

ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ  
«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ИНСТИТУТ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ ИМЕНИ ПАСТЕРА»

*На правах рукописи*

НГУЕН

Тхи Тхань Тхао

ХАРАКТЕРИСТИКА ЭНТЕРОВИРУСОВ, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ В  
ЮЖНОМ ВЬЕТНАМЕ И ИХ РОЛЬ В ЭТИОЛОГИИ ИНФЕКЦИОННЫХ  
БОЛЕЗНЕЙ

1.5.10 – Вирусология

**ДИССЕРТАЦИЯ**

**на соискание ученой степени кандидата медицинских наук**

**Научный руководитель:**

**кандидат медицинских наук**

**Романенкова Наталья Ивановна**

Санкт-Петербург 2025

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	5
1 ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ.....	18
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	18
1.1 Общая характеристика энтеровирусов, классификация, структура генома, репликация и генетические изменения энтеровирусов.....	19
1.2 Репликация и трансформация энтеровирусов .....	23
1.3 Общая характеристика полиовирусов.....	25
1.4 Клинические и эпидемиологические особенности энтеровирусной инфекции. Патогенез энтеровирусной инфекции.....	28
1.4.1 Клинические особенности энтеровирусной инфекции.....	31
1.4.2 Эпидемиология энтеровирусной инфекции .....	32
1.5 Методы диагностики полиомиелита и энтеровирусной инфекции .....	34
1.5.1 Методы диагностики полиомиелита .....	34
1.5.2 Методы тестирования на энтеровирусную инфекцию .....	36
1.6 Важность Программы ликвидации полиомиелита для улучшения надзора за энтеровирусами .....	37
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	41
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ .....	44
2.1 Материалы .....	46
2.2 Методы исследования .....	49
2.2.1 Выделение энтеровирусов .....	50
2.2.2 Молекулярно-биологический метод .....	51
2.2.3 Идентификация ЭВ с помощью пан-энтеровирусной ОТ-ПЦР.....	52
2.2.4 Идентификация EVA71 с помощью ОТ-ПЦР.....	53
2.2.5 Идентификация подтипа EVA71 путем секвенирования всей области генома VP1....	54
2.2.6 Идентификация типа энтеровируса с помощью консенсусно-вырожденных гибридных олигонуклеотидных праймеров (CODEHOP) ОТ-ПЦР на ген VP1.....	55
2.3 Обработка статистических данных .....	56

3	РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ .....	57
3.1	ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СИНДРОМА ОСТРОГО ВЯЛОГО ПАРАЛИЧА В ЮЖНОМ ВЬЕТНАМЕ.....	57
3.1.1	Выделение полиовирусов у пациентов с диагнозом «острый вялый паралич» в 2010-2021 гг.....	57
3.1.2	Выделение неполиомиелитных энтеровирусов у пациентов с диагнозом «острый вялый паралич» в 2010-2021 гг .....	65
3.2	ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ ЭНТЕРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В ЮЖНОМ ВЬЕТНАМЕ.....	73
3.2.1	Циркуляция неполиомиелитных энтеровирусов и особенности различных форм энтеровирусной инфекции в Южном Вьетнаме .....	73
3.2.2	Этиологические агенты вирусной пузырчатки полости рта и конечностей в Южном Вьетнаме .....	80
3.2.3	Этиологические агенты энтеровирусного менингита/менингоэнцефалита в Южном Вьетнаме .....	86
3.3	РОЛЬ ЭНТЕРОВИРУСА 71 КАК ЭТИОЛОГИЧЕСКОГО АГЕНТА ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В ЮЖНОМ ВЬЕТНАМЕ.....	92
3.3.1	Характеристика инфекционных заболеваний, ассоциированных с энтеровирусом 71, в Южном Вьетнаме .....	93
3.4	МОЛЕКУЛЯРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕКОТОРЫХ ЭНТЕРОВИРУСОВ, ЧАСТО ЦИРКУЛИРУЮЩИХ В ЮЖНОМ ВЬЕТНАМЕ.....	97
3.4.1	Молекулярная характеристика штаммов энтеровируса EVA71, циркулирующих в Южном Вьетнаме .....	97
3.4.2	Молекулярная характеристика штаммов энтеровируса CVA10, циркулирующих в Южном Вьетнаме .....	101
	ОБСУЖДЕНИЕ.....	104
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	1144
	ВЫВОДЫ .....	116
	Список использованных сокращений.....	118
	Список литературы.....	119

## ВВЕДЕНИЕ

Энтеровирусная инфекция человека может протекать в разных клинических формах с весьма разнообразными симптомами. Этиологическими агентами этой инфекции являются энтеровирусы, которые относятся к роду *Enterovirus* семейства *Picornaviridae* [148]. Энтеровирусы человека (HEV) подразделяют на четыре вида А-Д и более чем на 100 типов. Три типа энтеровирусов из вида С – полиовирусы, являются этиологическими агентами полиомиелита – тяжелой неврологической инфекции с типичной клиникой острого вялого паралича, который может закончиться остаточным параличом. Другие энтеровирусы, например, энтеровирус EVA71, энтеровирус EVD68, вирусы Coxsackievirus и вирусы ЕСНО ряда типов также способны вызывать острые вялые параличи. Инфекции, обусловленные этими вирусами, могут сопровождаться (чаще осложняться) другими неврологическими заболеваниями (менингитами и энцефалитами).

В 1988 году Всемирная Ассамблея здравоохранения приняла резолюцию о ликвидации (искоренении) полиомиелита в мире к 2000 году. План действий по глобальной ликвидации полиомиелита был утвержден в 1989 году. Согласно рекомендациям Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), наиболее эффективным способом выявления паралитического полиомиелита является наблюдение за синдромом острого вялого паралича (ОВП) и обязательная лабораторная диагностика всех выявленных случаев острых вялых параличей у детей в возрасте до 15 лет. На сегодняшний день пять регионов ВОЗ из шести сертифицированы как регионы, свободные от полиомиелита [129]. Дикий полиовирус типа 1 (ДПВ1) в настоящее время циркулирует среди населения только Афганистана и Пакистана.

### **Актуальность темы исследования**

Число типов неполиомиелитных энтеровирусов (НПЭВ), являющихся возбудителями энтеровирусной инфекции (ЭВИ) превышает 100 типов. Большая изменчивость энтеровирусов связана с двумя механизмами эволюции вирусов – мутацией и рекомбинацией. Важную роль при образовании новых вариантов

энтеровирусов играют мутации, высокая частота нуклеотидных замен на разных участках генома вируса может привести к изменениям таких свойств как нейровирулентность и трансмиссивность. Процесс рекомбинации [139] также способствует накоплению мутаций в связи с увеличением продолжительности жизни рекомбинантных штаммов.

Лабораторное подтверждение диагноза при энтеровирусной инфекции проводят с использованием вирусологических и молекулярно-биологических методов. Выделение и идентификацию вирусов осуществляют классическим вирусологическим методом на сертифицированных линиях клеток. Тип энтеровируса определяют в реакции нейтрализации с помощью специфических диагностических сывороток, но этот процесс является трудоёмким и длительным в связи с большим числом типов НПЭВ и зависит от наличия соответствующих сывороток. Для детекции и последующей идентификации вирусов часто применяют молекулярно-биологические методы: полимеразную цепную реакцию (ПЦР) и секвенирование генома вируса [93]. Секвенирование генома позволяет установить тип и генотип энтеровируса, что может служить для выяснения этиологии вспышек и групповых заболеваний энтеровирусной инфекцией. Секвенирование генома вируса также позволяет выяснить филогенетические связи и географическое происхождение различных штаммов энтеровирусов. Поиск и идентификация энтеровирусов у разных категорий обследованных лиц, а также изучение молекулярно-генетических характеристик энтеровирусов, циркулирующих среди людей в разные периоды времени в отдельных провинциях Южного Вьетнама, является актуальной научной задачей.

Энтеровирусная инфекция (ЭВИ) переменна по клиническим проявлениям и тяжести: от бессимптомной инфекции до серьёзных генерализованных заболеваний, сопровождающихся поражением сердечно-сосудистой и центральной нервной систем. Клинические формы с явлениями острого вялого паралича, менингита или менингоэнцефалита из-за своей тяжести могут закончиться летальным исходом. Поскольку энтеровирусы одного и того

же типа могут вызывать энтеровирусную инфекцию в различных клинических формах, постановка точного диагноза может быть затруднена.

В процессе эволюции энтеровирусов могут формироваться штаммы с повышенной нейровирулентностью и трансмиссивностью в связи с особенностью их молекулярной организации. Энтеровирусная инфекция, сопровождающаяся неврологическими осложнениями, представляет большую опасность для здоровья человека и является одной из актуальнейших проблем здравоохранения Южного Вьетнама и страны в целом.

### **Степень разработанности темы**

Создание национальной программы борьбы с полиомиелитом во Вьетнаме имело решающее значение для реализации плана ликвидации инфекции в стране. Вьетнам был аккредитован как страна, свободная от полиомиелита, вместе с другими странами региона ВОЗ Западной части Тихого океана в 2000 году. Завершающий этап ликвидации полиомиелита сопровождался широким применением во Вьетнаме оральной полиовирусной вакцины для плановой трехкратной иммунизации детей в возрасте двух, трех и четырех месяцев. С 2019 года схема вакцинации против полиомиелита изменилась, была добавлена дополнительная прививка с использованием инактивированной полиовирусной вакцины для плановой иммунизации детей в возрасте пять месяцев. Результатом принятых мер стало уменьшение циркуляции вакцинных полиовирусов, которые могут быть источником образования полиовирусов вакцинного происхождения (ПВВП или VDPV), приближающихся по вирулентности к диким штаммам. Также уменьшилось число случаев острого вялого паралича, связанных с инфицированием полиовирусами (вакцинными или ПВВП). Экологическая “ниша”, которая образовалась в результате принятых мер, начала заполняться неполиомиелитными энтеровирусами (НПЭВ или NPEV), которые широко циркулируют среди населения страны. Это вызвало увеличение числа случаев энтеровирусной инфекции, осложнившихся развитием острых вялых параличей.

До 1997 года основной причиной вирусных заболеваний центральной нервной системы во Вьетнаме был вирус японского энцефалита. С момента

включения вакцины против японского энцефалита в Расширенную программу иммунизации, в Азии произошло значительное снижение доли японского энцефалита в структуре неврологических инфекций. В настоящее время ведущими этиологическими агентами тяжелых неврологических заболеваний вирусной природы во Вьетнаме являются вирус денге и энтеровирусы [129].

Высокая социально-экономическая значимость энтеровирусной инфекции, главным образом энтеровирусной экзантемы полости рта и конечностей (ящуроподобный синдром или энтеровирусный стоматит), является причиной существенного экономического бремени во Вьетнаме [91]. Ситуация с массовыми вспышками этого заболевания требует изучения закономерностей развития эпидемического процесса энтеровирусной инфекции, совершенствования эпидемиологического надзора, вирусологической диагностики ЭВИ и мер профилактики этой инфекции.

Эпиднадзор за ЭВИ во Вьетнаме основан на мониторинге заболеваемости энтеровирусной экзантемой полости рта и конечностей – заболевания с типичной сыпью на коже кистей рук, стоп и слизистой рта (ящуроподобного синдрома). Первые случаи этого заболевания, осложненного энцефалитом, были зарегистрированы во Вьетнаме в 2003 году в Хошимине во время вспышки острого энцефалита [136]. Резкий рост заболеваемости во Вьетнаме произошел в 2011 году, когда был зарегистрирован 113 121 случай заболевания, из которых 170 закончились летальным исходом [88]. Случаи заболеваний и смертность, связанные с данной инфекцией, в 2011 году были зарегистрированы во всех провинциях Вьетнама, но большее число заболеваний и летальных случаев пришлось на Южный Вьетнам; в 2012 году эпидемия распространилась на северные провинции страны. В 2013-2017 годах число пациентов и смертей во Вьетнаме значительно снизилось, но уровень заболеваемости оставался намного выше, чем до начала эпидемии. В 2018 году вновь наблюдался рост заболеваемости и смертности [46].

В 2011 году Министерство здравоохранения Вьетнама классифицировало данную инфекцию как серьезное инфекционное заболевание с высоким эпидемическим потенциалом и включило его в список инфекционных заболеваний, подлежащих еженедельной отчетности. В 2012 году в Южном Вьетнаме была создана система эпиднадзора за энтеровирусной экзантемой полости рта и конечностей. Такая система основана на обязательном лабораторном обследовании тяжелых и смертельных случаев ЭВИ и изучении выделенных штаммов энтеровирусов. В связи с вышеизложенным, постоянный мониторинг циркуляции энтеровирусов, анализ спектра типов и генотипов энтеровирусов, выделенных от пациентов с ЭВИ, а также анализ смена доминирующих типов возбудителей энтеровирусной инфекции имеет важное эпидемиологическое и социальное значение. Это необходимо для прогнозирования развития эпидемической ситуации с ЭВИ в Южном Вьетнаме, своевременного проведения профилактических мероприятий и разработки вакцинопрофилактики наиболее распространенных и тяжелых клинических форм энтеровирусной инфекции.

### **Цель исследования**

Изучить вирусологические и молекулярные свойства энтеровирусов, особенности их циркуляции среди населения Южного Вьетнама, и роль энтеровирусов в этиологии инфекционных заболеваний.

### **Задачи исследования**

1. Определить частоту выделения полиовирусов и неполиомиелитных энтеровирусов от больных с синдромом острого вялого паралича в Южном Вьетнаме.

2. Установить виды и типы энтеровирусов, ассоциированных с неполио энтеровирусной инфекцией в Южном Вьетнаме, и оценить роль доминирующих в циркуляции энтеровирусов в качестве этиологических агентов различных клинических форм энтеровирусной инфекции.

3. Оценить распространенность неполиомиелитных энтеровирусов разных типов среди населения Южного Вьетнама. Определить ведущую клиническую

форму неполио энтеровирусной инфекции в Южном Вьетнаме и идентифицировать связанные с ней неполиомиелитные энтеровирусы.

4. Установить лидирующий в этиологии ведущей для Вьетнама клинической формы неполио энтеровирусной инфекции тип неполиомиелитного энтеровируса и оценить его роль в этиологии других клинических форм инфекции.

5. Охарактеризовать молекулярные особенности и филогенетические связи неполиомиелитных энтеровирусов, наиболее широко циркулирующих среди населения Южного Вьетнама, и часто выявляемых у пациентов с энтеровирусной инфекцией.

#### **Научная новизна исследования**

На основе анализа вирусологических и молекулярных свойств энтеровирусов, выделенных от пациентов с разными формами энтеровирусной инфекции, впервые были показаны изменения в структуре неполиомиелитных энтеровирусов, циркулировавших среди населения Южного Вьетнама, в течение длительного периода наблюдения. Были выявлены энтеровирусы отдельных типов и генотипов, которые доминировали в циркуляции и вызывали вспышки энтеровирусной инфекции в разные годы. Впервые был проведен анализ вспышек энтеровирусной инфекции в ряде провинций Южного Вьетнама за длительный период времени с учетом клинических форм этой инфекции. Была определена ведущая клиническая форма энтеровирусной инфекции и охарактеризованы штаммы лидирующих типов неполиомиелитных энтеровирусов, циркулировавших в Южном Вьетнаме. С помощью комплексного анализа была дана оценка роли доминирующих в циркуляции неполиомиелитных энтеровирусов как этиологических агентов отдельных клинических форм энтеровирусной инфекции в Южном Вьетнаме.

## **Теоретическая и практическая значимость полученных результатов**

Комплексный подход к диагностике энтеровирусной инфекции с использованием вирусологических и молекулярных методов исследования позволил получить новые систематизированные данные о циркуляции неполиомиелитных энтеровирусов разных типов и генотипов на территории Южного Вьетнама в течение длительного периода наблюдения. Исследования, направленные на изучение свойств энтеровирусов, являются необходимым условием для предотвращения рисков, связанных с энтеровирусной инфекцией в Южном Вьетнаме. Показана необходимость систематического мониторинга циркуляции неполиомиелитных энтеровирусов. Особое внимание следует уделять появлению и распространению новых вариантов этих энтеровирусов. Проведение таких исследований позволит прогнозировать развитие подъемов заболеваемости энтеровирусной инфекцией и своевременно принимать меры профилактики, основанные на новых технологических решениях, в том числе в области вакцинопрофилактики данной инфекции.

## **Методология и методы исследования**

Методологической основой исследования послужило сочетание классических вирусологических и современных молекулярно-биологических методов исследования. В исследовании применяли выделение энтеровирусов на двух стандартизованных линиях клеток (RD и L20B). Идентификацию энтеровирусов проводили на тех же клетках в реакции нейтрализации с диагностическими сыворотками. Для молекулярных исследований использовали выделение РНК, ПЦР, секвенирование генома вирусов и филогенетический анализ.

## **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Южный Вьетнам сохранял свободный от полиомиелита статус за счет эффективности надзора и высокого уровня охвата вакцинацией. Выделение вакцинных полиовирусов от больных с синдромом острого вялого паралича не превышало 1%. Выделение от этих пациентов 11,8% неполио энтеровирусов

связано с их широкой циркуляцией в Южном Вьетнаме и частыми неврологическими осложнениями неполио энтеровирусной инфекции.

2. Доминирование в циркуляции энтеровирусов вида А – энтеровирус 71 и энтеровирусы Коксаки А разных типов, обусловило преобладание вирусной пузырчатки полости рта и конечностей среди клинических форм неполио энтеровирусной инфекции. Смена типов и генотипов энтеровирусов в ходе многолетней циркуляции приводила к периодическим подъёмам заболеваемости энтеровирусной инфекцией в Южном Вьетнаме.

3. Энтеровирус 71 был лидирующим этиологическим агентом ведущей клинической формы неполио энтеровирусной инфекции – вирусной пузырчатки полости рта и конечностей, широко распространенной в Южном Вьетнаме. Энтеровирус 71 был выявлен при различных клинических формах неполио энтеровирусной инфекции, его нередко обнаруживали у больных с диагнозами энтеровирусный менингит или острый вялый паралич.

4. Большинство изученных штаммов энтеровируса 71, циркулировавших в Южном Вьетнаме, принадлежали к генотипу С4, часть штаммов была представлена генотипом В5. Идентифицированные штаммы энтеровируса Коксаки А10, выделенные от больных, в основном принадлежали к генотипу F3, один штамм вируса Коксаки А10 был отнесен к генотипу F1.

### **Личный вклад автора**

Личный вклад автора заключается в планировании и непосредственном проведении всех вирусологических исследований биологического материала, полученного от больных с синдромом ОВП и ЭВИ, а также молекулярно-генетических изысканий и анализе полученных результатов с целью установления закономерностей развития эпидемического процесса при энтеровирусной инфекции. Автор тщательно проанализировал научную литературу и собственные данные. Статистическая обработка полученных данных, обобщение результатов исследований, подготовка материалов к

депонированию нуклеотидных последовательностей в международную базу данных GenBank и к публикациям также выполнены автором.

### **Степень достоверности результатов исследования и апробация работы**

Достоверность полученных результатов обеспечена значительным числом изученных случаев инфекционных заболеваний и штаммов неполио энтеровирусов, выявленных в биологическом материале обследованных пациентов, большим массивом обработанных данных, а также использованием современных методов исследования, включая статистические. Обнаруженные энтеровирусы были охарактеризованы с помощью разнообразных методов исследования (клинико-лабораторных, вирусологических и молекулярно-генетических). Большой объем выполненных исследований и проведенный анализ позволили подтвердить сформулированные основные положения диссертации и сделать достоверные выводы. Полученные данные стали основой для 11 публикаций по результатам исследования в рецензируемых журналах. Основные материалы исследования были представлены в докладах на российских конференциях, в том числе международных.

1. Доклад «Энтеровирусная инфекция в Южном Вьетнаме» на IV Международной конференции по борьбе с новой коронавирусной инфекцией и другими инфекционными заболеваниями и Международной конференции «Результаты и будущий потенциал сотрудничества между совместными исследовательскими центрами в Африке, Азии и Южной Америке для изучения и профилактики инфекционных заболеваний» декабрь 2023 года Санкт-Петербург.

2. Доклад «Энтеровирусная инфекция 71 типа, вызывающая HFMD, в Южном Вьетнаме» на Международном симпозиуме «100 лет, носящем имя Луи Пастера» июнь 2023 года, Санкт-Петербург.

3. Доклад «Типирование энтеровирусов, ассоциированных с заболеваниями рук, стоп и полости рта, циркулирующих в Южном Вьетнаме,

2016-2018 гг.» на Международном симпозиуме «Российско-вьетнамская конференция», ноябрь 2019 г., Москва.

4. Доклад «Циркуляция вируса Коксаки А при экзантемных заболеваниях конечностей и слизистой рта в Южном Вьетнаме, 2015-2016 годы» на Международной конференции по молекулярным основам эпидемиологии, диагностики профилактики и лечению инфекционных заболеваний, посвященной 110-летию Санкт-Петербургского института Пастера декабрь 2018 года, Санкт-Петербург.

Основные положения диссертации отражены в 11 научных публикациях. Базы данных Web of Science и/или Scopus.

1. Голицына Л.Н., Нгуен Т.Т.Т., Романенкова Н.И., Лыонг М.Т., Ву Л.Т., Канаева О.И., Бичурина М.А., Новикова Н.А. Энтеровирусная инфекция в Социалистической Республике Вьетнам // Инфекция и иммунитет. – 2019. - Т.9, №3-4. – С. 467-475.

2. Голицына Л.Н., Зверев В.В., Пономарева Н.В., Романенкова Н.И., Нгуен Т.Т.Т., Канаева О.И., Селиванова С.Г., Леонов А.В., Розаева Н.Р., Кашников А.Ю., Бичурина М.А., Новикова Н.А. Молекулярно-эпидемиологический мониторинг циркуляции вируса Коксаки А10 // Здоровье населения и среда обитания: ЗНиСО. 2021. № 4 (337). С. 43-49.

3. Romanenkova N.I., Golitsyna L.N., Nguyen T.T.T, Ponomareva N.V., Leonov A.V., Kanaeva O.I., Zverev V.V., Selivanova S.G., Rozaeva N.R., Luong M.T., Bichurina M.A., Novikova N.A. Epidemiological and etiological aspects of enterovirus infection in Russia and Vietnam // Russian Journal of Infection and Immunity. - 2021. - Vol. 11. - N. 5. - P. 905-916. doi: 10.15789/2220-7619-EAE-1791.

4. Romanenkova NI, Nguyen TTT, Golitsyna LN, Ponomareva NV, Rozaeva NR, Kanaeva OI, Leonov AV, Novikova NA, Bichurina MA. Enterovirus 71-Associated Infection in South Vietnam: Vaccination Is a Real Solution. Vaccines (Basel). 2023 May 3;11(5):931. doi: 10.3390/vaccines11050931. PMID: 37243035; PMCID: PMC10221170.

5. Romanenkova Natalia, Nguyen TTT, Rozaeva Nadezhda, Kanaeva Olga, Evseeva Veronika, Bichurina Maina. (2023). Surveillance of acute flaccid paralysis and poliomyelitis on some territories of Russia and South Viet Nam. Part 1. Polioviruses and paralysis. Russian Journal of Infection and Immunity. – 2023. – Vol. 13. – N. 2. – P. 329-337.

6. Nguyen TT, Chiu CH, Lin CY, Chiu NC, Chen PY, Le TTV, Le DN, Duong AH, Nguyen VL, Huynh TN, Truong HK, Phan TL, Nguyen TTT, Shih SR, Huang CG, Weng YJ, Hsieh EF, Chang S, Chen C, Tai IC, Huang LM. Efficacy, safety, and immunogenicity of an inactivated, adjuvanted enterovirus 71 vaccine in infants and children: a multiregional, double-blind, randomized, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet*. 2022 Apr 30; 399(10336):1708-1717. doi: 10.1016/S0140-6736(22)00313-0. Epub 2022 Apr 12. PMID: 35427481.

7. Hoang CQ, Nguyen HD, Ho NX, Vu THT, Pham TTM, Nguyen KT, Nguyen HT, Hoang LT, Clapham H, Nguyen TTT, Phan LT. Incidence of Infection of Enterovirus 71 and Coxsackieviruses A6 and A16 among Household Contacts of Index Cases in Dong Thap Province, Southern Vietnam. *Biomed Res Int*. 2020 Nov. 19; 2020:9850351. doi: 10.1155/2020/9850351. PMID: 33274234; PMCID: PMC7695493.

8. Nguyet LA, Thanh TT, Nhan LNT, Hong NTT, Nhu LNT, Van HMT, Ny NTH, Anh NT, Han DDK, Tuan HM, Huy VQ, Viet HL, Cuong HQ, Thao NTT, Viet DC, Khanh TH, Thwaites L, Clapham H, Hung NT, Chau NVV, Thwaites G, Ha DQ, van Doorn HR, Tan LV. Neutralizing Antibodies against Enteroviruses in Patients with Hand, Foot and Mouth Disease. *Emerg Infect Dis*. 2020 Feb;26(2):298-306. doi: 10.3201/eid2602.190721. PMID: 31961293; PMCID: PMC6986819.

9. Chiu ML, Luo ST, Chen YY, Chung WY, Duong V, Dussart P, Chan YF, Perera D, Ooi MH, Thao NTT, Truong HK, Lee MS. Establishment of Asia-Pacific Network for Enterovirus Surveillance. *Vaccine*. 2020 Jan 3;38(1):1-9.

doi: 10.1016/j.vaccine.2019.09.111. Epub 2019 Oct 31. PMID: 31679864.

10. Hoang CQ, Nguyen TTT, Ho NX, Nguyen HD, Nguyen AB, Nguyen THT, Phan HC, Phan LT. Transmission and serotype features of hand foot mouth disease in household contacts in Dong Thap, Vietnam. BMC Infect Dis. 2019 Nov 5;19(1):933. doi: 10.1186/s12879-019-4583-1. PMID: 31690269; PMCID: PMC6833133.

11. Thao NTT, Donato C, Trang VTH, Kien NT, Trang PMMT, Khanh TQ, Nguyet DT, Sessions OM, Cuong HQ, Lan PT, Huong VTQ, van Doorn HR, Vijaykrishna D. Evolution and Spatiotemporal Dynamics of Enterovirus A71 Subgenogroups in Vietnam. J Infect Dis. 2017 Dec 12;216(11):1371-1379. doi: 10.1093/infdis/jix500. PMID: 29029128; PMCID: PMC5853389.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация представлена на 133 страницах машинописного текста, включает 22 таблицы и 29 рисунков. Работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, четырех глав собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов и списка цитируемой литературы. Список литературы включает в себя 152 источника, из которых большинство написано иностранными авторами.

### **Апробация и внедрение в практику результатов исследования**

Результаты настоящей работы были использованы в двух учебных пособиях, предназначенных для таких специалистов, как педиатры, инфекционисты, вирусологи и эпидемиологи.

1. Справочное пособие «Надзор и контроль вирусных инфекций, актуальных для Социалистической Республики Вьетнам». Санкт-Петербург. 2018. 72 С.

2. Справочное пособие «Совершенствование эпидемиологического надзора и лабораторной диагностики энтеровирусной инфекции в Социалистической Республике Вьетнам». Санкт-Петербург. 2022. 80 С. На двух языках (русский, вьетнамский), ISBN978-5-904405-56-4.

В международную базу данных GenBank были депонированы нуклеотидные последовательности неполиомиелитных энтеровирусов. Полные нуклеотидные последовательности области генома VP1 58 вирусов EVA71 представлены в Международный GenBank под номерами MW139687 – MW139744, OR947996 — OR948003.

Данные, полученные в ходе исследования, и депонированные в базу данных GenBank нуклеотидные последовательности штаммов энтеровируса 71, могут быть полезны многим специалистам (эпидемиологам, вирусологам, инфекционистам и другим). Также они могут быть использованы в программах обучения на медицинских и биологических факультетах.

## ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

### 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Энтеровирусной инфекцией ежегодно болеют миллионы людей в мире. Ее возбудители представители семейства *Picornaviridae*, рода *Enterovirus*. Энтеровирусы могут быть связаны с различными острыми заболеваниями, от легкого лихорадочного состояния до тяжелых форм инфекции. Иногда энтеровирусная инфекция может носить затяжной характер в силу длительной персистенции энтеровирусов в организме больного. Среди представителей рода энтеровирусов полиовирусы наиболее исторически известны и важны, поскольку они являются причиной полиомиелита, одного из самых страшных заболеваний, клинически проявляющегося в виде острого вялого паралича. Сотни тысяч детей ежегодно страдали от полиомиелита до создания полиовирусных вакцин. Энтеровирусы претерпевают значительные генетические изменения посредством рекомбинации и мутаций. Род энтеровирусы делится на 15 видов на основании филогенетического анализа и включает 7 видов, поражающих людей, среди которых 3 вида являются представители рода *Rhinovirus* [116]. В роду *Parechovirus* два патогенных для человека вида: парэчховирусы А и В. Ранее, эти парэчховирусы, относили к энтеровирусам (ЕСНО 22, 23), однако в ходе детального изучения генома были выявлены сильные различия в геномных участках, отвечающих за репликацию и трансляцию, поэтому они были выделены в отдельный род [36]. В настоящее время существует более 250 типов энтеровирусов, включая ряд типов риновирусов и три типа полиовирусов, и 16 типов парэчховирусов, из которых 6 патогенны для человека [27, 95]. Разнообразие внутри семейства вирусов также выражается в широком спектре симптомов вызываемых ими заболеваний, включая бессимптомные инфекции (наиболее частые), неспецифические сыпь и лихорадку, герпес и вирусную экзантему полости рта и конечностей, а также респираторные заболевания, такие как пневмония [152]. В то время как обнаружение энтеровирусов в желудочно-кишечном тракте, крови и нижних дыхательных путях дает четкое доказательство текущей инфекции, обнаружение

их в ротоглотке и верхних дыхательных путях указывает только на факт инфицирования, поскольку бессимптомные инфекции могут продолжаться в течение недель или месяцев.

### **1.1 Общая характеристика энтеровирусов, классификация, структура генома, репликация и генетические изменения энтеровирусов**

Энтеровирусы являются распространенными вирусами, ежегодно вызывающими множество заболеваний, например, 10-15 миллионов случаев в США [124]. Энтеровирусы поражают ротоглотку и кишечный тракт, они вызывают разнообразные заболевания. Большинство энтеровирусов связаны с легкими или бессимптомными случаями. Согласно многим исследованиям, энтеровирусная инфекция может сопровождаться экзантемными проявлениями, в большинстве случаев с легкими клиническими симптомами. Некоторые энтеровирусы способны поражать центральную нервную систему и вызывать серьезные неврологические заболевания у пациентов, такие как менингиты, энцефалиты или параличи [77]. Сезонность энтеровирусной инфекции была отмечена давно: большинство энтеровирусных инфекций в умеренном климате происходит летом и осенью. Однако в тропическом и субтропическом климате заболеваемость ЭВИ продолжается круглый год [47, 99]. Энтеровирусы (кроме риновирусов) часто дают высокую заболеваемость летом. Эта заболеваемость также варьирует в зависимости от типов энтеровирусов [49]. Многие типы ЭВ в отдельные годы циркулируют с разной частотой, распространенность конкретного типа может колебаться. Вспышки, как правило, происходят периодически, каждые несколько лет. Дети наиболее восприимчивы к этим вирусам.

Энтеровирусы обычно обнаруживаются в респираторных выделениях (слюна, мокрота или носовая слизь) и в фекалиях инфицированных людей, а также в спинномозговой жидкости и крови. Тип исследуемого материала зависит от клинических проявлений заболевания [37].

Энтеровирусы — сферические вирусы без оболочки диаметром от 28 до 30 нм. Их геном представлен одноцепочечной молекулой РНК положительной

полярности [83]. Геномы энтеровирусов имеют длину приблизительно от 7,5 до 8,0 кб и содержат открытую рамку считывания (ORF), окруженную высокоструктурированными нетранслируемыми областями (UTR) на 5' и 3' концах. 5' UTR включает структуру РНК, похожую на клеверный лист, за которой следует участок внутренней посадки рибосомы (IRES) [76]. Это высокоструктурированный элемент РНК, напрямую взаимодействующий с рибосомами, что позволяет трансляции вирусного белка происходить независимо от кэп-зависимого механизма, используемого клетками-хозяевами. ORF кодирует полипротеин, который разрезается в отдельные вирусные белки вирусными протеазами [31].

Энтеровирусная инфекция часто ассоциируется с определённым типом вируса. Наиболее часто встречаются следующие клинические формы:

- Полиомиелит: полиовирусы типов 1-3 (ПВ 1-3)
- Острые вялые параличи и другие полиомиелит подобные заболевания: EVD68, EVA71, ECHO11 и др.
- Миокардит: CVA, CVB
- Геморрагический конъюнктивит: EVD70
- Пневмония: EVD68, риновирусы
- Герпетическая ангина: CVA, EVA71
- Экзантема полости рта и конечностей (Hand, foot and mouth disease): CVA16, EVA71
- Инфекции верхних дыхательных путей: EVD68, риновирусы
- Обострение хронических респираторных заболеваний (хроническая обструктивная болезнь лёгких, муковисцидоз, астма): риновирусы
- Асептический менингит: CVA9, CVB, вирусы ECHO разных типов, EVA71 [63, 82, 92, 104, 116, 127].

Энтеровирусы относятся к семейству *Picornaviridae*, которое включает два рода: *Enterovirus* и *Rhinovirus*. Их объединяет то, что они небольшие, содержат одноцепочечную РНК, имеют кубовидный симметричный капсид и не имеют оболочки. Род *Enterovirus* включает 4 вида А, В, С и D [65]:

Полиовирус: Полиовирус поражает клетки эпителия ротоглотки и кишечника, поэтому его можно выделить из этих органов. Среди полиовирусов выделяют три типа: 1, 2, 3 [107]. Все они вызывают полиомиелит - острое заболевание, которое поражает центральную нервную систему. Вирус может разрушить двигательные нейроны спинного мозга (передние рога) и коры головного мозга, вызывая вялый паралич. Во время эпидемии 90–93% случаев инфицирования являются латентными, 4–8% имеют легкое течение с респираторными и кишечными симптомами, и только у 1–2% инфицированных лиц развивается паралитический синдром.

Вирусы Коксаки включают 29 типов [13]. Как и полиовирус, они поражают кишечник человека и впервые были выделены в фекалиях двух детей в Коксаки, штат Нью-Йорк. Они отличаются от других энтеровирусов своей способностью вызывать заболевание у мышей; другие энтеровирусы либо не патогенны для лабораторных животных, либо инфекция не проявляется клинически. Вирусы Коксаки делятся на две группы: группу А и группу В с различной способностью вызывать паралич у новорожденных мышей [53]. Вирусы Коксаки А поражают скелетные и сердечные мышцы, Коксаки В размножаются в широком спектре клеток и тканей, включая ЦНС, печень, поджелудочную железу и другие клетки. [53, 99]. Более активно вирусы Коксаки В размножались в мышцах с селеновой недостаточностью [5].

Экховирусы (энтеральный цитопатогенный орфанный вирус человека) включают в себя 33 типа. Они также обнаруживаются в желудочно-кишечном тракте, вызывая цитопатический эффект в клеточных культурах, но не вызывают патологических поражений у мышей [53, 99, 112]. Вирусы ЕСНО связаны с различными патологическими проявлениями от легкого респираторного заболевания до повреждения мозга [44].

Риновирuсы способны инфицировать как верхние, так и нижние дыхательные пути [121]. Исследования показали, что для этого вируса температура 36°C является идеальной средой для эффективного роста. Однако риновирусы (и другие респираторные энтеровирусы) наиболее эффективны при

температуре 33°C, что может способствовать тропизму к верхним дыхательным путям. Было показано, что хотя более высокие температуры не влияют на репликацию вируса, они влияют на ответные реакции клеток-хозяев, что создаёт менее благоприятную для вируса среду [121].

Кроме того, не риновирусные энтеровирусы считаются наиболее распространенными вирусными патогенами, поражающими центральную нервную систему [121]. Гематоэнцефалический барьер защищает ЦНС от большинства инфекций, однако энтеровирусы способны его преодолевать [138]. Путь заражения начинается через желудочно-кишечный тракт. Эти вирусы обладают уникальной характеристикой, которая отличает их от других риновирусов и пикорнавирусов: способность выживать в средах с pH менее 3. Это помогает им преодолеть кислую среду желудка и достичь других органов, где они могут инициировать заболевание [102].

