна ілюстрація точності та відтворюваності діагностичних тестів

Надійність визначає стійкість результатів етіологічної діагностики до незначних змін на преаналітичному або аналітичному етапах [7, 8].

Коефіцієнт варіації (CV) використовують для перевірки відтворюваності діагностичного методу при проведенні внутрішньолaboratorного контролю якості етіологічної діагностики [9]. Це безрозмірна величина, яка визначає величину варіації (середнє відхилення) на одиницю середнього значення, тобто:

$$CV = \frac{S}{\bar{x}} \cdot 100\% \quad (1)$$

$$S = \sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{n-1}} \quad (2)$$

де S – середньоквадратичне відхилення;

$\bar{x}$  – середнє значення діагностичного маркеру;

n – кількість вимірювань.

**Клінічна точність** визначає здатність лабораторного тесту виявляти інфекційне захворювання або прогнозувати його ймовірність, ґрунтуючись на результатах етіологічної діагностики. Вона ґрунтується на клінічній чутливості та специфічності з урахуванням діагностичної точності, діагностичного спектру, а також позитивної та негативної прогностичної цінності етіологічної діагностики.

**Клінічна чутливість** визначається часткою осіб з вірусним захворюванням, для яких результати етіологічної діагностики вказують його наявність. Laboratorні тести з високою клінічною чутливістю корисні для «виключення» наявного захворювання, якщо особа має

негативний результат діагностики.

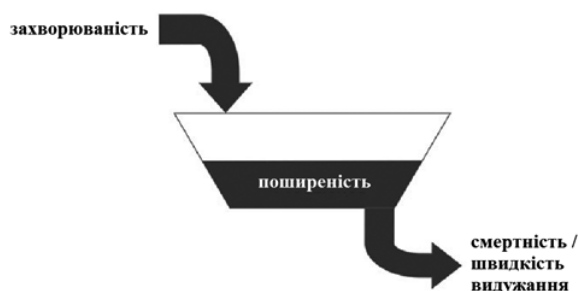
**Клінічна специфічність** визначається часткою осіб без вірусного захворювання але зі схожими клінічними проявами, для яких результати діагностики вказують на відсутність вірусного агента та захворювання в цілому. Лабораторні тести з високою клінічною специфічністю є корисними для ефективного виявлення осіб з вірусним захворюванням.

При аналізі діагностичних технологій вірусних інфекцій під діагностичним спектром розуміється частота або ймовірність виявлення вірусного агента, який може виявити певний тест, серед усього етіологічного спектру вірусних збудників, виявлених серед осіб зі схожими симптомами. Так, діагностичним спектром певного лабораторного тесту або тест-системи, визначеного для певного періоду, може бути показник захворюваності, який визначається як співвідношення кількості випадків вірусної інфекції до всього населення.

Захворюваність представляє собою потік нових хворих осіб на кожні 100 тисяч населення за певний проміжок часу. Накопичення хворих осіб визначає поширеність захворювання і пропорційно пов'язане із захворюваністю через середню тривалість захворювання за незмінності всіх інших умов:

$$\text{Середня тривалість захворювання} = \frac{\text{Поширеність}}{\text{Захворюваність}} \quad (3)$$

Фізичною ілюстрацією цього може стати співвідношення між об'ємом рідини в резервуарі і швидкістю потоку рідини в одиницю часу. Таке відношення дорівнює середньому часу перебування молекули рідини в резервуарі (рис. 2) [10].



**Рисунок 2.** Схематичне уявлення про поширеність та захворюваність

Гострі вірусні захворювання, такі як грип, мають коротку середню тривалість, тому для них показник захворюваності протягом одного року є набагато вищим, ніж рівень поширеності, визначений за той самий період.

Поширеність вірусної інфекції також називають його апіорною ймовірністю, яку визначають за ретроспективними даними, з особистого досвіду або більш загальних літературних джерел. Інколи в медичній літературі також використовується термін ризик і вказує на ймовірність вірусної інфекції, але зазвичай цей термін пов'язаний із невизначеністю в економіці, яка співвідноситься із ймовірністю настання можливих результатів.

Для правильного розуміння діагностичної ефективності лабораторного дослідження важливу роль відіграють критерії апостеріорної ймовірності – позитивна або негативна прогностична цінність. Саме ці критерії показують, якою є ймовірність наявності або його відсутності вірусної інфекції при відомому результаті етіологічної діагностики. Легко зрозуміти, що апостеріорні показники мають більше значення, ніж апіорні.

Позитивна прогностична цінність (ППЦ) діагностичного тесту визначається ймовірністю того, що особа з позитивним результатом діагностики має вірусну інфекцію, для виявлення збудника якої використовується цей тест.

**Негативна прогностична цінність (НПЦ)** визначається ймовірністю того, що особа з негативним результатом діагностики дійсно не має вірусної інфекції.

Прогностичні цінності лабораторного тесту (ймовірності наявності або відсутності вірусного збудника залежно від результату діагностики) представляють собою компроміс між клінічною чутливістю та клінічною специфічністю. ППЦ і НПЦ залежать не тільки від чутливості і специфічності, але і від поширеності інфекційного агента в досліджуваній популяції, а також від змін в структурі захворюваності з часом. ППЦ та НПЦ не є постійними операційними характеристиками лабораторного тесту. Наприклад, якщо вірусна інфекція дуже рідко зустрічається в популяції, навіть лабораторні тести з високими чутливістю та специфічністю можуть мати низьку ППЦ, надаючи більше хибнопозитивних, ніж хибнонегативних результатів [11]. У такому випадку без додаткової інформації не можливо в повній мірі оцінити межі прогностичної цінності лабораторного тесту,

та існує ризик переоцінки ймовірності вірусної інфекції у пацієнтів з позитивним результатом діагностики [12].

Чим більш чутливим є лабораторний тест, тим вищою є його негативна прогностична цінність (тобто зростає впевненість лікаря в тому, що негативні результати діагностики відкидають наявність вірусної інфекції). Навпаки, чим лабораторний тест є більш специфічним, тим вищою є його позитивна прогностична цінність, а лікар може з більшою впевненістю вважати, що позитивні результати діагностики підтверджують апріорний діагноз. Оскільки поширеність вірусної інфекції впливає на прогностичну цінність діагностичного методу, остання неминуче залежить і від умов його використання. Якщо позитивні результати навіть високоспецифічного методу діагностики отримані в популяції з низькою ймовірністю інфекції, то вони виявляться переважно хибнопозитивними.

Абсолютні значення результатів етіологічної діагностики (табл. 2) можна замінити відносними частотами або ймовірностями, при чому сума ймовірностей відсутності або наявності вірусної інфекції як несумісних подій дорівнює одиниці (табл. 3).

За теоремою Байєса прогностична цінність залежить від поширеності вірусного збудника, чутливості і специфічності діагностичного тесту [13]. Чим вищою є поширеність вірусної інфекції в популяції, тим вищою є позитивна і тим нижчою є негативна прогностична цінність діагностичного тесту.

**Таблиця 3.** Відповідність результатів діагностики наявності етіологічного агенту

Результат етіологічної діагностики	Етіологічний агент		Сума
	наявний	відсутній	
позитивний	$p \cdot Se$	$(1-p) \cdot (1-Sp)$	$p \cdot Se + (1-p) \cdot (1-Sp)$
негативний	$p \cdot (1-Se)$	$(1-p) \cdot Sp$	$p \cdot (1-Se) + (1-p) \cdot Sp$
Всього	$p$	$1-p$	1

**Визначення та позначення:**

- $p$  – діагностичний спектр;
- $Se$  – діагностична чутливість або частка дійснопозитивних результатів діагностики серед всіх випадків захворювання;
- $(1 - Se)$  – частка хибнонегативних результатів діагно-

тики серед всіх випадків захворювання;

- $Sp$  – діагностична специфічність або частка дійснонегативних результатів діагностики серед всіх випадків відсутності захворювання;
- $(1 - Sp)$  – частка хибнопозитивних результатів діагностики серед всіх випадків відсутності захворювання.

Відповідно до табл. 3 значення ППЦ (PPV) та НПЦ (NPV) дорівнюватимуть:

$$PPV = (p \cdot Se) / (p \cdot Se + (1 - p) \cdot (1 - Sp)) \quad (4)$$

$$NPV = ((1 - p) \cdot Sp) / (p \cdot (1 - Se) + (1 - p) \cdot Sp) \quad (5)$$

Приклад використання швидких тестів (ШТ) для діагностики грипу демонструє варіювання значень ППЦ та НПЦ в залежності від поширеності збудника в популяції. Взаємозв'язок між чутливістю, специфічністю і прогностичною цінністю можна проілюструвати на прикладі використання ШТ для діагностики грипу, як інфекції, захворюваність якої коливається від низьких до максимальних значень протягом сезону [14]. Існує декілька типів діагностичних технологій, які допомагають виявити вірус грипу, в тому числі ШТ на основі імунохроматографічного аналізу, що використовуються лікарями в клінічній практиці, та молекулярно-біологічні дослідження на основі полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) в режимі реального часу, які, як правило, мають високу специфічність [15, 16]. Проведені дослідження в США оцінили ППЦ та НПЦ швидких тестів з чутливістю 70% і специфічністю 90%, використовуючи шестирічні середні щотижневі рівні захворюваності на грип. Протягом сезону грипу, ППЦ таких тестів коливалася від 17% при низькій поширеності збудника до 71% в сезон, в той час як НПЦ зменшувалась з 99% в період низької поширеності до 89% при її збільшенні [17].

