

Malakhov P. S. Молекулярно-эпидемиологический анализ ротавирусной инфекции = Molecular epidemiological analysis of rotavirus infection. Journal of Health Sciences. 2014;04(02):219-230. ISSN 1429-9623 / 2300-665X.

The journal has had 5 points in Ministry of Science and Higher Education of Poland parametric evaluation. Part B item 1107. (17.12.2013).

© The Author (s) 2014;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Radom University in Radom, Poland

Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

Conflict of interest: None declared. Received: 29.11.2013. Revised: 21.12.2013. Accepted: 15.02.2014.

УДК 616.36-002.12-036.22(477.74)

MOLECULAR EPIDEMIOLOGICAL ANALYSIS OF ROTAVIRUS INFECTION

Malakhov P. S.

The Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine

Молекулярно-эпидемиологический анализ ротавирусной инфекции

Малахов П.С.

Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина

Резюме

Summary

MOLECULAR EPIDEMIOLOGICAL ANALYSIS OF ROTAVIRUS INFECTION

Malakhov P. S.

The Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine

Extensive clinical, laboratory and epidemiological studies conducted in recent years all over the world, have significantly deepened knowledge about the nature and properties of the pathogen rotavirus (RVI), features reproductions of

clinical manifestations of infection, its main epidemiological characteristics. The article describes the molecular epidemiology of RVI, analyzed modern methods of RNA detection rotavirus genotypes circulating presented especially in Russia and Ukraine.

Keywords: rotavirus infection, genotype, molecular epidemiological studies, test systems, RNA, DNA.

Актуальность. Применение современных методов молекулярно-генетических исследований в эпидемиологии позволяют лучше понимать их филогенетические и эпидемиологические особенности, прогнозировать эпидемический процесс, устанавливать причинно-следственные связи между явлениями, открывая неограниченные возможности современной науке. Применение в эпидемиологических исследованиях методов молекулярной биологии может быть использовано для характеристики вирусных штаммов при широкомасштабных вспышках; определения количества и разнообразия штаммов, циркулирующих в данный период времени в пределах очага инфекционного заболевания, лечебного учреждения, населенного пункта, страны, в мире; раскрытия случаев лабораторной кросс-контаминации; определения источника инфекции и факторов риска; изучения вопросов о том, вызван ли рецидив болезни ре- или суперинфекцией, одним или различными штаммами вируса; вызвана ли группа заболеваний одним и тем же вирусным штаммом; и, наконец, для исследования эволюционного происхождения новых штаммов и появления рекомбинантов. Изучение факторов риска трансмиссии

штаммов с повышенной патогенностью и медикаментозной резистентностью позволяет выделить группы риска и спланировать адекватные профилактические мероприятия [1, 3].

Изложение материала. Род Rotavirus входит в семейство Reoviridae и разделяется на семь групп от А до G. Инфицирование человека происходит ротавирусами (РВ) групп А (до 90,0%), В и С. Геном РВ представлен 11 сегментами двуцепочечной РНК, которая в вирионе окружена 3 белковыми оболочками. Сегменты РНК, различаются по подвижности при электрофорезе в полиакриламидном геле. Большинство молекулярно-эпидемиологических исследований в отношении РВ касаются анализа их электрофоретипов, так как подвижность каждого сегмента геномной РНК при электрофорезе в полиакриламидном геле является стабильным признаком, свойственным определенному варианту вируса, и не изменяемым даже при его пассажах на животных или в клеточной культуре [15]. В случаях с белками и ДНК имеется прямая корреляция между молекулярной массой и миграцией в полиакриламидном геле, в то время как РНК-сегменты со сходной подвижностью могут иметь заметные различия молекулярной массы и нуклеотидной последовательности. С другой стороны, сегменты с различной мобильностью могут быть удивительно сходными [10]. Данные электрофоретипирования РНК в настоящее время не могут служить указанием на те, или иные различия в молекулярной массе или последовательности сегментов. Однако этот метод остаётся ценным при дифференциации изолятов и обеспечивает получение полезной информации об эпидемиологических особенностях РВИ. Следует отметить, что прямой корреляции между антигенными свойствами РВ и электрофоретипами их РНК не существует [13].