После разработки молекулярных методов типирования и пересмотра старых ограниченных схем классификации энтеровирусы делят на типы в зависимости от организации их генома, схожести по нуклеотидным последовательностям и биологическим свойствам. Современная классификация энтеровирусов постоянно пересматривается и уточняется (табл. 1). Согласно последним изменениям в базе данных Международного комитета по таксономии вирусов (ICTV), к семейству пикорнавирусов относятся 12 видов энтеровирусов [72]: 4 вида (ранее А, В, С, D, в настоящее время *Enterovirus alphacoxsackie*, *Enterovirus betacoxsackie*, *Enterovirus coxsackiepol*, *Enterovirus deconjuncti*) человеческих энтеровирусов (HEV), в том числе полиовирусы трех типов, относящиеся к виду *Enterovirus coxsackiepol*, 8 видов животных энтеровирусов (Е, F, G, H, I, J, K, L) и с 2008 года 3 вида риновирусов (ранее А, В, С, в настоящее время *Enterovirus alpharhino*, *Enterovirus betarhino*, *Enterovirus cerhino*) [57, 149]. Типы различаются по иммунному ответу организма хозяина, используемым рецепторам и, в меньшей степени, спектром клинических проявлений, возникающих после заражения. В настоящее время внутри четырех видов выделяют более 120 типов энтеровирусов человека [59].

Таблица 1 - Классификация энтеровирусов человека [21]

<i>Enterovirus alphacoxsackie</i> (бывш. HEV-A)	Coxsackievirus A 2-8, 10, 12, 14, 16
	Enterovirus 71, 76, 89-92, 114, 119, 121-125
<i>Enterovirus betacoxsackie</i> (бывш. HEV-B)	Coxsackievirus A 9
	Coxsackievirus B 1-6
	Echovirus 1-7, 9, 11-21, 24-27, 29-33
	Enterovirus 69, 73-75, 77-88, 93, 97, 98, 100, 101, 106, 107, 110-114
<i>Enterovirus coxsackiepol</i> (бывш. HEV-C)	Coxsackievirus A 1, 11, 13, 15, 17-22, 24
	Enterovirus 95, 96, 99, 102, 104, 105, 109, 113, 116-118
	Poliovirus 1-3
<i>Enterovirus deconjuncti</i> (бывш. HEV-D)	Enterovirus 68, 70, 94, 111, 120

## 1.2 Репликация и трансформация энтеровирусов

Морфологические изменения в монослое клеток при инфицировании полиовирусом были охарактеризованы в 1958 г. с помощью электронного микроскопа, было выделено три стадии [64]. В 1987 г. также с помощью электронной микроскопии были продемонстрированы стадии репликации вирусной РНК в клетке и процесс формирования везикул при контакте с мембранными структурами [8].

Репликация энтеровирусов внутри клетки зависит от специализированных мембранных структур, называемых репликационными органеллами (РО), которые образуются во время инфекции, но их происхождение остается неясным. Отличительной чертой репликации многих РНК-вирусов является образование РО во время инфекции [134]. Однако каждый порядок вирусов

имеет разные механизмы для создания специфических морфологических структур. Из типичных примеров можно привести создание мембранных везикул, обычно встречающихся у вирусов Денге [140] и вирусов Зика [20]. Другие вирусы, например, вирус гепатита С [115] или вирусы тяжелого острого респираторного синдрома, такие как коронавирусы, образуют двух мембранные везикулы в ряде других структур и могут быть обнаружены в сочетании внешней мембраны с эндоплазматическим ретикуломом или встречаться отдельно.

Репликационные органеллы энтеровируса не только представляют собой уникальную структуру, но также имеют различные функции в инфицированных клетках. Пролиферация клеток во время ре-моделирования мембран зависит от липидов, таких как холестерин и фосфатидилхолин, которые включаются в РО через клеточный липидный метаболизм и регулируются внутриклеточным трафиком, метаболизмом липидных капель и синтезом липидов [54, 134, 137]. Во время последующей передачи энтеровирусы генерируют РО в форме одно мембранных трубочек, которые далее развиваются в двух мембранные везикулы и многослойные структуры во время инфекции [6, 74, 134]. В то время как РО энтеровируса существуют в плотных мембранных кластерах, как трубочки, так и везикулы имеют различные и отдельные структуры, не образуя непрерывную мембранную сеть. В другом роде *Picornaviridae* схожая морфология мембран была обнаружена в клетках, инфицированных кардиовирусами [81].

Белки 2В, 2С и 3А имеют гидрофобные области и участвуют в формировании везикул. Создать двойную мембранную структуру везикул с биохимическими свойствами, аналогичную той, что получается при энтеровирусной инфекции, возможно только при параллельной экспрессии как 2ВС, так и 3А белков при участии мембран комплекса Гольджи [125].

В некоторых исследованиях были обнаружены некоторые структурные механизмы репликации из-за модификации мембран их секреторных путей. Одним из возможных объяснений этого интенсивного ингибирования энтеровирусной инфекцией ретроградного транспорта от мембраны эндоплазматического ретикулома к комплексу Гольджи является уже

упомянутое перемещение мембраны [23, 141]. Кроме того, лечение брефельдином А также было изучено как чрезвычайно чувствительное к репликации энтеровируса. Брефельдин А является секреторным ингибитором, широко используемым в клинической практике [55, 80].

### 1.3 Общая характеристика полиовирусов

На протяжении всей истории изучения энтеровирусов полиомиелит был самым тяжелым заболеванием, ими вызываемым. Полиомиелит вызывается полиовирусами (*Poliovirus*) [109], среди которых выделяют 3 типа. Все три могут вызвать заболевание:

- Тип 1: прототип штамм *Mahoney*, выделен в 1941 г. [118], или штамм *Brunhilde* [111], является основной причиной паралитических заболеваний, на него приходится 90% всех случаев паралича.

- Тип 2: прототип штамм *Lansing*, выделен в 1943 г. [120]

- Тип 3: прототип штамм *Leon*, выделен в 1937 г. [118].

Полиовирус состоит из РНК-генома и белкового капсида. Геном представляет собой одноцепочечную положительно заряженную РНК (+ssRNA) длиной приблизительно 7500 нуклеотидов [43, 109]. Вирусная частица имеет диаметр около 30 нм с икосаэдрической симметрией. Из-за короткого генома, у вируса есть только РНК и белковая оболочка без липидной оболочки. Многие исследователи считают вирус полиомиелита самым простым вирусом. С точки зрения структуры, полиовирус при рассмотрении под электронным микроскопом имеет сферическую форму диаметром 27 нм, молекулярную массу  $6,8 \times 10^6$  дальтон, не имеет суперкапсида, состоит из капсидного белка со стабильной структурой, который покрывает вирусную РНК [94]. Структура генома полиовируса типа 1 (*Mahoney*) изображена на рисунке 1.

Структура генома полиовируса [7, 21, 100]:

3D<sub>pol</sub>, РНК-зависимая РНК-полимераза, функция которой заключается в создании множественных копий вирусного генома

2A<sup>pro</sup> и 3C/3CD<sup>pro</sup>, протеазы, расщепляющие вирусный полипептид

VPg (3B), небольшой белок, с которого начинается синтез положительной и отрицательной цепей вирусной РНК

2BС, 2В, 2С (АТФаза), 3АВ, 3А, 3В белки, которые составляют белковый комплекс, необходимый для репликации вируса.

VP0, который далее расщепляется на VP2 и VP4, VP1 и VP3 - белки вирусного капсида (рисунок 1).

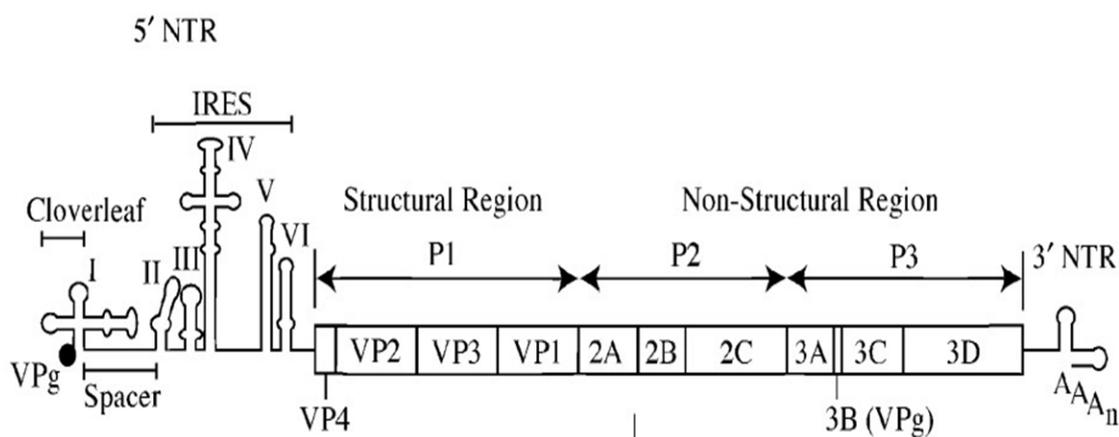


Рисунок 1 - Структура генома полиовируса типа 1 (Mahoney) [21]

Механизм инфицирования полиовирусом включает связывание со специфическим иммуноглобулин рецептором, называемым CD155 (обычно называемым рецептором полиовируса) на поверхности клеток человека [21, 58]. Взаимодействие между полиовирусом и CD155 способствует конформационным изменениям в вирусной частице, которые необходимы для проникновения вируса в клетку [58]. Считается, что после прикрепления к мембране клетки-хозяина проникновение вирусной нуклеиновой кислоты происходит одним из двух путей: созданием пор на клеточной мембране, через которые РНК «впрыскивается» в цитоплазму клетки-хозяина, либо путем захвата вируса посредством рецептор-опосредованного эндоцитоза [21].

В результате трансляции, транскрипции и репликации происходит синтез (+) РНК. Для репликации инфекционной (+) РНК необходимо транскрибировать множественные копии (-) РНК, которые затем используются в качестве матриц для синтеза (+) РНК. Промежуточные продукты, которые представляют собой ассоциацию молекул РНК, состоящую из матричной РНК и нескольких

наращиваемых РНК различной длины, создаются в репликационных комплексах как для (-) РНК, так и для (+) РНК (рисунок 2).

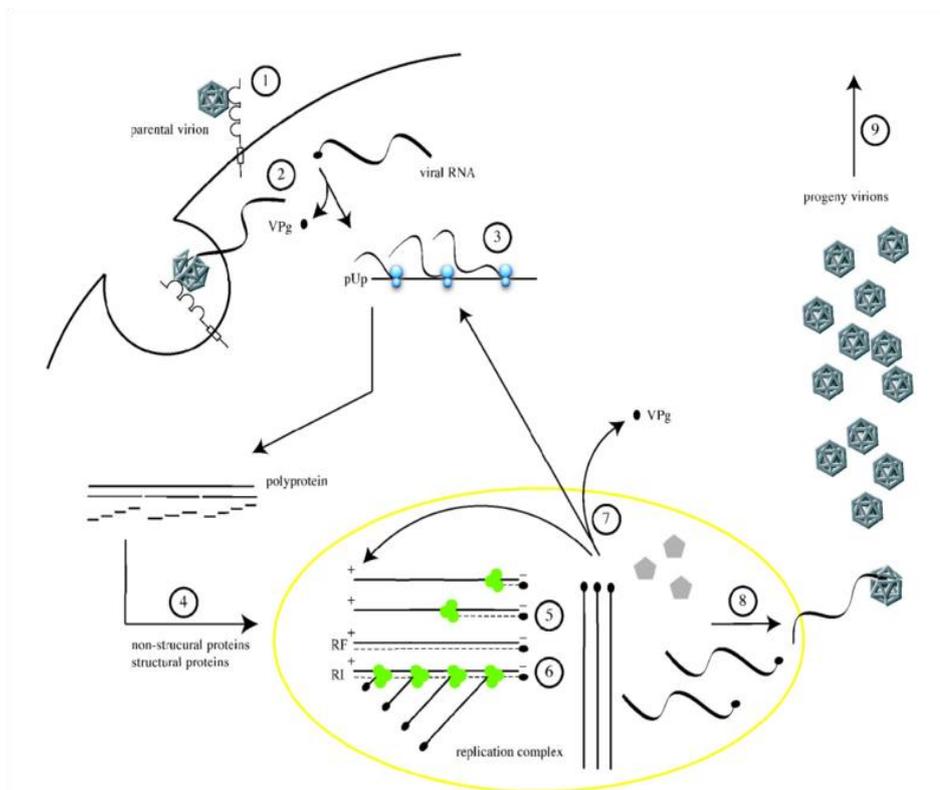


Рисунок 2 - Жизненный цикл полиовируса

Иницируется связыванием полиовируса с макромолекулой CD155 на поверхности клетки, функционирующей как рецептор (1). Высвобождение вирусной РНК опосредуется рецептор-зависимой дестабилизацией вирусного капсида (2). Расщепление вирусного белка VPg осуществляется клеточной фосфодиэстеразой, а трансляция вирусной РНК происходит по кэп-независимому (опосредованному IRES) механизму (3). В результате протеолитического расщепления вирусных полипротеинов образуются зрелые структурные и неструктурные белки (4). Для создания двухцепочечной репликативной формы РНК (+) РНК служит матрицей для синтеза комплементарной цепи с отрицательным зарядом (5). Синтез множества положительных цепей на матрице одной отрицательной цепи приводит к образованию частично-одноцепочечных промежуточных продуктов (6). Вновь синтезированные молекулы (+) РНК могут служить матрицами для трансляции (7), или связываться с предшественниками капсидных белков,

*чтобы затем подвергнуться упаковке и после отщепления VP0 образовать зрелые вирионы (8). В конечном итоге, лизис клетки высвобождает созданные инфекционные вирионы (9) [21].*

Полностью собранный полиовирус покидает пределы клетки-хозяина путем лизиса через 4–6 часов после начала инфекции в культивируемых клетках млекопитающих. Механизм высвобождения вируса из клетки неясен, но каждая умирающая клетка может высвобождать до 10 000 вирионов. Кроме того, есть экспериментальные подтверждения высвобождения полиовирусных частиц без разрушения клеточного монослоя через систему микротрубочек цитоскелета [130].

#### **1.4 Клинические и эпидемиологические особенности энтеровирусной инфекции. Патогенез энтеровирусной инфекции**

Энтеровирусы часто вызывают заболевание в легкой или бессимптомной форме. Более 90% случаев энтеровирусной инфекции будут либо бессимптомными, либо иметь неспецифические симптомы, такие как внезапная лихорадка. Однако, если энтеровирусы поражают центральную нервную систему, они могут вызывать тяжелые заболевания [110]. Если не считать полиомиелит, асептический менингит и энцефалит являются самыми распространенными осложнениями, связанными с ЦНС, и чаще всего их причиной становятся ЕСНО вирусы, вирусы Коксаки В и другие энтеровирусы, относящиеся к виду В [145]. Асептический менингит помимо энтеровирусов может являться следствием заражения вирусами гриппа, герпеса, паротита или арбовирусом, однако энтеровирусы становятся его причиной чаще всего [138]. Другие типы энтеровирусов также могут вызывать тяжелые заболевания центральной нервной системы: например, вирус EVA71 [50]. Кроме того, энтеровирусы вызывают такие заболевания, как герпангина, экзантема полости рта и конечностей, миокардит, острый геморрагический конъюнктивит и ОРВИ [145]. Некоторые клинические проявления включают язвы на ногах, руках, во

рту, лихорадку и тремор [60]. Клинические проявления и показатели распространенности также различаются в зависимости от типа энтеровируса [147].

Как правило, типичными местами инфицирования являются эпителиальные клетки дыхательных путей или желудочно-кишечного тракта [85], за которыми следует вирусная диссеминация в крови, что приводит к вторичным очагам заражения тканей, таких как селезенка, печень, костный мозг, кожа и сердце [77]. Предполагается, что энтеровирусы могут связываться с различными рецепторами на поверхности клеток, что обуславливает широкий спектр клинических проявлений инфекции. В настоящее время открыт ряд рецепторов, которые энтеровирусы могут использовать для проникновения в клетку хозяина [4]. Вторичная инфекция в центральной нервной системе может привести к асептическому менингиту или, реже, энцефалиту или параличу [38]. Полиовирус достигает мышц, откуда путём рецептор-опосредованного эндоцитоза попадает в моторные нейроны и достигает тела нейрона с помощью механизма ретроградного аксонного транспорта [94, 77]. Ретроградный транспорт обладает низкой эффективностью, чем можно объяснить небольшой процент инфицированных, у которых развиваются осложнения нервной системы [70]. Кроме того, специфические инфекции тканей могут привести к пневмонии или миокардиту. Диссеминированная инфекция может проявляться сыпью, неспецифической мышечной болью или тяжелым полиорганным заболеванием у младенцев. Вирус обычно проникает в организм через рото- или носоглотку [77]. Инкубационный период для большинства случаев ЭВИ составляет от 3 до 10 дней [147]. Случаи со слабыми или отсутствующими симптомами часто являются результатом того, что иммунная система организма контролирует инфекцию. Некоторые энтеровирусы могут вызвать пневмонию и другие респираторные заболевания. Особенно характерно это для вируса EVD68, который по своим биологическим свойствам ближе к риновирусам и до введения в широкую практику молекулярно-генетических методов типирования считался риновирусом 87 [68, 82].

Энтеровирусы чаще всего распространяются при контакте с выделениями, такими как слюна, мокрота или слизь инфицированного человека, везикулярной жидкостью или с фекалиями пациента [98]. Передача происходит от одного хозяина к другому. Хотя есть доказательства зоонозной передачи (как от человека к животному, так и от животного к человеку), вирус передается в основном от человека к человеку фекально-оральным путем [32]. Вирус можно обнаружить в стуле и глотке пациента за несколько дней до болезни, выделение вирусных частиц достигает пика через неделю от начала болезни [152], затем вирус выделяется со стулом в течение нескольких недель. Обычно энтеровирусы обладают высокой трансмиссивностью, высоким потенциалом заражения и сложными путями передачи. За короткое время энтеровирус может вызвать крупную вспышку среди инфицированных людей.

В опубликованных исследованиях образцов желудочно-кишечного тракта средняя распространенность энтеровирусов составила 6% среди здоровых детей без признаков ЭВИ, для образцов спинномозговой жидкости она составила 4,9%, а для образцов дыхательных путей — 3,4%. В исследованиях образцов стула от пациентов с острой диареей, распространенность НПЭВ составила около 17% [108]. В образцах как желудочно-кишечного тракта, так и дыхательных путей были обнаружены энтеровирусы видов А, и В.

Симптоматическая энтеровирусная инфекция потенциально может развиваться у человека любого возраста, но дети до 10 лет, особенно во время эпидемий, демонстрируют более высокую восприимчивость [84]. Показатели распространенности ЭВИ, зафиксированные в исследованиях с участием взрослых старше 18 лет, значительно ниже и составляют от 0% до 3,8% [14, 148]. В то время как дети в возрасте до 6 месяцев обычно не болеют, поскольку защищены материнским иммунитетом [63, 92, 104, 116, 127]. Вероятность тяжелого течения заболевания выше у людей с сопутствующими заболеваниями, беременных женщин, новорожденных или недоношенных детей, а также у людей, находящихся в состоянии стресса из-за переохлаждения или недоедания, а также у лиц с иммунодефицитом [63].

### 1.4.1 Клинические особенности энтеровирусной инфекции

Хотя миллионы людей ежегодно заражаются энтеровирусами, большинство из них испытывают только легкие симптомы инфекции, которые обычно длятся около недели. Однако у лиц с более высоким риском, особенно у младенцев и детей раннего возраста, могут развиваться один или несколько симптомов, которые потенциально приводят к летальному исходу [18].

Признаки и симптомы энтеровирусной инфекции следующие:

Насморк, заложенность носа, кашель, боль в горле, небольшая лихорадка, легкая ломота в теле; гипоксия или низкий уровень кислорода в крови: затрудненное дыхание, хрипы, кашель, учащенное дыхание, изменение цвета кожи (от покраснения до вишнево-красного), учащенное сердцебиение;

Асептический менингит: чаще всего встречается у младенцев и маленьких детей; может также сопровождаться сыпью (на лице, шее и конечностях), лихорадкой, головной болью, скованностью шеи, ломотой в теле, чувствительностью к свету, тошнотой и рвотой, недомоганием;

Конъюнктивит: боль в глазах, краснота белков глаз, светобоязнь (избегание света из-за дискомфорта)

Перикардит: затрудненное дыхание, боль в груди, лихорадка, слабость

Герпангина: небольшие язвочки с заполненным жидкостью центром с красной окружающей каймой на слизистой оболочке полости рта (миндалины и мягкое небо), которые могут вызывать волдыри и язвы

Ангина: прерывистая сильная боль в груди, обычно в нижней части груди, распространенной является боль в вовлеченных мышцах;

Вирусная пузырьчатка полости рта и конечностей (Hand-foot-and-mouth Disease, HFMD): небольшие, мягкие, серые пузырьки (волдыри) появляются на руках, ногах и во рту;

Энцефалит: симптомы варьируют от летаргии и сонливости до изменений личности, судорог и комы;

Паралич (редко встречается как при полиомиелитных, так и при неполиомиелитных вирусных инфекциях): вялый паралич часто асимметричен в

мышцах пораженной конечности, нижние конечности поражаются чаще, чем верхние (полиовирус, энтеровирус EVA71 и вирус Коксаки А7). Другие неполиомиелитные энтеровирусы часто имеют менее серьезные симптомы, такие как мышечная слабость или офтальмоплегия при параличе.

Некоторые штаммы энтеровируса вызывают более серьезные симптомы, чем другие: например, энтеровирус EVD68 и энтеровирус EVA71 [18].

#### **1.4.2 Эпидемиология энтеровирусной инфекции**

В странах Юго-Восточной Азии наиболее важным и широко распространенным возбудителем энтеровирусной инфекции является EVA71. EVA71 — нейротропный вирус, известный своей способностью вызывать тяжелые и даже смертельные заболевания у детей. В 1998 году на Тайване произошла крупная вспышка энтеровирусной инфекции. Согласно отчетам, среди детей было зарегистрировано 405 тяжелых случаев, 78 из которых закончились летальным исходом. Из 78 зарегистрированных случаев смерти 71 ребенок (91%) был в возрасте до 5 лет. Основной причиной смерти являлось инфицирование вирусом EVA71. Большинство обследованных умерло в течение 1-2 дней после поступления в больницу. Это привело исследователей к гипотезе, что EVA71 напрямую поражает центральную нервную систему, вызывая неврологический отек легких и дисфункцию миокарда через механизмы, включающие повышенную симпатическую активность и воспалительные реакции. Раннее выявление этих факторов риска, наряду с упреждающим лечением, стали решающими мерами для успешного лечения вспышки инфекции на Тайване. Кроме того, EVA71 проявил себя как вирус с губительным воздействием на детей. Поэтому были разработаны вакцины против этого возбудителя. Вакцинация считается наиболее эффективной мерой в борьбе с этим вирусом [75].

Согласно отчету ВОЗ за период 2010-2014 гг., на долю Китая приходилось 9,8-11,3 млн от общего числа зарегистрированных случаев экзантемы полости рта и конечностей, что составляет 87%. EVA71, как было доказано, является

основной причиной вирусной экзантемы полости рта и конечностей (HFMD) с тяжелым течением. В период с 2011 по 2021 гг. в Шанхае был зарегистрирован 621 случай HFMD. Однако тяжелых случаев или смертей не было. По расчетам средний возраст начала заболевания составил 4,1 года, медианный возраст — 3,7 лет. Самому младшему заболевшему было 2 месяца, самому старшему — 26 лет. В этом исследовании соотношение полов составило 1,45 к 1,0, а именно заболели 368 лиц мужского пола (59,3%) и 253 лица женского пола (40,7%). Среди пациентов 290 (46,7%) были дошкольниками, 257 (41,4%) - школьниками, 73 (11,8%) – студентами, только 1 (0,1%) больной был взрослым. Что касается иммунизации против EVA71, только 72 человека (11,6%) были вакцинированы, 134 человека (21,6%) не имели сведений о вакцинации [139].

Согласно проведенному на юге Вьетнама исследованию, HFMD является широко распространенной энтеровирусной инфекцией в стране, как и во всей Юго-Восточной Азии. Первые случаи HFMD, осложненной энцефалитом, были зарегистрированы во время вспышки энцефалита в 2003 году, когда исследователи Института Пастера в Хошимине выделили EVA71 как один из этиологических агентов заболевания [114]. С начала 2018 года количество госпитализированных пациентов с диагнозом HFMD значительно возросло по всему Вьетнаму [46]. Было зарегистрировано более 53 000 клинических случаев, включая 6 летальных исходов. Это заболевание может быть вызвано различными типами энтеровирусов вида А, из которых наиболее часто обнаруживаемыми являлись EVA71, CVA6, CVA10 и CVA16 [2, 67, 128]. Среди вирусов этих типов EVA71 оказывает наибольшее бремя из-за количества госпитализаций и большой доли тяжелых заболеваний и смертей. Штаммы EVA71, относящиеся к одному типу, по генетической структуре делятся на несколько генотипов (А, В и С) и субгенотипов (например, В0 - В5 и С1 - С5) [122]. Хотя между различными генотипами не найдено генетического подтверждения различий по степени вирулентности, смена субгенотипа часто сопровождается крупными вспышками HFMD тяжелой степени. Примечательно, что смена субгенотипа с С5 на С4 в 2011 году совпала с крупной вспышкой во Вьетнаме, которая привела к более

чем 200 000 случаям с госпитализацией и более чем 200 смертям с 2011 по 2012 год [67].

## **1.5 Методы диагностики полиомиелита и энтеровирусной инфекции**

### **1.5.1 Методы диагностики полиомиелита**

Роль диагностики в мероприятиях по ликвидации полиомиелита трудно переоценить. В таких странах как Вьетнам, где дикие полиовирусы больше не циркулируют, лабораторный надзор предоставляет своевременную и точную информацию о возможном импортировании «дикого» полиовируса, чтобы своевременно прервать его распространение и предоставить вирусологические доказательства для сертификации ликвидации полиомиелита.

При первичном диагнозе острый вялый паралич обязательно осуществляют выделение вируса полиомиелита из образцов фекалий с использованием сертифицированных для этих целей двух клеточных линий. Положительные изоляты идентифицируются с помощью диагностических сывороток в реакции нейтрализации микрометодом на тех же линиях клеток. Все штаммы полиовируса должны пройти внутритиповую дифференциацию с помощью ПЦР в режиме реального времени (RT-PCR\_ITD/VDPV), чтобы определить, является ли штамм «диким» или имеет вакцинное происхождение. Классический метод выделения вируса на культурах клеток, будучи золотым стандартом, является затратным с точки зрения времени и человеческих ресурсов. В качестве альтернативы были разработаны методы молекулярной биологии (ОТ-ПЦР), с помощью которых обнаруживают полиовирус непосредственно в образце исследуемого материала. Прямая экстракция полиовирусов или их фрагментов, по мнению Всемирной организации здравоохранения, перспективна для широкого применения в будущем. Серологические методы, тестирование на наличие антител, нейтрализующих вирус полиомиелита, обычно не рекомендуются для рутинного использования при диагностике полиомиелита из-за высоких требований к помещениям и временным затратам, сложностям в анализе результатов. Кроме того, метод не различает антитела к «дикому» типу вируса и вакцинным штаммам.

Методы тестирования на полиовирусы, рекомендуемые ВОЗ, включают:

(1) Метод культивирования полиовирусов и других вирусов на клеточных линиях RD и L20B;

(2) Определение типа полиовируса методом микро-нейтрализации;

(3) Определение типа полиовируса, определение принадлежности к «дикому» типу или связанному с вакциной методом ОТ-ПЦР (ITD/VDPV) [78].

Случаи, когда у пациентов не проявляются симптомы поражения центральной нервной системы или с минимальными или отсутствующими симптомами часто не диагностируются врачами, если они происходят в не эндемичной стране, где нет свидетельств циркуляции «дикого» полиовируса.

У не вакцинированных против полиомиелита детей или подростков, возможно развитие паралитического заболевания, которое характеризуется параличом конечностей или поражением спинного мозга без сенсорных нарушений во время острой лихорадочной фазы. Существуют неполиомиелитные энтеровирусы, которые также как полиовирусы способны вызывать острые вялые параличи верхних или нижних конечностей у детей. Чаще всего вирусы Коксаки А и В (особенно А2 и А7), некоторые ЕСНО вирусы, а также энтеровирус EVA71 могут вызывать схожие симптомы. При схожей клинической картине таких вялых параличей остаточные параличи, как при полиомиелите развиваются редко. Предварительный диагноз в этих случаях также ОВП и ход лабораторного исследования аналогичен и на клетках могут быть выделены энтеровирусы разных типов.

Кроме того, были выявлены случаи, сопровождающиеся слабостью или параличом конечностей после заражения энтеровирусом EVD68. Клинически острый вялый паралич, вызванный вирусом Западного Нила, может напоминать полиомиелит, что затрудняет дифференциацию между ними. С другой стороны, синдром Гийена-Барре также может приводить к вялому параличу, но его можно отличить по следующим характерным признакам:

- Болезнь обычно не вызывает лихорадки.
- Симметричная мышечная слабость.

- Сенсорные нарушения возникают у 70% пациентов
- Белок в ликворе часто повышен, а цитоз в норме.

При наличии у больного ригидности затылочных мышц предполагают диагноз вирусный (асептический) менингит. В этих случаях пациентам с менингитом проводят люмбальную пункцию, в спинномозговой жидкости (ликворе) обычно определяют нормальный уровень глюкозы, повышенный уровень белка, цитоз (обычно лимфоцитоз) от 10 до 500 микролитров.

При определении причин заболевания с неврологической симптоматикой эпидемиологические данные, включая возраст, сезон, историю вакцинации и историю недавних поездок, являются чрезвычайно важным фактором, помогающим установить этиологию заболевания.

### **1.5.2 Методы тестирования на энтеровирусную инфекцию**

Образцами для проведения вирусологического и молекулярно-биологического исследования [37] служат фекалии, мазки из зева, везикулярная жидкость, язвенная жидкость и спинномозговая жидкость.

В сыворотке крови определяют титры типоспецифических антител.

Используют такие диагностические методы как выделение вируса путем инокуляции образца в клетки почек обезьяны, клетки человека или иные чувствительные линии. Определяют цитопатогенное действие вирусов.

С помощью ОТ-ПЦР обнаруживают вирусную РНК. Реакции нейтрализации или иммунофлуоресценции позволяют определить титры типоспецифических антител. Из-за перекрестной реактивности между разными типами энтеровирусов и длительности метода серологические реакции в диагностике ЭВИ используются с определенными целями [37]. Например, для подтверждения этиологической роли полиовируса или энтеровируса какого-либо типа. В реакции нейтрализации исследуют парные сыворотки пациента, чтобы выявить четырехкратное нарастание титров антител к соответствующему вирусу.

## **1.6 Важность Программы ликвидации полиомиелита для улучшения надзора за энтеровирусами**

В 1980 году были достигнуты значительные успехи в ликвидации натуральной оспы [29] и полиомиелита на американском континенте [22]. В 1988 году 41-я Всемирная ассамблея здравоохранения (ВАЗ) взяла на себя обязательство «глобальной ликвидации полиомиелита к 2000 году». Последовал запуск Глобальной инициативы по ликвидации полиомиелита (Global Polio Eradication Initiative, GPEI). ВОЗ и партнёры — ЮНИСЕФ, Rotary International и CDC США — в значительной степени преуспели в сокращении заболеваемости полиомиелитом. Реализация национальных программ по контролю за полиомиелитом чрезвычайно важна для элиминации инфекции [39].

Например, в Англии и Уэльсе достижение ликвидации полиомиелита было достигнуто в основном за счет программ вакцинации детей и взрослых. Использовались живая оральная полиовирусная вакцина и инактивированная полиовирусная вакцина (ОПВ и ИПВ). ИПВ была впервые представлена и введена в обращение в 1956 году, но в 1962 году ее заменила ОПВ и стала частью программы плановой вакцинации. К 2004 году ОПВ была заменена на ИПВ из-за риска развития вакциноассоциированного полиомиелита (ВАПП) у реципиентов живой вакцины [61]. Надзор за вирусом полиомиелита становится все более сложным из-за разнообразия методов и постоянного риска возвращения полиомиелита. Надзор за полиомиелитом в Англии и Уэльсе требовал адаптации. На последних этапах ликвидации мониторинг циркуляции полиовирусов по-прежнему чрезвычайно важен [97].

В Германии последний случай местного полиомиелита был в 1990 году. Затем в 1998 г. в рамках своей программы вакцинации Германия перешла от использования оральной полиовирусной вакцины к использованию ИПВ. В том же году в Германии было создано Национальное агентство по надзору за ОВП. Была поставлена цель, создать в стране систему надзора за больными с синдромом острого вялого паралича и наладить тестирование различных клинических образцов (фекалий, мазков из респираторного тракта,

цереброспинальной жидкости) для повышения способности обнаруживать энтеровирусы, вызывающие серьезные заболевания [66]. Поэтому Германия решила создать Лабораторную сеть для надзора за энтеровирусами (LaNED) [9] на основе Национальной системы надзора за энтеровирусами (NESS) в Соединенных Штатах. NESS это добровольная, пассивная система надзора, которая отслеживает обнаружение энтеровирусов и парэховирусов в лабораториях с 1960-х годов [1, 10].

Совместно с Глобальной инициативой по ликвидации полиомиелита в России в 1996 году была принята Национальная программа по ликвидации полиомиелита. Помимо надзора за ОВП, страна также ввела надзор за сточными водами как обязательную часть надзора за циркулирующей полиовирусом [56]. Вирусологические исследования сточных вод проводятся с середины 20-го века для оценки качества очистки сточных вод и получения информации о циркулирующих энтеровирусах. Мониторинг сточных вод имеет особое значение, особенно в конце Программы, и, безусловно, является важной частью надзора за полиовирусом [3, 26, 48]. Методология мониторинга сточных вод в России основана на рекомендациях Всемирной организации здравоохранения [35] и национальных руководствах [56], и направлена в первую очередь на идентификацию полиовирусов.

Индия с начала 1990-х годов была страной с высокой заболеваемостью полиомиелитом: ежедневно заражались 500-1000 детей. Несмотря на введение ОПВ в ходе Расширенной программы иммунизации (EPI), запущенной в 1979 г., в течение многих лет бремя заболеваемости полиомиелита не снижалось. Прервать передачу «дикого» полиовируса в стране удалось только благодаря экстраординарным усилиям. С 2004 года ежегодные кампании вакцинации против полиомиелита проводились 10 раз в год. Кампании включали не только саму вакцинацию, но и мониторинг практически каждого ребенка. В качестве следующего шага Индия вступила во 2-ю фазу с введением ИПВ, переходом от тОПВ к бОПВ и окончательной целью - ликвидацией всех вакцинных полиовирусов и полиовирусов вакцинного происхождения [62]. Страна

подписала резолюцию ВА3 1988 года, которая призывала к искоренению полиомиелита во всем мире к 2000 году [39]. Достижение и поддержание высокого уровня охвата плановой вакцинацией ОПВ, дополнительные кампании иммунизации ОПВ (Supplementary Immunization Activity, SIA), организация систематического надзора за полиомиелитом с поддержкой вирусологических лабораторий, использование локальных кампаний по подчищающей иммунизации для разрыва любых сохраняющихся цепочек передачи ДПВ были четырьмя стратегическими компонентами, которые предлагала ВОЗ [12].

Во Вьетнаме до появления вакцин полиомиелит был одной из ведущих причин смертности детей в возрасте до 5 лет, у многих переболевших детей оставались долговременные последствия. Столкнувшись с этой ситуацией, Министерство здравоохранения включило оральную вакцину от полиомиелита в расширенную программу иммунизации: первой дозой вакцинируют детей в возрасте 2 месяцев, второй дозой - в возрасте 3 месяцев, третьей дозой - в возрасте 4 месяцев.

Существует несколько подходов для характеристики и обнаружения энтеровирусов, включая общие протоколы, разработанные и рекомендованные ВОЗ и CDC. Усилия по укреплению системы надзора направлены в первую очередь на сбор образцов. Во-первых, путем включения в систему регулярного мониторинга респираторных образцов у детей, наблюдаемых в медицинских учреждениях. Во-вторых, лабораторным исследованием образцов фекалий, спинномозговой жидкости и мазков из ротоглотки у пациентов с тяжелыми респираторными заболеваниями и/или неврологическими клиническими проявлениями. В-третьих, путем введения наблюдения за окружающей средой. В эпоху после полиомиелита мониторинг полио- и энтеровирусов в пробах сточной воды является основным методологическим решением для надзора за данными вирусами [45].