Клінічна точність може змінюватися в залежності від поширеності вірусної інфекції в досліджуваній популяції, змін в структурі захворюваності з часом, а також інших факторів, наприклад, віку, раси та етнічної приналежності, тяжкості захворювання та наявності супутніх захворювань. Для багатьох інфекцій у пацієнтів з тяжкою формою захворювання, більш імовірно, що результат діагностики буде позитивним, ніж у пацієнтів з легкою формою захворювання, а також частіше буде визначено негативний результат діагностики у пацієнтів із супутніми захворюваннями [18].

Ускладнюючим фактором при вивченні впливу індивідуальних особливостей пацієнта на клінічну точність діагностики є відсутність інформації, корисної

для проведення стратифікації популяції. Доказова база характеристик пацієнтів може покращити ефективність використання діагностичних тестів, а також поліпшити клінічні настанови для окремих підгруп пацієнтів.

**Клінічна корисність** пов'язана з доказами того, що використання етіологічної діагностики призведе до поліпшення клінічних результатів етіотропної терапії для пацієнта. Вона включає в себе ефективність (корисність в реальних клінічних умовах) або дієвість (корисність в контрольованих умовах, таких як клінічні дослідження) та баланс витрат та вигод, пов'язаних з використанням лабораторного тесту в клінічній практиці [19]. Лабораторні тести з певною клінічною корисністю дають позитивні або негативні результати, які інтерпретуються як інформація, яка є цінною для лікаря при прийнятті рішень про лікування пацієнта з вірусним захворюванням [8, 20]. Результати етіологічної діагностики забезпечують певну клінічну корисність, яка варіюється залежно від захворюваності, ефективності терапії, чутливості та специфічності діагностичного тесту [21].

Використання будь-якої етіологічної діагностики знаходиться під суттєвим впливом залежності діагностичної точності від рівня поширеності вірусної інфекції у досліджуваній популяції, оскільки діагностична специфічність завжди зменшується, а діагностична чутливість завжди зростає зі збільшенням поширеності такої інфекції. Іншими словами, якщо враховувати певну діагностичну точність, зростання поширеності вірусної інфекції сприяє прийняттю гіпотези про наявність вірусного агента, а не його відсутність. Навпаки, повторювальні діагностичні дослідження породжують протилежну проблему, оскільки діагностична специфічність завжди зростає, а діагностична чутливість завжди зменшується із зменшенням частоти виявлення вірусу.

Цей ефект “розведення” виникає через те, що відносно велика кількість хибнопозитивних результатів (FP або c) значно “розбавляє” відносно невелику кількість дійснопозитивних результатів етіологічної діагностики (TP або a), тоді як лише невелика кількість хибнонегативних результатів (FN або b) незначно “розбавляє” велику кількість дійснонегативних результатів діагностики (TN або d) (рис. 3).

В такому випадку ймовірність виключення наявності вірусної інфекції за негативним результатом діагностики зазвичай є набагато вищою, ніж ймовірність діагностування вірусної інфекції за позитивним резуль-

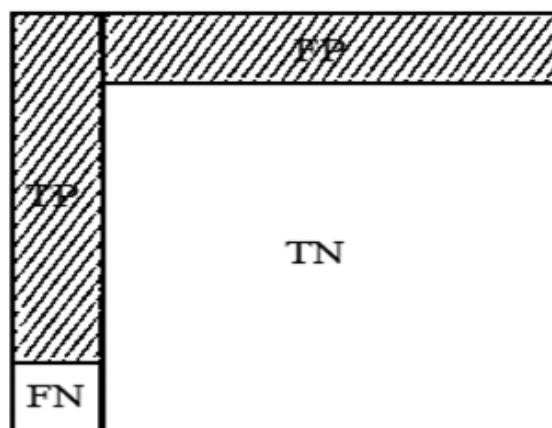


Рисунок 3. Ефект “розведення”

татом тесту. Іншими словами, зниження рівня поширеності сприяє виключенню, а не підтвердженню присутності вірусного агента. Щоб уникнути таких небажаних наслідків можливо розширити діапазон специфічності тестів на основі наступного рівняння [22]:

$$0.95 = PN \quad (6)$$

де N - кількість незалежних досліджень; P - ймовірність дійснонегативного результату діагностики. Відповідно, якщо проведено лише одне дослідження здорової особи, ймовірність дійснонегативного результату для одного тесту повинно становити 0.95; якщо проводяться 20 послідовних тестувань, то ймовірність дійснонегативного результату для одного тесту повинно становити 0,9974.

Перераховані вище операційні характеристики діагностичних тестів базуються на дихотомічному принципі: так або ні. Однак добре відомо, що на практиці не завжди вдається так класифікувати результати етіологічної діагностики. У ряді випадків фахівці використовують інші висновки, такі як, наприклад, «найімовірніше, що вірусна інфекція присутня» або «найімовірніше, що вірусна інфекція відсутня», та визначаються іншою операційною характеристикою - відношенням правдоподібності [23, 24].

Відношення правдоподібності результатів діагностичного тесту (likelihood ratio, LR) – це ймовірність того, що результат діагностичного тесту буде очікуваним для осіб із вірусною інфекцією ніж без неї. Інакше відношення правдоподібності показує, у скільки разів вищою (нижчою) є ймовірність отримання певного результату тесту серед позитивних (інфікованих) ніж негативних осіб. Визначення відношення правдоподібності для позитивного (LR+) і негативного результату (LR-) про-

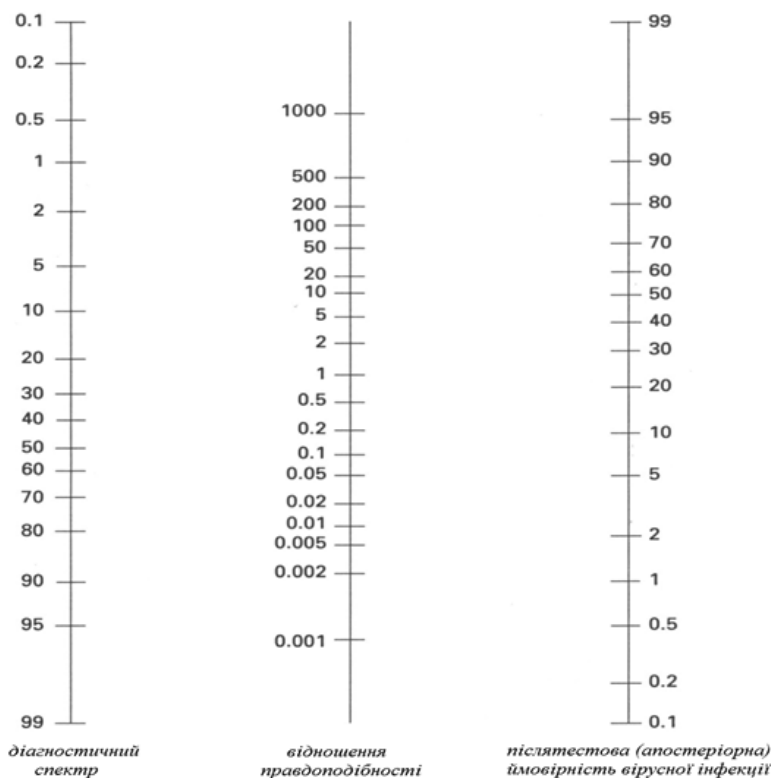
водиться на основі табличних даних (табл. 2) або значень чутливості і специфічності діагностичного тесту за формулами:

$$LR^+ = \frac{a/(a+c)}{b/(b+d)} = \frac{Se}{1-Sp} \quad (7)$$

$$LR^- = \frac{c/(a+c)}{d/(b+d)} = \frac{1-Se}{Sp} \quad (8)$$

Якщо відношення правдоподібності позитивного результату тесту дорівнює одиниці, то ймовірність позитивного результату тесту для позитивної особи така сама як і для негативної. Якщо цей показник, наприклад, дорівнює п'яти, то ймовірність позитивного тесту для позитивної особи в п'ять разів вища, ніж ймовірність того ж результату діагностики для негативної особи.

У лабораторній діагностиці широко використовують прогнозування на основі номограми Фегана - графічного інструменту, який дозволяє визначити апостеріорну ймовірність результату діагностики [25]. Номограма Фегана дозволяє розрахувати післятестову ймовірність вірусної інфекції з використанням значень діагностичного спектру та позитивного відношення правдоподібності (рис. 4).



