

## ЭНТЕРОВИРУСЫ. ЧАСТЬ 3. ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА, ЛЕЧЕНИЕ, ИММУНОПРОФИЛАКТИКА И ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЕ МЕРОПРИЯТИЯ В ОЧАГЕ (ОБЗОРНАЯ СТАТЬЯ)

Анна Владимировна ДЕМИНА<sup>1,2</sup>, Владимир Александрович ТЕРНОВОЙ<sup>1,2</sup>,  
Наталья Ивановна ШУЛЬГИНА<sup>3</sup>, Сергей Викторович НЕТЕСОВ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГУН ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора  
630559, Кольцово, Новосибирская обл.

<sup>2</sup>ГОУ ВПО Новосибирский государственный университет  
630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2

<sup>3</sup>Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей  
и благополучия человека по Новосибирской области  
630132, г. Новосибирск, ул. Челюскинцев, 7а

---

В третьей части литературного обзора описаны методы лабораторной диагностики энтеровирусов, включая выделение вирусов на культуре клеток с последующей их идентификацией, выявление вирусов через заражение животных, выявление их путем электронно-микроскопического исследования, серологические методы выявления маркеров энтеровирусов и ПЦР-диагностика. Обобщены литературные данные по иммунопрофилактике и лечению энтеровирусных заболеваний. Перечислены профилактические мероприятия, предпринимаемые в очагах инфекции в России.

---

**Ключевые слова:** энтеровирусы, энтеровирусные инфекции, лабораторная диагностика, ПЦР-диагностика, лечение, профилактика, вакцина.

Для лабораторной диагностики энтеровирусных инфекций могут использоваться следующие подходы: электронно-микроскопические методы выявления вирусных частиц в пробах, иммуоферментные методы выявления вирусных антигенов или специфических антител, другие серологические методы для выявления тех же маркеров с применением специфических антисывороток и, наконец, методы диагностики с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) — для выявления вирусных РНК. Кроме того, ввиду низкой концентрации энтеровирусов в клинических пробах непосредственно перед диагностикой в клинических лабораториях нередко прибегают к предварительной наработке вируса на культурах клеток. Некоторые из этих подходов ввиду их длительности, трудоемкости и низкой чувствительности постепенно уходят в прошлое. В последнее время на первое место выходит метод ПЦР-диагностики, поскольку он является высокочувствительным и специфичным и позволяет провести анализ пробы за 4–6 часов.

Ввиду значительной встречаемости энтеровирусных инфекций, особенно в случае вызванных

ими вспышек, большое внимание должно быть направлено на быструю диагностику и экстренную профилактику заболеваемости вокруг очага для того, чтобы блокировать распространение этих инфекций, поскольку энтеровирусы наряду с легкими заболеваниями способны вызывать и тяжелые клинические проявления, такие как параличи, парезы, менингоэнцефалиты, вплоть до летальных исходов. Поэтому важность совершенствования практических мер по диагностике, профилактике и лечению этих инфекций трудно переоценить. Настоящая заключительная часть обзора направлена на освещение современного состояния дел в этих областях практической вирусологии.

### Лабораторная диагностика

Для вирусологических исследований при энтеровирусных инфекциях используют различные образцы клинического материала от больных: кровь, спинномозговую жидкость, фекалии, носоглоточные смывы, содержимое везикул, мочу, смывы с конъюнктивы, а также секционные материалы. Однако в последние годы с прояснением того, какие пробы содержат наибольшие концентрации возбу-

---

*Демина А.В. — врач-инфекционист, аспирант лаборатории молекулярной биологии РНК-вирусов; e-mail: Deminaanna@mail.ru*

*Терновой В.А. — к.б.н., зав. лабораторией молекулярной биологии РНК-вирусов; e-mail: tern@vector.nsc.ru*

*Шульгина Н.И. — начальник отдела эпидемиологического надзора Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Новосибирской области; e-mail: upravlenie@54.rospotrebnadzor.ru*

*Нетесов С.В. — д.б.н., проф., проректор по научной работе, руководитель лаборатории бионанотехнологий; e-mail: nauka@nsu.ru*

дителей, чаще всего исследуют фекалии, спинномозговую жидкость и кровь.

Вместе с тем до недавнего времени в большинстве больниц мира энтеровирусные инфекции диагностировались в основном симптоматически, так как времени на дифференциальную диагностику уходило обычно больше, чем длилась сама болезнь. Ведь, как правило, пациент попадает в больницу на 2–3 сутки заболевания, и на момент госпитализации в полученных от него пробах концентрация возбудителя невелика; в этих случаях возбудитель предварительно нарабатывают в значительных количествах на культурах клеток или, что гораздо реже делают сейчас, на чувствительных животных. Кроме этого, выделение чистой культуры микроорганизма является самым строгим доказательством связи заболевания и этиологического агента. Поэтому описание диагностических методов будет начато с методов наработки энтеровирусов.

### **1. Нарботка в культуре клеток и на животных, идентификация вируса**

Эти методы используются в том случае, когда необходимо повысить концентрацию агента в пробе для выполнения диагностических исследований, а также провести детальную характеристику вируса, поскольку, как правило, количество вируса в клинической пробе недостаточно для проведения анализа [1, 2].