С 1988 года, когда ВОЗ объявила Глобальную Программу ликвидации полиомиелита. Заболевание, вызываемое штаммами «дикого» полиовируса, было практически ликвидировано с помощью четырех основных стратегий:

путем координации систем надзора за пациентами с синдромом острого вялого паралича во всем мире; путем скрининга на полиовирусы образцов от пациентов с менингитом или энцефалитом, а также введения надзора за полиовирусами в сточной воде в странах с низкой заболеваемостью ОВП; путем активной пропаганды вакцинации для увеличения охвата прививками всех детей; и путем дополнительной иммунизации во время вспышек заболевания для предотвращения распространения полиовируса [142].

Хотя в системе надзора все еще остается много проблем, создание программ и платформ надзора, подобных вышеописанным, будет способствовать повышению осведомленности о полиомиелите в мире и о циркулирующих энтеровирусах и их способности вызывать заболевания [30]. Это чрезвычайно важно для мониторинга заболеваемости ЭВИ. С 2000 года Вьетнам искоренил полиомиелит и в настоящее время продолжает реализацию расширенной программы иммунизации, что вносит вклад в защиту вьетнамских детей от полиомиелита. В дополнение к расширенной программе иммунизации необходимо пропагандировать поддержание общей и личной гигиены и обучать общество по данным вопросам. Полиовирусы проникают в рот и выделяются через кишечник человека, поэтому необходимо содержать в чистоте источники воды, а также обеспечивать гигиену и безопасность пищевых продуктов [33].

С июня 2016 года во Вьетнаме прививают оральной полиовирусной вакциной БОПВ вместо тОПВ всех детей в возрасте 2, 3 и 4 месяца. С сентября 2018 года во Вьетнаме добавлена четвертая вакцинация детей в возрасте 5 месяцев инактивированной полиовирусной вакциной. 27 февраля 2023 года ВОЗ и ЮНИСЕФ сделали запрос в рамках расширенной программы иммунизации к Вьетнаму с просьбой увеличить число прививок против полиомиелита не вакцинированным или не полностью вакцинированным детям до полного курса иммунизации таких детей в целях предупреждения возникновения эпидемий во Вьетнам [144].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Более полувека исследований полиовирусов и неполиомиелитных энтеровирусов изменили взгляды на свойства этих вирусов и их значение в инфекционной патологии человека. Согласно последней таксономической классификации (9-е издание), род *Enterovirus* из семейства *Picornaviridae* делят на четыре вида: А, В, С и D вместо старого способа деления на *Poliovirus*, *Coxsackievirus A*, *Coxsackievirus B*, *Echovirus* [92]. Внутри видов были выделены типы энтеровирусов. В настоящее время известно более 100 представителей рода *Enterovirus*, вызывающих широкий спектр эпидемически значимых заболеваний, различающихся по клиническим проявлениям и степени тяжести (от легких форм респираторных и кишечных инфекций до заболеваний с экзантемными проявлениями и тяжелыми неврологическими симптомами и даже угрожающей жизни полиорганной недостаточностью). В медицинской литературе часто упоминаются активно циркулирующие среди населения разных стран энтеровирусы Коксаки А16 и энтеровирус EVA71, которые вызывают вирусную экзантему полости рта и конечностей. В странах Юго-Восточной Азии случаи этой инфекции широко распространены и часто осложняются тяжелыми неврологическими симптомами.

При этиологическом разнообразии ЭВИ и различии клинических проявлений диагностика основана на лабораторных методах выявления возбудителей. «Золотым стандартом» вирусологического метода является выделение возбудителей с последующим его типированием в реакции нейтрализации. В последнее время получили развитие молекулярные методы лабораторной диагностики ЭВИ. Совершенствование лабораторной составляющей эпидемиологического надзора за ЭВИ возможно только при комплексном использовании классических и современных методов исследования.

Распространенность возбудителей ЭВИ, нестабильная эпидемическая ситуация во всем мире и процессы активной миграции населения создают постоянную угрозу завоза и распространения ЭВИ. Например, дикие

полиовирусы были завезены из Нигерии в 26 других африканских стран. Таким образом может происходить международное распространение диких полиовирусов из эндемичных стран в страны, свободные от полиомиелита.

В 1988 году Всемирная ассамблея здравоохранения приняла решение искоренить полиомиелит. В сочетании с интенсивными программами вакцинации, клинический и вирусологический виды надзора, основанные на выявлении случаев острого вялого паралича, оказались невероятно эффективными в странах с высоким бременем полиомиелита. С тех пор как в ноябре 2012 года в Нигерии в последний раз был обнаружен ДПВ3, ДПВ1 является единственным типом дикого полиовируса, который продолжает циркулировать в двух эндемичных странах, где сохранилась передача ДПВ1. Это Афганистан и Пакистан. В августе 2016 года ДПВ1 также был обнаружен в Нигерии [143] возможность точечных этого вируса все еще существует. Стратегия ликвидации полиомиелита на 2022-2026 гг. предполагала прерывание передачи ДПВ1 к концу 2023 года [103], однако в 2024 г. ДПВ1 по-прежнему вызывает случаи паралитического полиомиелита в двух эндемичных странах [123]. Достижение сложной цели искоренения полиомиелита требует непоколебимой приверженности всеобщему охвату вакцинацией ИПВ населения мира. Разнообразных стратегии надзора применяют для полного охвата вакцинацией в районах, где используют ОПВ.

Несмотря на достигнутые успехи, до настоящего времени остается ряд нерешенных проблем в борьбе с инфекциями: установление закономерностей развития эпидемических подъемов заболеваемости ЭВИ; причин появления и циркуляции измененных штаммов энтеровирусов, вызывающих сезонные подъемы ЭВИ; недостаточно освещены молекулярно-генетическая характеристика циркулирующих энтеровирусов, и их филогенетическая связь с возбудителями, циркулирующими на разных территориях стран и мира.

Все вышеперечисленное, а также высокая социально-экономическая значимость проблемы заболеваемости и массовых вспышек энтеровирусной инфекции, обусловленных энтеровирусами разных типов, требуют дальнейшего

совершенствования вирусологического надзора за данной инфекцией и дальнейшего совершенствования противоэпидемических мероприятий, предотвращающих массовую заболеваемость ЭВИ.

## 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено в соответствии со стандартными процедурами ВОЗ (Руководство по лабораторным исследованиям полиомиелита, Всемирная организация здравоохранения: ВОЗ, Женева) [78] в лаборатории энтеровирусов, которая является Национальной лабораторией по диагностике полиомиелита Южного Вьетнама. Лаборатория является частью Лабораторной Сети по диагностике полиомиелита Всемирной организации здравоохранения. Ежегодно все лаборатории сети аккредитуются ВОЗ на основании отчетов и результатов профессионального тестирования. Лаборатория участвует в реализации Программы ВОЗ по Глобальной ликвидации полиомиелита и Национальных руководящих принципов по эпиднадзору и профилактике экзантемных заболеваний рук, стоп и полости рта, разработанных Министерством здравоохранения Вьетнама.

Исследование, одобренное Ведомственным комитетом по этике в области биомедицинских исследований Института Пастера в Хошимине (№ 18/CN-HDDD от 12.10.2022 и Независимым комитетом по этике Института Пастера в Санкт-Петербурге № 54 от 29.10.2022), проведено с 2022 по 2024 год.

Исследование основано на результатах эпидемиологического и вирусологического надзора за случаями острых вялых параличей полиовирусной и не полиовирусной этиологии в 29 провинциях Вьетнама в соответствии с рекомендациями ВОЗ по программе ликвидации полиомиелита. Кроме того проведено исследование в рамках национальной программы по надзору и вирусологической диагностике различных клинических форм энтеровирусной инфекции в 20 провинциях Южного Вьетнама, включая такие заболевания как вирусная пузырчатка полости рта и конечностей, а также другие неврологические заболевания: энтеровирусный менингит и менингоэнцефалит (рисунок 3).

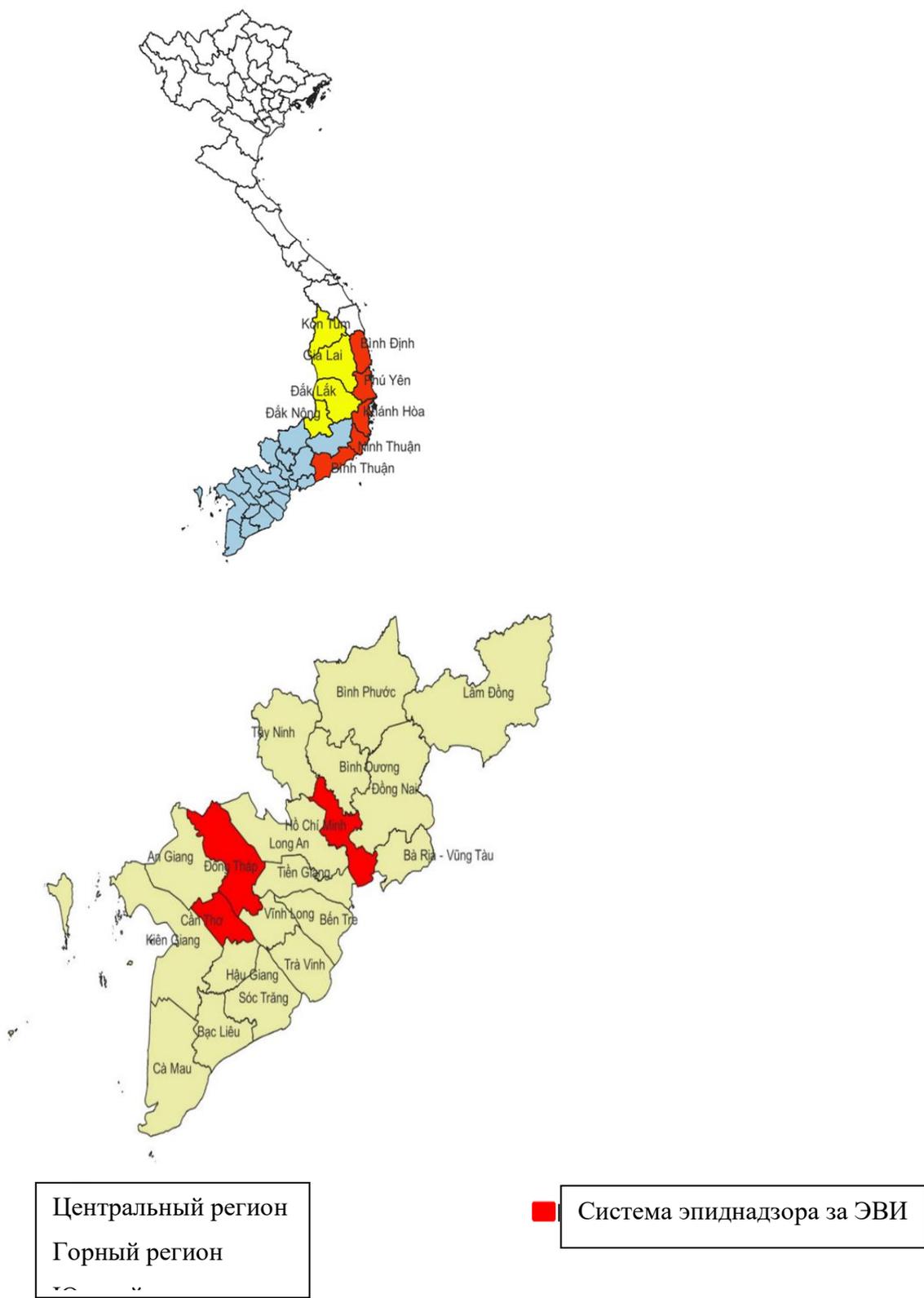


Рисунок 3 - Надзор за ОВП. Надзор за энтеровирусной инфекцией

## 2.1 Материалы

Образцы от детей в возрасте до 15 лет, из педиатрических отделений с первичным диагнозом острый вялый паралич, вирусная пузырчатка полости рта и конечностей, менингит/менингоэнцефалит. Работа была проведена согласно руководящим принципам по надзору за острым вялым параличом и мониторингу заболевания кистей рук, стоп и полости рта (ЭВС). Образцы хорошего качества, взятые у пациентов, были отправлены в Институт Пастера в Хошимине для тестирования. Образцы от пациентов с ОВП были собраны с 2010 по 2021 год, от пациентов с энтеровирусной инфекцией - в период с 2012 по 2021 год.

Для анализа заболеваемости энтеровирусной инфекцией и этиологических агентов заболеваний была использована следующая информация о каждом случае: возраст, пол, адрес, дата начала заболевания, дата взятия образцов и клинические симптомы. Исследованные случаи были разделены на три категории: острый вялый паралич; вирусная пузырчатка полости рта и конечностей; асептический менингит, менингоэнцефалит, энцефалит (энцефалопатия).

Диагностические критерии инфекций.

Вирусная пузырчатка полости рта и конечностей (ящуроподобный синдром):

- Температура  $\geq 38,5^{\circ}\text{C}$
- Боль в горле
- Язвы на слизистой оболочке щек и десен, на языке и сыпь на ладонях, стопах, коленях, ягодицах (везикулезная, пятнисто-папулезная, папуловезикулезная или морбиллиформные экзантемы диаметром 1-3 мм).

Асептический менингит

- Температура  $\geq 38,5^{\circ}\text{C}$
- Рвота
- Менингеальные симптомы: ригидность шеи, симптом Кернига (+)
- Улучшение клинического состояния без применения антибиотиков.
- И/или ликвор выглядит прозрачным, а количество лейкоцитов от низкого

до умеренного (10-500/мл).

Энцефалит:

- Температура  $\geq 38,5^{\circ}\text{C}$

- Расстройства сознания (летаргия/ сонливость/ спутанность сознания/ потеря сознания/ кома)

- Судороги

Менингоэнцефалит:

- Симптомы энцефалита плюс менингеальные признаки

Острый вялый паралич (синдром острого вялого паралича):

- Температура  $\geq 38,5^{\circ}\text{C}$

Внезапно начавшийся вялый (часто асимметричный) паралич

- Потеря или снижение двигательной активности нервной системы

- Отсутствие потери чувствительности

Синдром острого вялого паралича объединяет ряд паралитических заболеваний (синдром Гийена-Барре, паралич Ландри и другие вялые параличи).

Все виды надзора требуют лабораторного исследования каждого случая и должны сопровождаться взятием образцов хорошего качества. После сбора образцы хранили в холодильнике, если они были доставлены в лабораторию в течение 72 часов после сбора. В остальных случаях, образцы замораживали при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$  и отправляли замороженными.

У пациентов с ОВП были отобраны по два образца фекалий с интервалом в 24-48 часов в течение 14 дней после наступления паралича.

У пациентов с экзантемными или другими неврологическими заболеваниями брали один образец фекалий (ректальный мазок) и/или мазок из ротоглотки в течение 7 дней после начала заболевания. Материал тестировали, чтобы определить, инфицированы ли они энтеровирусами. Образцы фекалий (весом 4-8 граммов) собирали во флакон, все мазки помещали в пробирку с транспортной средой. Эффективность вирусологической диагностики зависит от своевременного сбора адекватных образцов, а также от соблюдения оптимальных условий транспортировки в лабораторию и обеспечения

биологической безопасности. Все процедуры проводили в соответствии с рекомендациями ВОЗ, требований Руководства по лабораторной биобезопасности (LBM) и инструкций по сбору, передаче и транспортировке образцов Департамента профилактической медицины Министерства здравоохранения Вьетнама.

Выделенные полиовирусы отправляли в лабораторию Национального института инфекционных заболеваний Японии (NIID Японии) для внутритиповой дифференциации полиовируса и секвенирования генома вируса для определения типа полиовируса.

Число образцов из различных источников, исследованных в лаборатории Института Пастера в Хошимине за 10 лет, представлено в таблице 2.

Таблица 2 - Число проб, исследованных в лаборатории энтеровирусов Института Пастера в Хошимине в 2010-2021 годах

Источник образцов	Количество образцов		
	Стул	Мазки из горла	Всего
Первичный диагноз - "острый вялый паралич"	2143	0	2143
Первичный диагноз - "асептический менингит", "энцефалит"		1004	1004
Первичный диагноз-"вирусная пузырчатка полости рта и конечностей"	1186	6790	7976
Итого			11123

Все образцы, взятые у пациентов с первичным диагнозом острого вялого паралича, экзантема полости рта и конечностей или неврологических заболеваний (энцефалит, асептический менингит), были исследованы только в лаборатории энтеровирусов Института Пастера в Хошимине, Национальной полиомиелитной лаборатории Вьетнама. Анализ годовой документации был

проведен с целью подтверждения статуса Южного Вьетнама как страны, свободной от полиомиелита, в 2010-2021 годах.

## 2.2 Методы исследования

Схема анализа проб от больных с синдромом острого вялого паралича, вирусным менингитом/энцефалитом/вирусной пузырчаткой полости рта и конечностей представлена на рисунке 4.

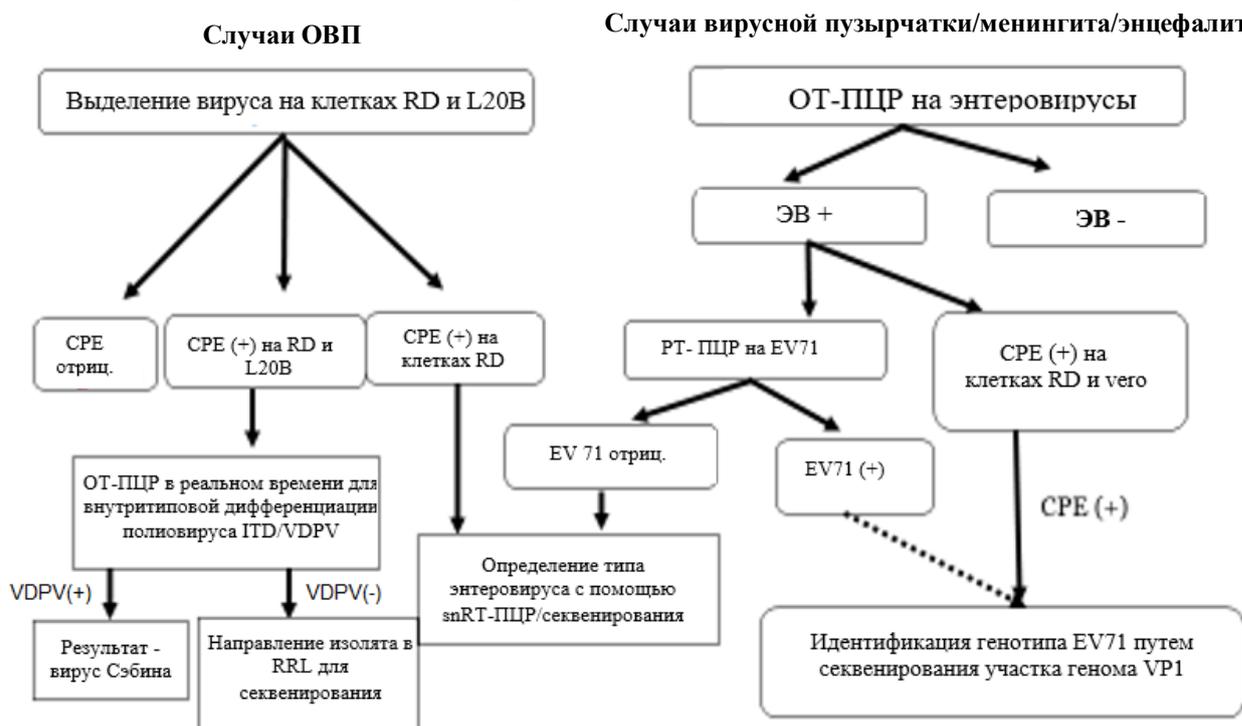


Рисунок 4 - Схема анализа проб от больных с ОВП и энтеровирусной инфекцией

Обработка образцов проводилась в соответствии с рекомендациями ВОЗ (Руководство ВОЗ по лабораторному лечению полиомиелита [78]) и руководством Всемирной организации здравоохранения по клиническому ведению и мерам общественного здравоохранения в связи с экзантемным заболеванием с поражением кистей рук, стоп и полости рта Региональное отделение для Западной части Тихого океана (2011) [34].

Образец фекалий сначала обрабатывали раствором хлороформа (10%) в фосфатно-буферном солевом растворе (PBS), содержащем соли  $MgCl_2$  и  $CaCl_2$ , с добавлением раствора антибиотиков. Хлороформ удаляет бактерии, грибки, цитотоксические липиды, расщепляет вирусные агрегаты. Энтеровирусы не

чувствительны к хлороформу. Два грамма образца смешивали с PBS (9 мл), хлороформа (1 мл) и добавляли один грамм стеклянных шариков, энергично встряхивая в течение 15 мин, затем центрифугировали в течение 20 мин при оборотах 1500g в центрифуге на холоде.

Мазки из ротоглотки или ректальные мазки помещали в пробирку с транспортной средой. Перед центрифугированием в течение 15 мин при 5,9 g, тампон с мазками из ротоглотки/прямой кишки быстро перемешивали на вортексе и удаляли ватную палочку. Надосадочную жидкость хранили при температуре -20°C до проведения процедур по идентификации вирусов.

### **2.2.1 Выделение энтеровирусов**

Выделение полиовирусов проводили на двух клеточных культурах: RD и L20B в соответствии с алгоритмом, рекомендованным ВОЗ.

Для выделения и идентификации энтеровирусов у пациентов с ЭВС или неврологическими заболеваниями все ЭВ-положительные образцы, полученные с помощью ОТ-ПЦР, вносили на клетки RD (клетки рабдомиосаркомы человека) и Vero (клетки почки африканской зеленой обезьяны). Эти клеточные линии были использованы из-за их относительно высокой чувствительности и очевидного цитопатогенного эффекта (CPE), индуцируемого EVA71 и другими энтеровирусами.

Для исключения полиовирусов все образцы, которые показали признаки цитопатогенного действия на одну или обе культуры клеток Vero или RD, были пассированы на культуре клеток L20B (модифицированные мышинные фибробласты, имеющие на своей поверхности рецепторы к вирусам полиомиелита), которые проявляют специфический CPE при заражении полиовирусом.

Выделение вирусов проводили, по крайней мере, с двумя пассажами для каждого образца. Все образцы доступны в Глобальной сети лабораторий по борьбе с полиомиелитом, и контроль качества образцов регулярно проводится в соответствии с Руководством по лабораторным исследованиям в области полиомиелита для обеспечения чувствительности к полиовирусам. Качество

клеточных культур, используемых в вирусологических исследованиях, важно для стандартизации выделения энтеровирусов и их характеристики.

Клетки культивировали в питательной среде EMEM для клеток L20 В и RD и DMEM для клеток Vero с двойным набором аминокислот с добавлением 7% фетальной бычьей сыворотки и раствора антибиотика. Добавляли раствор антибиотика из расчета 100 МЕ пенициллина и 100 мкг стрептомицина на 1 мл питательной среды. Клетки выращивали в пластиковых пробирках с 1 мл поддерживающей среды. Для исследований одного образца использовали по одному флакону с каждой культурой, по 2 пробирки на клеточную линию, по одной пробирке с разными клетками оставляли незараженными как отрицательный контроль. В пробирки вносили 0,2 мл суспензии, содержащей образец, и инкубировали при 36°C в термостате (при 5% CO<sub>2</sub>). Содержание в образце неполиомиелитного энтеровируса определяли по характерному CPE: округление клеток и отслоение их от ростового слоя.

Культуру клеток ежедневно исследовали под инвертированным микроскопом в течение пяти дней при отсутствии признаков цитопатогенного эффекта или до момента, когда CPE распространялся на 75-100% клеток.

Если CPE не было, пробирки замораживали при температуре -20°C, затем проводили пассаж 0,2 мл культуральной жидкости в пробирки с свежими клетками того же типа, и ежедневно наблюдали за образцом еще пять дней. Если на этом этапе CPE не было, результат считали отрицательным. Если в одной или обеих культурах обнаруживались признаки CPE, проводился дополнительный пассаж на линию клеток L20В для исключения полиовируса. Из флакона с клетками после замораживания отбирали культуральную жидкость для хранения при температуре -20°C.

### **2.2.2 Молекулярно-биологический метод**

Для идентификации выделенных штаммов полиовирусов и энтеровирусов, не связанных с полиомиелитом, была использована молекулярная идентификация. Вирусную РНК выделяли из 140 мкл надосадка фекалий или

мазков из ротоглотки/прямой кишки с помощью набора для экстракции QIAamp в соответствии с инструкциями производителя (QIAGEN).

### 2.2.3 Идентификация ЭВ с помощью пан-энтеровирусной ОТ-ПЦР

Для выявления наличия энтеровируса в образце была применена пан-энтеровирусная ОТ-ПЦР (полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией) с использованием набора праймеров, расположенных по бокам консервативной нуклеотидной последовательности в 5'UTR генома энтеровируса. Прямой праймер (MD90) имеет последовательность 5'-ATT GTC ACC ATA AGC AGCCA-3', а обратный праймер (MD91) имеет последовательность 5'-CTT CCG GCC CCT GAA TGC GGC TAA T-3'. Эти праймеры расположены по бокам целевой нуклеиновой последовательности 5'-UTR генома ЭВ с ожидаемым размером продукта 154 пн.

а. Реакция обратной транскрипции (ОТ): 6 мкл вирусной РНК-матрицы добавляли к 1 мкл специфического праймера и доводили деионизированной водой до 11 мкл. Смесь инкубировали при 70°C в течение 2 минут, затем немедленно помещали на лед. Далее в пробирки добавляли по 9 мкл предварительно приготовленной смеси по протоколу: 4 мкл – 5X стандартного буфера, 2 мкл dNTP mix (10 mM), 2 мкл DTT (20 mM), 1 мкл реакционного буфера M-MLV. Эту смесь выдерживали при температуре 37°C в течение 60 мин, затем при температуре 70°C в течении 10 мин, после чего, охлаждали на льду.

б. Реакция ПЦР: 2 мкл 10-кратного буфера в (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> добавляли к 1,2 мкл 25 mM MgCl<sub>2</sub>; по 2 мкл каждого праймера из расчета 10 пмоль/мкл; 0,6 мкл dNTP mix (10 mM), 2,5 единиц Taq ДНК-полимеразы (Promega Co., Мэдисон, Висконсин, США); стерильную деионизированную воду и 10 мкл ПЦР-мастер-смеси. К указанному выше объему RT-реакции добавляли 10 мкл основной смеси для ПЦР. ПЦР проводили следующим образом: 95°C/5 мин для начальной денатурации; затем 30 циклов: 95°C/1 мин для денатурации матрицы; 60°C/1 мин для отжига праймеров к комплементарной им ДНК (кДНК); 72°C/1 мин для удлинения кДНК. Конечное удлинение составляло 1 цикл при температуре 72°C/5 мин.

с. Электрофорез: Продукты амплификации из вышеуказанной ПЦР, с приблизительно 154 пн., были проверены с помощью параллельного электрофореза с использованием маркера молекулярной массы ДНК GeneRuler 100 пн. на 2% (по массе) агарозном геле в буфере TBE и окрашены в безопасном режиме.

#### **2.2.4 Идентификация EVA71 с помощью ОТ-ПЦР**

Все положительные образцы энтеровирусов, полученные с помощью ОТ-ПЦР, обработанные хлороформом вносят в культуры клеток RD и Vero для выделения вируса. Экстракты РНК из этих образцов параллельно протестированы на EV71 с помощью EV71-специфичной ОТ-ПЦР. ОТ-ПЦР для EV71 проводили с использованием прямого праймера MAS01S, последовательность которого представляет собой 5'-ATA ATA GCA (C/T) T (A/G) GCG GCA GCC CA-3', а обратный праймер (MAS02A) имеет последовательность 5'-AGA GGG AG (A/G) TCT ATC TC (C/T) CC-3'. [101] Этот набор праймеров расположен по бокам области VP1 генома EVA71 с размером продукта 376 пн.

а. Реакцию в режиме реального времени применяли как описано выше, с использованием обратного праймера MAS02A.

б. На этапе ПЦР участка VP1 гена EVA71 амплифицировали, используя 10 мкл кДНК в реакционном объеме 20 мкл, содержащем по 20 пМоль прямого праймера и обратного праймера (MAS02A, MAS01S), 0,3 мМ dNTP и 2,5 ЕД Taq ДНК-полимеразы (Promega Co., Мэдисон, Висконсин, США). Олигонуклеотидные праймеры для этого анализа располагаются по бокам области в гене VP1, уникальной для EVA71, и амплифицируют ожидаемый размер продукта в 376 пн.

Амплификацию проводили описанным ранее способом при 35 циклах при температуре 95°C в течение 30 с, 55°C в течение 30 с и 72°C в течение 30 с. Продукты ПЦР исследовали методом электрофореза в 2%-ном агарозном геле с окрашиванием ДНК методом Safe View.

## 2.2.5 Идентификация подтипа EVA71 путем секвенирования всей области генома VP1

Все изоляты EVA71, идентифицированные с помощью ОТ-ПЦР, отбирают для нуклеотидного секвенирования геномной последовательности VP1 вирусной кДНК, чтобы идентифицировать их генетическую группу и сравнить с другими EVA71 в генетическом банке для филогенетического анализа.

Вирусную РНК выделяли из супернатанта клеточной культуры с использованием набора для выделения вирусной РНК QIAamp (QIAGEN), а ген VP1 амплифицировали использованием системы Access RT-PCR (Promega Co., Мэдисон, Висконсин, США). Для каждой реакционной смеси использовали по 2 мкл каждой вирусной РНК и 10 пмоль прямого праймера 2349F (5'–GCTAYATAATAGCAYTGGCGGCAGC-3') и обратного праймера 3393R (5'–GGCGGTTRACCACYCTDAAGTTGCCAC-3'). Наличие амплифицированных фрагментов подтверждали электрофорезом в 1%-ном агарозном геле, а ампликоны очищали с помощью геля Wizard SV и системы очистки для ПЦР (Promega). Весь геном VP1 очищенных ампликонов был определен для обеих цепей с помощью олигонуклеотидных праймеров с использованием генетического анализатора ABI 3130. Праймерами для секвенирования были 2349F, 2757F (прямой: 5'–GCHAAYTGGGAYATAGACATAAC-3', H=A или T или C, Y=C или T), 2780R (обратный: 5'–CCSTRTATCTGTATTGDCC-3', R=A или G, D=A или G) и 3393R. Полные последовательности гена VP1 (891 нуклеотид) для штаммов EVA71 были проанализированы с помощью ABI 3130XL (Applied Biosystem).

Генетический анализ. Последовательности VP1 были выровнены с помощью CLC Sequence Viewer 6, Mega 7 и были использованы для отнесения штаммов к определенным подгруппам на основе филогенетической кластеризации с использованием эталонных штаммов GenBank EVA71. Последовательность VP1 штамма-прототипа CAV16 G10 была включена в качестве дополнительной группы.

## **2.2.6 Идентификация типа энтеровируса с помощью консенсусно-вырожденных гибридных олигонуклеотидных праймеров (CODEНОР) ОТ-ПЦР на ген VP1**

Были отобраны все образцы с цитопатогенным эффектом (СРЕ), наблюдаемым в культуре клеток. Надосадочная жидкость клеточной культуры с СРЕ, индуцированным вирусными изолятами, был протестирован для идентификации типа энтеровируса путем технического усовершенствования методов ОТ-ПЦР, основанных на частичном секвенировании VP1 области с использованием консенсусного вырожденного гибридного олигонуклеотидного праймера (CODEНОР) с высокой чувствительностью и более широкой специфичностью для всех известных типов энтеровирусов. Таким образом, энтеровирусы могут быть идентифицированы по последовательностям VP1, полученным из продуктов ПЦР CODEНОР непосредственно из клинических образцов.

ПЦР-амплификация области гена VP1 для секвенирования: RT-snPCR для обнаружения других ЭВ проводили с использованием пар праймеров AN 32-35 (кДНК); SO222-SO224 (ПЦР 1 – ПЦР с внешним контуром); AN88-AN89 (ПЦР 2 – ПЦР внутри) в термоциклере: [к ДНК] 50°C/50 мин. и 70°C/15 мин; [ПЦР 1] 94°C/2 мин, выполнено 35 циклов, включая 94°C/30 с, 50°C/30 с, 72°C/45 с и 72°C/5 мин; [ПЦР 2] 94°C/2 мин, выполнено 35 циклов, включая 94°C/30 с, 55°C/30 с, 72°C/45 с и 72°C/5 мин [93]. Продукт RT-snPCR был проверен с помощью электрофореза в 2% геле, окрашивания ДНК методом Sefe View с визуализацией линий, типичных для других энтеровирусов, от 350 до 400 п.н. Из образцов, идентифицированных как положительные, был проведен анализ RT-snPCR-продукта для определения серотипа других ЭВ.

Очистка продукта RT-snPCR: Использован биологический набор Wizard SV Gel и система очистки для ПЦР (Promega) для очистки продукта RT-snPCR для амплификации области генома VP1 других энтеровирусов.

Секвенирование генов: Очищенный продукт RT-snPCR секвенировали с использованием набора для циклического секвенирования BigDye Terminator

v3.1 (Applied Biosystem), используя пару праймеров, которые использовались совместно с другими EV при амплификации области. Ген VP1, используемый в ПЦР-2 реакции RT-snPCR, представляет собой AN88-AN89. Проводили реакцию секвенирования с помощью термоциклера в соответствии с термическим циклом: 96°C/1 мин; 35 циклов, включая 96°C/10 секунд, 50°C/5 секунд, 60°C/4 минуты и 40°C/7 минут. Продукты ПЦР-секвенирования очищали с помощью биологического набора QIAGEN. Последовательность нуклеотидов считывали с помощью секвенатора ABI 3130 XL (Applied Biosystem). Результаты анализировали с помощью программного обеспечения Finch TV, CLC Viewer 6, MEGA 7 [69]. После получения полной нуклеотидной последовательности области гена VP1 использовали инструмент BLAST базы данных NCBI для сравнения родства и сходства с последовательностью области VP1 других штаммов EV, опубликованных в базе данных, тем самым определяя серотипы других EV, циркулирующих в Южном Вьетнаме.

### **2.3 Обработка статистических данных**

Были определены средние ошибки, и значимость статистических различий была оценена с помощью t-критерия Стьюдента. Различия считались статистически значимыми при 95% доверительном интервале (значения  $p < 0,05$ ).

### **3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

#### **3.1 Этиологическая характеристика синдрома острого вялого паралича в Южном Вьетнаме**

##### **3.1.1 Выделение полиовирусов у пациентов с острым вялым параличом в Южном Вьетнаме в 2010-2021 годах**

Сертификационная комиссия Инициативы по ликвидации полиомиелита Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в 2000 году аккредитовала Вьетнам как страну, свободную от полиомиелита, вместе с другими странами региона ВОЗ Западной части Тихого океана. С целью выявления случаев острых вялых параличей Министерство здравоохранения Вьетнама создало две Национальные лаборатории (НЛ) по диагностике полиомиелита. Одна из этих лабораторий работает на базе Института Пастера в Хошимине. Сотрудники лаборатории осуществляют вирусологическую диагностику всех случаев острого вялого паралича у детей до 15 лет с целью изучения этиологии этих заболеваний. В период с 2010 по 2021 год в НЛ были отобраны пробы фекалий у 2143 пациентов с диагнозом синдром ОВП и исследованы в соответствии с алгоритмом ВОЗ для выявления патогенных агентов в 29 провинциях Вьетнама (Южный регион – 20, Горный регион – 4 и Центральный регион – 5).

Согласно рекомендациям ВОЗ и Национальным рекомендациям по РПИ, ежегодный стандарт выявления случаев ОВП составляет как минимум один случай ОВП на 100 000 детей в возрасте до 15 лет. Уровень выявления ОВП в Южном Вьетнаме в 2010-2020 годах всегда соответствовал целевому показателю ВОЗ, только в 2021 году во время пандемии COVID-19 этот показатель снизился до 0,7. Средний показатель составил 1,62, самый высокий показатель был равен 2,7 в 2012 году, в следующем 2013 году он был 2,1, а самым низким (0,7) он оказался в 2021 году (рисунок 5).