**Рисунок 4.** Номограма Фегана. Проведення прямої лінії між передтестовою ймовірністю вірусної інфекції (діагностичним спектром) та позитивним відношенням правдоподібності визначає післятестову ймовірність вірусної інфекції

Відношення правдоподібності використовують для оцінки застосовності діагностичного тесту. Перевага цього показника полягає в тому, що він допомагає вийти за рамки бінарної класифікації результатів діагностики (так/ні), яку зазвичай використовують в діагностичній лабораторії.

За умови комбінації двох діагностичних тестів, які мають на меті однакові діагностичні спостереження (діагностичні спектри однакові), повинен бути визначений критерій оцінки результатів такої комбінованої діагностичної стратегії, який може бути кон'юнктивним або диз'юнктивним. Кон'юнктивний критерій передбачає, що результат використання комбінованої діагностичної стратегії є позитивним, якщо результати обох тестів є позитивними і негативним в усіх інших випадках. Диз'юнктивний критерій передбачає, що результат використання комбінованої діагностичної стратегії є негативним, якщо результати обох використовуваних тестів є негативними, і позитивний у всіх інших випадках. Кон'юнктивний критерій визначає результат позитивним, якщо результати обох тестів є позитивними, у той час як диз'юнктивний критерій визначає результат

негативним, тільки у випадку обох негативних результатів діагностики (табл. 4).

З огляду на комбіновану стратегію послідовного використання діагностичних тестів при використанні кон'юнктивного критерію, другий діагностичний тест використовується, тільки якщо перший тест дає позитивний результат. При використанні диз'юнктивного критерію, другий діагностичний тест використовується тільки у випадку негативного результату першого тесту.

При виборі кон'юнктивного критерію прийняття рішень використання комбінованої стратегії діагностики призводить до зниження чутливості в порівнянні з використанням окремих тестів. Це відбувається тому, що деякі з дійснопозитивних результатів першого тесту стають хибнонегативними при використанні другого тесту. З іншого боку, загальна специфічність збільшується при комбінуванні двох тестів, оскільки частина хибнопозитивних результатів

першого тесту стають дійснонегативними за результатами другого тесту.

При виборі диз'юнктивного критерію прийняття рішень, комбінація тестів підвищує загальну чутливість і знижує загальну специфічність. Специфічність зменшується, оскільки деякі з дійснонегативних результатів першого тесту стають хибнопозитивними за результатами другого тесту. Чутливість підвищується в порівнянні з окремими тестами, оскільки використання другого тесту додатково виявить дійснопозитивні випадки.

Комбінування діагностичних тестів підвищує дискримінаційну здатність тесту для пацієнтів з вірусним захворюванням від інших осіб зі схожими симптомами у порівнянні з використанням окремих тестів, за умови, що обидва тести окремо надають більше інформації, ніж просто випадкове виявлення вірусного захворювання, тобто  $Se_1 + Sp_1 > 1$  та  $LR_1^+ > 1$ ,  $LR_1^- \geq 0$  для  $i=1,2$ . При кон'юнктивному критерії позитивне відношення правдоподібності зростає ( $LR_1^+ > 1, i=1,2$  та  $LR_1^+ \cdot LR_2^+ > LR_1^+$ ), у той час як при диз'юнктивному критерії - негативне відношення правдоподібності зменшується ( $0 \leq LR_1^- < 1, i=1,2$ , та  $LR_1^- \cdot LR_2^- < LR_1^-$ ) (табл. 5).

Стратегія діагностики починається з використання першого тесту, результати якого дають дві альтернативи подальших дій, з певною очікуваною корисністю:

1. застосування другого тесту, якщо результат першого тесту був позитивним
2. застосування другого тесту якщо результат першого тесту буде негативним

Очікуване значення корисності обох тестів не залежить від послідовності їх застосування. Таким чином,

важливим є рішення про те не який тест використовувати першим, а, скоріше, за якою альтернативою продовжити діагностику на другому етапі, що рівнозначно вибору критерію прийняття рішень.

При диз'юнктивному критерію прийняті рішення, стратегія послідовної діагностики зменшує загальну специфічність та збільшує загальну чутливість в порівнянні з використанням окремих тестів: ймовірність дійснопозитивних результатів діагностики збільшується, а ймовірність хибнонегативних випадків діагностики зменшується. У порівнянні з окремими тестами, це призводить до збільшення загальної корисності. В той же час зниження специфічності дає більш високу ймовірність хибнопозитивних результатів і більш низьку ймовірність дійснонегативних результатів, що призводить до зменшення загальної корисності. Отже, вибір оптимальної стратегії діагностики з використанням одного або комбінації двох тестів, а також вибір критерію залежить від показника поширеності вірусного захворювання, а також від відносної дискримінаційної здатності лабораторних тестів.

Оскільки операційні характеристики діагностичних тестів зазвичай отримують на основі досліджень великої кількості клінічних зразків, то іноді наводять їх середнє значення, але й довірчі інтервали (ДІ) [26, 27]. Такі характеристики зазвичай задаються як з урахуванням їх 95% ДІ (табл. 6), що визначається як:

$$X \pm 1.96 \sqrt{\frac{X(1-X)}{N}} \quad (9)$$

де  $X$  – середнє значення показника ( $p$ ,  $Se$  або  $Sp$ ),  
 $N$  – кількість досліджень.

**Таблиця 4.** Кон'юнктивний та диз'юнктивний критерії обліку результатів комбінації

	Результат першого тесту	Критерій прийняття рішень			
		Результат другого тесту			
		Кон'юнктивний		Диз'юнктивний	
		позитивний	негативний	позитивний	негативний
Загальний результат	позитивний	позитивний	негативний	позитивний	негативний
	негативний	позитивний	негативний	позитивний	негативний

**Таблиця 5.** Чутливість, специфічність та відношення правдоподібності комбінованої діагностичної стратегії

Операційні характеристики	Критерій прийняття рішень	
	кон'юнктивний	диз'юнктивний
Чутливість	$Se_1 \cdot Se_2$	$1 - (1 - Se_1) \cdot (1 - Se_2)$
Специфічність	$1 - (1 - Sp_1) \cdot (1 - Sp_2)$	$Sp_1 \cdot Sp_2$
Відношення правдоподібності	$LR_1^+ \cdot LR_2^+$	$LR_1^- \cdot LR_2^-$

**Таблиця 6.** Визначення 95% ДІ основних операційних характеристик діагностичних тестів

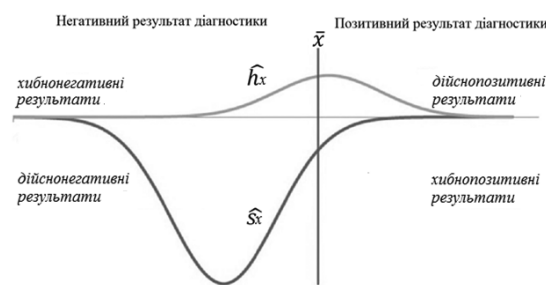
Параметр операційної характеристики	95% ДІ
Діагностична чутливість $Se$	$\pm 1.96 \times \sqrt{\frac{Se(1-Se)}{a+c}}$
Діагностична специфічність $Sp$	$\pm 1.96 \times \sqrt{\frac{Sp(1-Sp)}{b+d}}$
Діагностичний спектр $p$	$\pm 1.96 \times \sqrt{\frac{p(1-p)}{N}}$

Результати діагностики часто є безперервними та представляють вимірювання певного діагностичного маркеру, наприклад, оптичної густини при проведенні імуноферментного аналізу (ІФА). Розподіли значень маркеру для хворих і здорових осіб, в основному, перекриваються і, як наслідок, вимірювані величини не можуть бути інтерпретовані за бінарною класифікацією для точної ідентифікації хворих та здорових осіб. В такому випадку граничне значення маркеру повинно бути обрано для того, щоб точно інтерпретувати діагностичний результат.

Для того щоб оцінити діагностичну ефективність методу з урахуванням наслідків помилкових рішень, використовують характеристичну криву (Receiver Operating Characteristic Curve, ROC-curve), дії, що виконуються для її побудови - ROC-аналізом [28, 29].

Значення маркеру  $x$  для здорових  $\widehat{h}_x$  та хворих осіб  $\widehat{s}_x$  для певного діагностичного тесту представними певними розподілами ймовірності (рис. 5). Якщо  $x$  обрано як граничне значення діагностичного маркеру (cut-off), то правильно визначені випадки захворювання лежать праворуч. Сума ймовірностей всіх дійснопозитивних результатів, як частка всіх правильно визначених позитивних пацієнтів, відповідає чутливості тесту. Частка хибнонегативних результатів, тобто осіб, які є позитивними, але залишаються невиявлені тестом, лежать ліворуч від граничного значення  $\bar{x}$  та відповідають ймовірності  $(1 - Se)$ .