Из лабораторных животных ко многим энтеровирусам чувствительны сосунки белых мышей, однако в настоящее время наработку на них производят редко, так как эта процедура занимает слишком много времени, учитывая сроки развития энтеровирусной инфекции. Надо также отметить, что животные чувствительны далеко не ко всем известным типам энтеровирусов, и поэтому данный вид исследований сохраняет свое значение в основном только при определении вирулентности штаммов.

Что касается культур клеток, то для наработки энтеровирусов ранее использовали первичные, а в последние годы – в основном перевиваемые клетки. Наиболее часто применяют культуры клеток MRC-5, GMK, A549, CaCo, Vero. В настоящее время в России для выделения полиовирусов и других энтеровирусов из проб используют перевиваемые линии культур клеток RD, L20B, HEp-2 и BGM. Более подробно чувствительность перечисленных культур клеток к различным видам энтеровирусов, процедура заражения и выделения вируса, а также характер поражения клеток описаны в Методических указаниях 3.1.1.2363-08 «Эпидемиологический надзор и профилактика энтеровирусной (неполио) инфекции» (Москва, 2008) и МУК 4.2.2410-08 «Организация и проведение вирусологических исследований материалов от больных полиомиелитом, с подозрением на это заболевание, с синдромом острого вялого паралича» (Москва, 2008).

RD – клетки рабдомиосаркомы человека, чувствительны к полиовирусам, вирусам группы

ЕСНО, некоторым вирусам группы Коксаки А (за исключением А1, А19, А22), энтеровирусам 68-101; ряд вирусов группы Коксаки В проявляет цитопатический эффект (ЦПЭ) на клетках RD.

L20B – линия мышечных клеток (L-клеток), способная экспрессировать рецептор полиовируса. Клетки L20B избирательно чувствительны к полиовирусам, которые вызывают в них характерный ЦПЭ. Ряд неполомиелитных энтеровирусов (НПЭВ) – Коксаки А 2-6, 8, 10, 14 – могут вызывать ЦПЭ в этих клетках, однако он значительно отличается от ЦПЭ, вызываемого полиовирусом. Использование комбинации этих двух клеточных линий обеспечивает высокую чувствительность и специфичность выявления полиовирусов.

HEp-2 – линия клеток, полученная из эпидермоидной карциномы человека. Использование культуры клеток HEp-2, особо чувствительной к полиовирусам и вирусам группы Коксаки В, не является обязательным. Однако исключение их из работы может привести к потере НПЭВ, в частности Коксаки В.

BGM – культура клеток почечной ткани обезьяны, чувствительна к полиовирусам, Коксаки В, частично к ЕСНО вирусам (табл.).

Наработанные на культурах клеток изоляты энтеровирусов идентифицируют в реакции нейтрализации с помощью диагностических типоспецифических иммунных сывороток. В опыте по нейтрализации вирусную суспензию, содержащую 100 ТЦД<sub>50</sub>, смешивают в равном объеме с диагностическими сыворотками (ТЦД<sub>50</sub> – тканевая цитопатогенная доза, вызывающая гибель 50 % клеток монослоя). После инкубации в течение 1–2 часов при 37 °С смесь вносят в культуры клеток. При этом иммунная сыворотка, которая подавляет развитие ЦПЭ, указывает на серотип вируса. Нарботанные культуры в настоящее время исследуют также и методами обратной транскриптазной (ОТ) ПЦР с последующим секвенированием.

Наиболее важные рекомендации по работе с культурами клеток были в свое время изложены в «Руководстве по лабораторным исследованиям полиомиелита», 4-е издание, ВОЗ, Женева, 2004 г., на основе которого и написаны вышеупомянутые Методические указания. Отметим, что в 2009 году в Великобритании был издан внутренний стандарт Агентства по охране здоровья «Enteroviruses and parechoviruses» (VSOP 24) (<http://www.hpa-standardmethods.org.uk/documents/vsop/pdf/vsop24.pdf>), в котором эти методы детально изложены.

### **2. Микроскопические исследования**

Этот вид исследований основан на выявлении цитопатических изменений в тканях с использованием цветной пробы Солка. Некоторые энтеровирусы (типичным примером является полиовирус) вызывают характерные поражения в головном и спинном мозге [1–3]. Методом электронной микроскопии вирусные частицы или изменения клеток непосредственно в материале клинических

Таблица

Чувствительность перевиваемых культур клеток к различным энтеровирусам (по МУК 3.1.1.2363-08)

Культуры клеток/Вирусы	Вирусы полиомиелита 1–3	ЕCHO	Коксаки А	Коксаки В	Энтеровирусы 68–101
RD	+	+	+ (исключение – неразмножающиеся A1, A19, A22)	–	+/-
Нер-2	+	–	–	+	–
L20B	+	–	Коксаки А 2–6, 8, 10, 14	–	–
BGM	+	+/-	–	+	–

проб обычно не обнаруживают. Однако исследование методами иммунофлуоресценции секционных материалов и клеток цереброспинальной жидкости и лейкоцитов, полученных на ранней стадии болезни, позволяет в ряде случаев выявлять специфический вирусный антиген. Практическое значение этого метода невелико, и в последние годы он практически не используется.