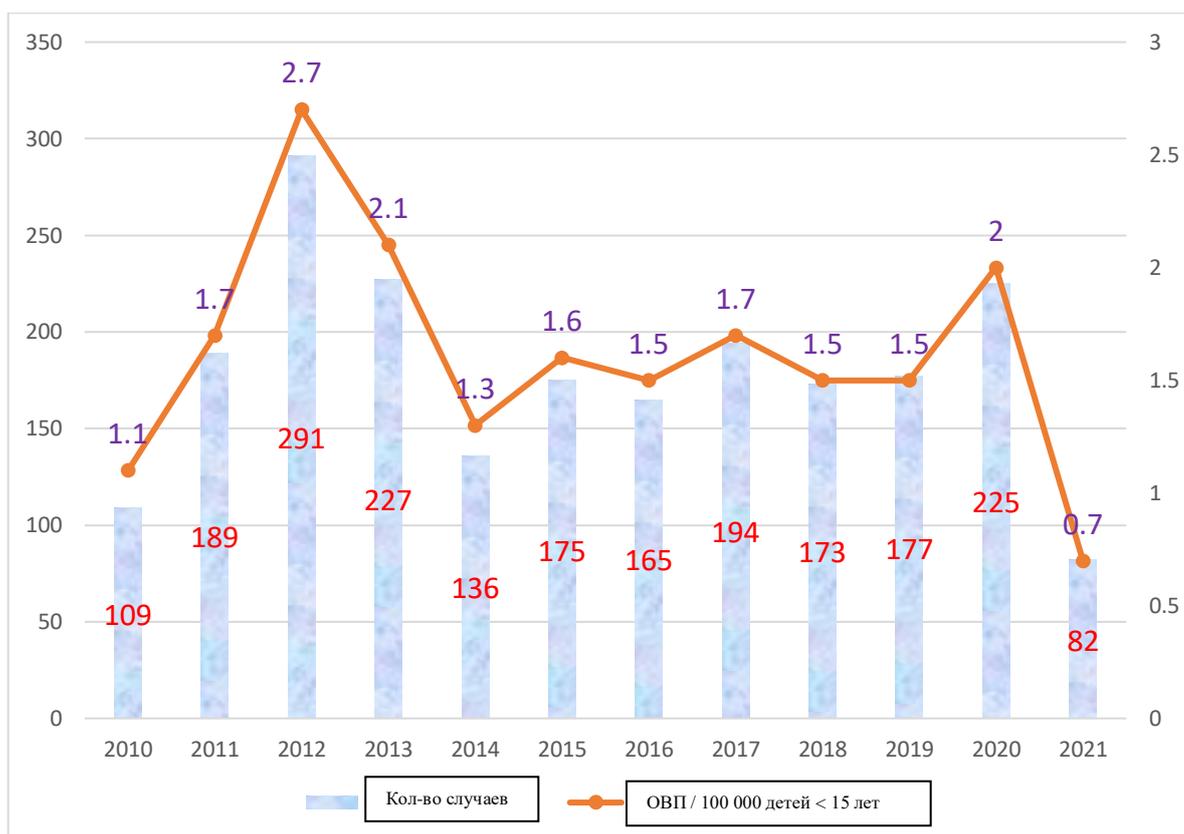


Рисунок 5 - Число случаев ОВП и показатели заболеваемости ОВП (на 100 000 детей) в Южном Вьетнаме в период с 2010 по 2021 год

Во Вьетнаме оральная вакцина против полиомиелита (ОПВ) отечественного производства используется в рамках Расширенной программы иммунизации (РПИ) с 1985 года. С 2000 года Вьетнам свободен от полиомиелита. Страна по-прежнему защищает это достижение посредством эффективного эпиднадзора за острым вялым параличом и поддержания уровня охвата детей тремя дозами вакцины против полиомиелита на уровне более 90%. С 1993 года показатель получения трех доз вакцины tOPV всегда превышал 90% и постоянно поддерживался на высоком уровне в течение многих лет. С июня 2016 года Вьетнам изменил используемую оральную полиовирусную вакцину с трехвалентной на двухвалентную (bOPV включает полиовирусы типов 1 и 3) для вакцинации детей в возрасте 2, 3, 4 месяца. В сентябре 2018 года была введена в действие инактивированная полиовирусная вакцина (ИПВ), которая вводится однократно детям в возрасте 5 месяцев. Однако из-за эпидемии Covid в 2020-2021 годах охват детей вакцинацией ОПВ снизился до 61,5%. (Рисунок 6).

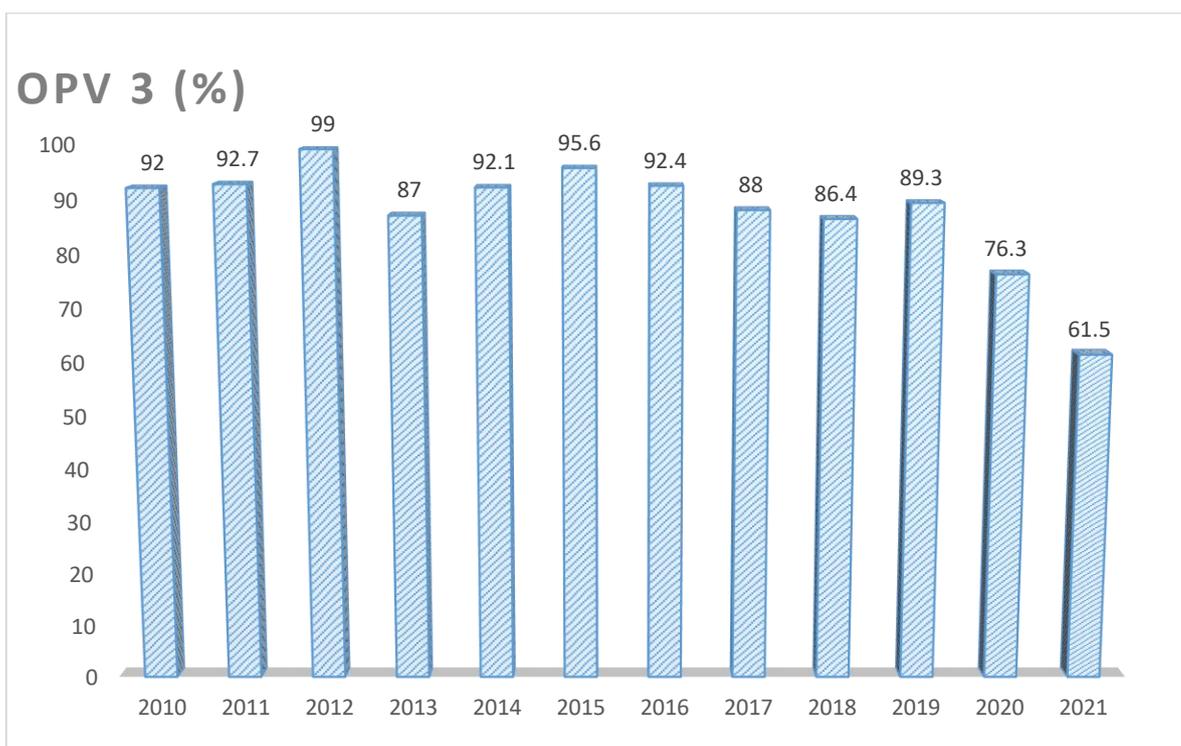


Рисунок 6 - Процент охвата детей тремя дозами вакцины против полиомиелита в Южном Вьетнаме в 2010-2021 годах

За двенадцать лет наблюдения за ОВП исследователи Национальной лаборатории по диагностике полиомиелита в Хошимине выделили 22 полиовируса из проб от 2143 пациентов с первичным диагнозом "синдром острого вялого паралича". Полученные результаты показали, что процент выделения полиовируса у пациентов с ОВП составил 1%. Большинство выделенных полиовирусов были вакцинными полиовирусами в соответствии с результатами внутритиповой дифференциации (ВТД). Из 22 полиовирусов 20 штаммов были и вакцинными и вакциноподобными (SL) полиовирусами, два изолированных полиовируса были классифицированы как полиовирусы вакцинного происхождения типа 2 (ПВВП2). Идентификация полиовирусов показала, что шесть выделенных полиовирусов были отнесены к типу 1, пять полиовирусов отнесены к типу 2, а одиннадцать штаммов принадлежали к типу 3 (таблица 3).

Соотношение различных типов среди выделенных 20 штаммов полиовирусов показало следующие результаты: ПВ3 (55%), ПВ1 (30%), ПВ2 (15%).

Таблица 3 - Выделение полиовирусов от случаев ОВП в 2010-2021 годах

Год	Число случаев ОВП	Число выделенных полиовирусов	Типы изолированных полиовирусов (ПВ)		
			ПВ1	ПВ2	ПВ3
2010	109	1	-	-	1
2011	189	2	1	1	-
2012	291	5	2	2	1
2013	227	2	1	-	1
2014	136	-	-	-	-
2015	175	-	-	-	-
2016	165	8	1	2	5
2017	194	-	-	-	-
2018	173	4	1	-	3
2019	177	-	-	-	-
2020	225	-	-	-	-
2021	82	-	-	-	-
Всего	2.143	22 (1%)	6	5	11

Среди всех обследованных детей было выявлено только семь детей, выделявших полиовирусы, старше семи месяцев, но не получили по три дозы ОПВ. Среди не вакцинированных были два ребенка, инфицированных полиовирусами типа 2. Оба ребенка не были вакцинированы тремя дозами ОВП, хотя им исполнилось 18 месяцев на момент развития острого вялого паралича.

При этом не было выделено ни одного штамма дикого полиовируса. Важно, что последние полиовирусы типа 2 были изолированы в начале 2016 года, еще до глобального перехода к вакцинации БОПВ вместо тОПВ (2016 год).

Сведения о вакцинации детей, у которых были выделены полиовирусы, представлены в таблице 4.

Таблица 4 - Вакцинация детей выделителей полиовирусов с диагнозом ОВП

Вакцинация детей против полиомиелита		Число детей с учетом возраста и числа доз ОВП					Выделенные полиовирусы
		6 мес.	7-12 мес.	13-36 мес.	3-14 лет	Всего	
Вакцинированные ОПВ дети	3 дозы		-	2	4	7	2 PVSL1 1 PVSL2 4 PVSL3
	2 дозы		4	-	1	9	2 PVSL1 4 PVSL3 1PVSL2+PVSL3 1PVSL1+PVSL3 1 VDPV2
	1 доза		-	1	-	2	1 PVSL1 1 PVSL3
Не привитые дети			-	1	-	1	1 VDPV2
Общее количество детей			4	4	5	19	20 PVSL 2 VDPV2

В 2012 году Вьетнам сообщил ВОЗ о двух случаях ОВП, зарегистрированных на юге Вьетнама и классифицированных как случаи ОВП, связанные с полиовирусами вакцинного происхождения типа 2 – ПВВП2 (рис. 6).

Эти двое детей проживали в районах с плохими санитарными условиями и низким уровнем охвата вакцинацией, где возможно спонтанное накопление мутаций в процессе многократной передачи полиовирусов от вакцинированных детей не вакцинированным и образование из вакцинных полиовирусов вирулентных вирусов вакцинного происхождения. Дальнейшее распространение таких вирусов может привести к заражению полиовирусом вакцинного происхождения не привитых детей.

Описание двух случаев острого вялого паралича, зарегистрированных в 2012 году, которые были вызваны полиовирусами вакцинного происхождения типа 2 приведено ниже. Важно, что оба эти случая не имели дальнейшего распространения ни в одной из провинций Южного Вьетнама (рисунок 7).

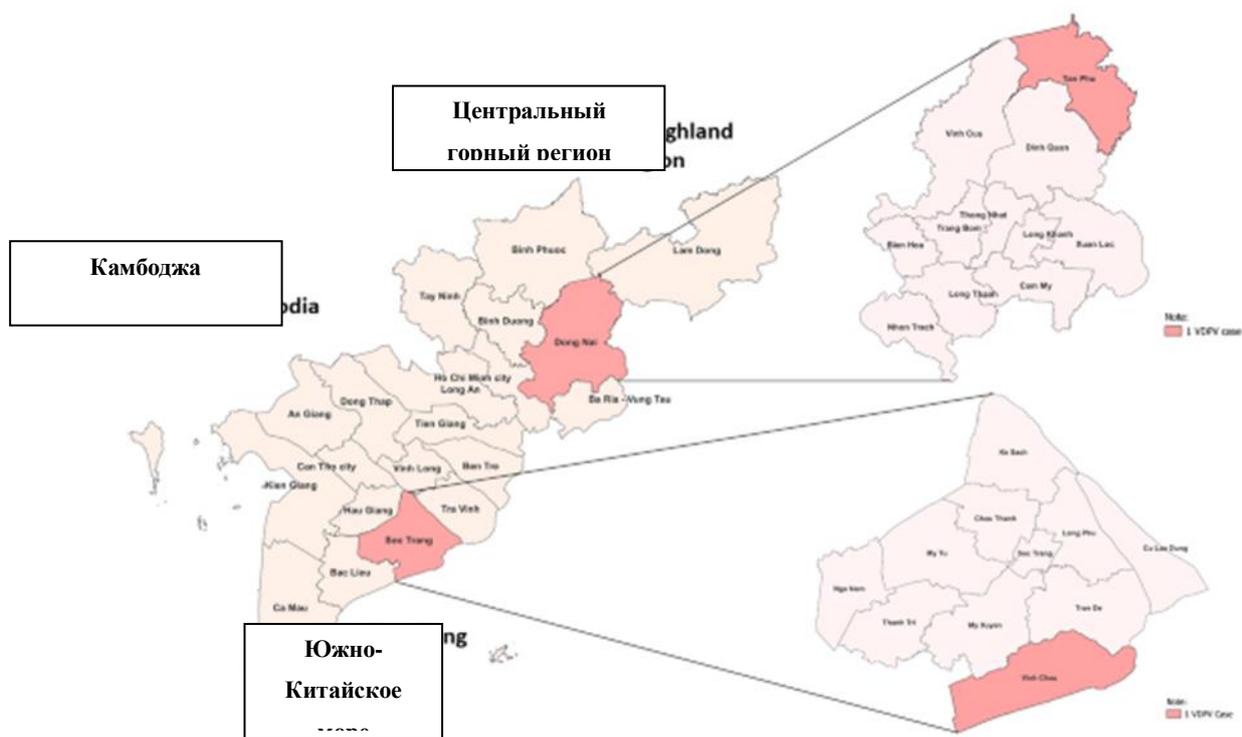


Рисунок 7 - Случаи ОВП вызванные ПВ типа 2, зарегистрированные в 2012 году в двух провинциях Южного Вьетнама

ОВП 1. Ребенок в возрасте 19 месяцев ни разу не был вакцинирован против полиомиелита. Острый вялый паралич был зарегистрирован 14 февраля 2012 года. Район, в котором произошло инфицирование девочки, расположен недалеко от моря и отличается влажным тропическим климатом и плохими санитарными условиями. К тому же более чем 80% населения этой провинции составляют представители этнических меньшинств, с которыми трудно общаться работникам здравоохранения. Случай, вероятно, явился результатом заноса вируса вакцинного происхождения из соседних государств, поскольку ранее на территории Вьетнама подобные вирусы не циркулировали. Ребенок был отправлен на лечение в стационар. Из двух проб фекалий, взятых в адекватные сроки, были выделены два штамма полиовируса, которые были классифицированы как ПВВП типа 2 согласно результатам внутритиповой дифференциации. Результаты поиска вируса полиомиелита через 30 дней после начала паралича были отрицательными. На 60-й день у ребенка не был

зафиксирован остаточный паралич. Окончательный диагноз: острый вялый паралич у не привитого ребенка.

ОВП 2. в Донгнае: ребенок в возрасте пять лет получил только две дозы трёхкомпонентной оральной вакцины против полиомиелита, последняя доза была введена более чем за 30 дней до наступления паралича. Острый вялый паралич был зарегистрирован 17 апреля 2012 года. Ребенок проживает в труднодоступном для вакцинации горном районе. Население района состоит из 11 этнических групп. Мальчик был госпитализирован. Из двух адекватных проб, взятых у него, были выделены два штамма полиовируса, классифицированных как ПВВП типа 2. В пробах от 30-го дня после начала паралича полиовирусы обнаружены не были. При осмотре мальчика на 60-й день после начала паралича остаточного паралича обнаружено не было. Окончательный диагноз: острый вялый паралич у не полностью вакцинированного ребенка.

Штаммы ПВВП 2 от этих двух случаев ОВП были изучены с помощью секвенирования генома. Характеристика нуклеотидных последовательностей приведена на рисунке 8.

Оба выделенных полиовируса от первого ребенка с диагнозом ОВП (SV3127LR-VP1 и SV3128LR-VP1) имели по шесть нуклеотидных замен в области генома VP1. Они были идентичны между собой, но отличались от эталонного штамма вируса Сэбина типа 2 (процент дивергенции был равен 0,66%).

Первый полиовирус (SV3129LR-VP1), выделенный из биологического материала от второго ребенка, проживающего в провинции Донгнай, имел пять нуклеотидных замен. У второго полиовируса (SV3130LR-VP1) процент дивергенции составил 0,66%, поскольку он имел шесть нуклеотидных замен по сравнению со вирусом Сэбина типа 2.

```

AY082679-Sabin2 GGAATTGGTGACATGATTGAGGGGCGCTGAAGGGATTACTAAAAATGCATTGGTTCCCCCGACTTCCACCAATAGCCTGCCTGACACAAGCCGAGCGGTCCAGCC
SV3127LR-VP1 .....
SV3128LR-VP1 .....
SV3129LR-VP1 ..... T .....
SV3130LR-VP1 ..... T .....
AY082679-Sabin2 CACTCCAAGGAGATACCTGCATTGACAGCCGTGGAGACAGGGGTACCAATCCGTTGGTGCCTTCGGACACCGTGCAAACCGCCATGTCATCCAGAGACGAAACCGGA
SV3127LR-VP1 .....
SV3128LR-VP1 .....
SV3129LR-VP1 .....
SV3130LR-VP1 .....
AY082679-Sabin2 TCAGAGTCCACGGTTGAGTGATTCTTTGCAAGAGGGGCTTGCCTGGCTATCATTGAGGTGGACAATGATGCACCGACAAAAGCGCCAGCAGATTGTTTTCGGTTTGG
SV3127LR-VP1 .....
SV3128LR-VP1 .....
SV3129LR-VP1 .....
SV3130LR-VP1 .....
AY082679-Sabin2 AAAATAACTTACAAGATACTGTTCAACTGAGACGCAAACTGGAATTTTTACATATTCGAGATTGACATGGAGTTCACTTTTGTGGTCACTCAAACCTACATTGAT
SV3127LR-VP1 ..... C ..... C .....
SV3128LR-VP1 ..... C ..... C .....
SV3129LR-VP1 ..... C ..... C .....
SV3130LR-VP1 ..... C ..... C .....
AY082679-Sabin2 GCAAATAACGGACATGCATTGAACCAAGTTTATCAGATAATGTATATACCACCCGGAGCACCTATCCCTGGTAAATGGAATGACTATACGTGGCAGACGTCCTCTAAC
SV3127LR-VP1 ..... C ..... A . C . .
SV3128LR-VP1 ..... C ..... A . C . .
SV3129LR-VP1 .....
SV3130LR-VP1 .....
AY082679-Sabin2 CCGTCCGGTGTTTACACCTATGGGGCGCCCCAGCAAGAATATCAGTGCCCTACGTGGGAATGCGTAATGCGTATCCCACTTTTATGATGGGTTTGCAAAAGTACCA
SV3127LR-VP1 .....
SV3128LR-VP1 .....
SV3129LR-VP1 ..... G . .
SV3130LR-VP1 ..... G . .
AY082679-Sabin2 CTAGCGGGTCAAGCCTCAACTGAAGCGATTTCGTTGTACGGTGCTGCCTCACTGAATGATTTGGATCACTGGCTGTTCGGTGGTAAATGATCACAACCCACGCGG
SV3127LR-VP1 ..... T .....
SV3128LR-VP1 ..... T .....
SV3129LR-VP1 ..... G .....
SV3130LR-VP1 ..... G .....
AY082679-Sabin2 CTCACCTCCAAGATCAGAGTGACATGAAGCCAAAGCATGTGAGAGTCTGGTCCACGACCTCCACGAGCAGTCCCATACTTCGGACCAGGTGTTGATTATAAAGAT
SV3127LR-VP1 .....
SV3128LR-VP1 .....
SV3129LR-VP1 .....
SV3130LR-VP1 .....
AY082679-Sabin2 GGGCTCACCCCACTACCAGAAAAGGGATTAACGACTTAT
SV3127LR-VP1 .....
SV3128LR-VP1 .....
SV3129LR-VP1 .....
SV3130LR-VP1 ..... T .....

```

Рисунок 8. Нуклеотидные последовательности области VP1 двух штаммов ПВВП2, изолированных от детей с диагнозом ОВП

Важно отметить, что за анализируемый период ни у одного пациента с первичным диагнозом "острый вялый паралич" не было остаточного паралича.

В конце 2018 года во Вьетнаме была введена инактивированная вакцина ИПВ детям для четвертой вакцинации детей в возрасте пять месяцев. Это положительно повлияло на циркуляцию полиовирусов Сэбина среди населения и снизило уровень заболеваемости ОВП, а также вакциноассоциированным паралитическим полиомиелитом (ВАПП). Инактивированная вакцина не представляет опасности заражения ОВП и ВАПП, но она не снижает риск циркуляции ни вакцинных, ни диких полиовирусов.

Таким образом, в Южном Вьетнаме не было зарегистрировано ни одного случая ОВП, классифицированного как «вакциноассоциированный паралитический полиомиелит» (ВАПП). Благодаря хорошему качеству вакцинации детей против полиомиелита и эффективному надзору за синдромом острого вялого паралича Южный Вьетнам вместе со всей страной сохранял и подтверждал свободный от полиомиелита статус.

### 3.1.2 Выделение неполиомиелитных энтеровирусов у пациентов с острым вялым параличом в Южном Вьетнаме в 2010-2021 гг

Помимо полиовирусов, острый вялый паралич также может быть связан с неполио-энтеровирусами (НПЭВ). Неполио-энтеровирусы, вероятно, станут основным возбудителем после полной ликвидации полиомиелита. В таблице 5 представлено количество НПЭВ, выделенных из случаев ОВП у детей в возрасте до 15 лет в период 2010-2021 гг. в Южном Вьетнаме

Таблица 5 - Выделение неполио энтеровирусов от случаев ОВП в 2010-2021 гг.

	Годы												Всего
	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	
Число проб	109	189	291	227	136	175	165	194	173	177	225	82	2143
Число выделенных НПЭВ	12	19	35	23	15	17	14	33	22	15	22	22	249
% выделения НПЭВ	11,1	10,1	12,0	10,1	11,0	9,7	8,5	17,0	12,7	8,5	9,8	26,8	11,8

За двенадцать лет надзора за острыми вялыми параличами от больных с первичным диагнозом ОВП (2143) было выделено 249 неполиомиелитных энтеровирусов (НПЭВ) разных типов. Процент выделения НПЭВ составил 11,8 %. Доля энтеровирусов, выделенных от пациентов с ОВП, была практически

одинаковой в течение всего периода исследования (от 8,5% до 17%). Доля изолированных неполиомиелитных энтеровирусов была выше в 2017 году (17%), когда циркуляция этих вирусов в стране и особенно в южных провинциях Вьетнама была активной. Этот показатель был максимально высоким в 2021 году (26,8%). Но это не связано с уровнем циркуляции неполиомиелитных энтеровирусов. На увеличение процента выделения НПЭВ повлияло необычайно малое число (82) зарегистрированных и расследованных случаев ОВП в Южном Вьетнаме (рисунок 9).

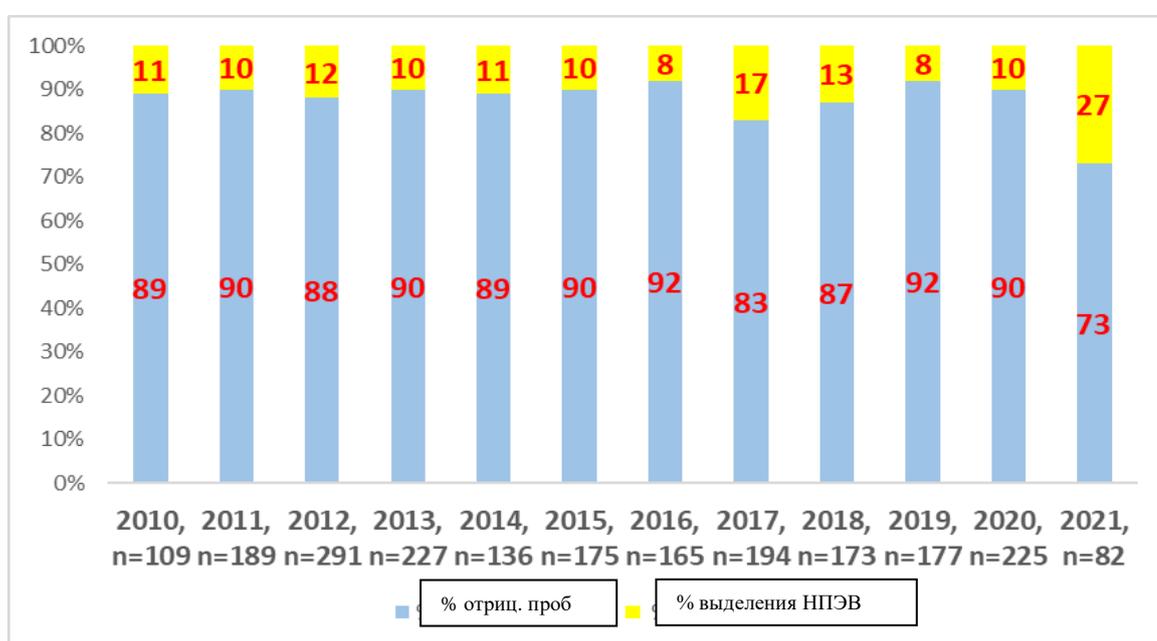


Рисунок 9 - Доля неполиомиелитных энтеровирусов, выделенных от больных ОВП в 2010-2021 гг

Спектр энтеровирусов, выделенных от пациентов с острым вялым параличом в течение 12 лет наблюдения, был обширным. В пробах от случаев с диагнозом ОВП были идентифицированы неполиомиелитные энтеровирусы 34 типов. А 10 НПЭВ, выявленных в пробах от больных не удалось типировать (Таблица 6).

Таблица 6 - Типы неполиомиелитных энтеровирусов, идентифицированные у больных ОВП в 2012-2021 годах

Годы	Число вирусов	Типы неполиомиелитных энтеровирусов
2010	12	1CVA10, 1CVB4, 1CVB5, 1E6, 2E29, 1E30, 1EVA71, 1EVB75, 1EVB81, 1EVB84, 1NPEV
2011	19	1CVA4, 1CVB1, 1CVB3, 2CVB5, 1E3, 1E9, 2E14, 1E25, 1E33, 3EVA71, 3EVA73, 3EVA75, 1EVB88, 1NPEV
2012	35	1CVA9, 1CVA10, 1CVB5, 1E3, 1E11, 2E14, 1E33, 23EVA71, 3EVB75, 1NPEV
2013	23	3CVA10, 1CVA14, 1CVA24, 2CVB2, 1CVB3, 2CVB4, 1E6, 1E7, 4E11, 1E25, 5EVA71, 1NPEV
2014	15	1CVA6, 2CVA10, 1CVA16, 3E11, 1E30, 2EVA71, 5NPEV
2015	17	1CVA9, 1CVA16, 2CVB2, 1E3, 1E6, 1E9, 1E11, 1E25, 7EVA71, 1NPEV
2016	14	1CVA4, 1CVA9, 6CVA10, 1CVA21, 1CVB5, 1E11, 3E18
2017	33	13CVA16, 4CVB4, 5CVB5, 1E3, 2E7, 1E9, 2E11, 2E13, 2E14, 1EVB81, 1EVB84, 1EVB88
2018	22	1CVA9, 5CVA10, 1CVA16, 2CVB2, 2E6, 1E11, 2E20, 8EVA71
2019	15	2CVA10, 1CVA16, 1CVB4, 2E3, 2E11, 1E14, 5E18, 1EVA71
2020	22	10CVA4, 2CVA8, 4CVA10, 1E6, 3E14, 2EVA71
2021	22	1CVA4, 1CVB1, 3CVB3, 2E16, 15EVA71
Всего	249	67EVA71, 4EVB75, 3EVB79, 2EVB81, 1EVB84, 1EVB88, 13CVA4, 1CVA6, 2CVA8, 4CVA9, 24CVA10, 1CVA14, 17CVA16, 1CVA21, 1CVA24, 2CVB1, 6CVB2, 5CVB3, 8CVB4, 10CVB5, 6E3, 6E6, 3E7, 3E9, 15E11, 2E13, 10E14, 2E16, 8E18, 2E20, 3E25, 2E29, 2E30, 2E33, 10NPEV.

Среди 239 НПЭВ от больных ОВП, тип которых был определен, были вирусы, принадлежащие к разным видам HEV. Доля 125 вирусов вида А (в основном вирусы ЭВ 71) была самой высокой (52%). Вирусы вида В (47%)

отличались многообразием типов. На вирусы вида С пришлось наименьшая доля (2,1%), а ни один вирус вида D не был выделен (Табл. 7 и рисунки 10, 11).

Таблица 7 - Распределение неполиомиелитных энтеровирусов по видам в 2010-2021 гг.

Виды вирусов	Годы 20'												Всего
	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	
Вид А	2	4	24	9	6	8	7	13	14	4	18	16	125
Вид В	9	14	10	12	4	8	6	20	8	11	4	6	112
Вид С			-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	2
Всего	11	18	34	22	10	16	14	33	22	15	22	22	239

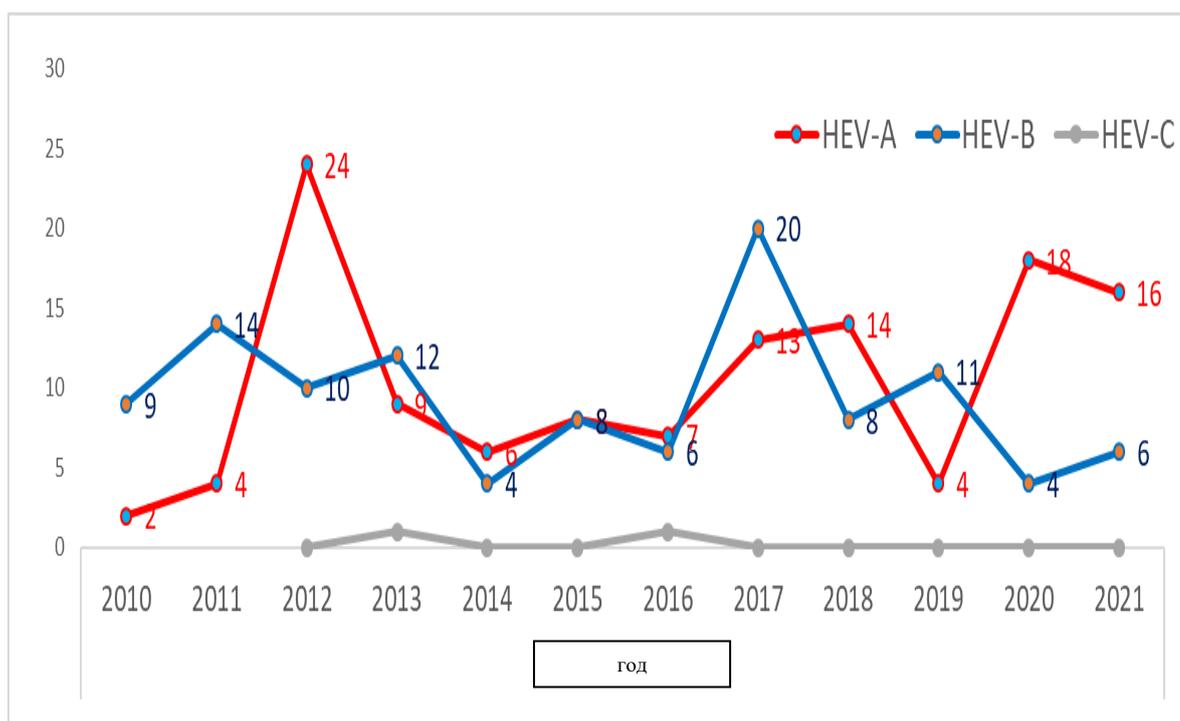


Рисунок 10 - Неполиомиелитные энтеровирусы видов А, В и С от случаев ОВП в период с 2010 по 2021 год

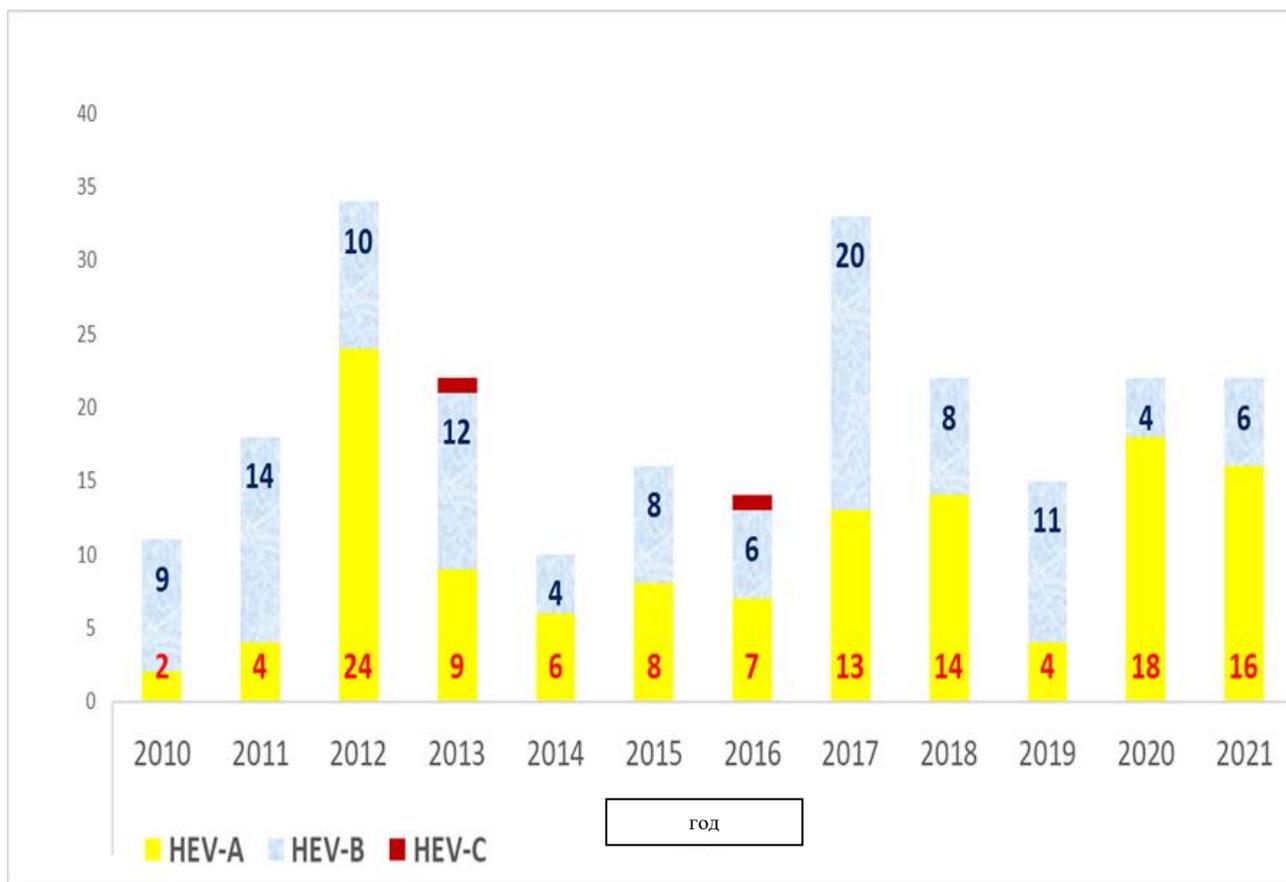


Рисунок 11 - Распределение НПЭВ видов А, В и С, идентифицированных у больных ОВП, по годам, 2010-2021 годы

Среди 125 энтеровирусов, относящихся к виду А, энтеровирусы 71 (67 вирус) составили большинство, они активно циркулировали среди населения в течение всех лет исследования, за исключением 2016-2017 гг., когда не было зарегистрировано ни одного случая ОВП, связанного с вирусом этого типа году (таблица 8). В 2012 году наибольшее число случаев ОВП было связано с ЭВ71 (23 из 24 случаев ОВП). В 2021 году с ЭВ 71 было связано 15 случаев, их процент был высоким (94%).