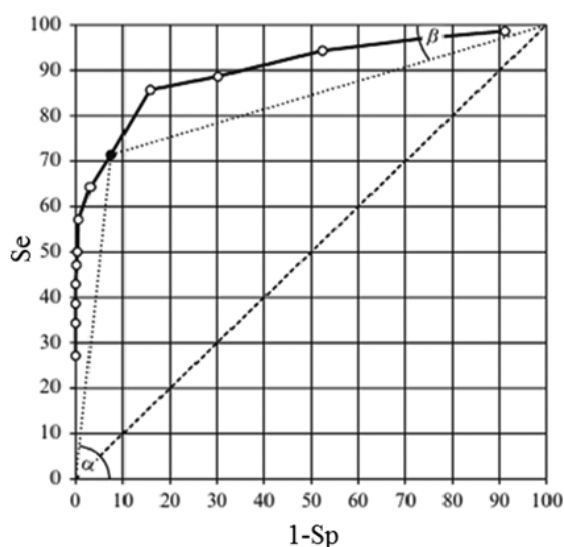
Для осіб без вірусної інфекції дійснонегативні результати діагностики лежать ліворуч від граничного значення  $\bar{x}$ , а хибнопозитивні результати – праворуч. Знову ж таки, частка дійсно виявлених результатів серед осіб без вірусної інфекції, лежить зліва від граничного значення визначає специфічність тесту, при чому, частка пацієнтів без вірусної інфекції, які хибно визначаються тестом як позитивні, дорівнює ймовірності  $(1 - Sp)$ .



**Рисунок 5.** Розподіли ймовірностей виявлення діагностичного маркеру  $x$  у осіб з вірусною інфекцією  $\widehat{h}_x$  та без неї  $\widehat{s}_x$

Вибір граничного значення діагностичного маркеру визначає чутливість і специфічність діагностичного тесту. При його зміщенні вправо знижується чутливість і збільшується специфічність тесту, при цьому зменшується кількість правильно виявлених осіб з вірусною інфекцією, але збільшується кількість правильно виявлених осіб без неї. Зсув граничного значення вліво збільшує чутливість та зменшує специфічність тесту: більше осіб з вірусною інфекцією визначатимуться правильно, в той же час більше пацієнтів без вірусної інфекції діагностуються не правильно.

Зв'язок між чутливістю і специфічністю характеризується кривою операційних характеристик або ROC-кривою (receiver operating characteristic), розробленою для використання в галузі машинобудування в 1950-х роках. Для кожного граничного значення  $\bar{x}$  розраховується відповідна пара:  $(1-Sp; Se)$ , яка відповідає певній точці ROC-кривої (рис. 6).



**Рисунок 6.** ROC-крива

Якщо значення  $\bar{x}$  збільшується, то зменшується чутливість, але зростає специфічність тесту. Проведена діагональ визначає точки в яких  $Se/(1 - Sp) = 1$ , або  $Se+Sp = 1$ . Діагностичний тест з такими характеристиками не має жодної інформаційної цінності: позитивний результат тесту не може краще виявляти вірусну інфекцію ( $LR^+=1$ ), а негативний – підтверджувати її відсутність ( $LR^-=1$ ), що еквівалентно тому, що апостеріорна ймовірність захворювання дорівнює його поширеності ( $p=PPV$ ).

ROC-крива для якісного тесту, таким чином, повинна лежати вище проведеної діагоналі. Зазначимо, що якщо провести лінію з лівого нижнього кута площини до будь-якої точки ROC-кривої, тангенс кута нахилу такої лінії ( $\tan\alpha$ ) дорівнює  $LR^+$  діагностичного тесту для певного граничного значення  $\bar{x}$  (рис.2.2). Відповідно, тангенс кута нахилу лінії, проведеної з правого верхнього кута площини до будь-якої точки ROC-кривої ( $\tan\beta$ ) дорівнює  $LR^-$  тесту. При просуванні вздовж ROC-кривої від лівого нижнього до правого верхнього кута площини, позитивне і негативне відношення правдоподібності зменшуються. Відповідно позитивна дискримінаційна здатність тесту знижується, а її негативна збільшується.

Кривизна ROC-кривої залежить від характеристики функції розподілу діагностичного маркера для осіб з вірусною інфекцією без неї. Дисперсія, асиметрія та перетин функцій розподілів при різних граничних значення  $\bar{x}$  призводить до різних значень чутливості і специфічності, визначаючи, таким чином, різні форми ROC-кривої.

Якщо чутливість та специфічність діагностичного тесту, мають однакову вагу, то оптимальне значення  $\bar{x}$  відповідає найближчій точці до лівого верхнього кута площини. В цій точці, загальна кількість хибних результатів є мінімальною, як і відстань від ROC-кривої до лівого верхнього кута площини, координати якого визначають безпомилковий діагностичний тест.

Оскільки ROC-крива відображає взаємозалежність хибнопозитивних та дійснопозитивних результатів, такий підхід дозволяє наочно зіставити діагностичну ефективність різних методів при виявленні однієї і тієї ж інфекції. Отримані таким чином дані зводять у таблиці і розраховують показники специфічності і чутливості, а потім будують ROC-криві і визначають площу під кривою. Площа під ROC-кривою (area under ROC-curve,

AUC) - це кількісний результат ROC-аналізу. Чим вищим є значення AUC, тим якіснішим є діагностичний тест, при цьому значення 0,5 відповідає непридатності обраного методу діагностики. Треба відзначити, що процес розрахунків трудомісткий, але за допомогою сучасних комп'ютерних технологій він істотно полегшується.

Однакова вага дійсно- та хибнопозитивних результатів, однак, зазвичай, є нетиповою. У клінічному контексті і, зокрема, у випадках важких інфекційних захворювань, хибнонегативний результат вважається більш важливим, ніж хибнопозитивний. В такому випадку компромісом може бути зниження специфічності тесту. Проте, якщо поширеність захворювання є невеликою, зниження специфічності призведе до багатьох хибнопозитивних результатів. В багатьох випадках буде необхідне дообстеження і таким чином більшим використанням ресурсів.

Вибір оптимального граничного значення, таким чином, вимагає компромісу між корисністю і вартістю для кожного діагностичного тесту з урахуванням поширеності захворюваності серед населення, що підлягає обстеженню.

Якщо чутливість і специфічність діагностичного тесту є однаково важливими, індекс Юдена (J) визначає його продуктивність, враховуючи граничне значення діагностичного маркера [30]. Індекс Юдена іноді використовується для визначення оптимального граничного значення діагностичного маркера  $\bar{x}$ :

$$J = \max(Se_{\bar{x}} + Sp_{\bar{x}} - 1) \quad (10)$$

$$\bar{x}_{opt} \rightarrow (1 - Sp; Se)_{opt}$$

Максимальне значення індексу Юдена дорівнює одиниці для ідеального тесту, а мінімальне дорівнює нулю, коли тест не має жодного діагностичного значення. Оптимальне граничне значення маркера визначається при  $Se = Sp - 1$ , тобто ймовірність хибнопозитивного результату ( $1 - Sp$ ) дорівнює нулю. Точка, що представляє таку комбінацію буде знаходитися в верхньому лівому кутку графіка. Чим ближчою є ROC-крива до цієї точки, тим краще визначається маркер, враховуючи, що чутливість і специфічність мають однакоке діагностичне значення.

Інформація, що може бути отримана з ROC-кривої, також може бути використана для вибору оптимального значення в залежності від пріоритету чутливості або специфічності для певної клінічної ситуації. Так, теоре-

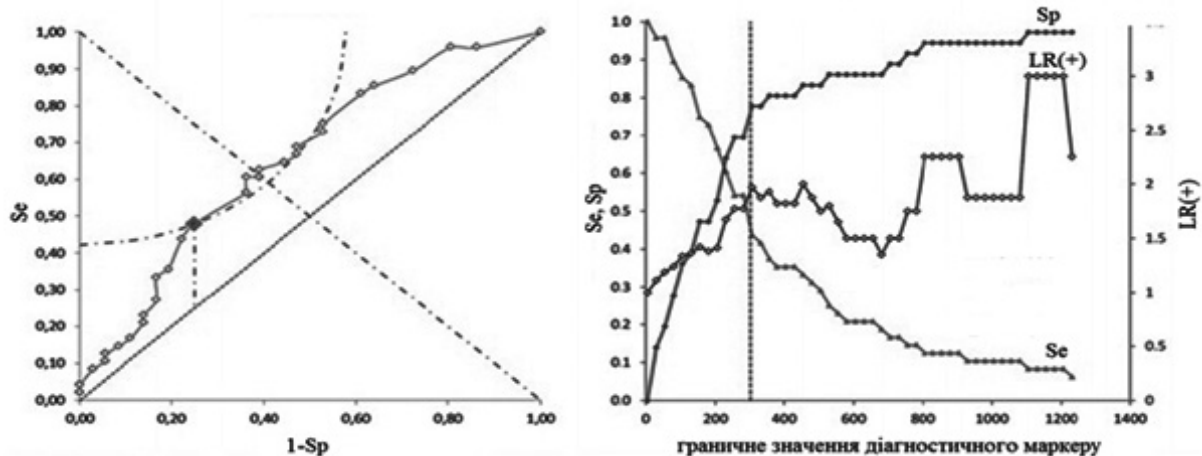


тична максимальна ефективність досягається при  $Se = Sp = 1$ , тобто, точка у верхньому лівому куті площини граничне значення  $\bar{x}$ , що відповідає мінімальній відстані  $d$  між потенційною оптимальною точкою ROC-кривої та точкою верхнього лівого кута.

$$d = \sqrt{(1 - Se)^2 + (1 - Sp)^2} \quad (11)$$

Графічно  $d$  представляє собою радіус кола, який є дотичною до ROC-кривої (рис. 6, ліворуч).