### 3. Серологические методы диагностики

В основе определения титров антител с помощью реакции нейтрализации лежит принцип взаимодействия вируса с гомологичными антителами, присутствующими в сыворотке, что проявляется в виде отсутствия или заметного уменьшения ЦПЭ на культуре клеток. В настоящее время для серологической диагностики используют преимущественно реакцию микронейтрализации на микротитровальных панелях. Универсальных панелей сывороток на все серотипы энтеровирусов до сих пор не разработано, каждая выпускаемая панель сывороток охватывает лишь ограниченное число серотипов энтеровирусов. Так, например, RIVM-панель (National Institute for Public Health and Environment, Bilthoven, Голландия, [www.rivm.nl](http://www.rivm.nl)) позволяет типировать только 21 из всех известных серотипов энтеровирусов человека [4]. Данным методом исследуют парные сыворотки (первая забирается до 4–5-го дня болезни, вторая – после 14-го дня болезни). Диагностически значимым считается нарастание титра антител в 4 раза и более. Данный тест сейчас используется редко, так как он является серотип-специфическим, относительно слабочувствительным, плохо стандартизуемым, весьма трудозатратным и слишком продолжительным для реальных клинических целей. Иногда все же это исследование проводят с диагностической целью в клинике (для диагностики серозных менингитов или других тяжелых случаев) или при изучении эпидемиологических аспектов инфекции [1–3].

В настоящее время в России доступны диагностические энтеровирусные сыворотки производства ФГУП Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова, Москва (<http://www.chumakovs.ru/production/catalog/>). Выпускаемый с 2007 года набор реагентов «Сы-

воротки диагностические энтеровирусные моновалентные сухие для реакции нейтрализации» («СДЭМ») является новым поколением единственного отечественного препарата, обеспечивающего типоспецифическую идентификацию энтеровирусов человека. Продуцентами иммунных сывороток служат кролики породы шиншилла. Основная производственная номенклатура «СДЭМ» включает 38 наименований типоспецифических сывороток. Следует отметить, что не все серотипы можно идентифицировать этим методом.

Выпускаются также иммуноферментные тест-системы для выявления антигенов и противовирусных антител (классов IgM и IgG) на предприятии НИИ эпидемиологии и микробиологии МЗ Республики Беларусь (<http://www.belriem.org/ru/catalog/>). Данные об их чувствительности и специфичности на сайте отсутствуют.

НИИ эпидемиологии и микробиологии МЗ Республики Беларусь производит также тесты с применением специфичных энтеровирусных сывороток, основанные на подавлении гемагглютинации (набор группоспецифических ингибиторов для первичной идентификации энтеровирусов и дифференциации их на полио- и неполиомиелитные вирусные агенты). Ранее выпускались также наборы с использованием для диагностики энтеровирусов реакции связывания комплемента, преципитации в агаре, однако их в настоящее время не используют ввиду низкой чувствительности в сравнении с другими методами [1–3].

### 4. Анализ спинномозговой жидкости (СМЖ)

Анализ проводят при наличии признаков серозного менингита, а заключается он в оценке плеоцитоза [5] (количества лейкоцитов, диагностическое значение имеет увеличение числа этих клеток в СМЖ  $> 10 \times 10^6$  у взрослых) и выявлении дифференциальных сдвигов в сторону повышения доли лимфоцитов. Кроме того, СМЖ также исследуют на наличие вируса и вирус-специфической РНК (см. ниже).

### 5. ПЦР-диагностика

Этот самый быстрый из существующих тест является высокочувствительным (100 %) и высоко-

специфичным (до 97 %) при выявлении вирусной РНК и позволяет провести анализ за 4–6 часов. За последние десять лет метод стал самым распространенным и используемым, и его применение ограничено только относительно высокой (в сравнении с иммуноферментным анализом) стоимостью приборной базы. ОТ-ПЦР особенно ценна в диагностике и оценке течения энтеровирусных инфекций в ранние сроки болезни, когда еще отсутствуют специфические антитела, и для больных с иммунодефицитом, получающих в качестве лечения нормальные иммуноглобулины (у этих пациентов серологические методы дают недостоверные результаты, а выделение вируса в культуре клеток далеко не всегда удается).

Для проведения таких исследований предложены одно- и двухступенчатая ПЦР и несколько методов детекции амплифицированного продукта — ПЦР-детекция в реальном времени (гибридизационно-флуоресцентная детекция) и электрофоретическая идентификация продуктов амплификации. При рутинной диагностике и для исключения контаминации в лабораториях особенно ценен метод ОТ-ПЦР в режиме реального времени [6].

Применяемые методы ПЦР пригодны для анализа любых биологических проб, позволяют работать даже с малым количеством исследуемого материала (как, например, СМЖ) и вирусов, которые не размножаются в культурах клеток.