Таблица 8 - Энтеровирусы вида А, идентифицированные у больных ОВП в 2010-2012 годах

Типы вирусов вида А	Годы												Всего
	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	
ЭВ 71	1	3	23	5	2	7	-	-	8	1	2	15	67
Коксаки А4	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	10	1	13
Коксаки А6	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
Коксаки А8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	2
Коксаки А10	1	-	1	3	2	-	6	-	5	2	4	-	24
Коксаки А14	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Коксаки А16	-	-	-	-	1	1	-	13	1	1	-	-	17
Всего	2	4	24	9	6	8	7	13	14	4	18	16	125

Второе место занимали вирусы Коксаки А10 (24), они также проявляли высокую активность, случаи, связанные с СVA10, регистрировали в течение восьми из 12 лет. Число штаммов вируса Коксаки А16 также было высоким, особенно в 2017 году, когда их было 13 из 17 идентифицированных штаммов. Вирусы Коксаки А4 (13) были активны в 2020 году (10 из 13 вирусов А4).

В таблице 9 представлено распределение типов НПЭВ вида В, выделенных в 2010-2021 гг. Из таблицы видно, что энтеровирусы вида В относились к большему числу типов (25 типов), чем энтеровирусы вида А (только семь типов).

Таблица 9 - Типы НПЭВ вида В, выделенных у больных ОВП в 2010-2021 гг.

Типы вирусов вида В	Годы												Всего
	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	
EV75	1	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4
EV79	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
EV81	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	2
EV84	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
EV88	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Коксаки А9	-	-	1	-	-	1	1	-	1	-	-	-	4
Коксаки В1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2
Коксаки В2	-	-	-	2	-	2	-	-	2	-	-	-	6
Коксаки В3	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	3	5
Коксаки В4	1	-	-	2	-	-	-	4	-	1	-	-	8
Коксаки В5	1	2	1	-	-	-	1	5	-	-	-	-	10
ЕСНО3	-	1	1	-	-	1	-	1	-	2	-	-	6
ЕСНО 6	1	-	-	1	-	1	-	-	2	-	1	-	6
ЕСНО 7	-	-	-	1	-	-	-	2	-	-	-	-	3
ЕСНО 9	-	1	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	3
ЕСНО 11	-	-	1	4	3	1	1	2	1	2	-	-	15
ЕСНО 13	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	2
ЕСНО 14	-	2	2	-	-	-	-	2	-	1	3	-	10
ЕСНО 16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2
ЕСНО 18	-	-	-	-	-	-	3	-	-	5	-	-	8
ЕСНО 20	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	2
ЕСНО 25	-	1	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	3
ЕСНО 29	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
ЕСНО 30	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	2
ЕСНО 33	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2

Экховирусы 25, 29,30, 33 и энтеровирусы EV-75, 79, 81, 84 и 88 появлялись лишь эпизодически в течение первых 5 лет наблюдения за ОВП, и исчезли в последующие годы. Остальные вирусы Коксаки А8 и экховирусы, относящиеся к энтеровирусам вида В, в начале исследования обнаруживали редко, а затем в период с 2013 до 2018 года их стало больше и постепенно к 2021 году их число вновь снизилось. Вирусы ЕСНО 6, 11, 14, 18 и вирусы Коксаки В2, В3, В4 и В5 составили большую часть идентифицированных энтеровирусов вида В (60,7%).

В течение 12 лет энтеровирусы вида С (Коксаки А21 и Коксаки А24) выявили только дважды. Число вирусов вида С было незначительным, вирус Коксаки А24 выявили в 2013 году, а вирус Коксаки А21 в 2016 году.

За 12 лет наблюдения у всех 2143 детей наблюдалась типичная клиническая картина острого вялого паралича. Дети в возрасте до трех лет и дети старше 3 лет были представлены поровну. Среди лиц с ОВП процент мальчиков

(61,4%) достоверно превышал ( $p < 0,05$ ) процент девочек (38,6%). Среди 249 детей с диагнозом ОВП, у которых были обнаружены энтеровирусы, большинство (69,4%) были до трех лет, а 30,8% детей были старше трех лет. Среди них доля мальчиков (56,2%) также превышала долю девочек (43,8%).

Важно отметить, что 89,16% детей с диагнозом ОВП, у которых были выделены неполиомиелитные энтеровирусы, получили по три дозы ОПВ, и для каждой возрастной группы доля детей, вакцинированных тремя дозами ОПВ, составила более 86 % (таблица 10).

Таблица 10 - Сведения о вакцинации пациентов с диагнозом ОВП и выделением неполиомиелитных энтеровирусов в 2010-2021 годах

Характеристика детей по возрасту и полу		Общее число случаев ОВП (%)	Случаи ОВП с выделением НПЭВ		
			Число детей (%)	Вакцинированные дети с выделением ЭВИ	
				3 дозы ОПВ	0,1,2 дозы ОПВ
Возраст	0-12 месяцев	317 (14.8)	44 (17.7)	38(86.36%)	6(13.64%)
	13-36 месяцев	787 (36.7)	129 (51.8)	112(86.82%)	17(13.18%)
	3-14 лет	1.039 (48.5)	76 (30.5)	72(94.74%)	4(5.26%)
Всего		2.143	249	222 (89.16)	27 (10.84)
Пол	Мальчики	1.316 (61.4)	140 (56.2)	124 (88.57%)	16(11.43%)
	Девочки	827 (38.6)	109 (43.8)	98( 89.91%)	11(10.19%)

Согласно рекомендациям Всемирной организации здравоохранения, выявление случаев острого вялого паралича должно составлять не менее 1 случая на 100 000 детей в возрасте до 15 лет. Два адекватных образца фекалий быть доставлены в лабораторию не позднее 14 дней от начала паралича, не менее, чем в 80% случаев - это два наиболее важных показателя качества надзора. Система надзора за полиомиелитом и ОВП в Южном Вьетнаме работает эффективно, показатели как эпидемиологического так и вирусологического надзора превысили целевые показатели ВОЗ в период с 2010 по 2021 год. Результаты показали, что показатель выявления случаев ОВП составил 1,63 на 100 000 детей до 15 лет (диапазон 0,7–2,77), а доля случаев ОВП с двумя адекватными

образцами фекалий своевременно доставленными и обследованными в вирусологической лаборатории достигла 100%. Хотя система эпиднадзора за ОВП соответствовала целевому показателю ВОЗ, но в 2021 году во время пандемии COVID-19 этот показатель упал до 0,7. Процент выявления случаев ОВП был стабильно выше среди мальчиков (61,4%), чем у девочек (38,6%). В Южном Вьетнаме с 2010 по 2021 год из 22 выделенных полиовирусов 20 штаммов были вакцинными, а два полиовируса, выделенные от пациентов, которые не были вакцинированы или получили недостаточно доз ОПВ, были классифицированы как полиовирусы вакцинного происхождения типа 2 (ПВВП2).

Процент выделения неполиомиелитных энтеровирусов составил 11,8 %. Были выделены и идентифицированы энтеровирусы трех видов и 34 типов. Энтеровирусы вида А (в основном ЭВ71) были представлены в наибольшей пропорции (52%). ЭВ71 был выделен у больных ОВП чаще других типов энтеровирусов. В большинстве стран, особенно региона Юго-Восточной Азии, наиболее часто выявляемым типом НПЭВ при вирусологическом надзоре за острыми вялыми параличами также является ЭВ71.

## **3.2 ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ ЭНТЕРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В ЮЖНОМ ВЬЕТНАМЕ**

### **3.2.1 Циркуляция неполиомиелитных энтеровирусов и особенности различных форм энтеровирусной инфекции в Южном Вьетнаме**

Основным компонентом надзора за энтеровирусной инфекцией во Вьетнаме является мониторинг заболеваемости и вирусологическая диагностика энтеровирусной экзантемы полости рта и конечностей (ящуроподобного синдрома). Энтеровирусная экзантема клинически проявляется в повышении температуры тела и макуло-папулезной сыпи на коже рук, ног и на слизистой рта. В соответствии с Законом о профилактике инфекционных заболеваний и борьбе с инфекционными заболеваниями, во Вьетнаме этот синдром был отнесен к инфекциям категории В, как опасное и потенциально смертельное

инфекционное заболевание, которое может быстро распространяться (Национальная ассамблея Вьетнама, 2007). В 2003 году в Хошимине (Южный Вьетнам) были зарегистрированы первые случаи этой инфекции, которые были связаны с EVA 71 [136]. В 2008 году Министерство здравоохранения Вьетнама опубликовало первые национальные рекомендации по профилактике и борьбе с этой инфекцией (Решение № 1742/QD-BYT). Согласно приказу Министерства здравоохранения № 48 от 2010 года, в 2011 году во Вьетнаме была усовершенствована система отчетности об инфекционных заболеваниях. В 2012 году Национальная рекомендация по контролю и профилактике ЭВЭ была изменена с учетом новой системы отчетности (Решение Министерства здравоохранения № 581/QD-BYT от 2012 года). Согласно циркуляру Министерства здравоохранения № 54 от 2017 года, обо всех случаях заболевания у амбулаторных и стационарных пациентов необходимо сообщать в рамках системы отчетности.

Энтеровирусная экзантема является эндемичной инфекцией во Вьетнаме с высокой заболеваемостью в 32 800 случаев на 157 000 госпитализируемых в год, поскольку оно распространяется по всей стране, охватывая северные и центральные районы, высокогорные и южных регионы (Министерство здравоохранения Вьетнама, 2012-2022 годы). Южный Вьетнам наиболее подвержен заболеванию, более 60% от всех случаев в стране регистрируют именно там. С 2012 по 2022 год ЭВЭ неизменно входила в десятку наиболее опасных инфекционных заболеваний Вьетнама с точки зрения заболеваемости и смертности (Министерство здравоохранения Вьетнама). С 2012 по 2021 год в 20 южных провинциях Вьетнама был зарегистрирован 632 651 случай инфекции, в том числе 104 со смертельным исходом. Число пациентов с ЭВС варьировало от 31 119 до 108 692 случаев, в то время как число смертей от этой инфекции, достигало 41 случая. В 2012 году было зафиксировано наибольшее число случаев и смертельных исходов в период с 2012 по 2016 год, когда были регистрировали только стационарных пациентов, и с 2017 по 2021 год (таблица 11). Энтеровирусная экзантема регистрируется во всей стране, но самое высокое

бремя заболевания зафиксировано в южных провинциях Вьетнама как по числу случаев, в том числе тяжелых так и по показателю летальности. В провинции Донгтап, занимающей видное место среди 20 южных провинций Вьетнама, зафиксировано значительное повышение летальности: в 2012 году было зарегистрировано 11 смертельных исходов, в период с 2014 по 2021 год число смертельных исходов при вирусной пузырчатке полости рта и конечностей колебалось от нуля до двух процентов.

Одной из трех южных провинций с наибольшим числом случаев стала провинция Донгтап. В 2012 году там было зарегистрировано в общей сложности 6188 случаев с семью летальными исходами. Донгтап занимает второе место после провинции Аньцзян. В 2021 году число больных значительно сократилось до 2323 случаев, но на этом фоне число тяжелых заболеваний и смертей имела тенденцию к росту. Хошимин также является местом, где уровень заболеваемости остается одним из самых высоких. Уровень заболеваемости снижался в период 2012-2014 годов. Но в 2018 году произошел новый пик, когда во время вспышки было зарегистрировано 39 925 случаев. В течение последних лет уровни заболеваемости вновь снизились. Летальность в Хошимине также имела тенденцию к снижению: в 2012 году было зарегистрировано 5 смертей, в 2015 году смертельных исходов не было, в 2021 году зафиксировано два случая смерти.

Таблица 11 - Число случаев и смертельных исходов у больных вирусной пузырчаткой полости рта и конечностей в Южном Вьетнаме в 2012-2021 гг.

PROVINCE	2012		2013		2014		2015		2016		2017		2018		2019		2020		2021	
	HFMD	fatal	HFMD	fatal	HFMD	fatal	HFMD	fatal	HFMD	fatal										
An Giang	5497	11	1807	2	1974	1	1814	0	2318	0	3514	0	2917	1	3672	0	2396	0	1720	1
Baria-Vung Tau	7251	3	3361	1	4532	1	3010	0	1879	0	2946	0	2836	0	2228	0	1671	0	916	0
Bac Lieu	1564	1	972	1	1563	1	1339	0	1240	0	1669	0	2320	1	2076	0	1284	0	1069	0
Ben Tre	5987	1	4196	2	3994	0	2670	0	2392	0	3346	0	4291	1	2875	0	1422	0	727	0
Binh Duong	3471	0	1739	0	2343	0	1517	0	1071	0	4720	0	7444	2	5642	0	4514	1	1308	1
Binh Phuoc	1030	2	552	2	780	0	503	0	299	0	1455	0	1613	0	1183	0	827	0	272	0
Ca Mau	3674	0	1886	0	2935	0	2403	0	850	0	2141	0	3269	0	3655	0	1227	0	880	0
Can Tho	1868	2	936	1	1047	0	965	0	921	0	927	1	2376	0	2739	0	1600	0	1392	0
Dong Nai	7953	3	6020	1	5294	0	2886	0	2527	0	9174	0	12867	1	9926	0	8762	0	2947	0
Dong Thap	6188	7	3848	5	4525	1	3892	1	3603	0	6720	0	6920	1	6475	0	3052	0	2323	2
Hau Giang	1771	0	735	0	975	0	788	1	660	0	705	0	1021	0	966	0	438	0	335	1
Kien Giang	2920	0	1263	0	1860	2	1312	0	749	0	1642	0	2338	1	2440	1	937	0	785	3
Lam Dong	2903	0	1484	0	1931	0	1003	1	643	0	1049	0	1344	0	697	0	1299	0	381	0
Long An	4584	3	2957	1	3728	1	2679	0	2102	0	4513	0	5492	1	4087	0	3598	0	2104	1
Soc Trang	2310	0	1461	0	2526	0	1362	0	1297	0	1524	0	2249	1	2269	0	746	0	662	0
Tay Ninh	3514	0	1880	3	1528	0	1342	1	593	0	2158	0	2344	3	1808	0	823	0	509	0
Tien Giang	3904	1	2368	1	2525	0	1733	1	1351	0	2957	0	3285	2	3501	0	2437	0	1589	1
Tp HCM	10912	5	6596	1	7816	1	5304	0	4022	0	30825	0	39925	0	28851	0	18798	0	11433	0
Tra Vinh	1200	0	742	0	822	0	498	0	507	0	2431	0	1016	0	1918	0	609	0	402	0
Vinh Long	3296	2	3186	0	3291	0	2197	0	2145	0	2927	0	2825	1	3043	0	1116	0	1094	0
	81797	41	47989	21	55989	8	39217	5	31169	0	87343	1	108692	16	90051	1	57556	1	32848	10

В 2012-2021 годах заболеваемость среди детей в возрасте до 15 лет составляла от 363 до 1239 случаев на 100 000 детей (Таблица 12 и рисунок 12).

Таблица 12 - Распространенность вирусной пузырчатки полости рта и конечностей в 20 провинциях Южного Вьетнама в 2012-2021 гг.

YEAR	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021
An Giang	1052	345	377	373	483	740	622	792	518	371
Baria-Vung Tau	2889	1322	1760	1122	692	1076	1025	796	589	321
Bac Lieu	740	458	733	621	572	765	1057	941	578	479
Ben Tre	1957	1370	1302	861	770	1074	1373	918	453	231
Binh Duong	825	397	515	302	206	872	1306	945	720	207
Binh Phuoc	466	247	344	219	128	616	674	488	337	109
Ca Mau	1247	639	993	824	292	736	1125	1259	423	300
Can Tho	631	314	348	329	312	312	796	912	531	459
Dong Nai	1209	893	767	411	352	1256	1733	1312	1135	383
Dong Thap	1520	943	1108	985	916	1715	1773	1667	785	597
Hau Giang	954	395	522	437	367	393	572	543	247	189
Kien Giang	697	300	439	317	180	394	560	583	223	184
Lam Dong	970	490	631	327	208	337	428	221	408	119
Long An	1292	828	1038	678	526	1117	1346	992	864	502
Soc Trang	730	461	795	453	435	515	766	778	257	226
Tay Ninh	1327	705	569	489	214	771	831	635	287	177
Tien Giang	949	572	605	413	320	695	768	816	566	367
Tp HCM	586	347	403	263	195	1467	1858	1314	838	513
Tra Vinh	485	298	329	204	207	992	414	782	248	162
Vinh Long	1311	1263	1300	884	863	1178	1137	1225	449	438
<b>South VietNam</b>	<b>998</b>	<b>578</b>	<b>667</b>	<b>461</b>	<b>363</b>	<b>1007</b>	<b>1239</b>	<b>1015</b>	<b>641</b>	<b>365</b>

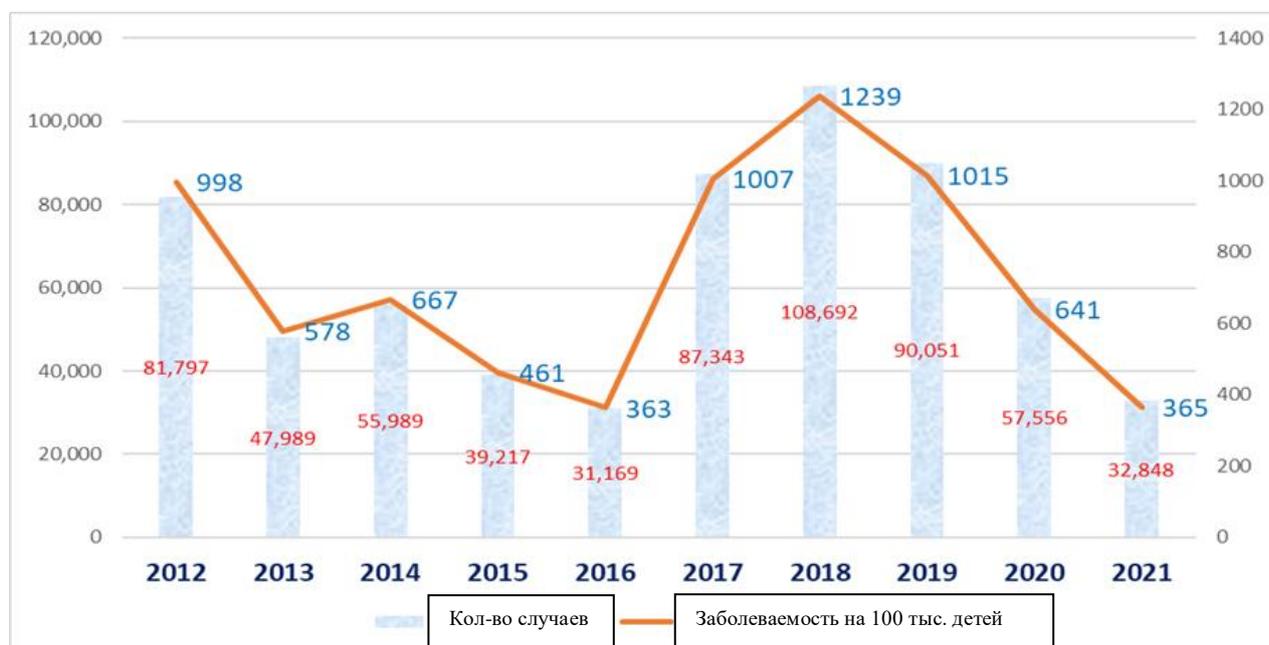


Рисунок 12 - Число случаев и показатели заболеваемости на 100 000 детей в возрасте до 15 лет в 20 провинциях Южного Вьетнама в 2012-2021 годах

Согласно данным надзора за энтеровирусной экзантемой, с 2012 по 2016 год самой горячей точкой по заболеваемости была провинция Бариа Вунгтау. Среди 20 провинций в Донгтап с 2016 года наблюдалась самое большое число случаев инфекции. В 2018 году в Хошимине, Бинь Зьонг, Донг Най и Лонг Ан был высокий уровень заболеваемости. Все эти провинции имеют многочисленные промышленные зоны и очень высокую плотность населения (рис. 13 и 14). Это свидетельствовало о том, что этиологические агенты энтеровирусной экзантемы, циркулировали по территории всего Южного Вьетнама.

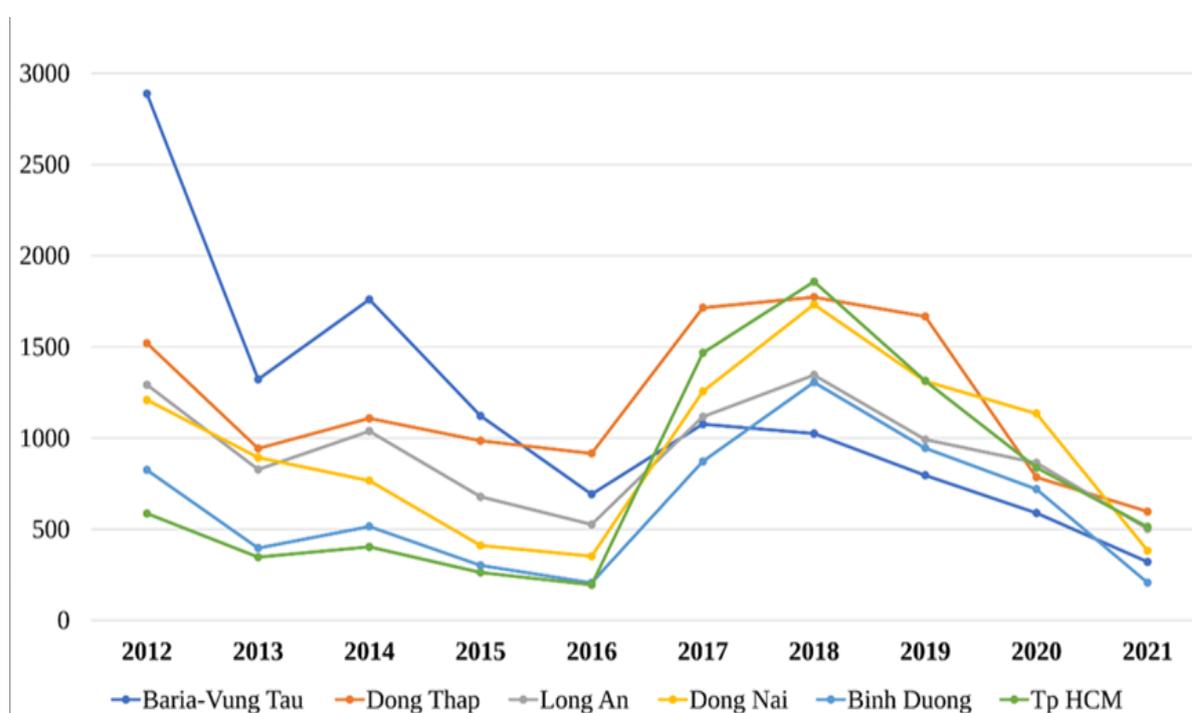


Рисунок 13 - Динамика случаев вирусной пузырчатки рта и конечностей у детей до 15 лет в некоторых провинциях Южного Вьетнама в 2012-2021 гг.

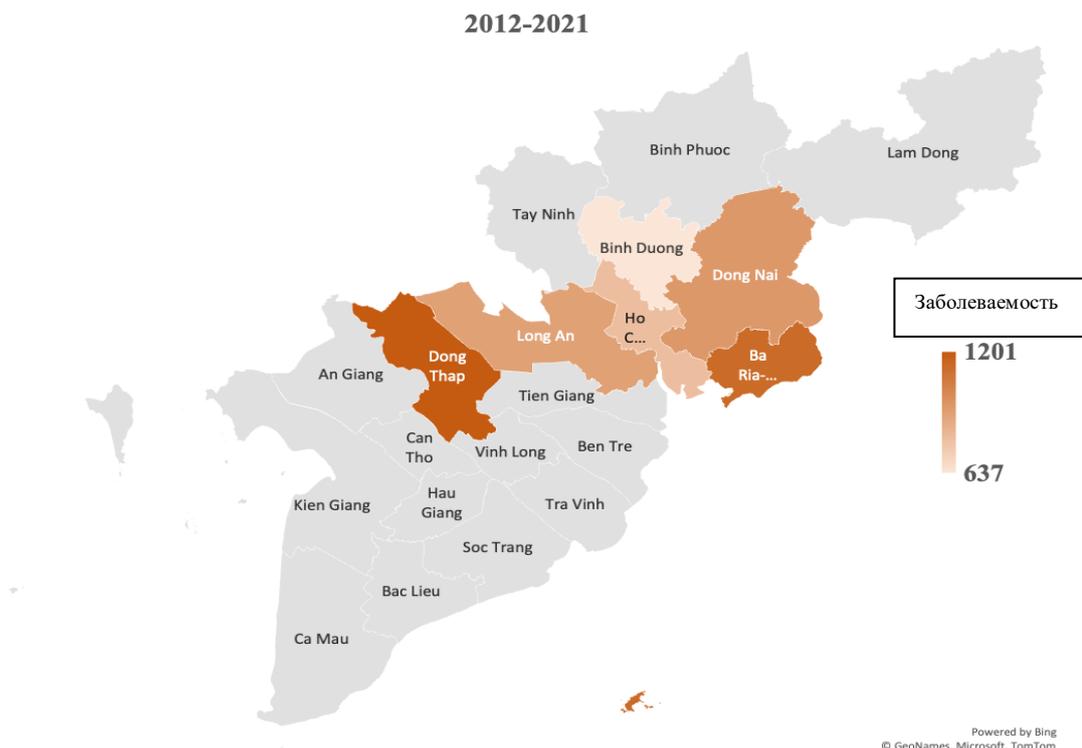


Рисунок 14 - Шесть провинций Южного Вьетнама с наибольшим числом случаев энтеровирусной экзантемы среди детей в возрасте до 15 лет в 2012-2021 гг.

В течение 10 лет в шести "горячих" точках Южного Вьетнама – провинциях Бариа-Вунг Тао, Донг Тап, Хошимин, Бин Донг, Донгнай и Лонг Ан с высокой заболеваемостью - процент случаев ЭВС ежегодно составлял от 49 до 70% от общего числа случаев ЭВС в Южном Вьетнаме (рисунок 15).

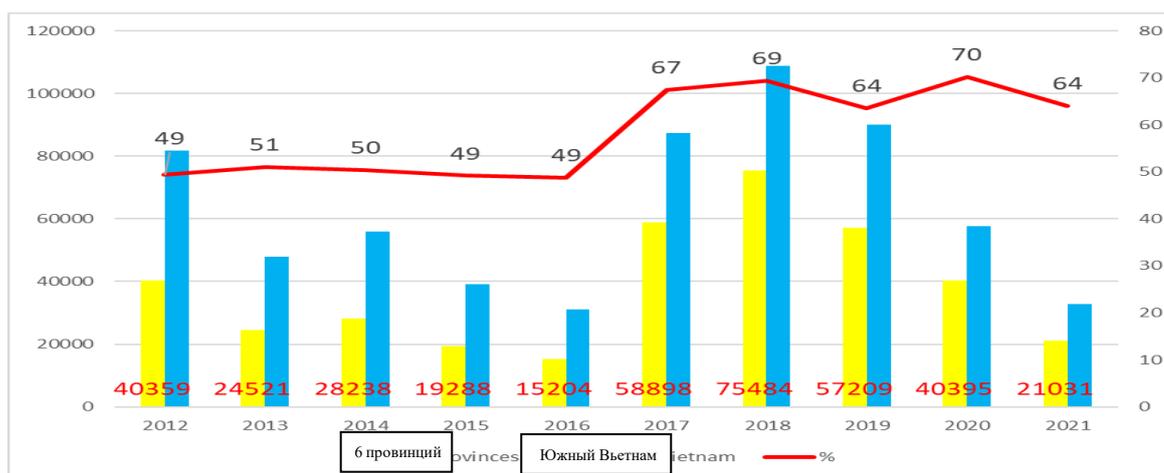


Рисунок 15 - Процент случаев вирусной пузырчатки рта и конечностей в шести провинциях от числа случаев энтеровирусной инфекции в Южном Вьетнаме в 2012-2021 гг.

Таким образом, в 2012 году в двух провинциях Бариа-Вунг Тао и Бенче было зафиксировано наибольшее число случаев среди детей до 15 лет. В период 2012-2016 годов это число постепенно снижалось, прежде чем вновь увеличиться во время вспышки вирусной пузырчатки рта и конечностей в 2018 году, и в последние годы имело тенденцию к постепенному снижению. В 2021 году в этих провинциях был зафиксирован 321 и 231 случай заболевания, соответственно. Провинция Донгтап занимает третье место по количеству случаев заболевания в 2012 году (1520 случаев), уступая провинциям Бариа-Вунг Тао и Бенче, где наблюдается та же эпидемическая тенденция, что и в двух других провинциях. В последующие годы (до 2021г.) число случаев вирусной пузырчатки рта и конечностей среди детей в возрасте до 15 лет по-прежнему оставалось высоким во всех 20 провинциях.

### **3.2.2 Этиологические агенты вирусной пузырчатки полости рта и конечностей в Южном Вьетнаме в 2012-2021 годах**

В период с 2012 по 2021 год в Южном Вьетнаме у детей с первичным диагнозом вирусная пузырчатка полости рта и конечностей было отобрано 7976 проб фекалий или мазков из ротоглотки. Заболевание у детей могло протекать с осложнениями или без таковых. Часть детей была госпитализирована в больницы Южного Вьетнама в соответствии с программой дозорного эпидемиологического надзора за энтеровирусной экзантемой. При вирусологическом исследовании было выявлено 3700 неполиомиелитных энтеровирусов, 3611 из которых было идентифицировано. Эти энтеровирусы принадлежали к 15 различным типам (таблица 13).

Таблица 13 - Типы энтеровирусов у больных вирусной пузырчаткой полости рта и конечностей в Южном Вьетнаме в 2012-2021 годах

Годы	Число вирусов	Типы энтеровирусов
2012	243	212EVA71, 10CVA6, 3CVA10, 15CVA16, 3NPEV
2013	191	174EVA71, 2CVA6, 3CVA10, 6CVA16, 1CVA24, 5NPEV
2014	137	90EVA71, 1CVA2, 1CVA5, 12CVA6, 19CVA10, 10CVA16, 1CVB3, 1ECHO16, 2NPEV
2015	252	157EVA71, 4CVA2, 4CVA4, 3CVA5, 37CVA6, 3CVA8, 2CVA9, 29CVA16, 1CVB4, 2E16, 10NPEV
2016	423	320EVA71, 2CVA2, 1CVA4, 3CVA5, 2CVA6, 7CVA8, 69CVA10, 9CVA16, 1CVB3, 1E18, 8NPEV
2017	578	250EVA71, 6CVA2, 9CVA4, 11CVA5, 154CVA6, 13CVA8, 6CVA10, 106CVA16, 1CVB3, 5CVB4, 17NPEV
2018	550	196EVA71, 31CVA2, 18CVA4, 17CVA5, 105CVA6, 8CVA8, 154CVA10, 4CVA16, 17NPEV
2019	560	80EVA71, 39CVA2, 15CVA4, 15CVA5, 247CVA6, 16CVA8, 53CVA10, 75CVA16, 3CVB4, 2E18, 15NPEV
2020	419	39EVA71, 4CVA2, 35CVA4, 235CVA6, 39CVA8, 35CVA10, 1CVA16, 2CVB3, 28CVB4, 1NPEV
2021	347	253EVA71, 3CVA2, 5CVA4, 11CVA5, 26CVA6, 4CVA8, 2CVA9, 17CVA10, 4CVB3, 4CVB4, 7E16, 11NPEV
Всего	3700/ 3611	1771EVA71, 90CVA2, 87CVA4, 61CVA5, 830CVA6, 90CVA8, 4CVA9, 359CVA10, 255CVA16, 1CVA24, 9CVB3, 36CVB4, 5CVB5, 10ECHO16, 3ECHO18, 89NPEV.

Среди идентифицированных вирусов 1,8% энтеровирусов (67 штаммов) были отнесены к виду В, только один вирус CVA24 принадлежал к виду С. Большинство выявленных вирусов – 3,543 или 98,2% штаммов были классифицированы как энтеровирусы вида А (таблица 14 и рисунок 16).

Таблица 14 - Энтеровирусы видов А, В и С у больных вирусной пузырчаткой полости рта и конечностей в Южном Вьетнаме в 2012-2021 годах

Виды	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	Всего
Вид А	240	185	133	237	413	555	533	540	388	319	3543
Вид В			2	5	2	6		5	30	17	67
Вид С		1									1
Всего	240	186	135	242	415	561	533	545	418	336	3611

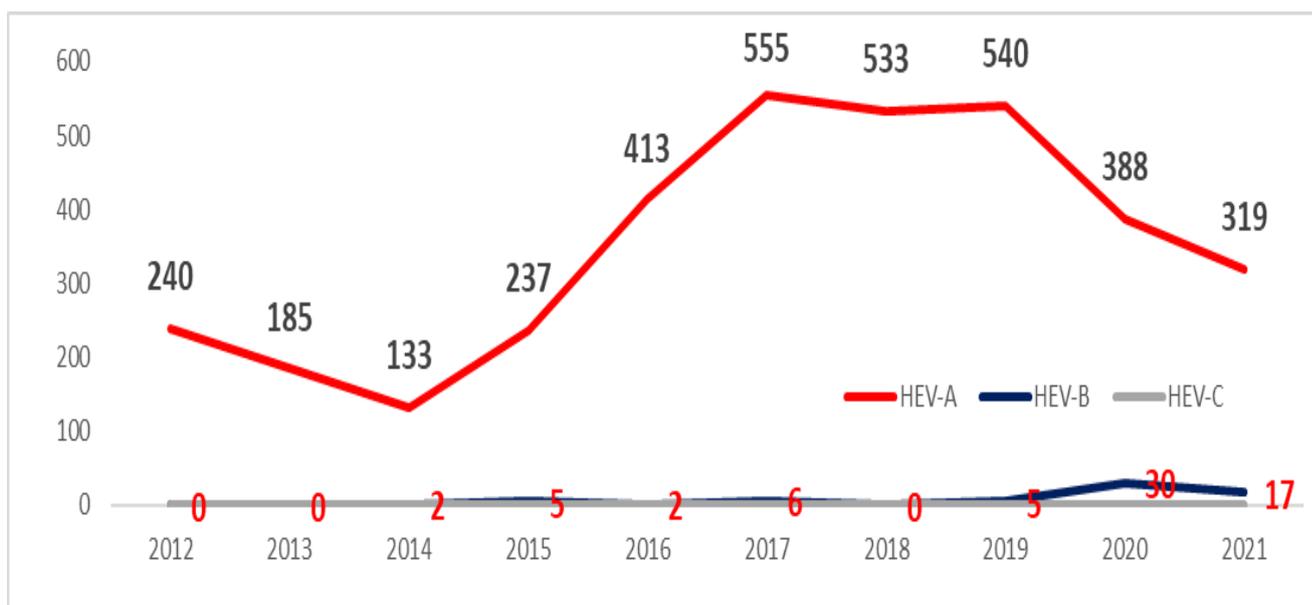


Рисунок 16 - Выявление энтеровирусов видов А, В и С у больных в 2012-2021 гг.

На рисунке 16 показана динамика обнаружения неполиомиелитных энтеровирусов разных видов у больных вирусной пузырьчаткой полости рта и конечностей в течение 12 лет. Число выделенных вирусов увеличилось в 2016 году и было высоким с 2017 по 2019 год, затем это число начало снижаться.

Половина идентифицированных энтеровирусов вида А (1771) были представлены вирусами энтеровирусами типа 71, а другая половина (1772) энтеровирусов вида А была представлена вирусами Коксаки А. Среди них были энтеровирусы семи типов с преобладанием вирусов трех типов Коксаки А6, А10 и А16, их процент составил 81,5% от всех выделенных вирусов Коксаки А. На вирусы СVA6 пришлось 830 штаммов или 47%, на вирусы Коксаки А10 – 359 штаммов или 20%, на вирусы Коксаки А16 – 255 штаммов или 14% (рисунок 17).