Криві залежності чутливості та специфічності від граничного значення діагностичного маркера (рис. 7, праворуч), є ще одним варіантом визначення зв'язку між ними, який є більш корисним інструментом для вибору і опису властивостей граничного значення маркера.



**Рисунок 7.** Визначення оптимального граничного значення діагностичного маркера. ліворуч: дотична окружність до ROC-кривої, проведена з верхнього лівого кута; праворуч: вертикальна лінія значення  $\bar{x}_{\text{opt}}$ .

**Визначення операційних характеристик діагностичних тестів на практиці.**

На наступних прикладах буде проілюстровано визначення операційних характеристик ефективності діагностичних тестів, які дають як якісний (так/ні) так і кількісний результат (наприклад, значення оптичної густини та інші).

**Діагностичні тести з якісним результатом**

В табл. 7 наведено результати використання двох умовних діагностичних тестів (діагностичний тест №1 та діагностичний тест №2) для виявлення збудника в контрольній панелі: 20 зразках (із заздалегідь відомим результатом) з результатом «так» або «ні». Відповідно, в кожному зразку обидва діагностичні тести дали результати, які або збігались, або не збігались з контролем.

Результати діагностики для першого і другого діагностичних тестів були зведені у відповідні таблиці (табл. 8 та табл. 9), аналогічні табл. 2 для подальшого розрахунку операційних характеристик ефективності.

Відповідно до цього було розраховано основні операційні характеристики для обох діагностичних тестів.

*Діагностичний тест №1*

- точність:  $Ac = (a+d)/n = (5+8)/20 = 0,65$  (65%);
- діагностична чутливість:  $Se = a/(a+c) = 5/(5+5) = 0,5$  (50%);
- діагностична специфічність:  $Sp = d/(b+d) = 8/(2+8) = 0,8$  (80%);

- позитивна прогностична цінність:  $PPV = a/(a+b) = 5/(5+2) = 0,71$  (71%);
- негативна прогностична цінність:  $NPV = d/(c+d) = 8/(5+8) = 0,61$  (61%);
- позитивне відношення правдоподібності:  $LR+ = (a/(a+c))/(b/(b+d)) = Se/(1-Sp) = 0,5/(1-0,8) = 2,5$ ;
- негативне відношення правдоподібності:  $LR- = (c/(a+c))/(d/(b+d)) = (1-Se)/Sp = (1-0,5)/(0,8) = 0,625$ .

*Діагностичний тест №2*

- точність:  $Ac = (a+d)/n = (7+7)/20 = 0,7$  (70%);
- діагностична чутливість:  $Se = a/(a+c) = 7/(7+3) = 0,7$  (70%);
- діагностична специфічність:  $Sp = d/(b+d) = 7/(3+7) = 0,7$  (70%);
- позитивна прогностична цінність:  $PPV = a/(a+b) = 7/(7+3) = 0,70$  (70%);

## ПІСЛЯДИПЛОМНА ОСВІТА

**Таблиця 7.** Результати використання двох діагностичних тестів з якісним результатом діагностики

№ зразка	Контроль (позитивний «+», негативний «-»)	Діагностичний тест № 1	Діагностичний тест № 2
1	+	+	+
2	+	-	+
3	+	-	+
4	+	+	+
5	+	+	-
6	+	-	+
7	+	+	-
8	+	-	+
9	+	+	-
10	+	-	+
11	-	-	-
12	-	-	-
13	-	-	+
14	-	-	-
15	-	-	+
16	-	-	-
17	-	+	-
18	-	-	+
19	-	+	-
20	-	-	-

**Таблиця 8.** Відповідність результатів етіологічної діагностики (діагностичний тест № 1) наявності або відсутності етіологічного агенту

Результат етіологічної діагностики (діагностичний тест №1)	Етіологічний агент		Сума
	наявний	відсутній	
Позитивний	5	2	7
Негативний	5	8	13
Всього	10	10	20

Відповідність результатів етіологічної діагностики (діагностичний тест № 2) наявності або відсутності етіологічного агенту

Результат етіологічної діагностики (діагностичний тест №2)	Етіологічний агент		Сума
	наявний	відсутній	
Позитивний	7	3	10
Негативний	3	7	10
Всього	10	10	20

- негативна прогностична цінність:  $NPV = d/(c+d) = 7/(3+7) = 0,70$  (70%);
  - позитивне відношення правдоподібності:  $LR+ = (a/(a+c))/(b/(b+d)) = Se/(1-Sp) = 0,7/(1-0,7) = 2,33$ ;
  - негативне відношення правдоподібності:  $LR- = (c/(a+c))/(d/(b+d)) = (1-Se)/Sp = (1-0,7)/(0,7) = 0,43$ .
- Отже, загальна точність виявлення етіологічного

агенту захворювання є вищою для першого діагностичного тесту. Підтвердженням цьому є графічний аналіз на основі номограми Фегана (рис. 8), яка ілюструє вищу післятестову ймовірність виявлення етіологічного агента вірусної інфекції після використання першого діагностичного тесту.

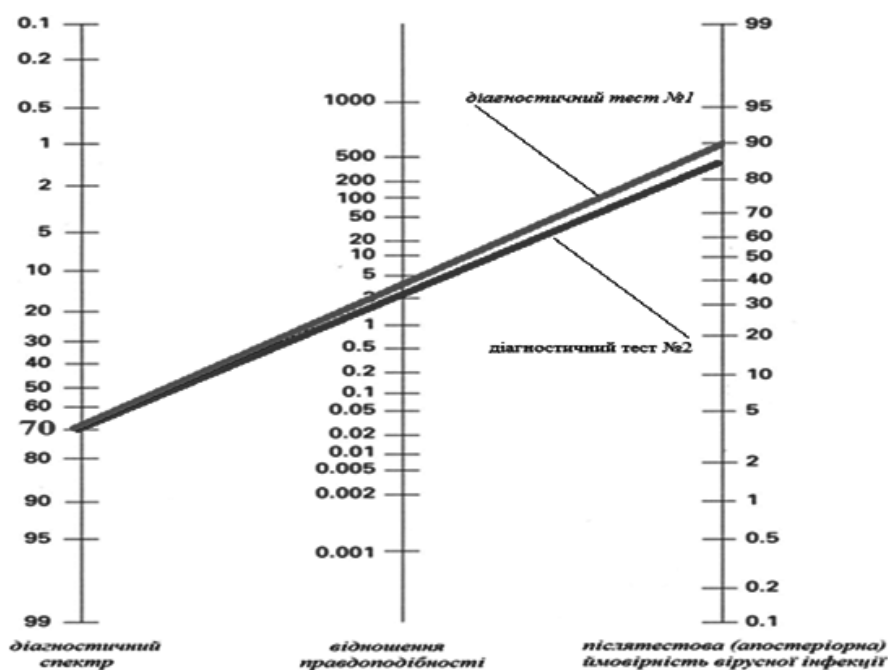


Рисунок 8. Номограма Фегана для обох діагностичних тестів

**Діагностичні тести з кількісним результатом**

Результати використання двох умовних діагностичних тестів (діагностичний тест №3 та діагностичний тест №4) для виявлення збудника в контрольній панелі:

20 зразках з кількісним результатом – наприклад, за оптичною густиною при використанні імуоферментного аналізу були порівняні із контрольною панеллю зразків із заздалегідь відомим результатом (табл. 8).

Таблиця 8. Результати використання двох діагностичних тестів з кількісним результатом діагностики

№ зразка	Контроль (позитивний «+», негативний «-»)	Значення діагностичного маркера (кількісний результат діагностики)	
		діагностичний тест №3	діагностичний тест №4
1	+	0,7	0,8
2	+	0,11	0,6
3	+	0,2	0,75
4	+	0,8	0,6
5	+	0,6	0,2
6	+	0,3	0,5
7	+	0,7	0,15
8	+	0,2	0,65
9	+	0,56	0,3
10	+	0,1	0,85
11	1	0,2	0,2
12	1	0,12	0,23
13	1	0,2	0,62
14	1	0,3	0,35
15	-	0,25	0,56
16	-	0,2	0,3
17	-	0,6	0,23
18	-	0,1	0,7
19	-	0,7	0,5
20	-	0	0,25

При варіюванні граничного значення діагностичного маркеру для кожного з діагностичних тестів перераховується спряжена таблиця (табл. 2) та розраховані від-

повідні пари діагностичної чутливості та специфічності, відстань (d) від ROC-кривої (формула 11) до лівого верхнього кута та індекс Юдена (формула 10) (табл. 9).