Два структурных белка – VP7 (гликопротеин, или G-белок) и VP4 (Р-белок) – образуют наружную оболочку вируса. Основными антигенами

РВ являются белки наружного капсида – протеазочувствительный VP4 и гликопротеин VP7, детерминирующие существование 14 Р-серотипов и 15 G-серотипов соответственно. На свойствах этих белков основана бинарная характеристика РВ, отражающая GР-комбинацию.

В настоящее время разработаны тест-системы для выявления РНК ротавирусов методом ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) и методом мультиплексной ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией по «конечной точке» и в реальном времени [5]. Методы G/Р–генотипирования ротавирусов с использованием ОТ-ПЦР стали применяться в качестве современного «инструмента» при изучении циркуляции ротавирусов среди людей в разных регионах мира и это сегодня особенно актуально в контексте реализации программ по вакцинопрофилактике РВИ у детей [3].

В настоящее время из РВ человека и животных идентифицировано не менее 15 G-генотипов (соответствуют G-серотипам) и 23 [Р]-генотипа (самостоятельный признак). Из них не менее 10 G-серотип/генотипов (G1-G6, G8-G10, G12) и 10 [Р]-генотипов (P[3-6], P[8-11], P[14], P[19]) ассоциированных с диареей у детей. В бинарной номенклатуре VP7/VP4 серотип/генотип РВ, который определен с использованием ОТ-ПЦР, обозначают как G[Р]-тип [12].

В разные годы в одной и той же стране могут преобладать различные генотипы, а ранее считавшиеся редкими, могут получить широкое распространение [11, 12, 16, 17].

G[Р]-типирование РВ является неотъемлемым компонентом вирусологического мониторинга в системе эпидемиологического надзора за инфекцией для слежения за циркулирующими вариантами возбудителя с целью установления смены доминирующего G[Р]-генотипа, расшифровки вспышек в организованных коллективах, а также для выбора ротавирусных вакцин для иммунизации детей раннего возраста с учетом соответствия антигенного состава вакцин доминирующим штаммам.

В настоящее время разнообразие G[P]-типов РВ и их распределение изучены для территорий США, Европы, Азии, Африки, Австралии [14]. В то же время территория РФ в этом плане остается охарактеризованной недостаточно, а в Украине известны единичные исследования [8].

Группой авторов из РФ определены G[P]-типы РВ группы А человека и их распространение в Нижнем Новгороде и Дзержинске в 1997-2005 гг., обнаруженного у 2454 детей с диареей. Идентифицировано 8 G[P]-комбинаций, включающих серотипы G1-4 и генотипы P[1, 4]. Генотип P[8] был представлен субтипами P[8]-1 и P[8]-2. В 1997-2005 гг. спектр и распределение G[P]-типов были следующими: G1P[8]-1 - 10%, G1P[8]-2 - 67%, G1P[6] - 3%, G2P[4] - 9%, G3P[8]-2 - 5%, G3P[6] - 1%, G3P[9] - 1%, G4P[8]-2-3%, G9 - 0%, G?P[?] - 1%. В сезон 2004-2005 гг. идентифицировано 5 G[P]-типов РВ. Доминировал тип G2P[4] -37%, тип G1P[8]-2 обнаружен в 25% случаев, G3P[8]-2 – в 22%, G4P[8]-2 – в 12%, G3P[9] – в 2%, G[?]P[?] – в 2%. Субгенотип P[8]-1 не обнаружен [4]. Подобные результаты были получены и в Омской области в 2007 г. - доминировали генотипы G1P[8] (50%), G2P[4] (10%) и G4P[8] (10%). При этом в сельских районах преобладал генотип G1P[8] (72,5%), в Омске – G4P[8] (75%). Часть изолятов не была идентифицирована по G (15%) и P (27%)-типам, что позволило отнести их к редким генотипам [9].

В анализируемой литературе имеются данные о том, что в разные годы на одной и той же территории могут циркулировать различные генотипы РВ. Так, группой российских исследователей было прослежено изменение популяции РВ по G- и P-генотипам (г. Новосибирск) с июля 2003 г. по июнь 2004 гг. Генотипирование изолятов показало, что в популяции доминировала широко распространенная комбинация генотипов G1 P[8] (52,0%), далее в порядке убывания частоты встречаемости следовали G9P[8] (17,0%) и G2P[4] (6,0%); G1P[4] и G9P[10] обнаружены в единичных случаях. Во время пика заболеваемости

(февраль-май 2004 г.) произошло снижение частоты выявления генотипа G1P[8] с 83,0% в феврале до 14,0% в мае. В апреле был выявлен новый генотип G9P[8] (33,0%), который в мае и июне стал доминирующим (58,0 и 75,0% соответственно). Два других преобладающих в мире генотипа - G2P[4] и G1P[4] - были выявлены только в марте-июне 2004 г. [7].