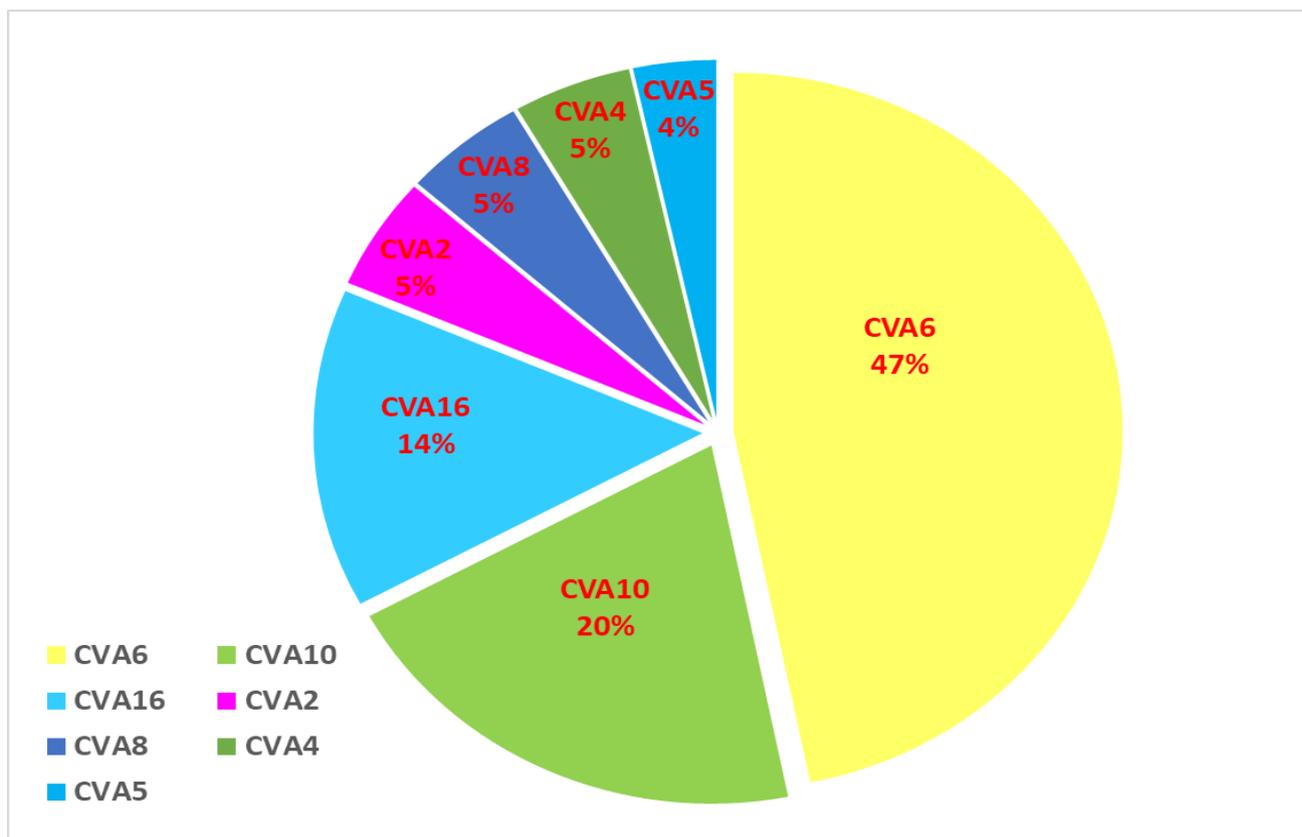


Рисунок 17 - Доли типов энтеровирусов вида А (без ЭВ71) у больных в Южном Вьетнаме в 2012-2021 гг.

Энтеровирусы вида В отсутствовали в 2012, 2013 и 2018 годах. С 2014 по 2017 год и в 2019 году они появлялись эпизодически (от двух до шести выявленных вирусов в год). Но в 2020 году количество выявленных энтеровирусов вида В достигло 30 штаммов (два вируса Коксаки В3 и 28 вирусов Коксаки В4), в 2021 году число вирусов Коксаки В составило 17 (рисунок 18).

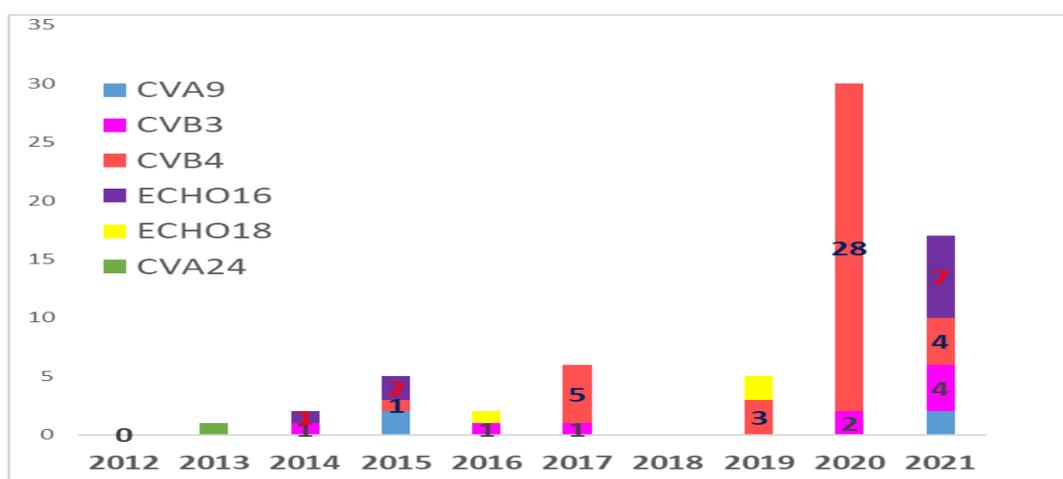


Рисунок 18 - Выявление энтеровирусов вида В у больных вирусной пузырчаткой полости рта и конечностей в Южном Вьетнаме в 2012-2021 гг.

Пропорция этиологических агентов – EVA 71, вирусы Коксаки А, вирусы Коксаки В и вирусы ЕСНО менялись на протяжении 12 лет (рисунок 14). EVA 71, который лидировал в 2012-2016 годах уступил место другим энтеровирусам вида А – вирусам Коксаки А, которая доминировали с 2017 по 2020 год. В 2021 году EVA 71 вернул лидирующую позиции в (рисунок 19).

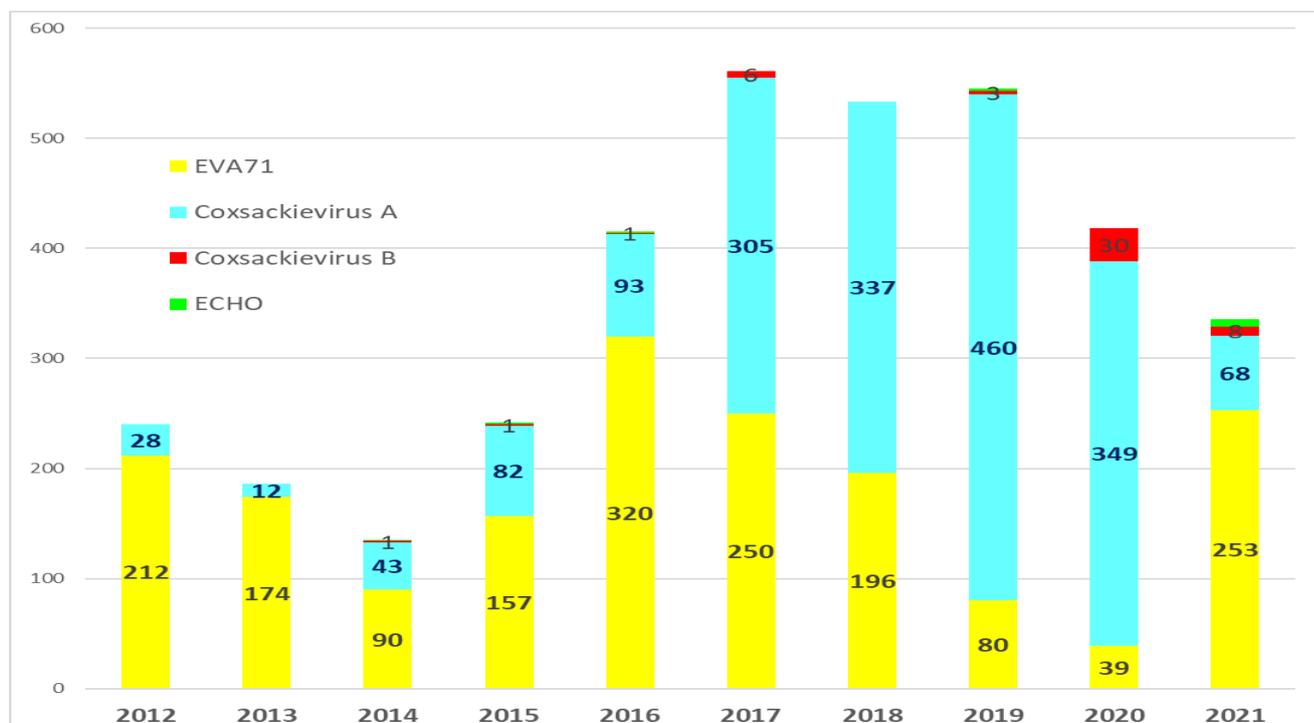


Рисунок 19 - Динамика выявления вирусов вида А у больных вирусной пузырчаткой полости рта и конечностей в Южном Вьетнаме в 2012-2021 годах

Энтеровирус EVA71, который лидировал в 2012-2016 годах в 2017 году уступил место другим энтеровирусам вида А, главным образом, вирусам Коксаки А6, Коксаки А10 и Коксаки А16, которые доминировали с 2017 по 2020 год. В 2021 году энтеровирус EVA71 вернул лидирующую позицию.

Анализ случаев вирусной пузырчатки полости рта и конечностей по тяжести течения показал высокий процент осложненных форм инфекции с поражением различных органов и систем. Доля клинически тяжелых заболеваний (89,3%) достоверно превышала ( $p < 0,001$ ) процент (10,7%) клинически легких случаев заболевания с папуловезикулярной сыпью на кистях, стопах и слизистой оболочке полости рта, сопровождающейся нормальной или

субфебрильной температурой. В случаях осложненного течения, в дополнение к типичной сыпи, у пациентов наблюдали высокую температуру и многочисленные неврологические или сердечно-сосудистые проявления, такие как мышечные судороги, спутанность сознания, менингит или миокардит. У некоторых пациентов с максимальной тяжестью заболевания были отмечены серьезные осложнения со стороны нервной, сердечно-сосудистой и дыхательной систем. Среди пациентов с осложненным течением этой формы инфекции было зарегистрировано 33 (0,9%) летальных случая. Доля детей в возрасте до трех лет составила 92,8% от общего числа детей с диагнозом энтеровирусная экзантема полости рта и конечностей достоверно превышала ( $p < 0,001$ ) долю детей в возрасте от трех до четырнадцати лет (7,2%). Аналогично, процент больных мальчиков (61,3%) достоверно превысил ( $p < 0,05$ ) пропорцию для девочек – 38,7% (таблица 15).

Таблица 15 - Клиническая картина, пола и возраст больных в 2012-2021 гг.

Год	Число больных	Степень тяжести			Пол		Возраст		
		Легкая форма	Тяжелая форма	Летальные исходы	Жен.	Муж.	0-12 мес.	3-36 мес.	-14 лет
2012	243	12	211	20	82	161	84	146	13
2013	191	2	181	8	78	113	45	135	11
2014	137	24	113	0	62	75	18	96	23
2015	252	36	216	0	106	146	37	185	30
2016	423	55	368	0	148	275	123	262	38
2017	578	51	527	0	221	357	119	438	21
2018	550	32	516	2	218	332	113	414	23
2019	560	127	433	0	219	341	129	364	67
2020	419	37	382	0	167	252	100	308	11
2021	347	18	326	3	130	217	63	256	28
Всего	3700	394 (10.7%)	3273 (88.4%)	33 (0,9%)	1431 (38.7%)	2269 (61.3%)	831 (22.4)	2604 (70.4%)	265(7.2%)

Вирусная пузырчатка полости рта и конечностей является преобладающей клинической формой энтеровирусной инфекции в Южном Вьетнаме. Во Вьетнаме за прошедшие годы в руководящие принципы по диагностике, лечению, мониторингу и профилактике этого заболевания было внесено много изменений, но в последние годы тенденция роста заболеваемости сохраняется.

Энтеровирусная инфекция является серьезной проблемой Вьетнама и его общественного здравоохранения из-за активной циркуляции энтеровирусов. В силу высокой заболеваемости и осложнений формы инфекции, которая является самой распространенной инфекцией в Юго-Восточной Азии, экономическое и социальное бремя энтеровирусной инфекции для Южного Вьетнама очень велико.

### **3.2.3 Этиологические агенты энтеровирусного менингита или менингоэнцефалита**

По данным системы надзора Вьетнама, Национальная лаборатория по диагностике полиомиелита и энтеровирусной инфекции в Южном Вьетнаме постоянно и эффективно исследует биологические материалы от детей с такими тяжелыми клиническими формами, как энтеровирусный менингит и энцефалит.

В период с 2012 по 2021 год были собраны образцы фекалий от госпитализированных детей с диагнозами энтеровирусный менингит или энцефалит из 20 провинций южных провинций Вьетнама, которые были исследованы вирусологическими методами. Среди 228 выявленных штаммов были идентифицированы энтеровирусы 24 типов. Среди этих вирусов преобладали представители двух видов энтеровирусов А и В, энтеровирусы вида А составили 57,0%, а энтеровирусы вида В составили 42,5% выявленных вирусов. В 2018 году также был выявлен только один энтеровирус D68 (0,5%), относящийся к виду D энтеровирусов (таблицы 16 и 17).

Таблица 16 - Этиологические агенты случаев энтеровирусного менингита или энцефалита в 2012-2021 годах

Годы	Число штаммов	Типы энтеровирусов
2012	30	18EVA71, 2CVA12, 2CVB2, 1CVB3, 4CVB4, 1E9, 2NPEV
2013	20	15EVA71, 2CVA12, 1CVB1, 1CVB3, 1NPEV
2014	26	16EVA71, 1CVA9, 1CVA12, 4CVB3, 1CVB5, 1E9, 1E11, 1NPEV
2015	40	10EVA71, 1CVA2, 1CVA8, 1CVA9, 3CVB3, 8CVB4, 3CVB5, 2E6, 2E9, 3E11, 1E25, 3E30, 2NPEV
2016	24	15EVA71, 1CVA2, 2CVB2, 2CVB3, 1CVB4, 1CVB5, 2NPEV
2017	22	3EVA71, 1CVA5, 3CVA6, 1CVA8, 2CVA16, 5CVB4, 1CVB5, 3E5, 1E9, 1E21, 1NPEV
2018	28	6EVA71, 1EVD68, 3CVA2, 3CVA6, 2CVB1, 1CVB2, 3CVB5, 2E6, 1E9, 4E11, 2NPEV
2019	28	4EVA71, 1CVA2, 2CVA6, 1CVA16, 1CVB1, 2CVB5, 1E3, 3E9, 7E11, 4E25, 2NPEV
2020	11	4EVA71, 2CVA6, 1CVA8, 1CVB3, 1E30, 2NPEV
2021	15	5EVA71, 2CVA4, 3CVA6, 1CVA8, 1CVB1, 1CVB4, 1E21, 1NPEV
Всего	244/ 228	96EVA71, 6CVA2, 2CVA4, 1CVA5, 13CVA6, 4CVA8, 5CVA12, 3CVA12, 2CVA9, 5CVB1, 5CVB2, 12CVB3, 19CVB4, 11CVB5, 1E3, 3E5, 4E6, 9E9, 15E11, 2E21, 5E25, 4E30, 1EVD68, 16NPEV.

Таблица 17 - Штаммы разных видов энтеровирусов у больных с менингитами и энцефалитами

Виды	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	Всего
Вид А	20	17	17	12	16	10	12	8	7	11	130
Вид В	8	2	8	26	6	11	13	18	2	3	97
Вид D							1				1
Всего	28	19	25	38	22	21	26	26	9	14	228

За время проведения исследования частота обнаружения энтеровирусов вида А и вида В от больных с диагнозами менингит или энцефалит в разные годы не была одинаковой. В 2012-2014, 2016 и 2021 годах наблюдалось явное

преобладание среди выделенных и идентифицированных энтеровирусов вида А, а в 2015 и 2019 годах преобладали энтеровирусы вида В (рис. 20, 21).

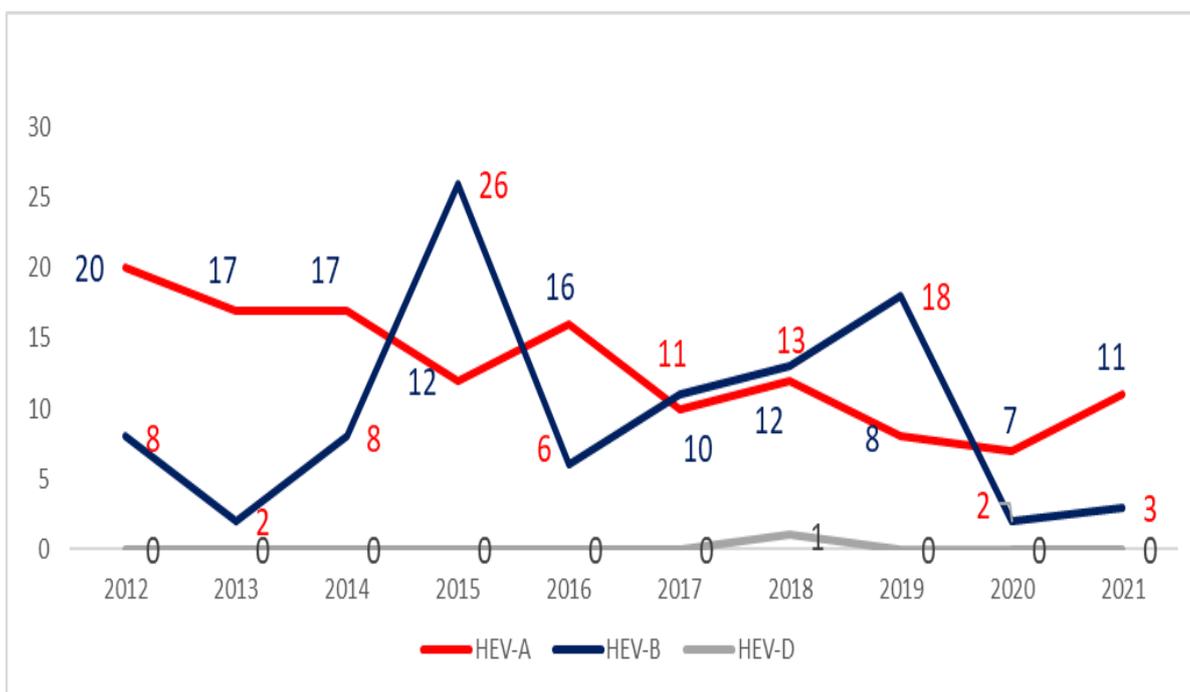


Рисунок 20 - Число вирусов, принадлежащих к видам А, В, С, выделенных от больных менингитом и менингоэнцефалитом в 2012-2021 гг.

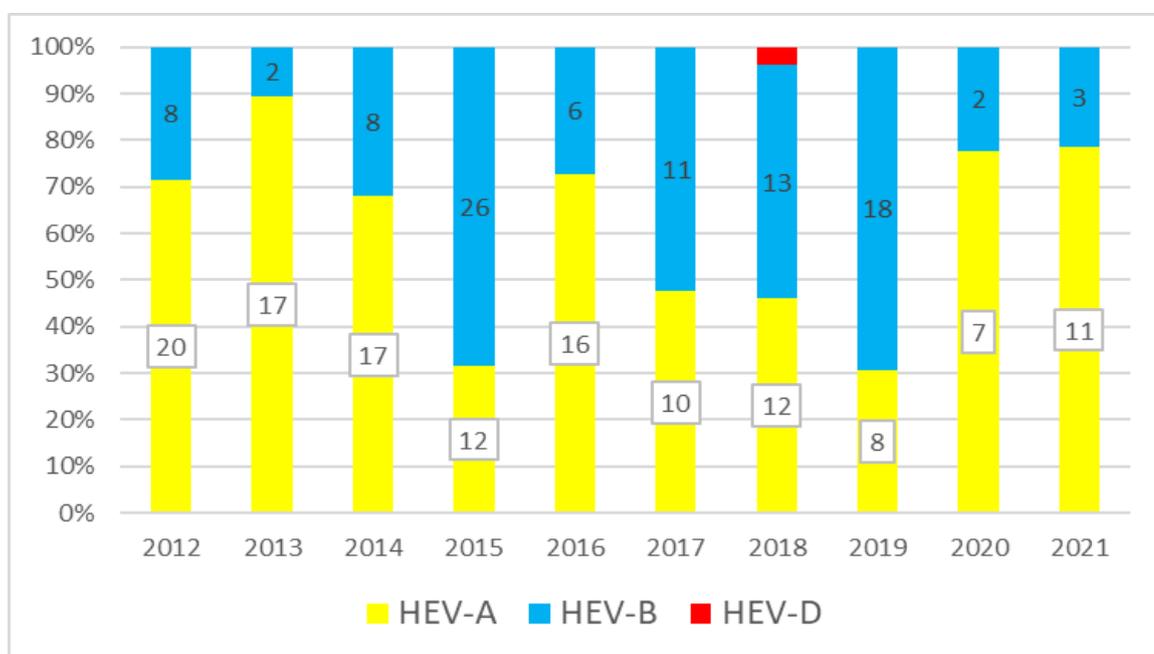


Рисунок 21 - Частота выявления энтеровирусов, относящихся к их разным видам, от больных с диагнозом менингит и энцефалит в 2012-2021 гг.

Более высокая доля энтеровирусов вида А у больных с такой клинической формой ЭВИ связана с необычайно широкой циркуляцией в Южном Вьетнаме энтеровируса 71, который и был явным лидером среди всех вирусов вида А, 96 штаммов вируса этого типа составили 74%. Среди вирусов вида А второе место занял вирус Коксаки А6 (10% от 130 вирусов вида А). Доля оставшихся вирусов Коксаки А шести типов (Коксаки А2, 4, 5, 8, 12 и 16) была равна 16% от общего числа энтеровирусов вида А. Все они, как и энтеровирус 71 являются типичными возбудителями энтеровирусной инфекции в форме вирусной пузырчатки полости рта и конечностей (рисунок 22).

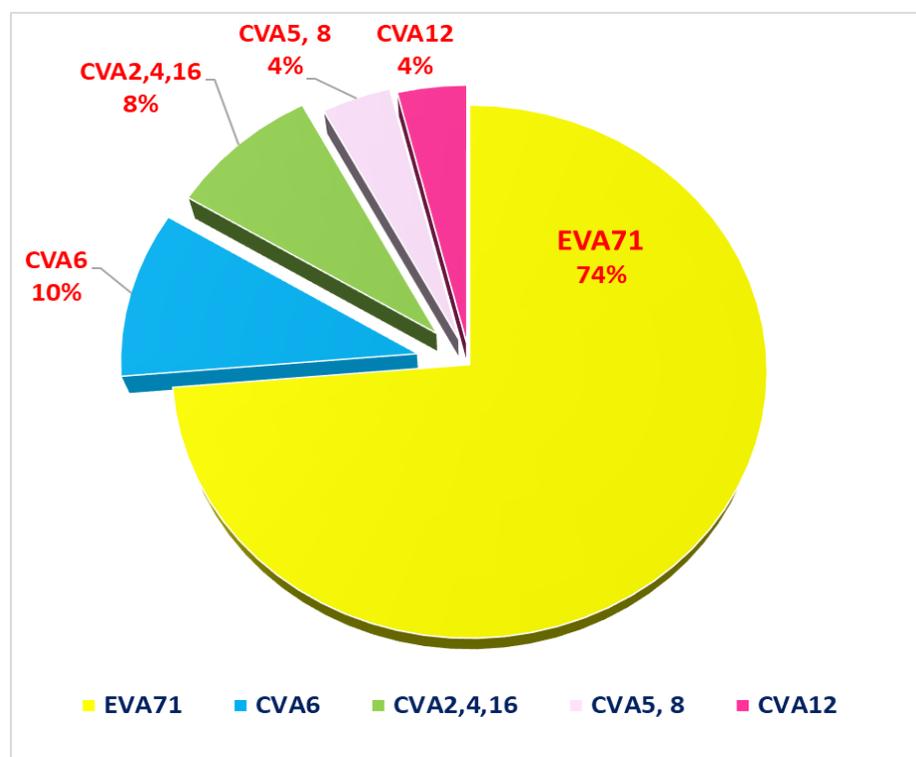


Рисунок 22 - Типы энтеровирусов вида А, выделенных от больных менингитом или менингоэнцефалитом в Южном Вьетнаме в 2012-2021 гг.

Для энтеровирусов, принадлежащих виду В, разнообразие (14 типов) больше, чем для вирусов вида А (рисунок 23). Вирусы ЕСНО составили 42,5% от энтеровирусов, выявленных у больных энтеровирусным менингитом или менингоэнцефалитом. Их доля была выше, чем энтеровирусов вида А (без учета EVA 71). Среди энтеровирусов вида В доля вирусов Коксаки В 1, В2, В3, В4, и

В5 была самой большой – 53,6% (52 вируса). Среди вирусов Коксаки В наибольшая доля приходится на вирус Коксаки В4 (20%), за ним следуют вирус Коксаки В3 (12%), Коксаки В5 (11%) и вирусы Коксаки В1 и В2, которые в сумме составили 10%. Доля вирусов ЕСНО составила 44,4% (43 вируса) и среди них лидерство принадлежало вирусу ЕСНО 11 (15 вирусов). Большинство вирусов Коксаки В, также как, вирус ЕСНО 11, наряду с вирусами ЕСНО 6, ЕСНО 9 и ЕСНО 30 известны как типичные этиологические агенты энтеровирусного менингита и менингоэнцефалита.

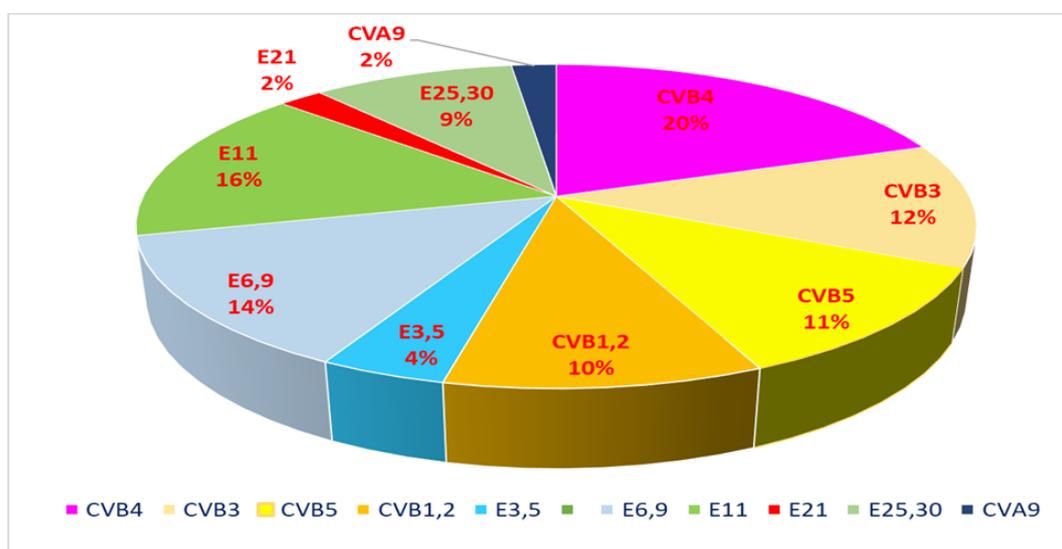


Рисунок 23 - Типы энтеровирусов вида В, выделенных от больных менингитом или менингоэнцефалитом в Южном Вьетнаме в 2012-2021 гг.

Все энтеровирусы (21 тип), выявленные у больных с диагнозами менингит (без вируса Коксаки А9, который относится к виду В) можно разделить на четыре условные группы (таблица 18). EVA 71 – 42,7% (96 из 225 штаммов) следует рассматривать отдельно в связи с несопоставимо широкой и активной циркуляцией EVA 71 в Юго-Восточной Азии. И еще три группы: вирусы Коксаки А – 15,1% (34 из 225 штаммов), вирусы Коксаки В – 23,1% (52 из 225 штаммов) и вирусы ЕСНО – 19,1% (43 из 225 штаммов).

Таблица 18 - Энтеновирусы, выделенные от больных менингитом или менингоэнцефалитом в Южном Вьетнаме в 2012-2021 годах

Год	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	Всего
EVA71	18	15	16	10	15	3	6	4	4	5	96
Коксаки А	2	2	1	2	1	7	6	4	3	6	34
Коксаки В	7	2	5	14	6	6	6	3	1	2	52
ЕСНО	1		2	11		5	7	15	1	1	43

Значение этих групп, а также их доли варьировали с годами (рис. 24). EVA71 доминировал в 2012-2014 годах и 2016 (64-79%, и 68%). Вирусы Коксаки В, объединенные с вирусами ЕСНО лидировали в 2015 (68%) и 2019 (69%) годах, их доля также была высокой в 2017 (52,4%) и 2018 (52%) годах. Эти данные отражают роль вирусов Коксаки В1-5 и вирусов ЕСНО как типичных этиологических агентов энтеровирусного менингита/менингоэнцефалита.

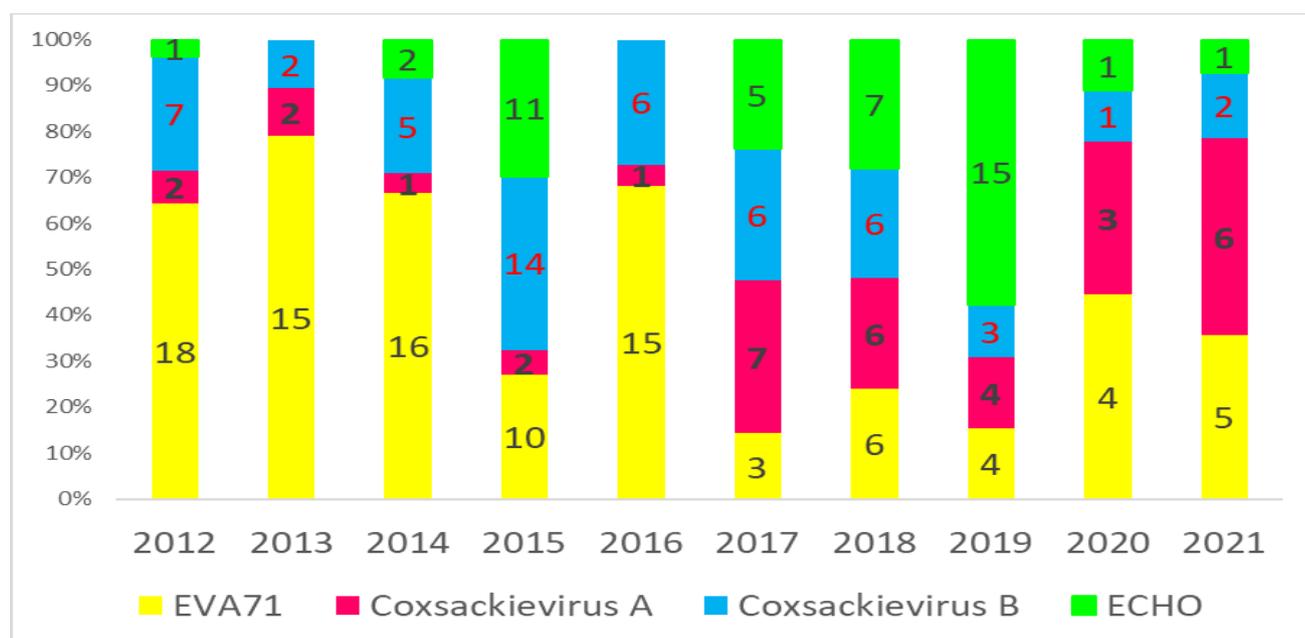


Рисунок 24 - Доли условных групп энтеровирусов, изолированных от больных менингитом/менингоэнцефалитом в Южном Вьетнаме в 2012-2021гг.

Большинству детей с энтеровирусным менингитом или энцефалитом (92,2%) было меньше трех лет, и только 7,8% детей были старше 3 лет. Среди

всех 244 детей доля мальчиков (68%) достоверно превышала ( $p < 0,05$ ) долю девочек (32%). Процент летальных исходов составил 12,7% (таблица 19).

Таблица 19 - Пол и возраст детей с диагнозом энтеровирусный менингит и энцефалит

Год	Менингит/ менингоэн- цефалит	Случаи с летальным исходом (%)	Пол		Возраст		
			Жен.	Муж.	0-12 мес.	13-36 мес.	3-14 лет
2012	30	9 (30%)	12	18	12	18	0
2013	20	6 (30%)	3	17	6	12	2
2014	26	3 (12%)	9	17	5	20	1
2015	40	6 (15%)	14	26	11	27	2
2016	24	0	6	18	0	23	1
2017	22	1 (5%)	4	18	12	7	3
2018	28	4 (14%)	12	16	7	18	3
2019	28	0	8	20	4	19	5
2020	11	1 (9%)	4	7	3	6	2
2021	15	1 (7%)	6	9	4	11	0
Всего	244	31 (12.7%)	78 (32%)	166 (68%)	64 (26.2%)	161 (66%)	19 (7.8%)

### **3.3 РОЛЬ ЭНТЕРОВИРУСА EVA71 КАК ЭТИОЛОГИЧЕСКОГО АГЕНТА ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В ЮЖНОМ ВЬЕТНАМЕ**

Вярусная пузырчатка полости рта и конечностей, связанная с энтеровирусом EVA71 часто приводит к серьезным и даже смертельным осложнениям (неврологическим и сердечно-легочным) и может манифестироваться острым вялым параличом, энтеровирусным менингитом и даже отеком легких. За последние 25 лет в Юго-Восточной Азии имели место циклические вспышки, вирусной пузырчатки полости рта и конечностей, связанные с EVA71: в Малайзии (1997г.), Тайване (1998г.), Китае (2008г.) и Вьетнаме (2011г.). Эти вспышки привели к гибели сотен и тысяч людей, преимущественно младенцев и детей младшего возраста.

### **3.3.1 Характеристика инфекционных заболеваний, ассоциированных с энтеровирусом EVA71, в Южном Вьетнаме в течение 2010-2021 годов**

В 2003 году в Хошимине, южной провинции Вьетнама, был зарегистрирован первый случай заболевания, который был связан с энтеровирусом EVA71. Первая вспышка энтеровирусной экзантемы полости рта и конечностей была зарегистрирована в 2005 году, причем основными возбудителями были Коксаки А16 и Энтеровирус EVA71, но только в случаях, связанных с EVA71 отмечали неврологические осложнения [136]. С тех пор наблюдается все большее число тяжелых случаев вирусной пузырчатки полости рта и конечностей. В 2008 году это заболевание, стало подлежать регистрации, и в период с 2008 по 2010 год ежегодно регистрировали не менее 10 000 случаев. В 2011-2012 годах наблюдали резкое увеличение числа госпитализированных и летальных случаев: более 200 000 детей были госпитализированы и более 200 больных умерли [67].

Для оценки роли энтеровируса EVA71 как этиологического агента различных инфекционных заболеваний в Южном Вьетнаме важно учесть следующие данные. Число штаммов вируса EVA71, выделенных от обследованных больных с диагнозом острый вялый паралич (2,143) составило 67 штаммов (3,1%). Из проб 244 пациентов с энтеровирусным менингитом и/или менингоэнцефалитом было выделено 97 вирусов EVA71, что составило 39,7%. Самую тесную связь EVA71 имел со случаями вирусной пузырчатки полости рта и конечностей, при которых доля обнаружения EVA71 была максимальной – 47,9% выделенных энтеровирусов. К тому же еще 1772 вируса также принадлежали к виду А, как и EVA71 (табл. 20).

Важно отметить, что процент штаммов вируса EVA71 среди идентифицированных энтеровирусов вида А, был высоким у больных со всеми изученными формами инфекции.