Праймеры для ПЦР генома энтеровирусов позволяют получить вирусспецифические фрагменты ДНК и идентифицировать значительную часть известных серотипов энтеровирусов, хотя пока что и не все. Для диагностики и генотипирования используются, как правило, 5'-конец РНК и/или VP1-район у разных серотипов энтеровирусов человека [7, 8]. Однако надо иметь в виду, что полученные в ПЦР фрагменты ДНК какой-либо одной части генома вируса не всегда можно использовать для точного генотипирования энтеровирусов. Это связано с высокой частотой их рекомбинации. В этом случае типирование надо проводить по всем генам VP1–VP4 части генома [9, 10]. При этом генотип энтеровируса определяют сравнением полученной последовательности с имеющимися в Genbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) последовательностями геномов прототипных энтеровирусов человека.

В настоящее время ПЦР-тест-системы для выявления энтеровирусов выпускает, например, швейцарская компания Хоффман Ля Рош (AMPLICOR Enterovirus, <http://www.intelmed.ru/product/142.htm>). В России для ПЦР-диагностики энтеровирусов используются ПЦР-тест-системы с детекцией методом электрофореза таких компаний, как ЗАО «БиоХимМак» (<http://www.biochemmack.ru/product/moleculardiagnosics/infectious/>), ЗАО «Литех» ([http://www.lytech.ru/catalog\\_69.htm](http://www.lytech.ru/catalog_69.htm) — наборы реагентов для ПЦР производства «ИзоГен»). Наборы для анализа проб методом ОТ-ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной и электрофоретической детекцией

производит также компания «ИнтерЛабСервис» (<http://www.interlabservice.ru/catalog/reagents/index.php?sid=678>). Последовательности олигонуклеотидов данных тест-систем, как правило, являются коммерческой тайной компаний, хотя это весьма неудобно для научно-исследовательских лабораторий, использующих секвенирование для генотипирования и исследований рекомбинации.

В зарубежной литературе указываются различные праймеры для ПЦР-детекции энтеровирусов. Например, для генотипирования 5'-UTR энтеровирусов в процессе одноступенчатой ПЦР [4] указаны следующие праймеры:

5'-ACACGGACACCCAAAGTAGTCGGTTCC-3'  
5'-TCCGGCCCCCTGAATGCGGCTAATCC-3'

Для генотипирования VP1 региона всех серотипов энтеровирусов предложена, например, двухступенчатая ПЦР с праймерами [7]:

224	GCIATGYTIGGIACICAYRT	VP3	1977–1996
222	CICCGIGGIGGIAYRWACAT	VP1	2969–2951
292	MIGCIGYIGARACNGG	VP1	2612–2627

Как правило, до нынешнего времени это были преимущественно тест-системы для детекции РНК энтеровирусов, а их генотипирование проводилось с помощью других ОТ-ПЦР-диагностикумов. В 2008 году была разработана мультиплексная ОТ-ПЦР-тест-система для одновременной детекции, идентификации и количественного определения РНК энтеровируса 70 и Коксаки А24 [11], однако данных о ее проверке независимыми исследователями пока что нет.

Необходимо отметить, что существующие ПЦР-диагностикумы на энтеровирусы пока что выявляют далеко не все серотипы и их чувствительность к разным серотипам различается. Еще предстоит большая научно-исследовательская работа по их доработке, что тесно связано с тщательным изучением природного разнообразия геномов энтеровирусов.

#### Лечение

В настоящее время для лечения энтеровирусной инфекции назначают преимущественно патогенетическую и симптоматическую терапию. Специфические методы лечения практически не разработаны, и небольшое количество перспективных кандидатных препаратов находятся на данный момент на разных стадиях доклинических или клинических исследований.

В частности, несколько лет назад началось исследование препарата «Плеконарил» (Pleconaril) [12, 13] — из группы капсид-ингибирующих препаратов. Это, пожалуй, первое этиотропное противоэнтеровирусное средство, которое прошло клинические испытания. «Плеконарил» продемонстрировал широкий спектр противовирусной активности в отношении как риновирусной, так и энтеровирусной инфекции, отличается высокой биодоступностью (до 70 %) при энтеральном приеме. Данный препарат может быть использован и используется для лече-

ния новорожденных детей при энтеровирусных инфекционных менингитах в дозе 5 мг/кг энтерально 3 раза в сутки в течение 7 дней. Отмечается высокий уровень плеконарила в центральной нервной системе и эпителии носоглотки. При назначении плеконарила в разных возрастных группах не отмечалось побочных эффектов. Начато применение данного препарата для лечения менингитов, энцефалитов, вызванных энтеровирусами. При использовании плеконарила в лечении менингитов у детей достоверно отмечено сокращение менингеальных симптомов на 2 сут. Отмечают его эффективность и снижение длительности клинических проявлений по сравнению с плацебо [12, 13]. Однако эффективность препарата при респираторных инфекциях, вызванных энтеровирусами, по данным FDA подвергается сомнению.

Разработаны схемы лечения энтеровирусной инфекции, в том числе серозных менингитов, с применением интерферонов. Для интерферонов характерен широкий противовирусный спектр; они не обладают специфичностью действия в отношении отдельных вирусов, поскольку воздействуют на репликацию РНК-вирусов в целом, на стадии образования двуцепочечных РНК [14]. В настоящее время в качестве противовирусных средств в основном используются препараты альфа-интерферонов (альфа-2а, альфа-2b), как правило — рекомбинантных: «Виферон» [14, 15], «Реаферон-ЕС Липинт» [15], «Инtron А» [15] и т.п. Помимо этого, для лечения в России применяют индукторы интерферонов, такие как «Циклоферон», «Амиксин», «Ридостин» [5], эффективность которых пока не подтверждена зарубежными исследованиями.