Группой украинских ученых был проведен анализ разновидностей циркулирующих в двух крупных городах Украины - Киеве и Одессе - генотипов РВ с декабря 2006 г. по октябрь 2007 г. В обоих городах выделялись 5 генотипов РВ (G1,2,3,4,9). В Одессе выделен также генотип G12 и у 3-х детей - ассоциация двух генотипов одновременно. Обращает на себя внимание, что в Киеве более чем у половины детей выделялся РВ с генотипом G4 (52,0%), тогда как в г. Одессе преобладали РВ с генотипом G1(49,0%) [2, 8].

В результате генотипирования отобранных 210 позитивных образцов от 600 детей до 5 лет, проживающих в 6 разных городах Украины, в 176 случаях (83,8%) были идентифицированы Р-генотипы и в 182 случаях - G-генотипы РВ (86,6%). В 3,3 % образцов Р-генотип не был идентифицирован, в 4,3 % – G-генотип, и в 5,7 % случаев - оба генотипа. В исследуемый период была выявлена циркуляция четырех основных генотипов ротавирусов группы А: P[8]G1, P[8]G4, P[8]G3, P[4]G2. Следует отметить, что в Киеве, Львове, Одессе и Харькове большинство случаев РВИ (более 70%) было вызвано ротавирусом группы А с генотипом P[8]G1. В Сумах доминировал генотип P[8]G4. В Одессе в отдельных случаях были выявлены ротавирусы генотипа P[8]G9 [3, 6].

Таким образом, анализ доступных литературных источников позволил выявить наличие постоянной смены циркулирующих штаммов РВИ, что влечет за собой изменения проявлений эпидемического процесса, которые требуют новых подходов к организации и проведению эпидемиологического надзора за данной инфекцией.

Выводы.

1. В разные годы в одной и той же стране могут преобладать различные генотипы РВ, а ранее считавшиеся редкими, могут получить широкое распространение. Анализ штаммов РВ, выделенных в разных регионах мира, свидетельствует о широкой циркуляции трех из семи серологических групп РВ – А, В и С, которые отличаются по своим биологическим свойствам и способности вызывать тяжелые формы заболевания у людей разных возрастных групп.

2. Такие свойства РВ, как уникальная структура генома, генетическая пластичность, низкая инфицирующая доза, высокая контагиозность и резистентность к большинству дезинфицирующих средств, объясняют возможность широкой циркуляции и определяют высокий риск инфицирования в организованных коллективах.

3. В настоящее время разработаны тест-системы для выявления и расшифровки РНК РВ методом ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР), что позволяет более эффективно осуществлять эпидемиологический надзор за РВИ на современном этапе.

Литература:

1. Беляков В. Д. Качество и эффективность противоэпидемических мероприятий / В. Д. Беляков, А. А. Дегтярев, Ю. Г. Иванников // Л.: Медицина, 1981. – 303 с.

2. Голубятников Н. И. Ротавирусная инфекция: современное состояние проблемы / Н. И. Голубятников, П. С. Малахов // Вісник морської медицини. – 2012. – № 3. – С. 18–25.

3. Молекулярные методы диагностики в изучении циркуляции различных генотипов ротавирусов среди детей в Украине / И. В. Дзюблик, О. В. Обертинская, С. А. Соловьев [и др.] / Молекулярная диагностика–2010 : Матер. VII Всеросс. науч.–практ. конф. с междунар. участием. – Москва, 2010. – С. 42–44.

4. Патент № 2264469. Российская федерация. Способ идентификации субтипов ротавируса Р[8] генотипа / О.Ф. Федорова, Н.А. Новикова, Н.В. Елифанова.