Таблица 20 - Выделение штаммов EVA71 от пациентов с различными клиническими формами энтеровирусной инфекции в Южном Вьетнаме

Год	ОВП (239 ЭВ)		Менингит/ энцефалит (228 ЭВ)		Вирусная пузырчатка полости рта и конечностей (3611 ЭВ)	
	EVA71	другие ЭВ	EVA 71	другие ЭВ	EVA 71	другие ЭВ (виды А+В+С)
2010	1	10				
2011	3	15				
2012	23	11	18	10	212	28
2013	5	17	15	4	174	12
2014	2	8	16	9	90	45
2015	7	9	10	28	157	86
2016	0	14	15	7	320	95
2017	0	33	3	18	250	312
2018	8	14	6	20	196	337
2019	1	14	4	22	80	465
2020	2	20	4	5	39	379
2021	15	7	5	9	253	84
Всего	67 (28%)	172 (72%)	96 (42%)	132 (58%)	1771(49%)	1840 (51%)

За 10 лет было зафиксировано три пика интенсивной циркуляции штаммов энтеровируса EVA71 (2012, 2016, 2021 годы), когда заболеваемость вирусной пузырчаткой полости рта и конечностей была очень высокой. Для случаев менингита/энцефалита результаты были нечеткими. Случаи с диагнозами синдром острого вялого паралича фиксировали на протяжении всего периода наблюдения (рис. 25). Среди клинических форм энтеровирусной инфекции, связанной с EVA71 в Южном Вьетнаме, доля смертельных случаев не была одинаковой. Для заболеваний энтеровирусным менингитом или менингоэнцефалитом эта доля была наибольшей, составив 21,9% летальных случаев. При случаях вирусной пузырчатки полости рта и конечностей доля летальных исходов составила 1,8% (таблица 21).

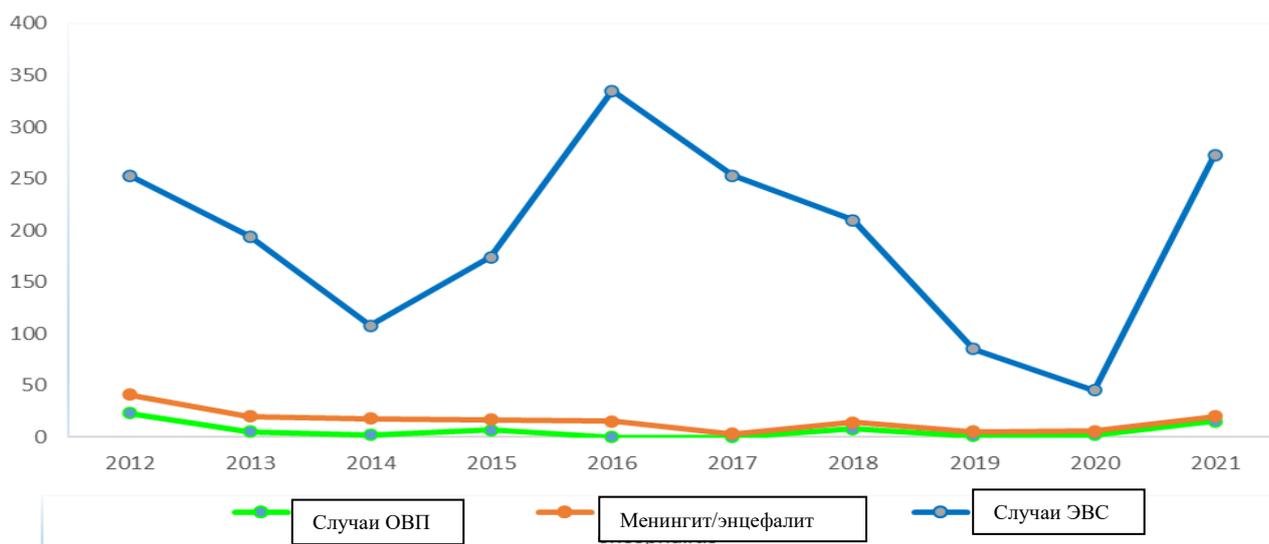


Рисунок 25 - Связанные с EVA71 случаи различных клинических форм энтеровирусной инфекции и острого вялого паралича в 2012-2021 гг.

Таблица 21 - Штаммы вируса EVA71, выделенные от пациентов с различными инфекционными заболеваниями в 2010-2021 гг.

Год	ОВП	Случаи менингита или энцефалита			Случаи вирусной пузырчатки полости рта и конечностей			
		Хороший исход	Летал. исход	Всего	Легкий	Тяжелый	Летал. исход	Всего
2010	1	Нет данных						
2011	3	Нет данных						
2012	23	11	7	18	10	183	19	212
2013	5	10	5	15	2	164	8	174
2014	2	13	3	16	14	76	0	90
2015	7	9	1	10	21	136	0	157
2016	0	15	0	15	0	320	0	320
2017	0	3	0	3	0	250	0	250
2018	8	2	4	6	11	183	2	196
2019	1	4	0	4	18	62	0	80
2020	2	3	1	4	0	39	0	39
2021	15	5	0	5	15	235	3	253
<b>Всего</b>	<b>67</b>	<b>75</b>	<b>21</b>	<b>96</b>	<b>91</b>	<b>1648</b>	<b>32</b>	<b>1771</b>

Среди 1934 случаев различных клинических форм, связанных с EVA71, доля младенцев в возрасте до 6 месяцев составила 2%, доля детей в возрасте от 7 до 12 месяцев составила 18%, дети в возрасте от 13 до 36 месяцев составили 72% от общего числа пациентов, и 10% пациентов составили дети от трех до четырнадцати лет. Самой пораженной группой населения были дети от 13 до 36 месяцев (табл. 22). Доля мальчиков (62%) превысила ( $p < 0,05$ ) аналогичный показатель для девочек (38%), что видно из таблицы 22.

Таблица 22 - Данные о пациентах с различными заболеваниями, от которых выделены штаммы EVA71 в Южном Вьетнаме в 2010-2021 годах

Первичный диагноз	Число случаев в	Распределение по полу		Распределение по возрасту			
		М	Ж	0-6 мес.	7-12 мес.	13-36 мес.	3-14 лет
ОВП	67	38	29	1	8	48	10
Менингит/энцефалит	96	68	28	6	10	70	10
Вирусная пузырчатка рта и конечностей	1771	1093	678	66	254	1278	173
Всего	1934	1199 (62 %)	735 (38 %)	73 (3 %)	272 (15 %)	1396 (72 %)	193 (10 %)

Вирусы EVA71 интенсивно циркулировали в южных провинциях Вьетнама. Инфекции, связанные с EVA71, зарегистрированы во всех провинциях Южного Вьетнама. В Хошимине отмечена максимальная заболеваемость ЭВИ, в провинциях Донгтап и Кан То было зарегистрировано по 200-299 случаев, в провинциях Анзянг и Тай-Нинь по 100-199 случаев, в остальных провинциях зарегистрировано менее 100 случаев инфекций, связанных с EVA71 (рисунок 26).

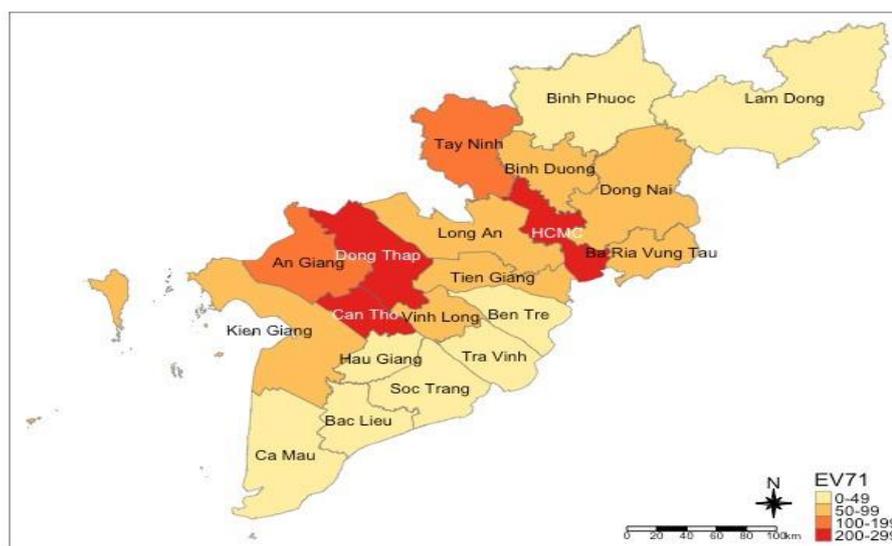


Рисунок 26 - Географическое распределение случаев заражения EVA71 в Южном Вьетнаме в 2010-2021 гг.

Проведенные исследования позволили установить ведущую роль EVA71 в циркуляции среди населения и его лидирующую роль в этиологии различных клинических форм неполио энтеровирусной инфекции. Полученные результаты доказывают необходимость усиления эффективности контроля циркуляции вируса EVA71 в Южном Вьетнаме, прогнозирования вспышек неполио энтеровирусной инфекции, связанных с энтеровирусом 71. Повышение эффективности контроля, а также различных мер профилактики энтеровирусной инфекции станет своевременным шагом для укрепления национальной и региональных программ надзора и усиления мер борьбы с неполио энтеровирусной инфекцией.

### **3.4. МОЛЕКУЛЯРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЯДА НЕПОЛИО ЭНТЕРОВИРУСОВ, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ В ЮЖНОМ ВЬЕТНАМЕ**

#### **3.4.1 Молекулярная характеристика штаммов энтеровируса ЭВ71, циркулирующих в Южном Вьетнаме**

На основании филогенетического анализа участка генома VP1 штаммы энтеровируса 71 были разделены на 6 генотипов от А до F. Генотип А включает прототип штамма EVA71 (BrCr-CA-70), который был выделен в 1970 году в

Соединенных Штатах Америки. Генотипы В и С могут быть далее разделены на основные генотипы В1-В5 и С1-С5 соответственно. Недавно вирусы генотипа D были идентифицированы в Индии, а штаммы генотипов Е и F - в Африке.

Молекулярный анализ, проведенный в данном исследовании, показал, что 88% штаммов EVA71, выделенных от пациентов с вирусной пузырчаткой полости рта и конечностей, а также от больных с острым вялым параличом в Южном Вьетнаме, принадлежали к генотипу С4, а 12% изученных штаммов энтеровируса 71 были представлены генотипом В5. Полные нуклеотидные последовательности геномной области VP1 для 67 вирусов ЭВ71 были депонированы в GenBank под номерами **MW139687-MW139744** и **OP947996-OP948003**. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей области генома VP1 изученных штаммов EVA71 генотипа С4 из Вьетнама представлен на рисунке 27. Идентифицированные штаммы энтеровируса 71 генотипа В5 образовали одну монофилетическую группу (рисунок 28).

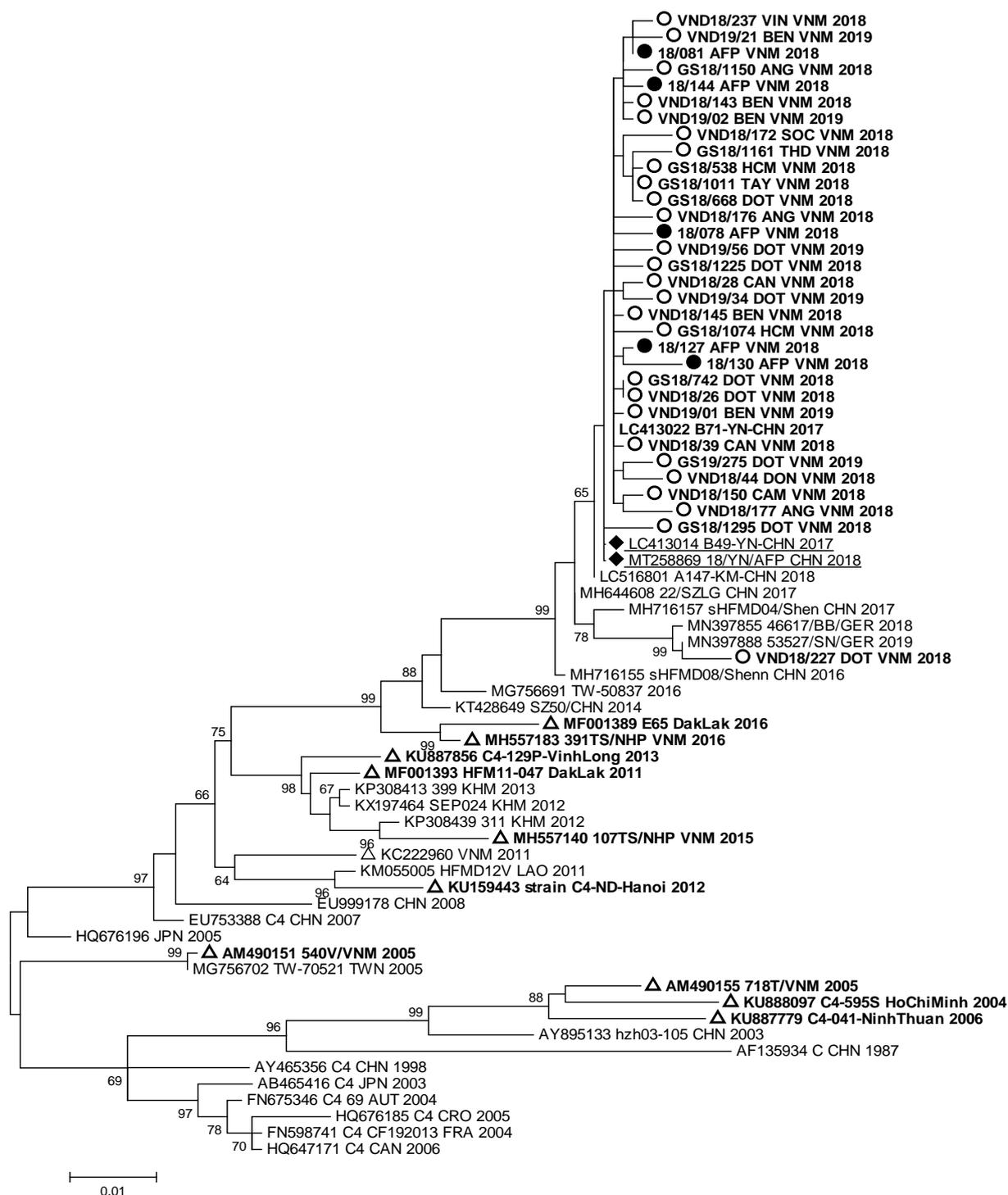


Рисунок 27 - Филогенетические связи штаммов EVA71 генотипа C4, идентифицированных во Вьетнаме: ○ - вьетнамские штаммы, выделенные от пациентов с вирусной пузырчаткой полости рта и конечностей; ● - вьетнамские штаммы, выделенные от пациентов с ОВП; Δ - вьетнамские штаммы, описанные в других исследованиях; ◆ - штаммы, идентифицированные у пациентов с ОВП из китайской провинции Юньнань.



Рисунок 28 - Филогенетические связи между штаммами EVA71 генотипа B5, выявленными во Вьетнаме: ○ - Вьетнамские штаммы, выделенные от пациентов с вирусной пузырчаткой рта и конечностей; ● - вьетнамские штаммы, выделенные от пациентов с ОВП; Δ - Вьетнамские штаммы, описанные в других исследованиях.

Штамм VND18/227, выявленный у одного пациента с вирусной пузырчаткой рта и конечностей, у которого было осложненное клиническое течение заболевания, был очень близок к штаммам EVA71 (99,2–99,4% гомологии) генотипа C4, выявленным в Германии. Остальные вирусы представляли собой отдельную генетическую группу и имели высокую степень родства со штаммами EVA71, обнаруженными в китайской провинции Гуандун

в 2017 году [126]. Вирусы EVA71 генотипа С4, выявленные в ходе нашего исследования в случаях вирусной пузырчатки рта и конечностей и ОВП, отличались от вирусов, выявленных в 2003-2005 и 2011-2012 годах во время вспышек ЭВИ с клиникой экзантемы в Южном и Северном Вьетнаме [132, 136]. Они также отличались от штаммов, выделенных в провинции Дак Лак в 2016 году [71, 135].

Последовательности изученных штаммов EVA71 генотипа В5, которые были выделены и/или идентифицированы у пациентов с вирусной пузырчаткой рта и конечностей и ОВП, образовали монофилетическую группу (рис. 28).

Все штаммы генотипа В5 показали тесную связь с китайскими вирусами генотипа В5, выделенными в 2017 году [105], но они отличались от вирусов ЭВ71 генотипа В5, циркулировавших во Вьетнаме в 2011-2016 годах [71].

#### **3.4.2 Молекулярная характеристика штаммов энтеровируса CVA10, циркулирующих в Южном Вьетнаме**

Энтеровирусы Коксаки А10 также часто циркулировали во Вьетнаме По частоте выявления у обследованных пациентов штаммы вируса Коксаки А10 (24 штамма) были на втором месте среди вирусов, изолированных у больных с синдромом острого вялого паралича после энтеровируса 71 (67 штаммов). У пациентов с диагнозом вирусная пузырчатка полости рта и конечностей вирусы Коксаки А10 (359 штаммов) были на третьем месте по частоте обнаружения после энтеровируса 71 (1771 штамм) и вируса Коксаки А6 (830 штаммов).

В ходе проведенного исследования были проанализированы молекулярные характеристики штаммов Коксаки А10, выявленных в Южном Вьетнаме. Эти штаммы сравнили со штаммами Коксаки А10, идентифицированными в других странах Юго-Восточной Азии, а также в России.

Штаммы вируса Коксаки А10, выявленные в России относилась к генотипам С и F3. Циркуляция штаммов Коксаки А10 генотипа F3 на территории Российской Федерации была зафиксирована в 2013 году, после чего эти штаммы ежегодно циркулировали в период с 2015 по 2018 год.

Большинство штаммов, идентифицированных у больных с диагнозами острый вялый паралич или вирусная пузырчатка рта и конечностей в Южном Вьетнаме, по результатам исследования принадлежали к генотипу F3 (22 штамма). Только один штамм, выделенный от пациента с тяжелыми неврологическими осложнениями вирусной пузырчатки полости рта и конечностей, был отнесен к генотипу F1 (рис. 29).

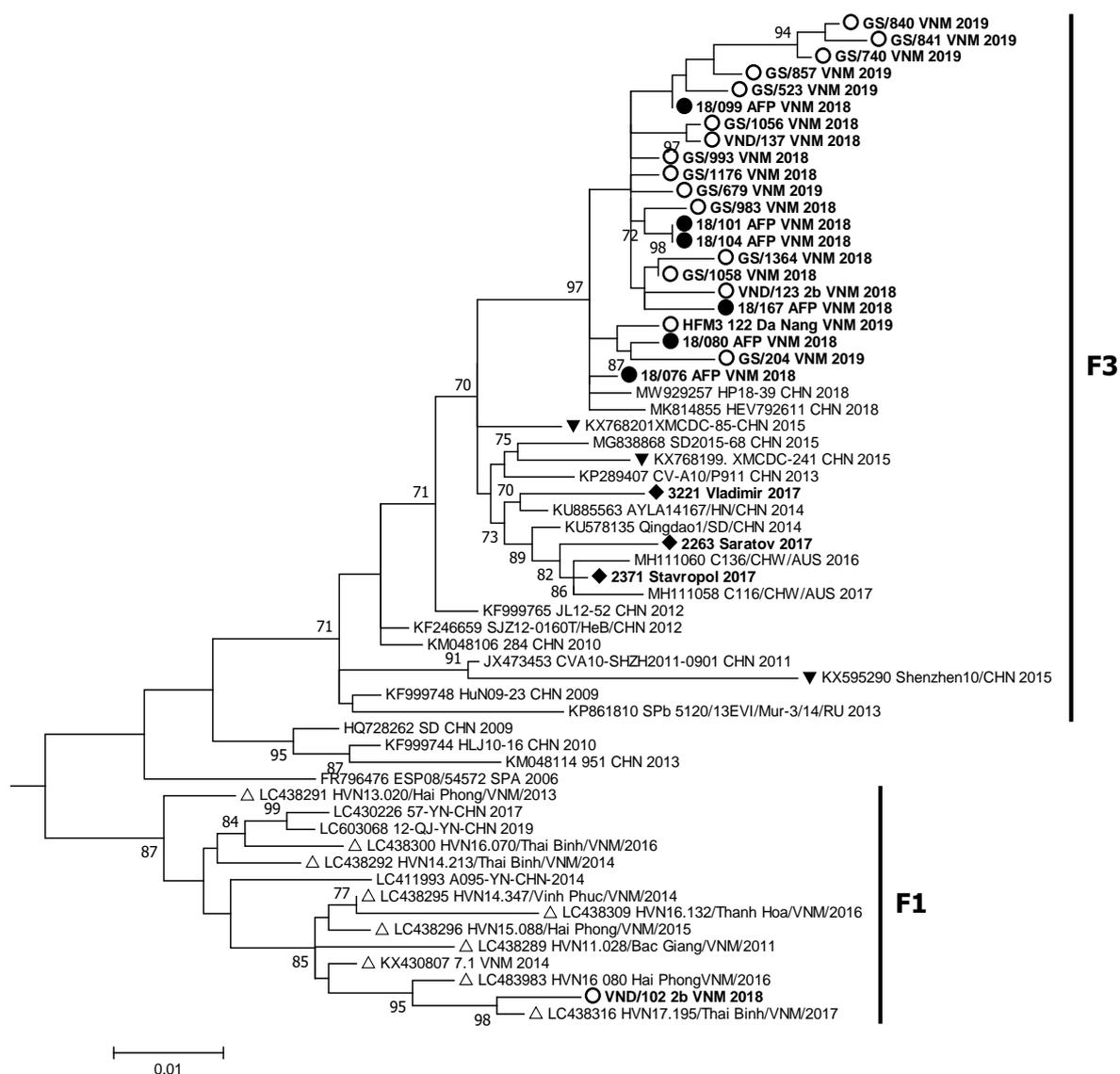


Рисунок 29 - Филогенетические связи между штаммами Коксаки А10 генотипа F, идентифицированными во Вьетнаме и других странах: ○ - Вьетнамские штаммы, выделенные от пациентов с вирусной пузырчаткой рта и конечностей; ● - вьетнамские штаммы, выделенные от пациентов с ОВП; Δ - штаммы, описанные в других исследованиях.

В пределах генотипа F исследуемые штаммы были генетически гетерогенными. Все штаммы Коксаки A10, выделенные в России и относящиеся к генотипу F3, были представлены по меньшей мере пятью генетическими вариантами и показали родство с различными штаммами, циркулировавшими в Юго-Восточной Азии и Тихоокеанском регионе, включая вирусы, выделенные от пациентов с тяжелыми формами и летальными случаями энтеровирусной инфекции [15].

Большинство штаммов из Южного Вьетнама, выявленных в ходе совместных российско-вьетнамских исследований, составили филогенетическую группу вместе с китайскими штаммами, выделенными в 2017-2018 годах в провинции Юньнань. В эту группу штаммов входили вирусы, выделенные от пациентов с различной тяжестью заболевания. Нет никаких данных о циркуляции вирусов Коксаки A10, относящихся к этому генетическому варианту, во Вьетнаме в предыдущие годы. Штамм VND18/102, выделенный в 2018 году от одного пациента, у которого была вирусная пузырьчатка полости рта и конечностей с тяжелыми неврологическими осложнениями, показал тесную генетическую связь со штаммами CVA10 генотипа F1, циркулировавшими в Южном и Северном Вьетнаме в 2014-2017 годах [42, 90].

## ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ многолетней динамики заболеваемости полиомиелитом показал, что периоды роста заболеваемости чередовались с периодами снижения заболеваемости. Помимо эпидемиологического надзора важнейшим компонентом реализации программы ликвидации полиомиелита является вирусологическое исследование проб биологического материала от всех случаев ОВП. Это позволяет провести эпидемиологическую и вирусологическую классификацию каждого случая заболевания [123].

При вирусологическом исследовании проб биологического материала от 2143 больных с клиническим диагнозом острый вялый паралич процент выделения полиовирусов составил 1,0%. Дикие полиовирусы не были обнаружены в течение периода наблюдения с 2010 по 2021 год. Среди 22 выделенных от больных полиовирусов 20 штаммов по результатам внутритиповой дифференциации являлись вакцинными вирусами Сэбина и два штамма были классифицированы как полиовирусы вакцинного происхождения типа 2 (ПВВП2). Из 20 вакцинных полиовирусов 11 штаммов (55%) были отнесены к типу 3, шесть штаммов принадлежали к типу 1 (30%) и три штамма (15%) отнесены к типу 2. Аналогичный результат был получен еще в одной из стран Юго-Восточной Азии  $43,8\% > 34,3\% > 21,9\%$  [119].

За весь период наблюдения за циркуляцией полиовирусов в стране случаев вакциноассоциированного полиомиелита (ВАПП) не регистрировали. В 2012 году были зарегистрированы два случая острого вялого паралича, вызванных полиовирусами вакцинного происхождения ПВВП2. Два локализованных случая, связанные с ПВВП типа 2, произошли из-за нарушений при проведении вакцинации в двух отдаленных районах. Один район отличается влажным тропическим климатом и плохими условиями жизни, там кхмерское население, говорящее на другом языке, составляет более 80%. Второй район, это трудно доступный горный район провинции Донг Най, где проживают люди из 11 малых этнических групп. Все эти факторы, препятствующие предоставлению качественных услуг по вакцинации, и неадекватные санитарные условия создали

условия для распространения полиовирусов, выделяемых в окружающую среду недавно вакцинированными детьми. По данным ВОЗ ПВВП были обнаружены у здоровых людей и в окружающей среде еще в 13 странах [11].

Широкое использование оральной полиовирусной вакцины помогло искоренить полиомиелит во многих странах мира, снижая распространение заболеваний. Но на фоне использования ОПВ, которые состоят из живых ослабленных полиовирусов, может происходить формирование ПВВП. В процессе циркуляции среди населения вакцинные полиовирусы могут, приближаться по нейровирулентности и способности к передаче другим лицам к диким полиовирусам. Измененные вирусы могут вызывать паралитические заболевания у не вакцинированных детей [25, 146]. Скорость распространения ПВВП аналогична таковой для диких полиовирусов [146]. Низкий уровень коллективного иммунитета против полиомиелита, особенно в сельских, отдаленных и изолированных районах, является основной причиной образования ПВВП [28].

В реализации Программы ликвидации полиомиелита одна из ключевых ролей принадлежит иммунизации детей полиовирусными вакцинами. В настоящее время вакцинация против полиомиелита продолжается, поскольку в глобальном масштабе инфекция не ликвидирована [108]. До 2016 года во Вьетнаме детей прививали трехвалентной полиовирусной вакциной (тОРВ) в возрасте 2, 3 и 4 месяца, с июня 2016 года стали использовать двухвалентную вакцину (бОРВ), в которую входят полиовирусы типов 1 и 3. В сентябре 2018 года в программу расширенной иммунизации в календарь прививок Вьетнама была введена инактивированная полиовирусная вакцина (ИПВ) для вакцинации четвертой дозой детей в возрасте 5 месяцев.

Система надзора за синдромом острого вялого паралича в Южном Вьетнаме строго следовала рекомендациям ВОЗ и Национальным документам, обеспечивая надежный надзор за ОВП. При этом строго соблюдали стандартный целевой показатель ВОЗ по выявлению случаев ОВП и алгоритм вакцинации против полиомиелита, прививая более чем 90% детей в возрасте до 1 года. Эти

результаты свидетельствуют об эффективном поддержании и сохранении свободного от полиомиелита статуса Южного Вьетнама.

Важно отметить, что у больных с синдромом ОВП (2143 случая) процент выделения неполиомиелитных энтеровирусов (11,6%), был намного выше, чем процент обнаружения полиовирусов. Это связано с высоким уровнем циркуляции неполиомиелитных энтеровирусов на юге Вьетнама и с особенностями некоторых из этих вирусов. Например, в легких случаях экзантемы, вызванной энтеровирусом EVA71, заболевание позднее может осложняться клиническими проявлениями острого вялого паралича на фоне угасания типичной сыпи на слизистой рта, коже рук и ног, тогда эти дети попадают в стационары, где их регистрируют как больных с первичным диагнозом ОВП.

Идентифицированные НПЭВ принадлежали к 34 типам энтеровирусов. Наибольшая доля вирусов (52%) пришлась на энтеровирусы вида А, при этом доля энтеровируса EVA71 составила 28% от идентифицированных у больных ОВП энтеровирусов. В других странах Азиатского региона при надзоре за ОВП энтеровирус EVA71 также выявляют наиболее часто.

Согласно данным ВОЗ, около 10% выделенных при надзоре за синдромом ОВП вирусов, идентифицируют как НПЭВ. Этот индекс используют для оценки жизнеспособности вируса в пробах фекалий при транспортировке в лабораторию [96]. Процент выявления у больных НПЭВ в этом исследовании был выше, чем процент их выявления в отчете Национального комитета по сертификации ликвидации дикого полиовируса в Гонконге в 2014 году [86].

Эпидемиологический надзор за энтеровирусной инфекцией также как надзор за полиомиелитом является одной из важнейших задач для Вьетнама. Целью надзора за ЭВИ является получение информации об изменении эпидемической ситуации, клинических проявлениях и эволюции этиологических агентов, что в конечном итоге обеспечит контроль заболеваемости ЭВИ.

Заболеваемость энтеровирусной инфекцией не носила сезонного характера, поскольку в южных провинциях Вьетнама климат жаркий и влажный в течение всего

года. При этом заболеваемость ЭВИ в разных провинциях в разные периоды колебалась. Анализ клинической картины заболевания свидетельствует о ведущей роли такой клинической формы как энтеровирусная экзантема полости рта и конечностей, которая часто протекала с неврологическими осложнениями. Доля этой клинической формы в структуре всех форм ЭВИ была очень высокой и колебалась в разные годы от 58,3% до 98,9%.

Комплексный подход к анализу проблемы энтеровирусной инфекции в Южном Вьетнаме выявил явное преобладание экзантемных форм инфекции и показал, что основным этиологическим агентом этого заболевания являлся энтеровирус EVA71. Штаммы этого возбудителя были идентифицированы у больных с различными инфекциями (синдром острого вялого паралича, энтеровирусным менингитом, энтеровирусной экзантемой и другими заболеваниями).

С 2012 по 2021 год в 20 южных провинциях Вьетнама был зарегистрирован 632 651 случай заболевания с энтеровирусной экзантемой, в том числе 104 случая с летальным исходом. В 2012 году было зафиксировано наибольшее количество случаев энтеровирусной экзантемы полости рта и конечностей и смертельных исходов. С 2012 по 2016 год регистрировали только госпитализированных в стационары пациентов, с 2017 по 2021 год регистрировали как стационарных, так и амбулаторных пациентов. В 2018 году фиксировали новый пик заболеваемости энтеровирусной экзантемой и летальных исходов, связанных с EVA71 [24, 46].

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о явном лидерстве энтеровируса EVA71 как этиологического агента энтеровирусной экзантемы в Южном Вьетнаме. Преобладание вирусов EVA71 среди изученных штаммов определяла тяжесть течения заболевания у большинства обследованных больных и объясняла множественные осложнения инфекции. Большинство случаев энтеровирусной экзантемы полости рта и конечностей (78%) зарегистрировано в трех провинциях, расположенных в дельте Меконга,

две из которых составили единый эпидемиологический очаг энтеровирусной экзантемы [41].

Влияние реки Меконг на эпидемиологию энтеровирусной инфекции в Южном Вьетнаме существенно, поскольку более 20% всего населения Вьетнама проживает в дельте Меконга [113]. Река несет потоки воды, смешанные со сточными водами, из пяти стран в южные провинции Вьетнама. Это осложняет эпидемический процесс и способствует столь высокому уровню заболеваемости энтеровирусной экзантемой в Южном Вьетнаме. Жаркий и влажный климат, высокая плотность населения с большой долей детей и плохие санитарные условия также негативно повлияли на заболеваемость энтеровирусной инфекцией. Круглогодичная широкая циркуляция неполиомиелитных энтеровирусов среди населения Южного Вьетнама способствует активизации эволюции местных и завозных штаммов энтеровирусов, что как правило приводит к образованию новых вариантов вирусов с измененными свойствами и часто повышенной вирулентностью и трансмиссивностью [24, 41, 131].

Доля детей до трех лет составляет 90% от общего числа детей больных ЭВИ, среди них доля детей от 13 до 36 месяцев составляет 72%. Необходимо подчеркнуть, что был выявлен высокий процент энтеровирусов EVA71 при анализе всех клинических форм энтеровирусной инфекции в Южном Вьетнаме. Штаммы EVA71 были выделены от всех категорий обследованных пациентов, не только от больных с экзантемной формой инфекции, но и в случаях с энтеровирусным менингитом или менингоэнцефалитом. Наличие штаммов EVA71 в биологическом материале пациентов, у которых был диагностирован острый вялый паралич, включая острый вялый миелит, было подтверждено вирусологическими и молекулярными методами. Среди идентифицированных вирусов, обнаруженных у больных с энтеровирусной экзантемой, у пациентов с ОВП и у больных энтеровирусным менингитом, доля энтеровируса EVA71 составила 50%, 54% и 74% соответственно. При всех вариантах энтеровирусной инфекции и при ОВП доля мальчиков (62%) статистически превышала ( $p \leq 0,05$ ) долю девочек (38,7%).

EVA71 явно превалировал при разных вариантах различных клинических форм энтеровирусной инфекции, бесспорно, что он является ведущим энтеровирусом в циркуляции среди населения в провинциях Южного Вьетнама и во всех изученных категориях заболеваний. Это доказывает необходимость усиления мер по сокращению широкой круглогодичной циркуляции энтеровируса EVA71 с помощью всех возможных профилактических мероприятий.

Согласно молекулярным исследованиям, 90% выявленных штаммов EVA71 были отнесены к генотипу С4, и 10% принадлежали к генотипу В5. Результаты филогенетического анализа энтеровирусов указывают на влияние крупнейшей азиатской водной артерии — реки Меконг, этого густонаселенного бассейна, которой образует уникальный эпидемиологический очаг энтеровирусной инфекции, в том числе случаев с клиникой энтеровирусной экзантемы. В данном исследовании установлена очень тесная связь большинства изученных вьетнамских штаммов энтеровируса 71 генотипа С4 с вирусами того же генотипа, которые циркулировали в китайской провинции Юньнань, расположенной в верховьях Меконга. Штаммы EVA71 генотипа В5 были генетически близки штаммам из Таиланда, по территории которого также протекает Меконг. Анализ филогенетических связей штаммов энтеровируса 71 из Вьетнама указывал на множественные случаи завоза этого вируса из соседних стран и широкое его распространение внутри Вьетнама. Это привело к высокой и устойчивой заболеваемости вирусной пузырьчаткой полости рта и конечностей вплоть до настоящего времени. Важно отметить, что среди энтеровирусов, выделенных от больных с синдромом острого вялого паралича, были штаммы, принадлежащие к обоим генотипам EVA71 – С4 и В5. Эти штаммы генетически не отличались от штаммов, выделенных от больных вирусной пузырьчаткой полости рта и конечностей.

Вирусная пузырьчатка полости рта и конечностей является наиболее распространенной формой энтеровирусной инфекции в Юго-Восточной Азии [41, 105]. За последние 25 лет в Азиатском регионе было зафиксировано

множество вспышек этой инфекции с тяжелыми клиническими проявлениями, в основном связанными с энтеровирусом EVA71 на Тайване, в Китае и во Вьетнаме (в основном в Южном Вьетнаме) [87, 126, 131, 132]. Почти во всех проведенных исследованиях указано, что это инфекционное заболевание у детей часто протекало с различными неврологическими осложнениями.

Вирусная пузырчатка полости рта и конечностей, преимущественно, связанная с энтеровирусом 71, остается актуальной проблемой общественного здравоохранения Вьетнама. Инфекция, ассоциированная с вирусом EVA71, может привести к серьезным осложнениям, таким как менингоэнцефалит, острый вялый паралич и даже фатальный кардиопульмональный коллапс, особенно среди маленьких детей. Во Вьетнаме в 21 веке (2011–2012 и 2020–2021 годы) были зафиксированы крупные вспышки этой инфекции, которые приводили к тысячам госпитализаций и смертей детей в возрасте до пяти лет [40, 88], особенно страдали дети в возрасте до 12 и даже до месяцев.