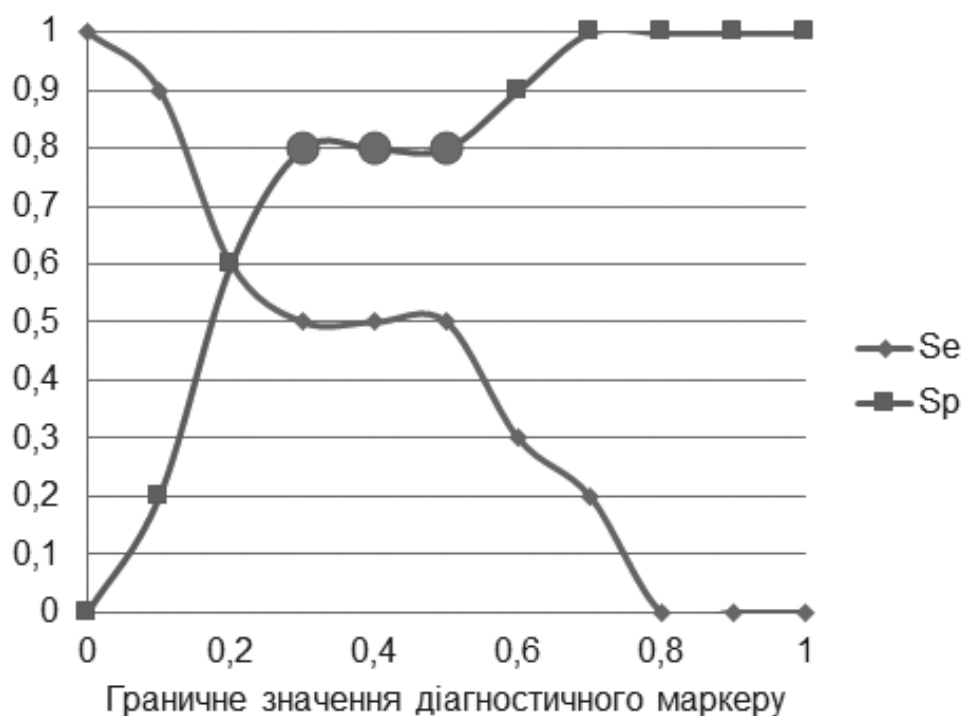
**Таблиця 9.** Діагностичні чутливість та специфічність, відстань від ROC-кривої та індекс Юдена для кожного діагностичного тесту

Граничне значення діагностичного маркеру	Діагностичний тест №3		Діагностичний тест №4		Діагностичний тест №3		Діагностичний тест №4		Діагностичний тест №3		Діагностичний тест №4	
	Se	Sp	Se	Sp	Se	1-Sp	Se	1-Sp	відстань d	Індекс Юдена J	відстань d	Індекс Юдена J
0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0
0,1	0,9	0,2	1	0	0,9	0,8	1	1	0,80622577	0,1	1	0
0,2	0,6	0,6	0,8	0,1	0,6	0,4	0,8	0,9	0,56568542	0,2	0,9219544	-0,1
0,3	0,5	0,8	0,7	0,5	0,5	0,2	0,7	0,5	0,53851648	0,3	0,5830952	0,2
0,4	0,5	0,8	0,7	0,6	0,5	0,2	0,7	0,4	0,53851648	0,3	0,5	0,3
0,5	0,5	0,8	0,6	0,7	0,5	0,2	0,6	0,3	0,53851648	0,3	0,5	0,3
0,6	0,3	0,9	0,4	0,8	0,3	0,1	0,4	0,2	0,70710678	0,2	0,6324555	0,2
0,7	0,2	1	0,3	1	0,2	0	0,3	0	0,8	0,2	0,7	0,3
0,8	0	1	0,1	1	0	0	0,1	0	1	0	0,9	0,1
0,9	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0
1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0

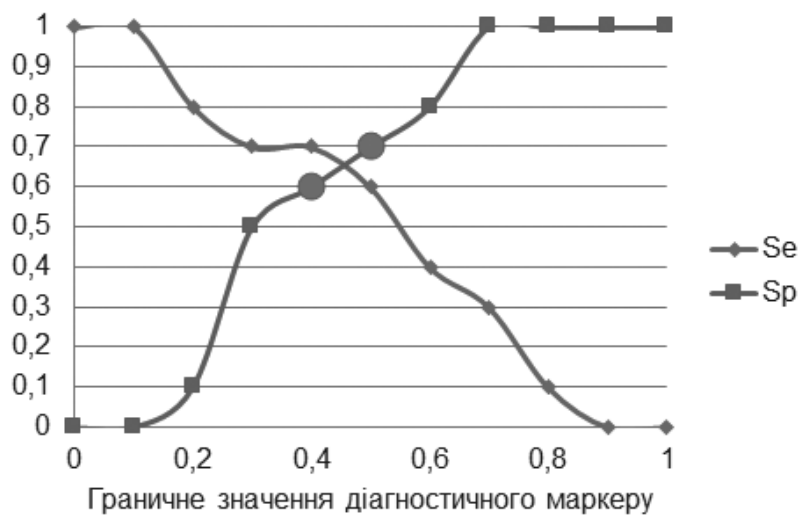
\*Примітка: оптимальні значення критеріїв виділені сірим кольором

Визначено, що за мінімальним значенням відстані d або максимальним значенням індексу Юдена для діагностичного тесту №3 оптимальне граничне значення

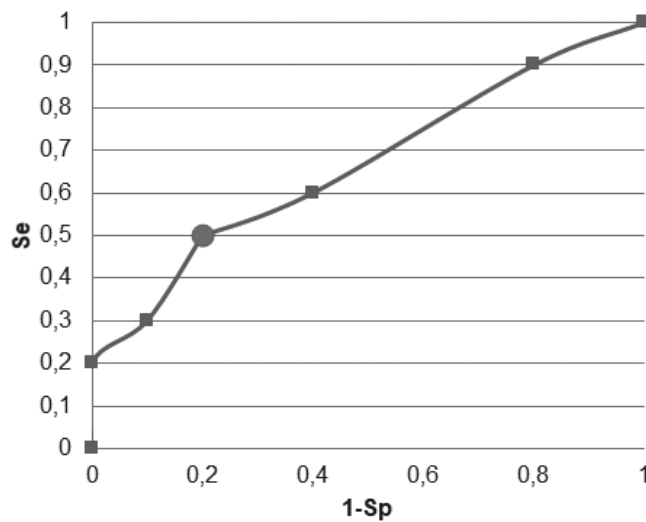
діагностичного маркеру дорівнює (0,3-0,5), а для діагностичного тесту №4 – (0,4-0,5), що проілюстровано за допомогою побудованих відповідних кривих (рис. 9-12).



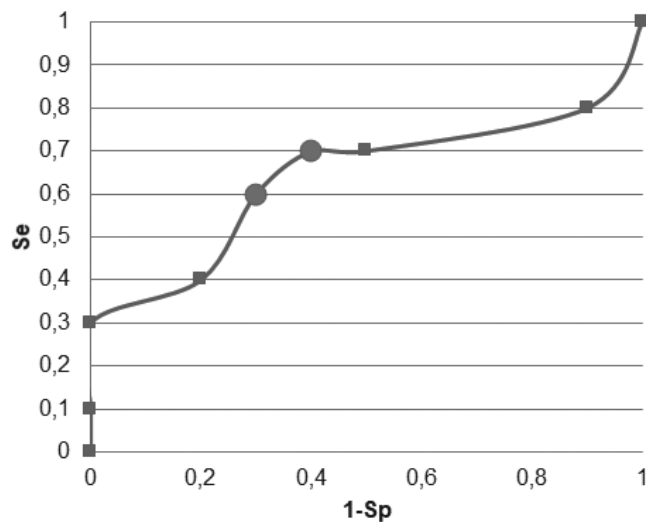
**Рисунок 9.** Залежність діагностичної чутливості та специфічності від граничного значення діагностичного маркеру (діагностичний тест №3)



**Рисунок 10.** Залежність діагностичної чутливості та специфічності від граничного значення діагностичного маркеру (діагностичний тест №4)



**Рисунок 11.** ROC-крива (діагностичний тест №3)



**Рисунок 12.** ROC-крива (діагностичний тест №4)

### Висновки

Діагностична ефективність лабораторного тесту є одним з ключових елементів прийняття рішень щодо необхідності подальшої діагностики, моніторингу та прогнозування розвитку вірусних захворювань. Статистичний аналіз сьогодні широко застосовується в діагностичних цілях, вирішенні класифікаційних завдань і пошуку нових закономірностей, для висування нових наукових гіпотез. Чутливість, специфічність, точність, відношення правдоподібності, ROC-крива та інші операційні характеристики - це статистичні показники ефективності використання певного діагностичного тесту. Ефективність прогнозування наявності вірусної інфекції або захворювання може бути поліпшена з

підвищенням цих характеристик, а отже поліпшується якість прийняття управлінських рішень в діагностиці та лікуванні пацієнта, що зменшує навантаженість на наявні ресурси охорони здоров'я.