5. Подколзин А. Т. Разработка методик детекции возбудителей острых кишечных инфекций на основе мультиплексной ПЦР с гибридизационно–флуоресцентной детекцией продуктов амплификации «по конечной точке» / А. Т. Подколзин, Н. Ю. Абрамычева, Е. Б. Фенске [и др.] // Генодиагностика инфекционных болезней : Матер. Росс. науч.–практ. конф., 25–27 октября 2005 г., Новосибирская обл. – Новосибирск, 2005. – С.216–221.

6. Поширення ротавірусів у водних об'єктах довкілля України / І. В. Дзюблик, О. В. Обертинська, І. Г. Костенко [та ін.] // Інфекційні хвороби. – 2008. – № 4. – С. 38–43.

7. Ротавирусная инфекция у детей раннего возраста в Новосибирске. Генотипирование циркулирующих изолятов / Е. В. Жираковская, Н. А. Никифорова, Т. Г. Корсакова [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2007. – № 3. – С. 32–36.

8. Ротавірусна інфекція у дітей в Україні / Л. І. Чернишова, Ю. П. Харченко, О. О. Юхименко [та ін.] // Современная педиатрия. – 2008. – № 4. – С. 120–122.

9. Эпидемиологическая характеристика и особенности этиологии ротавирусной инфекции в Омской области / М. Г. Горбунова, Н. В. Тикунова, Е. В. Жираковская [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2008. – № 6. – С. 36–39.

10. Ananthan S. Genomic diversity of group A rotavirus RNA from children with acute diarrhoea in Chennai, south India / S. Ananthan, P. Saravanan // Indian J. Med. Res.– 2000. – Vol. 111. – P. 50–56.

11. Distribution of rotavirus VP7 serotypes and VP4 genotypes circulating in Sousse, Tunisia, from 1995 to 1999: emergence of natural human reassortants

/ A. Trabelsi, I. Peenze, C. Pager [et al]. // J. Clin. Microbiol. – 2000. – Vol. 38, № 9. – P. 3415–3419.

12. Genetic and antigenic characterization of a serotype P[6]G9 human rotavirus strain isolated in the United States / J. R. Gentsch, Y. Hoshino, H. F. Clark, R. I. Glass // Virology. – 1999. – Vol. 30, № 1. – P. 45–53.

13. Genomic and antigenic variation among rotavirus strains circulating in a large city of Argentina / C. Espul, H. Cuello, N. Martinez [et al.] // J. Med. Virol. – 2000. – Vol. 61, № 4. – P. 504–509.

14. Hoshino Y. Rotavirus serotypes: classification and importance in epidemiology, immunity and vaccine development / Y. Hoshino, A. Z. Kapiklan // J. Hlth Popul. Nutr. – 2000. – Vol. 18. – P.99–111.

15. Matsuno A. Characterization of a human rotavirus strain which is possibly a naturally-occurring reassortant virus /A. Matsuno, A. Mukoyama., K. Hosegawa // Virus Res. – 1983. – Vol. 10, № 2/3. – P.167–176.

16. Rotavirus strains bearing genotype G9 or P [9] recovered from Brazilian children with diarrhea from 1997 to 1999 / N. Santos, E. M. Volotao, C. C. Soares [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2001 – Vol. 39, № 3. – P. 1157–1160.

17. Sang-Hyuk M. A. Distribution of both rotavirus P genotypes and G genotypes circulating in Korea during the 2000 – 2001 / M. A. Sang-Hyuk, Kim Byung-Chul, Yang Jai Myung // 20th annual Meeting of the European Society of Pediatric infections Diseases, 29 – 31 May 2002. – Vilnius. – 2002. – P. 120.

References:

1. Belliakov V. D. Quality and Efficacy of Anti-Epidemic Measures / V.D. Beliakov, A. A. Degtiariov, Yu.G.Ivannikov.- Leningrad: Medicina, 1981. – 303 p. (Rus.)

2. Golubiatnikov N. I. Rotavirus Infection: State of Art / N. I. Golubiatnikov, P. S. Malakhov // Herald for Maritime Medicine. – 2012. – № 3. – P. 18–25. (Rus.).

3. Molecular Methods of Diagnosis at the Study of Circulation of the Different Genotypes of Rotaviruses in Ukrainian Children / I. V. Dzublick, O. B. Obertonskaya, S. A. Soloviev, et al. / Molecular Diagnosis -2010: Materials of the VIIth All-Russia Conference with the International Pparticipation. – Moscow, 2010. – P. 42 – 44. (Rus.)