Для лечения энтеровирусных инфекций используют также рекомбинантный интерлейкин-2 человека — ронколейкин [16] (<http://www.biotech.spb.ru/main.php?menu=place&list=infections>), который показал свою эффективность при лечении вирусных серозных менингитов.

В ряде случаев при энтеровирусной инфекции, особенно при полиомиелите, используются иммуноглобулины с высоким титром противовирусных (к вирусу полиомиелита) антител: такие препараты как «Интраглобин F», «Октагам», «Альфаглобин» [17], назначаемые как внутривенно, так и, при наличии показаний, интратекально. Такое лечение оказалось успешным при энтеровирусных инфекциях центральной нервной системы у иммунодефицитных лиц [17].

Патогенетическая терапия включает в себя дезинтоксикацию и дегидратацию, как описано в книге [18]. Дезинтоксикация может проводиться как в объеме интенсивной терапии, так и в обычном (от назначения инфузионных растворов внутривенно до усиленного питьевого режима до 4–5 л/сут.).

Для лечения серозных менингитов по показаниям проводится дегидратационная терапия, которая направлена на купирование синдромов внутрисерепной гипертензии и отека и набухания головного

мозга, угрожающих жизни; в этих случаях применяют «Диакарб», «Лазикс», «Фуросемид» [18]. В тяжелых случаях с развитием отека мозга показано применение «Дексаметазона» или «Преднизолона» внутривенно в возрастной дозе в течение 2–3 дней. При этом инфузионную терапию рекомендовано ограничивать, а в случае необходимости предпочтительно введение полиглобулина, реополиглобулина и др. [18]. С целью метаболической и нейровегетативной защиты мозга назначают ноотропные препараты, витамины группы В, например, «Нейромультивит» [19]. Симптоматическое лечение предусматривает также назначение в случае необходимости анальгетиков, нестероидных противовоспалительных препаратов [18].

При всех энтеровирусных инфекциях, в том числе в период реконвалесценции, может применяться восстановительная терапия (адаптогены элеутерококк, эхинацея, родиола розовая, женьшень и др.) [18].

#### Иммунопрофилактика

Основным методом экстренной иммунопрофилактики энтеровирусной инфекции, в том числе серозного менингита, является применение аттенуированной оральной полиомиелитной вакцины (ОПВ) [20]. ОПВ стимулирует специфический и неспецифический иммунитет и вызывает появление интерференции по отношению к другим энтеровирусам.

ОПВ по эпидемическим показаниям применяется однократно, независимо от ранее проведенных профилактических прививок против полиомиелита. Так, во время внутрибольничных вспышек энтеровирусного увеита в городах Сибири [21] для профилактики распространения инфекции проводили поголовную иммунизацию детей живой вакциной против полиомиелита для создания интерференции и подавления размножения энтеровируса, вызывающего увеит, а также использовали введение  $\gamma$ -глобулина контактными детям. Эти мероприятия оказались весьма эффективными и уменьшили число заболевших детей до единичных случаев по сравнению с первыми вспышками [21].

#### Прогноз

В большинстве случаев при заболевании энтеровирусной инфекцией прогноз благоприятный [22]. При миелитах и энцефалитах период выздоровления длителен и требует реабилитации до 6 месяцев под наблюдением невропатологов; неблагоприятный прогноз — при энцефаломиокардитах новорожденных. Некоторые наиболее вирулентные энтеровирусы способны вызывать заболевания со смертельным исходом. Например, энтеровирус 71 типа: по обобщенным данным с января 2008 г. по июль 2009 г. в Китае было зарегистрировано более 1 200 000 случаев ящуроподобного заболевания у детей, у 11 500 детей болезнь имела тяжелое течение, 381 ребенок умер [23].

Сроки потери трудоспособности зависят от клинической формы. Например, при серозных менин-

гитах стационарное лечение продолжается 2–3 недели [22]. Выписка производится после полного клинического выздоровления и санации cerebrospinalной жидкости.

#### **Профилактика и мероприятия в очаге инфекции**

В очаге инфекции проводят комплекс профилактических и противоэпидемических мероприятий, направленных на предупреждение инфекций с воздушно-капельным, контактным и фекально-оральным механизмом передачи. При возникновении заболеваний, имеющих клиническую картину, характерную для энтеровирусной инфекции, проводят следующие мероприятия (согласно разработанным и утвержденным Методическим указаниям Российской Федерации 3.1.1.2363-08):

1. Считается обязательной как можно более ранняя изоляция заболевших. Особое внимание при этом рекомендуется обращать на изоляцию больных с легкими формами болезни, являющихся основным источником распространения инфекции по причине ошибочной трактовки заболевания, проходящего часто под диагнозами «грипп», «острый гастрит» и другие. Ранняя изоляция особенно важна в детских организованных коллективах. С целью ранней диагностики и своевременной изоляции заболевших необходимо проводить медицинское наблюдение за контактными детьми с ежедневным осмотром кожи, слизистой зева, с измерением температуры тела.