В роботі наведена інтерпретація та принципи визначення операційних характеристик ефективності лабораторних тестів для етіологічної діагностики вірусних інфекцій. Наведені практичні приклади розрахунку операційних характеристик діагностичних тестів як з якісним, так і з кількісним форматом результату, що ставить на меті полегшення та удосконалення роботи лікарів та спеціалістів-вірусологів, завідуючих медичними лабораторіями тощо.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Дзюблик І.В. Порівняння результатів застосування методів полімеразної ланцюгової реакції та імуноферментного аналізу для діагностики норовірусної інфекції у дітей з ГКІ в Україні / І.В. Дзюблик, І.Ф. Самборська, І.Г. Костенко // Профілактична медицина.– №2(18).– 2012.– С. 41–45.
2. Дзюблик Я.А., Соловьев С.А., Дзюблик И.В. Экономическое обоснование целесообразности использования метода полимеразной цепной реакции для диагностики внебольничных вирусных инфекций нижних дыхательных путей // Молекулярная диагностика. Сб. трудов VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика-2014».– 18–20 марта 2014.– Т.1.– М.: ООО «Издательство МБА».– 2014.– С. 312–313.
3. Дзюблик І.В. Швидкі тести та їх місце в етіологічній діагностиці гострих кишкових вірусних інфекцій / І.В. Дзюблик, І.Ф. Самборська, С.О. Соловйов // Здоров'я суспільства.– 2013.– № 2.– С. 50–57.
4. Швидкі ІХА-тести для етіологічної діагностики інфекційних захворювань людини. Методичні рекомендації / І.В. Дзюблик, О.В. Обертинська, Я.О. Дзюблик [та ін.].– К., 2013.– 24 с.
5. Негоспітальні інфекції нижніх дихальних шляхів: Монографія / Дзюблик Я.О.– Вінниця: ТОВ “Меркьюрі-Поділля”.– 2016.– 255 с.
6. Valuing health for regulatory cost-effectiveness analysis/ Institute of Medicine.– Washington DC: The National Academies Press.– 2006.
7. Clinical diagnostic technology: the total testing process. Volume 2: the analytical phase / K.M. Ward-Cook, C.A. Lehmann, L.E. Schoeff, R.H. Williams // Washington, DC: American Association of Clinical Chemistry.– 2005.
8. Guyatt G.H. A framework for clinical evaluation of diagnostic technologies / G.H. Guyatt, P.X. Tugwell, D.H. Fenney // Can Med Assoc J.–1986.– №134.– pp. 587-94.
9. Про затвердження Порядку внутрішньолaboratorного контролю якості досліджень при виявленні серологічних маркерів ВІЛ методами імуноферментного та імунохемілюмінесцентного аналізів: наказ МОЗ України від 14.01.2015 р. № 4.
10. Cook A.G. Forecasting for the pharmaceutical industry: models for new product and in-market forecasting and how to use them / A.G. Cook. – Gower Publishing Limited, 2006. – 141 p.
11. Goodman C.S. HTA: 101 introduction to health technology assessment / C.S. Goodman // National Institutes of Health.–2004. Доступ з екрану: <http://www.nlm.nih.gov/nichsr/hta101/hta101.pdf>
12. Tape T.G. Interpreting diagnostic tests / T.G. Tape // University of Nebraska Medical Center.– 2008. Доступ з екрану: <http://gim.unmc.edu/dxtests/Default.htm>
13. Гнеденко Б. В. Курс теории вероятностей. — 6-е изд. — Москва: Наука, 1988. — 446 с.
14. Дзюблик В. І. Віруси грипу людини та грип: сучасний погляд на етіопатогенез / І. В. Дзюблик, В. П. Широков, С. І. Климнюк // Інфекційні хвороби.– 2009.– № 4.– С. 82–95
15. Дзюблик І.В., Обертинська О.В., Дзюблик Я.О., Самборська І.Ф., Степченкова Т.В., Ковалюк О.В., Вороненко

- С.Г., Ковалишин Г.Г. Швидкі ІХА-тести для етіологічної діагностики інфекційних захворювань людини. Методичні рекомендації.–К., 2013.–24 с.
16. Полімеразна ланцюгова реакція в лабораторній діагностиці інфекційних хвороб. Навчально-методичний посібник, для лікарів /за ред. І.В. Дзюблик, Н.Г. Горювенко.– К.–2012.–219 с.
17. Hellems M.A. Rapid diagnostic testing for influenza: when does it make sense / M.A Hellems, G.F. Hayden / Consultant for Pediatrician.–2006.–5(12).– pp. 1-7.
18. Ransohoff D.F. Problems of spectrum and bias in evaluating the efficacy of diagnostic tests / D.F. Ransohoff, A.R. Feinstein / N Engl J Med.–1978.–299.– pp. 926-30.
19. Аналітичне обґрунтування включення протівірусного препарату в схему лікування пацієнтів з підозрою на гостре вірусне захворювання / С. О. Соловійов, І. В. Дзюблик, О. М. Заліська, Г. О. Сахно // *Аннали Мечникова інституту*. - 2016. - № 4. - С. 18-26.
20. U.S. system of oversight of genetic testing: a response to the charge of the Secretary of Health and Human Services // Bethesda: Secretary's Advisory Committee on Genetics, Health, and Society.–2008.
21. Laboratory medicine: a national status report // The Lewin Group.–2008. Доступ з екрану: <http://www.futurelabmedicine.org>
22. Werner M. Strategy for cost-effective laboratory testing / M. Werner, S.H. Brooks, R. Wette // *Human Pathol.*– 4.– 1973.– pp.17-30.
23. Трущелёв С.А. Условия применения диагностических тестов в психиатрии (аналитический обзор) / С.А. Трущелёв // *Российский психиатрический журнал.*– 2014.– №5.– С. 81-91
24. Королюк И.П. Медицинская информатика: Учебник.– 2-е изд., перераб. и доп.– Самара: Офорт; ГБОУ ВПО СамГМУ, 2012.– 244 с.
25. Fagan T.J. Nomogram for Bayes theorem / T.J. Fagan // *N. Engl. J. Med.*– 1975.– Vol. 293.– P. 257.
26. Ланг Т.А., Сесик М. Как описывать статистику в медицине. Аннотированное руководство для авторов, редакторов и рецензентов / Пер. с англ. под ред. В.П. Леонова.–М.: Практическая медицина, 2011.– 480 с.
27. Aslan, D. Simple Statistics in Diagnostic Tests / D.Aslan, S. Sandberg // *Journal of Medical Biochemistry.*– 2007.– 26(4).– pp. 309-313.
28. Gardner I.A. Receiver-operating characteristic curves and likelihood ratios: improvements over traditional methods for the evaluation and application of veterinary clinical pathology tests / I.A. Gardner, M. Greiner // *Vet. Clin. Pathol.*– 2006.– Vol. 35.– P. 8–17
29. Zweig M.H. Receiver-operating characteristic (ROC) plots: a fundamental evaluation tool in clinical medicine / M.H. Zweig, G. Campbell // *Clin. Chem.*– 1993.– Vol. 39.– P. 561–577.
30. Kallner A. Laboratory statistics: handbook of formulas and terms. First edition. ed. / A. Kallner // Amsterdam: Elsevier.–2014. – 139 p.

### ОПЕРАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ СОВРЕМЕННЫХ ТЕСТОВ В ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ И ИХ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

И.В. Дзюблик, С.А. Соловьев, Е.В. Ковалюк, Е.П. Трохименко

Инновации последних лет в этиологической диагностике вирусных заболеваний показали положительные диагностические и клинические результаты и имеют важное значение для совершенствования системы здравоохранения. Операционные показатели эффективности лабораторных тестов основаны на статистическом анализе массивов данных клиничко-лабораторных исследований. Однако, до сих пор остается непонятным для практического вирусолога некоторые аспекты интерпретации операционных характеристик эффективности диагностических тестов и их взаимосвязь.

В работе приведена интерпретация и принципы определения операционных характеристик эффективности лабораторных тестов для этиологической диагностики вирусных инфекций. Приведены практические примеры их расчета для диагностических тестов как с качественным, так и с количественным форматом результата.