4. Patent № 2264469 (RU). Methods of Identification of Subtypes of Rotavirus P[8] Genotype / O.F. Fiodorov, N.A. Novikova, N.B. Yepifanova. (Rus.)

5. Podkolozin A. T. Methods of Detection of the Pathogenes of Acute Gasto-Intestinal Infections on the Basis of Multiplex PCR with Hybrizizational –Fluorescent Detection of the Products of Amplification by “Final Point” / A. T. Podkolozin, N. Yu. Abramychева, Ye. B.. Fenske, et al. // Genes Diagnosis of Infectious Diseases: Materials of Russian Conference, 25–27 October, 2005., Nobosibirsk Region. – Novosiborsk, 2005. – P.216–221. (Rus.)

6. Prevalence of Rotavirus Infection in the Aqueous Objects of Ukraine
Поширення ротавірусів у водних об'єктах довкілля України / I. B. Dziublick, O. B. Obertonskaya, I. G. Kostenko, et al. // Infectious Diseases. – 2008. – № 4. – P. 38–43. (Ukr.)

7. Rotavirus Infection in the Young Children in Novosibirsk.
Генотипирование циркулирующих изолятов / Е. В. Жираковская, Н. А. Никифорова, Т. Г. Корсакова [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2007. – № 3. – С. 32–36. (Rus.)

8. Rotavirus Infection in Children in Ukraine / L. I. Chernyshova, Yu. P. Kharchenko, O. O. Yukhimenko, et al. // Modern pediatrics. – 2008. – № 4. – P. 120–122. (Ukr.)

9. Epidemiologic Characteristics and Etiological Features of Rotavirus Infection in Omsk Region/ M. G. Gorbunova, N. B. Tikunova, Ye. V. Zhirakovskaya, et al. // *Epidemiology and Infectious Diseases*. – 2008. – № 6. – P. 36–39. (Rus.)
10. Ananthan S. Genomic diversity of group A rotavirus RNA from children with acute diarrhoea in Chennai, south India / S. Ananthan, P. Saravanan // *Indian J. Med. Res.* – 2000. – Vol. 111. – P. 50–56.
11. Distribution of rotavirus VP7 serotypes and VP4 genotypes circulating in Sousse, Tunisia, from 1995 to 1999: emergence of natural human reassortants / A. Trabelsi, I. Peenze, C. Pager [et al]. // *J. Clin. Microbiol.* – 2000. – Vol. 38, № 9. – P. 3415–3419.
12. Genetic and antigenic characterization of a serotype P[6]G9 human rotavirus strain isolated in the United States / J. R. Gentsch, Y. Hoshino, H. F. Clark, R. I. Glass // *Virology*. – 1999. – Vol. 30, № 1. – P. 45–53.
13. Genomic and antigenic variation among rotavirus strains circulating in a large city of Argentina / C. Espul, H. Cuello, N. Martinez [et al.] // *J. Med. Virol.* – 2000. – Vol. 61, № 4. – P. 504–509.
14. Hoshino Y. Rotavirus serotypes: classification and importance in epidemiology, immunity and vaccine development / Y. Hoshino, A. Z. Kapiklan // *J. Hlth Popul. Nutr.* – 2000. – Vol. 18. – P.99–111.
15. Matsuno A. Characterization of a human rotavirus strain which is possibly a naturally-occurring reassortant virus /A. Matsuno, A. Mukoyama., K. Hosegawa // *Virus Res.* – 1983. – Vol. 10, № 2/3. – P.167–176.
16. Rotavirus strains bearing genotype G9 or P [9] recovered from Brazilian children with diarrhea from 1997 to 1999 / N. Santos, E. M. Volotao, C. C. Soares [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2001 – Vol. 39, № 3. – P. 1157–1160.
17. Sang-Hyuk M. A. Distribution of both rotavirus P genotypes and G genotypes circulating in Korea during the 2000 – 2001 / M. A. Sang-Hyuk, Kim

Byung–Chul, Yang Jai Myung // 20th annual Meeting of the European Society of Pediatric infections Diseases, 29 – 31 May 2002. – Vilnius. – 2002. – P. 120.