2. Изоляция больных с легкими формами болезни без явных признаков поражения нервной системы (энтеровирусная лихорадка, эпидемическая миалгия, герпетическая ангина) проводится сроком на 10 дней, после чего переболевший может быть возвращен в коллектив без дополнительных сроков карантинизации.

3. При подозрении на серозный менингит или другую форму поражения нервной системы энтеровирусной этиологии больные должны быть госпитализированы в стационар с целью уточнения диагноза, проведения рационального лечения и режима, предупреждающего дальнейшие нарушения функций центральной нервной системы. Выписку из стационара больных после перенесенного серозного менингита или других форм поражения нервной системы следует проводить не ранее двух недель от начала болезни (учитывая сроки нормализации клинических проявлений заболевания, спинномозговой жидкости) с последующим щадящим режимом на такой же срок.

4. При появлении первых случаев заболевания карантин в детских коллективах накладывается сроком на 10 дней. Обнаружение энтеровирусов у контактных здоровых лиц не требует специальных мер лечения и профилактики этой инфекции.

5. В случаях массового распространения заболевания рекомендуется запретить проведение детских мероприятий, организовать подворные обходы с целью выявления больных, подозрительных на заболевание, и изоляции их, проводить вирусологическое

и серологическое обследование больных (парные сыворотки) и контактных с ним (по показаниям).

Вместе с тем в международных (ВОЗ) [1] документах об изоляции больных не упоминается, а в руководящих документах DHHS (Department of Health and Human Services) США ([www.hhs.gov](http://www.hhs.gov)) написано, что это не имеет смысла, поскольку инфицированные наиболее интенсивно выделяют вирус в догоспитальный период (первые сутки болезни), а после этого разумной причины их изолировать не имеется.

#### **Заключение**

Итак, в нашем обзоре, состоящем из трех взаимосвязанных частей, собраны последние полученные учеными сведения об энтеровирусах, рассмотрены строение вириона и схема генома, приведены известные на сегодня данные по вызываемым ими клиническим симптомам, описаны и охарактеризованы методы лабораторной диагностики, перечислены методы лечения, в том числе существующая ситуация со специфической терапией, а также профилактические мероприятия, проводимые в очаге инфекции.

Значимость неполиомиелитных энтеровирусов в инфекционной патологии за последние годы расширилась на основе вновь полученных знаний [22]. Так, стало понятно, что энтеровирусы являются одной из основных причин нейроинфекций, таких как серозный менингит и энцефалит, и могут вызывать даже паралитические полиомиелит-подобные формы заболевания. Выявлено, что они явились причиной новых типов заболеваний, например, вспышек острого энтеровирусного увеита в трех крупных городах Сибири [21]: Красноярск и Красноярский край (1980–1981, 1982, 1986), Омск (1987–1988), Иркутск (1988–1989), или энтеровирусной экзантемы полости рта и конечностей (Hand, Foot and Mouth Disease), вспышки этого заболевания регистрируются с 1957 года (Торонто, Канада) [24].

Ввиду появления новых знаний об энтеровирусах встают вопросы о целесообразности разработки вакцин против них, исследуются перспективные противовирусные препараты для лечения больных, большое внимание уделяется планированию профилактических мер по предотвращению распространения данной инфекции, разрабатываются высокочувствительные и специфичные методы лабораторной диагностики. Отметим, в последние 10 лет ОТ-ПЦР-диагностика стала играть особую роль в выявлении и оценке течения энтеровирусных инфекций в ранние сроки болезни (когда еще нет специфических антител). Тем не менее, учитывая относительно невысокую стоимость анализа и отсутствие необходимости в дорогом оборудовании, методы серодиагностики применяются до сих пор.

Открытым остается вопрос о лечении энтеровирусных инфекций. Специфичных антивирусных препаратов пока не разработано, за исключением «Плеконарила», эффективность которого еще продолжают исследовать. Поэтому симптоматическая терапия остается главным оружием врачей в борьбе

с заболеванием, чего не всегда бывает достаточно, поскольку хоть и не часто, но смертельные исходы при энтеровирусных инфекциях регистрируются.

Отметим, что филогенетическое родство этих вирусов с полиовирусами в эпоху ликвидации полиомиелита, легкость их распространения и большое природное разнообразие наводят на мысль о том, что в ходе эволюции они могут занять бывшую экологическую нишу полиовирусов и стать причиной новых эпидемий и пандемий. И это является важным доводом в пользу разработки против них эффективных вакцин.

Таким образом, энтеровирусы представляют собой большую группу патогенов, вызывающих настолько разнообразные по клинической картине заболевания, что требуют тщательного дальнейшего изучения как их молекулярного разнообразия, так и взаимосвязи этого разнообразия с клиническими проявлениями.