**Ключевые слова:** *этиологическая диагностика, вирусная инфекция, чувствительность, специфичность, эффективность*

**OPERATIONAL CHARACTERISTICS OF EFFECTIVENESS OF MODERN TESTS  
IN THE ETHOLOGICAL DIAGNOSIS OF VIRAL INFECTIONS AND THEIR INTERPRETATION**

I.V. Dzyublyk, S.O. Soloviov, O.V. Kovaliuk, O.P. Trokhimenko

Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine

Innovations of recent years in the etiological diagnosis of viral diseases have shown positive diagnostic and clinical results and are important for the improvement into health system. Operational characteristics of laboratory tests effectiveness are based on statistical analysis of data sets of clinical and laboratory studies. However, some aspects of operational characteristics interpretation and their interrelationship remain unclear to the practical virologist. The paper provides an interpretation and principles for determination of operational characteristics of laboratory tests effectiveness for the etiological diagnosis of viral infections. Practical examples of their estimation were given for diagnostic tests with both qualitative and quantitative result.

**Key words:** *etiological diagnosis, viral infection, sensitivity, specificity, efficiency*

---



## ЮВІЛЕЙ АЛЛИ МИХАЙЛІВНИ ЩЕРБІНСЬКОЇ



23 лютого 2017 року виповнилося 80 років заслуженому діячу науки і техніки України, доктору медичних наук, професору Аллі Михайлівні Щербінській.

Алла Михайлівна відома своєю науковою і організаторською діяльністю в сфері боротьби з ВІЛ-інфекцією/СНІДом в Україні і поза її межами. Вона є активним учасником наукових супроводів програм ВІЛ/СНІД. За її безпосередньої участі розроблені та реалізовані 8 Національних програм протидії епідемії ВІЛ-інфекції/СНІДу.

Алла Михайлівна має вищу кваліфікаційну категорію з організації охорони здоров'я та вірусології, очолює лабораторію молекулярної вірусології ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України».

Автор понад 360 наукових праць і 4 авторських свідоцтва, автор багатьох клінічних протоколів та практичних керівництв, спрямованих на профілактику, діагностику та лікування ВІЛ-інфекції/СНІДу.

***Шановна Алло Михайлівно!  
Колектив Інституту вітає Вас із ювілеєм.  
Бажаємо Вам творчої наснаги, енергії та оптимізму.***

## ЮВІЛЕЙ СЕРГІЯ ВАЛЕРІЙОВИЧА ФЕДОРЧЕНКО



24 вересня 2017 р. виповнилося 55 років з дня народження талановитого лікаря та вченого доктора медичних наук Федорченка Сергія Валерійовича.

Після закінчення з відзнакою Кишинівського медичного інституту Сергій Валерійович, навчався в клінічній ординатурі за спеціальністю «Клінічна імунологія» у Київському науково-дослідному інституті епідеміології та інфекційних ім. Л.В. Громашевського МОЗ УРСР, який став для нього рідною домівкою. Йому пощастило працювати з видатними вченими того часу проф. Б.Л. Угрюмовим та акад. А.Ф. Фроловим, які були його вчителями та наставниками, направляли молодого вченого до рівня висококваліфікованого фахівця. Під їх цілеспрямованим керівництвом Федорченко С.В. захистив кандидатську та докторську дисертації, присвячені питанням вірусних гепатитів.

З 2007 р. по теперішній час Сергій Валерійович працює завідувачем відділу вірусних гепатитів та СНІДу ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМНУ». Є автором багатьох друкованих праць та трьох монографій, які допомагають лікарям-інфекціоністам знаходити відповіді на складні запитання з щоденної практики.

***Колектив Інституту щиро вітає Сергія Валерійовича з ювілеєм, бажає йому міцного здоров'я, плідної праці, творчих успіхів, досягнення всіх найсміливіших планів!***

# ВИМОГИ ДО ОФОРМЛЕННЯ РУКОПИСІВ

До публікації подаються роботи, які містять результати досліджень в галузі профілактичної медицини, огляди літератури, лекції, інші матеріали за розділами „Епідеміологія”, „Мікробіологія”, „Вірусологія”, „Медична паразитологія”, „Діагностика, клініка та профілактика інфекційних хвороб”, які не друкувалися раніше і не перебувають на розгляді щодо публікації в інших видавничих структурах.

1. Стаття повинна супроводжуватися офіційним направленням закладу, в якому виконана робота, експертним висновком про можливість опублікування, бути підписана керівником установи та завірена печаткою, на останній сторінці – власноручні підписи авторів рукопису. Повні імена авторів, академічні звання, посади, адреса, телефон, факс, e-mail повинні бути представлені на окремій сторінці.
2. Рукопис може бути написаний українською, російською або англійською мовою та подається у двох примірниках.
3. **Об'єм оригінальної статті, включаючи таблиці, рисунки, резюме, літературу, не повинен перевищувати 15 сторінок; огляду літератури, лекції – 20 сторінок, короткого повідомлення, рецензії – 5 сторінок; інших матеріалів (історичні дати, ювілеї) – 2-3 сторінки.**
4. Рукопис друкується через 2 інтервали, з шириною полів зліва, зверху, знизу і справа — 2 см, шрифт Times New Roman, кегль 14.
5. До друку у виданні приймаються лише статті, які мають такі необхідні елементи:
  - Індекс УДК (універсальний десятиковий класифікатор);
  - Ініціали, прізвище автора(ів);
  - Назва роботи прописними буквами напівжирним шрифтом;
  - Повна назва закладу, де виконана робота;
  - Місто, країна, якщо вони не входять до назви закладу;

“Вступ” повинен містити постановку проблеми у загальному вигляді та її зв'язок із важливими науковими чи практичними завданнями; аналіз останніх досліджень і публікацій, в яких започатковано розв'язання даної проблеми і на які спирається автор, виділення невирішених раніше частин загальної проблеми, котрим присвячується означена стаття; формулювання цілей статті (постановка завдання);

“Матеріали і методи” вміщують характеристику об'єкту дослідження, методику дослідження, методи статистичної обробки отриманих даних;

“Результати та їх обговорення” висвітлюють отримані дані, їх наукову і практичну значущість;

“Висновки” відображають тільки доведену в роботі інформацію;

“Перспективи подальших досліджень” у даному напрямку;

“Література” включає список усіх джерел, на які є посилання в тексті;

Резюме українською мовою, російською мовою, англійською мовою, ключові слова.

6. Усі фізичні величини та одиниці слід наводити в міжнародних одиницях (SI).
7. Стаття може містити діаграми, графіки, таблиці та фотографії (не більше 5), які не повинні бути перевантажені текстовими позначеннями. Номери таблиць пишуться зверху справа над назвою таблиць. Номер та назва рисунка ставиться внизу під рисунком. Графічний матеріал не повинен дублювати матеріал таблиць. Не допускаються скорочення в назвах таблиць та рисунків. У підписах до мікрофотографій вказуються збільшення (окуляр, об'єктив), метод фарбування.
8. Список цитованої літератури складається переважно (не менше двох третин) праць останніх 5 років: в оригінальних статтях – 5-15 джерел, в оглядах – не більше 50. У тексті дається посилання на порядковий номер (в квадратних дужках). Список літератури оформляється у відповідності з ДСТУ ГОСТ 7.1:2006, скорочення слів і словосполучень – у відповідності з ДСТУ 3582-97 і ГОСТ 7.12-93. Посилання на неопубліковані роботи не допускаються. **Список літератури подається в алфавітному порядку (спочатку українською та російською мовами), потім іноземними. Роботи вітчизняних авторів, які надруковані в іноземній літературі, розміщують серед іноземних джерел. Прізвища іноземних авторів подаються в оригінальному написанні.** У бібліографічному описі наводяться такі дані: прізвище автора(ів), ініціали, повна назва статті, джерело, рік видання, том, номер випуску, сторінки; для книг, монографій вказуються місце видання, видавництво, загальна кількість сторінок. В описі праці кількох авторів (не більше трьох) вказують всіх авторів, в списку літератури її розміщують по прізвищу першого автора. Праці, в яких колектив авторів більше трьох, вносять до списку літератури за початковим словом назви роботи. Після назви роботи, через косу риску, вказують прізвища авторів, ініціали ставлять перед прізвищем. Якщо цитується декілька робіт одного і того ж автора, їх треба вказувати в послідовності видання. Відповідальність за точність бібліографії несе автор.
9. У резюме (не більше 5 рядків) необхідно вказати назву статті, ініціали та прізвища авторів, назва закладу, де виконана робота, чітко зазначити мету, об'єкт і методи дослідження, загальні результати та основні висновки. Після резюме подаються ключові слова (до 5-7 слів або словосполучень) у називному відмінку.
10. Електронний рукопис, записаний у форматі RTF або DOC (Microsoft Word), подається на дискетах або іншому електронному носії.

**Відповідальність за вірогідність інформації та оригінальність поданих матеріалів покладається на авторів.** У процесі редагування робіт редакція зберігає за собою право змінювати стиль, але не зміст. Роботи, оформлені без дотримання вимог редакції, не реєструються. Рукописи, не прийняті до друку, авторам не повертаються. Висловлені авторами думки можуть не збігатися з позицією редакції. У першу чергу друкуються роботи передплатників журналу.

**Статті надсилати за адресою: 03680, м. Київ, вул. М. Амосова, 5. Журнал “Профілактична медицина” тел. (044) 275-37-11, E-mail: epidemics@ukr.net**