#### Благодарности

Настоящая работа выполнена за счет финансирования по гранту НШ-65387.2010.4 по государственной поддержке ведущих научных школ Российской Федерации, по гранту Фонда МФТИ № 00012/00049 «Создание региональной референс-лаборатории для ПЦР-диагностики вирусных гепатитов» и по Госконтракту № 02.740.11.0767 «Выявление вирусных возбудителей заболеваний, актуальных для здравоохранения Западной Сибири (гепатиты, гастроэнтериты, серозный менингит), изучение их генетического разнообразия в целях разработки и совершенствования диагностикумов» и по договору НГУ с Министерством образования и науки № 11.G34.31.0034 «Новые подходы к разработке лекарств: поиск, отбор и конструирование непатогенных для человека штаммов вирусов, перспективных для использования в качестве онколитических препаратов».

#### Список литературы

1. Polio Laboratory Manual. WHO, Geneva, 2004, 4th Ed. WHO/V&B/02.32 ([www.who.int/vaccines/en/poliolab/WHO-Polio-Manual-9.pdf](http://www.who.int/vaccines/en/poliolab/WHO-Polio-Manual-9.pdf)).
2. Pallansch M.A., Roos R.P. Enteroviruses: polioviruses, coxsackieviruses, echoviruses, and newer enteroviruses // *Fields' Virology*. Ed. Knipe D.N., Howley P.M. et al. 5th Ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007. 839–893.
3. Buxbaum S., Berger A., Preiser W. et al. Enterovirus infections in Germany: comparative evaluation of different laboratory diagnostic methods // *Infection*. 2001. 21. (3). 138–142.
4. Saeed M., Zaidi S., Naeem A. et al. Epidemiology and clinical findings associated with enteroviral acute flaccid paralysis in Pakistan // *BMC Infect. Dis.* 2007. 6. (<http://www.biomedcentral.com/1471-2334/7/6>).
5. Штейнберг А.В. Клинико-лабораторная диагностика и этиотропная терапия энтеровирусного менингита у детей: дис. ... канд. мед. наук. Саратов, 2009.
6. Shteinberg A.V. Clinical and laboratory diagnostics and treatment of enterovirus meningitis in children: PhD dissertation, Saratov, 2009.
7. Espy M.J., Uhl J.R., Sloan L.M. et al. Real-Time PCR in clinical microbiology: Applications for routine laboratory testing // *Clin. Microbiol. Rev.* 2006. 1. 165–256.
8. Nix W.A., Oberste M.S., Pallansch M.A. Sensitive, seminested PCR amplification of VP1 sequences for direct identification of all enterovirus serotypes from original clinical specimens // *J. Clin. Microbiol.* 2006. 44. (8). 2698–2704.
9. Oberste M.S., Maher K., Michele S.M. et al. Enteroviruses 76, 89, 90 and 91 represent a novel group within the species Human enterovirus A // *J. Gen. Virol.* 2005. 86. 445–451.
10. Oberste M.S., Maher K., Kilpatrick D.R. et al. Molecular evolution of the human enteroviruses: Correlation of serotype with VP1 sequence and application to picornavirus classification // *J. Virol.* 1999. 73. (3). 1941–1948.
11. Oberste M.S., Maher K., Williams A.J. et al. Species-specific RT-PCR amplification of human enteroviruses: a tool for rapid species identification of uncharacterized enteroviruses // *J. Gen. Virol.* 2006. 87. 119–128.
12. Xiao X.L., Wu H., Li Y.J. et al. Simultaneous detection of enterovirus 70 and coxsackievirus A24 variant by multiplex real-time RT-PCR using an internal control // *J. Virol. Methods*. 2009. 159. (1). 23.
13. Desmond R.A., Accortt N.A., Talley L. et al. Enteroviral meningitis: natural history and outcome of pleconaril therapy // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2006. 50. (7). 2409–2414.
14. Li C., Wang H., Shih S.R. et al. The efficacy of viral capsid inhibitors in human enterovirus infection and associated diseases // *Curr. Med. Chem.* 2007. 14. (8). 847–856.
15. Малиновская В.В., Деленян Н.В., Ариненко Р.Ю. и др. Виферон — комплексный противовирусный и иммуномодулирующий препарат для детей и взрослых. Руководство для врачей. М., 2005. 56 с.
16. Malinovskaya V.V., Delenyan N.V., Arinenko R.Yu. et al. Viferon — complex antiviral and immunomodulatory drug for children and adults. Guide for physicians. M., 2005. 56 p.
17. Нестерова И.В. Препараты интерферона альфа в клинической практике // *Рос. аллергол. журн.* 2010. (2). 43–52.
18. Nesterova I.V. Preparations of interferon alfa in clinical practice // *Ros. allergol. zhurn.* 2010. (2). 43–52.
19. Скрипченко Н.В., Бабаченко И.В., Иванова Г.П. и др. Клинический опыт применения Ронколейкина® (рекомбинантного интерлейкина-2) при инфекционных заболеваниях у детей. Пособие для врачей. СПб.: Альтер Эго, 2010. 60 с.
20. Skripchenko N.V., Babachenko I.V., Ivanova G.P. et al. Clinical experience with Roncoleukin® (recombinant human interleukin-2) in infectious dis-

eases in children. Manual for doctors. SPb.: Alter Ego, 2010. 60 p.

17. Самсыгина Г.А. Иммуноглобулины для внутривенного введения в педиатрии // Лечащий врач. 2002. (9). (<http://www.medlinks.ru/article.php?sid=33753>).

Samsygina G.A. Immunoglobulin for intravenous use in pediatrics // Lechashchii vrach. 2002. (9). (<http://www.medlinks.ru/article.php?sid=33753>).

18. Лобзин Ю.В., Пилипенко В.В., Громыко Ю.Н. Менингиты и энцефалиты. СПб.: ФОЛИАНТ, 2006. 116 с.

Lobzin U.V., Pilipenko V.V., Gromyko U.N. Meningitis and encephalitis. SPb.: FOLIANT, 2006. 116.

19. Скрипченко Н.В., Конеев К.И., Росин Ю.А. и др. Нейромультивит в комплексном лечении серозных менингитов у детей // Журн. неврол. психиатрии. 2005. (6). 35–38.

Skipchenko N.V., Koneev K.I., Rosin Yu.A. et al. Neuromultivit in complex treatment of serous meningitis in children // Zhurn. nevrol. psikiatrii. 2005. (6). 35–38.

20. Сейбиль В.Б. Опыт применения живой полиомиелитной трехвалентной вакцины в период вспышки серозного менингита // Полиомиелитная пероральная живая вакцина. М., 1961. 621–625.

Seybil' V.B. Experience in application of a live poliomyelitic trivalent vaccine during the outbreak of

serous meningitis // Oral polio live vaccine. M., 1961. 621–625.

21. Лашкевич В.А., Королева Г.А., Лукашев А.Н. и др. Острый энтеровирусный увеит у детей раннего возраста // Вопросы вирусологии. 2005. (3). 36–45.

Lashkevich V.A., Koroleva G.A., Lukashev A.N. et al. Acute enterovirus uveitis in infants // Voprosy virusologii. 2005. (3). 36–45.

22. Лукашев А.Н., Иванова О.Е., Худякова Л.В., Морозова Н.С. Социально-экономическая значимость энтеровирусной инфекции и ее роль в структуре инфекционной патологии в мире. 22 сентября 2010 г. ([http://www.rosпотреbnadzor.ru/directions\\_of\\_activity/profilaktika/obzor/38356/](http://www.rosпотреbnadzor.ru/directions_of_activity/profilaktika/obzor/38356/)).

Lukashev A.N., Ivanova O.E., Khudyakova L.V., Morozova N.S. Socio-economic importance of enteroviral infection and its role in the structure of infectious diseases in the world. September 22, 2010. ([http://www.rosпотреbnadzor.ru/directions\\_of\\_activity/profilaktika/obzor/38356/](http://www.rosпотреbnadzor.ru/directions_of_activity/profilaktika/obzor/38356/)).

23. Xiao D.L. Strategy of prevention and control for HFMD in China // APEC conference for the surveillance, treatment, laboratory diagnostics and vaccine development of enteroviruses. Taipei, 2009. II-1–3.

24. Robinson C.R., Doane F.W., Rhodes A.J. Report of an outbreak of febrile illness with pharyngeal lesions and exanthem: Toronto, summer 1957 – isolation of group A Coxsackie virus // Can Med Assoc J. 1958. 79. 615–621.

## ENTEROVIRUSES. PART III: LABORATORY DIAGNOSTICS, TREATMENT IMMUNOPROPHYLAXIS AND COUNTER-EPIDEMIC MEASURES (REVIEW)

Anna Vladimirovna DEMINA<sup>1,2</sup>, Vladimir Alexandrovich TERNOVOI<sup>1,2</sup>, Natalya Ivanovna SHUL'GINA<sup>3</sup>, Sergey Viktorovich NETESOV<sup>2</sup>

<sup>1</sup> State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector» 630559, Kol'tsovo, Novosibirsk region

<sup>2</sup> Novosibirsk State University 630090, Novosibirsk, Pirogov str., 2

<sup>3</sup> Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare in Novosibirsk region 630132, Novosibirsk, Chelyuskintsev str., 7a

In the third part of the review the methods of laboratory diagnostics of enteroviruses, including isolation and identification viruses using cell culture and animal studies, electron microscopic examination, serological methods, PCR diagnostics are briefly described and compared. The recent published data on treatment and immunization are critically described and analyzed. Indicated in Russia preventive measures are summarized.

**Key words:** enterovirus, laboratory diagnostics, PCR, meningitis treatment, counter epidemic measures, enterovirus vaccines.

**Demina A.V.** – infectious disease physician, post-graduate student of the laboratory of RNA viruses molecular biology; e-mail: [Deminaanna@mail.ru](mailto:Deminaanna@mail.ru)

**Ternovoi V.A.** – candidate of biological sciences, head of the laboratory of RNA viruses molecular biology; e-mail: [tern@vector.nsc.ru](mailto:tern@vector.nsc.ru)

**Shul'gina N.I.** – head of the department TU Rospotrebnadzora of Novosibirsk region; e-mail: [upravlenie@54.rosпотреbnadzor.ru](mailto:upravlenie@54.rosпотреbnadzor.ru)

**Netesov S.V.** – doctor of biological sciences, professor, pro-rector for research, head of the bionanotechnology laboratory; e-mail: [nauka@nsu.ru](mailto:nauka@nsu.ru)