В мире было разработано и одобрено несколько инактивированных вакцин против инфекций, ассоциированных с вирусом EVA71 [19]. В Китае применяют три инактивированные вакцины, полученные из вируса EVA71 генотипа С4, доказавшие эффективность более чем на 90% против ассоциированной с энтеровирусом 71 вирусной пузырчатки полости рта и конечностей у детей в возрасте от шести до 35 месяцев [73, 79, 150, 151], при этом из исследования были исключены младенцы до шести месяцев, которые представляют собой группу наибольшего риска.

Вакцина EV71vac, разработанная на Тайване расширяет возрастное применение, охватывая детей от двух до шести месяцев. Инактивированная вакцина EV71vac, на основе энтеровируса 71 генотипа В4 была разработана и произведена в Тайване [16]. Вакцина EV71vac продемонстрировала хорошую защитную эффективность при испытаниях, проведенных в Тайване, а также при целевом применении этой вакцины в Южном Вьетнаме во время вспышки вирусной пузырчатки полости рта и конечностей [89]. Вспышка заболевания произошла с конца 2020 года по апрель 2021 года. Было выявлено в общей

сложности 22 лабораторно подтвержденных случая вирусной пузырчатки, связанной с EVA71, у не вакцинированных детей. Путем генотипирования установлено, что 11 случаев инфекции были вызваны энтеровирусом EVA71 генотипа B5 и 10 случаев были связаны с вирусом EVA71 генотипа C4, отличающихся от вируса EVA71 генотипа B4. При этом дети, привитые вакциной EV71vac, не пострадали. Среди пациентов с диагнозом вирусная пузырчатка полости рта и конечностей, связанной с энтеровирусом 71, было 23% детей от двух до шести месяцев. Предыдущие исследования на Тайване показали, что вакцина EV71vac индуцирует нейтрализующие антитела с перекрестной защитой против ЭВ71 генотипов B4, B5, C4 и C5 [51].

Вакцина EV71vac является первой вакциной, изученной на младенцах в возрасте от двух до шести месяцев, что особенно актуально для Вьетнама, где младенцы в возрасте до шести месяцев, не имея материнских антител [133], подвергаются высокому риску тяжелых исходов в случае заражения [117]. Включение EV71vac в национальный график иммунизации во Вьетнаме может принести существенные выгоды общественному здравоохранению, сократив число тяжелых случаев заболевания, госпитализаций и смертей, особенно в пиковые эпидемические сезоны. Это облегчит экономическое бремя для семей и системы здравоохранения. Исследования показали, что во Вьетнаме легкий случай вирусной пузырчатки, вызванной EVA71, обходится в среднем в 400 долларов США. Тогда как средняя стоимость госпитализации в случае осложнений инфекции, ассоциированной с EVA71, значительно выше. Например, стоимость лечения детского энцефалита составляет 1859 долларов США [52, 91]. В исследовании, проведенном Азиатско-Тихоокеанской педиатрической ассоциацией, отмечено, что с 2000 по 2020 год вспышки вирусной пузырчатки полости рта и конечностей, связанные с EVA71, в регионе были не только частыми, но и все более серьезными, причем наиболее часто они были связаны с энтеровирусами EVA71 генотипов C4 и B5 [17, 106]. Учитывая высокую эффективность вакцины EV71vac для профилактики таких случаев инфекции, вакцинация может оказаться не только необходимой для спасения

жизни детей, но и экономически оправданной. Роль энтеровируса EVA71 как этиологического агента инфекционных заболеваний в Южном Вьетнаме исключительно важна, поскольку с этим вирусом связаны различные клинические формы энтеровирусной инфекции, часто тяжелые. Этот вирус является основным этиологическим агентом самого распространенного во Вьетнаме инфекционного заболевания – вирусной пузырчатки полости рта и конечностей. Лидирующая роль энтеровируса EVA71 в циркуляции среди населения доказывает необходимость усиления эффективности надзора и мониторинга циркуляции энтеровируса EVA71 для прогнозирования вспышек вирусной пузырчатки полости рта и конечностей, а также для повышения эффективности профилактики неполио энтеровирусной инфекции путем проведения вакцинации против заболеваний, ассоциированных с вирусом EVA71.

В диссертационном исследовании показано, что в Южном Вьетнаме основными этиологическими агентами вирусной пузырчатки полости рта и конечностей, а также других форм энтеровирусной инфекции, включая синдром острого вялого паралича и менингоэнцефалиты, были энтеровирусы EVA71 преимущественно генотипов C4 и B5. Поскольку штаммы EVA71, вызвавшие синдром острого вялого паралича, генетически не отличались от штаммов, выделенных от пациентов с вирусной пузырчаткой полости рта и конечностей, можно предполагать, что вакцинация с помощью EV71vac может повлиять на показатели заболеваемости при различных клинических формах энтеровирусной инфекции, в том числе на заболеваемость острыми вялыми параличами. Результаты исследования дали важную информацию о циркуляции этиологических агентов, связанных со столь распространенной в стране энтеровирусной инфекцией. Они помогли понять закономерности развития эпидемического процесса при различных клинических формах неполио энтеровирусной инфекции.

Полученные данные еще раз подчеркивают, что активный эпидемиологический и вирусологический надзор играет важнейшую роль в информировании органов здравоохранения о реальной эпидемической ситуации

для принятия соответствующих мер. Основной целью комплексных противоэпидемических мероприятий является всемерное снижение заболеваемости инфекционными заболеваниями, а также экономического бремени неполио энтеровирусной инфекции для Южного Вьетнама и страны в целом. Для совершенствования эпидемиологического надзора необходимо проводить анализ многолетней заболеваемости разными клиническими формами энтеровирусной инфекции и оценивать влияние факторов риска и основных причин возникновения вспышек инфекционных заболеваний. Одним из ключевых звеньев борьбы с инфекционными заболеваниями является лабораторная диагностика, в частности вирусологические исследования для постановки правильных диагнозов и выбора адекватного лечения и вирусологический мониторинг циркуляции вирусных агентов заболеваний.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В период после сертификации ликвидации полиомиелита Вьетнам сохраняет статус страны, свободной от полиомиелита. Качество эпидемиологического и вирусологического надзора за синдромом острого вялого паралича соответствует всем требованиям, регламентированным национальными и международными системами надзора за полиомиелитом. Все случаи острых вялых параличей в Южном Вьетнаме были выявлены, зарегистрированы, своевременно расследованы и лабораторно обследованы. Для предотвращения риска развития вакциноассоциированного паралитического полиомиелита необходимо поддерживать охват детей вакцинацией против полиомиелита на уровне не ниже 95%; акцентировать внимание населения на преимуществах вакцинации против полиомиелита и строго соблюдать санитарное законодательство при вакцинации детей. Надзор за ОВП необходимо продолжать, поскольку дикие полиовирусы могут быть завезены и циркулировать в странах, свободных от полиомиелита, при снижении охвата детей вакцинацией. Цель надзора – выявить и оценить уровень циркуляции завезенных диких полиовирусов и полиовирусов вакцинного происхождения с повышенной нейровирулентностью и трансмиссивностью. Выявление таких патогенных вирусов основано на анализе штаммов полиовирусов, выделенных в ходе надзора за ОВП, с использованием вирусологических и молекулярных методов. Широкомасштабная и безопасная вакцинация против полиомиелита способствует предотвращению циркуляции и передачи диких полиовирусов и полиовирусов вакцинного происхождения, импортированных в свободные от полиомиелита страны, восприимчивым лицам. Эффективная вакцинация наряду с высококачественным надзором явится залогом благополучия Вьетнама.

Заболеваемость вирусной пузырчаткой полости рта и конечностей является чрезвычайно важной проблемой общественного здравоохранения Вьетнама. С начала XXI века вспышки этого заболевания (в основном связанные с энтеровирусом EVA71) циклически регистрируются во Вьетнаме. Систематический мониторинг циркуляции EVA71 и других неполиомиелитных

энтеровирусов, проводимый в стране, является средством, позволяющим отслеживать эволюцию вирусов, в том числе образование и распространение новых вариантов неполио энтеровирусов в целях прогнозирования изменений эпидемической ситуации и разработки адекватных профилактических стратегий борьбы с инфекциями. Необходимость снижения экономического и социального ущерба, наносимого неполио энтеровирусной инфекцией, требует повышения эффективности профилактики и улучшения политики вакцинации. Защита от неполио энтеровирусной инфекции во Вьетнаме с помощью проведения вакцинации против инфекций, связанных с их основным этиологическим агентом ЭВ71 необходима. Вакцины против EVA71, которые существуют и производятся в Юго-Восточной Азии, могут служить хорошим инструментом для борьбы с инфекциями, связанными с энтеровирусом 71. Применение таких вакцин может стать одним из ключевых звеньев борьбы инфекционными заболеваниями и поможет решить столь важную для Вьетнама проблему контроля энтеровирусной инфекции.

## ВЫВОДЫ

1. Выделение полиовирусов от больных с синдромом острого вялого паралича не превышало 1%; из 22 идентифицированных полиовирусов 20 были вакцинными, два штамма оказались полиовирусами вакцинного происхождения типа 2. Выявление у пациентов 11,8% неполио энтеровирусов, часто циркулирующих в Южном Вьетнаме, связано с тяжелыми неврологическими осложнениями неполио энтеровирусной инфекции.
2. Многолетний анализ циркуляции неполио энтеровирусов выявил доминирование энтеровирусов вида А, 3798 вирусов вида А составили 93% от выделенных неполио энтеровирусов. Этиологическая связь энтеровирусов вида А с вирусной пузырьчаткой полости рта и конечностей обусловила ведущую роль этой клинической формы энтеровирусной инфекции в Южном Вьетнаме. Энтеровирусы вида В были типичными этиологическими агентами энтеровирусных менингитов, они также были обнаружены у больных с синдромом острого вялого паралича.
3. Энтеровирус 71 явился основным этиологическим агентом ведущей клинической формы энтеровирусной инфекции в Южном Вьетнаме. Другие энтеровирусы вида А также вызывали случаи вирусной пузырьчатки полости рта и конечностей. Штаммы ЭВ 71 были выявлены среди идентифицированных энтеровирусов в случаях с различными клиническими формами инфекции: в 49% у больных вирусной пузырьчаткой полости рта и конечностей, в 42% у больных энтеровирусными менингитами и в 28% у больных с синдромом острого вялого паралича. Смена типов и генотипов неполио энтеровирусов приводила к периодическим подъемам заболеваемости неполио энтеровирусной инфекцией.
4. Связанные с энтеровирусом 71 случаи вирусной пузырьчатки полости рта и конечностей, осложненные тяжелыми неврологическими симптомами, такими как менингит или острый вялый паралич уже на ранних стадиях заболевания, в ряде случаев были диагностированы и зарегистрированы как энтеровирусный менингит или как синдром острого вялого паралича.

5. Молекулярным анализом установлено, что 88% штаммов энтеровируса 71 принадлежали к генотипу С4, 12% штаммов энтеровируса 71 были представителями генотипа В5. Большая часть изученных штаммов энтеровируса Коксаки А10 (22 штамма) принадлежала к генотипу F3, один штамм являлся вирусом Коксаки А10 генотипа F1.

## Список использованных сокращений

ВАПП – вакциноассоциированный паралитический полиомиелит

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ВТД – внутритиповая дифференциация

ДПВ – дикий полиовирус

ИПВ – инактивированная полиовирусная вакцина

НЛ – Национальная лаборатория (полиомиелитная)

нОПВ2 - новая оральная полиовирусная вакцина второго типа

ОВП – острый вялый паралич (синдром)

ОПВ – оральная полиовирусная вакцина

ПВ – полиовирус

ПВВП (VDPV) – полиовирус вакцинного происхождения

ПЦР – полимеразная цепная реакция

цПВВП2 – циркулирующий полиовирус вакцинного происхождения типа 2

ЭВ – энтеровирус; НПЭВ – неполиомиелитный энтеровирус

ЭВИ – энтеровирусная инфекция

ЭВМ – энтеровирусный менингит

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Abedi G.R., Watson J.T., Nix W.A., et al. Enterovirus and Parechovirus Surveillance - United States, 2014-2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2018, vol. 67, no. 18, pp. 515-518.
2. Anh N.T., Van H.M.T., Hong N.T.T., Thanh T.T., Hang V.T.T., Ny N.T.H., et al. Emerging Coxsackievirus A6 Causing Hand, Foot and Mouth Disease, Vietnam. *Emerg Infect Dis*, 2018, vol. 24, no. 4, pp. 654-662.
3. Asghar H., Diop O. M., Weldegebriel G., Malik F., Shetty S., El Bassioni L., et al. Environmental surveillance for polioviruses in the Global Polio Eradication Initiative. *J Infect Dis*, 2014, vol. 210, no. 1, pp. S294-303.
4. Baggen J., Thibaut H.J., Strating J.R., van Kuppeveld F.J. The life cycle of non-polio enteroviruses and how to target it. *Nature Reviews Microbiology*, 2018, vol. 16 no. 6, pp. 368-381.
5. Beck M.A., Kolbeck P.C., Shi Q., Rohr L.H., Levander O.A. Increased Virulence of a Human Enterovirus (Coxsackievirus B3) in Selenium Deficient Mice. *The Journal of Infectious Diseases*, 1994, vol. 170, no. 2, pp. 351-357.
6. Belov G.A., Nair V., Hansen B.T., Hoyt F.H., Fischer E.R., et al. Complex dynamic development of poliovirus membranous replication complexes. *J Virol*, 2012, vol. 86, no. 1, pp. 302-312.
7. Bienz K., Egger D., Troxler M., Pasamontes L. Structural organization of poliovirus RNA replication is mediated by viral proteins of the P2 genomic region. *J Virol*. 1990, vol. 64, no. 3, pp. 1156-1163.
8. Bienz K., Egger D., Pasamontes L. Association of polioviral proteins of the P2 genomic region with the viral replication complex and virus-induced membrane synthesis as visualized by electron microscopic immunocytochemistry and autoradiography. *Virology*, 1987, vol. 160, no. 1, pp. 220-226.
9. Böttcher S., Diedrich S., Keeren K. Increased detection of enterovirus A71 infections, Germany, 2019. *Euro Surveill*, 2019, vol. 24, no. 39, pp. 1900556.

10. CDC. National Enterovirus Surveillance System (NESS). 2023. Available from: <https://www.cdc.gov/surveillance/ness/index.html> [10/03/2026].
11. CDC. Update on Vaccine-Derived Polioviruses — Worldwide. 2011. Available online: [www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6137a3](http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6137a3) [10/03/2026].
12. Certification of the Global eradication of poliomyelitis. Report of the fifth meeting of the Global Technical Consultative Group for Poliomyelitis Eradication. WHO, Geneva. 2000. Available online: <https://polioeradication.org/wp-content/uploads/2024/05/6report.pdf> [10/03/2026].
13. Chang L.Y., Lin T.Y., Huang Y.C., Tsao K.C., et al. Comparison of enterovirus 71 and coxsackievirus A16 clinical illnesses during the Taiwan enterovirus epidemic, 1998. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 1999, vol. 18, no. 12, pp. 1092-1096.
14. Chasqueira M.J., Paixão P., Rodrigues M.L., Piedade C., Caires I., et al. Respiratory infections in elderly people: Viral role in a resident population of elderly care centers in Lisbon, winter 2013-2014. *Int J Infect Dis*, 2018, vol. 69, pp. 1-7.
15. Chen M., He S., Yan Q., Xu X., Wu W., Ge S. Severe hand, foot and mouth disease associated with Coxsackievirus A10 infections in Xiamen, China in 2015. *Journal of clinical virology*, 2017, vol. 93, pp. 20-24.
16. Cheng A., Fung C.P., Liu C.C., Lin Y.T., Tsai H.Y., Chang S.C., et al. A Phase I, randomized, open-label study to evaluate the safety and immunogenicity of an enterovirus 71 vaccine. *Vaccine*, 2013, vol. 31, no. 20, pp. 2471-2476.
17. Chiu M.L., Luo S.T., Chen Y.Y., Chung W.Y., Duong V., Dussart P., et al. Establishment of Asia-Pacific network for enterovirus surveillance. *Vaccine*, 2020, vol. 38, no. 1, pp. 1-9.
18. Choi C.S., Choi Y.J., Choi U.Y., Han J.W., Jeong D.C., et al. Clinical manifestations of CNS infections caused by enterovirus type 71. *Korean J Pediatr*, 2011, vol. 54, no. 1, pp. 11-6.
19. Chong P., Liu C.C., Chow Y.H., Chou A.H., Klein M. Review of Enterovirus 71 vaccines. *Clinical Infectious Diseases*, 2014, vol. 60, no. 5, pp. 797-803.

20. Cortese M., Goellner S., Acosta E.G., Neufeldt C.J., Oleksiuk O., Lampe M., et al. Ultrastructural Characterization of Zika Virus Replication Factories. *Cell Rep*, 2017, vol. 18, no. 9, pp. 2113-2123.
21. De Jesus N.H. Epidemics to eradication: the modern history of poliomyelitis. *Virology*, 2004, vol. 4, p. 70.
22. De Quadros C.A., Andrus J.K., Olive J.M., de Macedo C.G., et al. Polio eradication from the Western Hemisphere. *Annu Rev Public Health*, 1992, vol. 13, pp. 239-252.
23. Doedens J.R., Kirkegaard K. Inhibition of cellular protein secretion by poliovirus proteins 2B and 3A. *Embo j*, 1995, vol. 14, no. 5, pp. 894-907.
24. Donato C., Hoa N.T., Hoa T.M., Van Duyet L., Ngan T.T.D., Van Kinh N., et al. Genetic characterization of Enterovirus 71 strains circulating in Vietnam in 2012. *Virology*, 2016, vol. 495, pp. 1-9.
25. Duintjer Tebbens R.J., Pallansch M.A., Kim J.H., Burns C.C., Kew O.M., Oberste M.S., et al. Oral poliovirus vaccine evolution and insights relevant to modeling the risks of circulating vaccine-derived polioviruses (cVDPVs). *Risk Anal*, 2013, vol. 33, no. 4, pp. 680-702.
26. Duintjer Tebbens R.J., Zimmermann M., Pallansch M.A., et al. Insights from a Systematic Search for Information on Designs, Costs, and Effectiveness of Poliovirus Environmental Surveillance Systems. *Food Environ Virol*, 2017, vol. 9, no. 4, pp. 361-382.
27. Dunn J.J. Enteroviruses and Parechoviruses. *Microbiol Spectr*, 2016, vol. 4, no. 3, pp. 273-296.
28. Estívariz C.F., Watkins M.A., Handoko D., Rusipah R., Deshpande J., Rana B.J., et al. A large vaccine-derived poliovirus outbreak on Madura Island--Indonesia, 2005. *J Infect Dis*, 2008, vol. 197, no. 3, pp. 347-354.
29. Fenner F., Henderson D., Arita I., Jezek Z., Ladnyi I. Smallpox and its eradication. Geneva, Switzerland, World Health Organization, 1988, 1500 p.
30. Fischer T.K., Simmonds P., Harvala H., The importance of enterovirus surveillance in a post-polio world. *Lancet Infect Dis*, 2022, vol. 22, no. 1, pp. e35-e40.

31. Fitzgerald K.D., Semler B.L. Bridging IRES elements in mRNAs to the eukaryotic translation apparatus. *Biochim Biophys Acta*, 2009, vol. 1789, no. 9-10, p. 518.
32. Golitsyna L.N., Nguyen T.T.T., Romanenkova N.I., Luong M.T., Vu L.T., Kanaeva O.I., et al. Enterovirus infection in the Socialist Republic of Vietnam. *Russian Journal of Infection and Immunity*, 2019, vol. 9, no. 3-4, pp. 467-475.
33. Guidelines for Canadian Drinking Water Quality. Guideline Technical Document – Enteric Viruses. Water and Air Quality Bureau, Healthy Environments and Consumer Safety Branch, Health Canada, Ottawa, Ontario. 2019. Available online: <https://www.canada.ca/content/dam/canada/health-canada/migration/healthy-canadians/publications/healthy-living-vie-saine/water-enteric-virus-enterique-eau/alt/water-enteric-virus-enterique-eau-eng.pdf> [10/03/2026].
34. Guide to clinical management and public health response for hand, foot and mouth disease (HFMD). WHO Regional Office for the Western Pacific. 2011. Available online: <https://iris.who.int/server/api/core/bitstreams/83910cae-0a19-4a57-bd38-bd119ed92179/content> [10/03/2026].
35. Guidelines for environmental surveillance of poliovirus circulation. WHO, Geneva, Switzerland. 2003. Available online: [http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/67854/WHO\\_V-B\\_03.03\\_eng.pdf?sequence=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/67854/WHO_V-B_03.03_eng.pdf?sequence=1) [10/03/2026].
36. Harvala H., Simmonds P. Human parechoviruses: Biology, epidemiology and clinical significance. *Journal of Clinical Virology*, 2009, vol. 45, pp. 1-9.
37. Harvala H., Broberg E., Benschop K., Berginc N., Ladhani S., Susi P., et al. Recommendations for enterovirus diagnostics and characterisation within and beyond Europe. *Journal of clinical virology*, 2018, vol. 101, pp. 11-17.
38. Hasbun R., Wootton S.H., Rosenthal N., Balada-Llasat J.M., Chung J., Duff S., et al. Epidemiology of meningitis and encephalitis in infants and children in the United States, 2011-2014. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 2019, vol. 38, no. 1, pp. 37–41.
39. Hertzberger L.I., Huisman J., Wilterdink J.B. The global eradication of polio by the year 2000. *Ned Tijdschr Geneesk*, 1998, vol. 142, no. 17, pp. 972-973.

40. Hoang M.T.V., Nguyen T.A., Tran T.T., Vu T.T.H., et al. Clinical and aetiological study of hand, foot and mouth disease in southern Vietnam, 2013-2015: Inpatients and outpatients. *Int J Infect Dis*. 2019, vol. 80, pp. 1-9.
41. Hoang C.Q., Nguyen T.T.T., Ho N.X., Nguyen H.D., Nguyen A.B., Nguyen T.H. T., et al. Transmission and serotype features of hand foot mouth disease in household contacts in Dong Thap, Vietnam. *BMC Infect Dis*, 2019, vol. 19, no. 1, p. 933.
42. Hoa-Tran T.N., Nguyen A.T., Dao A.T.H., Kataoka C., Ta H.T.T., Nguyen H.T.V., et al. Genetic characterization of VP1 of coxsackieviruses A2, A4, and A10 associated with hand, foot, and mouth disease in Vietnam in 2012–2017: endemic circulation and emergence of new HFMD-causing lineages. *Arch Virol.*, 2020, vol. 165, no. 4, pp. 823–834.
43. Hogle J.M. Poliovirus cell entry: common structural themes in viral cell entry pathways. *Annu Rev Microbiol*, 2002, vol. 56, pp. 677-702.
44. Holmes C.W., Koo S.S., Osman H., Wilson S., Xerry J., Gallimore C.I., et al. Predominance of enterovirus B and echovirus 30 as cause of viral meningitis in a UK population. *Journal of Clinical Virology*, 2016, vol. 81, pp. 90-93.
45. Holm-Hansen C.C., Midgley S.E., Schjørring S., Fischer T.K. The importance of enterovirus surveillance in a Post-polio world. *Clin Microbiol Infect*, 2017, vol. 23, no. 6, pp. 352-354.
46. Hong N.T.T., Nguyet L.A., Ny N.T.H., Thanh T.T., Han D.D.K., Van H.M.T., et al. Severe enterovirus A71 associated hand, foot and mouth disease, Vietnam, 2018: preliminary report of an impending outbreak. *Euro Surveill*, 2018, vol. 23, no. 46, pp. 1800590.
47. Horstmann D.M. Enterovirus infections: etiologic, epidemiologic and clinical aspects. *Calif Med*, 1965, vol. 103, no. 1, pp. 1-8.
48. Hovi T., Shulman L.M., Van Der Avoort H., Deshpande J., Roivainen M., De Gourville E.M. Role of environmental poliovirus surveillance in global polio eradication and beyond. *Epidemiol Infect*, 2012, vol. 140, no. 1, pp. 1-13.

49. Huaman J.L., Carrion G., Ampuero J.S., Gomez J., Ocaña V., Paz I., et al. Non-rhinovirus enteroviruses associated with respiratory infections in Peru (2005-2010). *Virology Journal*, 2014, vol. 11, no. 1, p. 169.
50. Huang C.C., Liu C.C., Chang Y.C., Chen C.Y., Wang S.T., Yeh T.F. Neurologic complications in children with enterovirus 71 infection. *N. Engl. J. Med.*, 1999, vol. 341, pp. 936–942.
51. Huang L.M., Chiu C.H., Chiu N.C., Lin C.Y., Li M.T., Kuo T.Y., et al. Immunogenicity, safety, cross-reaction, and immune persistence of an inactivated enterovirus A71 vaccine in children aged from two months to 11 years in Taiwan. *Vaccine*, 2019, vol. 37, no. 13, pp. 1827-1835.
52. Huong N.H.T., Toan N.D., Khanh T.H., Thinh L.Q., Nhan L.N.T., Minh N.N.Q., et al. A cost of illness analysis of children with encephalitis presenting to a major hospital in Vietnam. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2024, vol. 112, no. 2, p. 422.
53. Hyypiä T.H., Hovi T.; Knowles N.J. Stanway. Classification of enteroviruses based on molecular and biological properties. *Journal of General Virology*, 1997, vol. 78, pp. 1-11.
54. Ilnytska O., Santiana M., Hsu N.Y., Du W.L., Chen Y.H., Viktorova E.G., et al. Enteroviruses harness the cellular endocytic machinery to remodel the host cell cholesterol landscape for effective viral replication. *Cell Host Microbe*, 2013, vol. 14, no. 3, pp. 281-293.
55. Irurzun A., Perez L., Carrasco L. Involvement of membrane traffic in the replication of poliovirus genomes: effects of brefeldin A. *Virology*, 1992, vol. 191, no. 1, pp. 166-175.
56. Ivanova O.E., Yarmolskaya M.S., Ereemeeva T.P., Babkina G.M., Baykova O.Y., et al. Environmental Surveillance for Poliovirus and Other Enteroviruses: Long-Term Experience in Moscow, Russian Federation, 2004–2017. *Viruses*, 2019, vol. 11, no. 5, p. 424.
57. Jackson T., Belsham G.J. Picornaviruses: A View from 3A. *Viruses*, 2021, vol. 13, no. 3, p. 456.

58. Jang S.K., Kräusslich H.G., Nicklin M.J., Duke G.M., Palmenberg A.C., Wimmer E. A segment of the 5' nontranslated region of encephalomyocarditis virus RNA directs internal entry of ribosomes during in vitro translation. *J Virol*, 1988, vol. 62, no. 8, pp. 2636-2643.
59. Ji C., Zhang Y., Sun R., Pan Z., Ma J., Yao H. Isolation and Identification of Two Clinical Strains of the Novel Genotype Enterovirus E5 in China. *Microbiol Spectr*, 2022, vol. 10, no. 3, p. e0266221.
60. Jiang P., Liu Y., Ma H.C., Paul A.V., Wimmer E. Picornavirus morphogenesis. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2014, vol. 78, no. 3, pp. 418-437.
61. Joce R., Wood D., Brown D., Begg N. Paralytic poliomyelitis in England and Wales, 1985-91. *Bmj*, 1992, vol. 305, no. 6845, pp. 79-82.
62. John T.J., Vashishtha V.M. Eradicating poliomyelitis: India's journey from hyperendemic to polio-free status. *Indian J Med Res*, 2013, vol. 137, no. 5, pp. 881-894.
63. Jubelt B., Lipton H.L. Enterovirus/picornavirus infections. *Handb Clin Neurol*, 2014, vol. 123, pp. 379-416.
64. Kallman F., Williams R.C., Dulbecco R., Vogt M. Fine structure of changes produced in cultured cells sampled at specified intervals during a single growth cycle of polio virus. *J Biophys Biochem Cytol*, 1958, vol. 4, no. 3, pp. 301-308.
65. Kapsenberg J.G. Picornaviridae: The Enteroviruses (Polioviruses, Coxsackieviruses, Echoviruses). In: *Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases Principles and Practice*, vol. II Viral, Rickettsial, and Chlamydial Diseases. Ed. Lennette E.H., et al., Springer New York: New York, 1988, p. 692-722.
66. Keeren K., Böttcher S., LaNED, Diedrich S. Enterovirus Surveillance (EVSurv) in Germany. *Microorganisms*, 2021, vol. 9, no. 10, p. 2005.
67. Khanh T. H., Sabanathan S., Thanh T.T., Thoa L.P.K., Thuong T.C., Farrar J., et al. Enterovirus 71-associated hand, foot, and mouth disease, Southern Vietnam, 2011. *Emerg Infect Dis*, 2012, vol. 18, no. 12, pp. 2002-2005.
68. Knoester M., Helfferich J., Poelman R., Van Leer-Buter C., Brouwer O.F., et al. Twenty-nine Cases of Enterovirus-D68-associated Acute Flaccid Myelitis in Europe

2016: A Case Series and Epidemiologic Overview. *Pediatr Infect Dis J*, 2019, vol. 38, no. 1, pp. 16-21.

69. Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Mol Biol Evol*, 2016, vol. 33, no. 7, pp. 1870-1874.

70. Lancaster K.Z., Pfeiffer J.K. Limited trafficking of a neurotropic virus through inefficient retrograde axonal transport and the type I interferon response. *PLoS Pathog*, 2010, vol. 6, no. 3, p. e1000791.

71. Le T.V., Nguyen V.T.T., Nguyen Q.H., Pham D.T. Molecular epidemiology analysis of enterovirus 71 strains isolated in Dak Lak, Vietnam, 2011-2016. *J Med Virol*, 2019, vol. 91, no. 1, p. 56-64.

72. Lefkowitz E.J., Dempsey D.M., Hendrickson R.C., Orton R.J., et al. Virus taxonomy: the database of the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). *Nucleic Acids Res*, 2018, vol. 46, no. D1, pp. D708-d717.

73. Li R.C., Liu L.D., Mo Z., Wang X.Y., et al. An inactivated enterovirus 71 vaccine in healthy children. *The New England Journal of Medicine*, 2014, vol. 370, no. 9, pp. 829–837.

74. Limpens R.W., van der Schaar H.M., Kumar D., Koster A.J., Snijder E.J., van Kuppeveld F.J., Bárcena M. The transformation of enterovirus replication structures: a three-dimensional study of single- and double-membrane compartments. *mBio*, 2011, vol. 2, no. 5, pp. e00166-11.

75. Lin T.Y., Chang L.Y., Hsia S.H., Huang Y.C., Chiu C.H., Hsueh C., et al. The 1998 enterovirus 71 outbreak in Taiwan: pathogenesis and management. *Clin Infect Dis*, 2002, vol. 34, no. 2, p. S52-7.

76. Mahmud B., Horn C.M, Tappich W. E. Structure of the 5' Untranslated Region of Enteroviral Genomic RNA. *J Virol*, 2019, vol. 93, no. 23, pp. e01288-19.

77. Majer A., McGreevy A., Booth T.F. Molecular Pathogenicity of Enteroviruses Causing Neurological Disease. *Front. Microbiol.*, 2020, vol. 1, p. 540.

78. Manual for the virological investigation of polio, 4th edition. World Health Organization, Geneva, Switzerland, 2004, 157 p.

79. Mao Q., Cheng T., Zhu F., Li J., Wang Y., Li Y. et al. The cross-neutralizing activity of enterovirus 71 subgenotype c4 vaccines in healthy chinese infants and children. *PLoS One*, 2013, vol. 8, no. 11, p. e79599.
80. Maynell L.A., Kirkegaard K., Klymkowsky M.W. Inhibition of poliovirus RNA synthesis by brefeldin A. *J Virol*, 1992, vol. 66, no. 4, pp. 1985-1994.
81. Melia C.E., Van der Schaar H.M., De Jong A.W. M., Lyoo H.R., Snijder E.J., Koster A.J., et al. The Origin, Dynamic Morphology, and PI4P-Independent Formation of Encephalomyocarditis Virus Replication Organelles. *mBio*, 2018, vol. 9, no. 2, pp. e00420-18.
82. Messacar K., Abzug M.J., Dominguez S.R. 2014 outbreak of enterovirus D68 in North America. *J Med Virol*, 2016, vol. 88, no. 5, pp. 739-745.
83. Modrow S., Falke D., Truyen U., Schätzl H. Viruses with Single-Stranded, Positive-Sense RNA Genomes. In: *Molecular Virology*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2013, pp. 186-339.
84. Moore M., Morens D.M. Enteroviruses, including polioviruses. In: *Textbook of human virology*. Ed. Belshe R.B., PSG Publishing, Littleton, 1984, pp. 407-483.
85. Muehlenbachs A., Bhatnagar J., Zaki S.R. Tissue tropism, pathology and pathogenesis of enterovirus infection. *J Pathol*, 2015, vol. 235, no. 2, pp. 217-228.
86. National Committee for the Certification of Wild Poliovirus Eradication in Hong Kong (NCC). Fifteen years of acute flaccid paralysis surveillance in Hong Kong: findings from 1997 to 2011. *J Paediatr Child Health*, 2014, vol. 50, no. 7, pp. 545-552.
87. Nayak G., Bhuyan S. K., Bhuyan R., Sahu A., Kar D., Kuanar A. Global emergence of Enterovirus 71: a systematic review. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 2022, vol. 11, no. 1, p. 78.
88. Nguyen N.T., Pham H.V., Hoang C.Q., Nguyen T.M., Nguyen L.T., Phan H.C., et al. Epidemiological and clinical characteristics of children who died from hand, foot and mouth disease in Vietnam, 2011. *BMC Infect Dis*, 2014, vol. 14, p. 341.
89. Nguyen T.T., Chiu C.H., Lin C.Y., Chiu N.C., Chen P.Y., Le T.T.V., et al. Efficacy, safety, and immunogenicity of an inactivated, adjuvanted enterovirus 71

vaccine in infants and children: a multiregion, double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet*, 2022, vol. 399, no. 10336, p. 1708-1717.

90. Nhan L.N.T., Khanh T. H., Hong N.T.T., Van H.M.T., Nhu L.N.T., Ny N.T.H., et al. Clinical, etiological and epidemiological investigations of hand, foot and mouth disease in southern Vietnam during 2015 – 2018. *PLoS Negl Trop Dis*, 2020, vol. 14, no. 8, p. e0008544.

91. Nhan L.N.T., Turner H.C., Khanh T.H., Hung N.T., Lien L.B., Hong N.T.T., et al. Economic Burden Attributed to Children Presenting to Hospitals With Hand, Foot, and Mouth Disease in Vietnam. *Open Forum Infect Dis*, 2019, vol. 6, no. 7, p. ofz284.

92. Nikonov O.S., Chernykh E.S., Garber M.B., Nikonova E.Y. Enteroviruses: Classification, Diseases They Cause, and Approaches to Development of Antiviral Drugs. *Biochemistry (Mosc)*, 2017, vol. 82, no. 13, p. 1615-1631.

93. 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, vol. 44, no. 8, pp. 2698-2704.

94. Nomoto A. Molecular aspects of poliovirus pathogenesis. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*, 2007, vol. 83, no. 8, pp. 266-275.

95. Oberste M.S., Gerber S.I. Enteroviruses and Parechoviruses: Echoviruses, Coxsackieviruses, and Others. In: *Viral Infections of Humans: Epidemiology and Control*. Ed. Kaslow R.A., Stanberry L.R., Le Duc J.W., 2014, Springer US, Boston, MA. pp. 225-252.

96. Odoom J.K., Ntim N.A.A., Sarkodie B., Addo J., Minta-Asare K., Obodai E. Evaluation of AFP surveillance indicators in polio-free Ghana, 2009-2013. *BMC Public Health*, 2014, vol. 14, p. 687.

97. O'Reilly K.M., Grassly N.C., Allen D.J., Bannister-Tyrrell M., Cameron A., Martin A.C., et al. Surveillance optimisation to detect poliovirus in the pre-eradication era: a modelling study of England and Wales. *Epidemiology & Infection*, 2020, vol. 148, p. e157.

98. Palacios G., Oberste M. S. Enteroviruses as agents of emerging infectious diseases. *Journal of neurovirology*, 2005, vol. 11, no. 5, pp. 424-433.

99. Pallansch M., Roos R. Enteroviruses: Polioviruses, Coxsackieviruses, Echoviruses, and Newer Enteroviruses. In: Fields Virology, 5th Edition. Ed. Knipe D.M., Howley P.M., Lippincott Williams, Wilkins, 2007, vol. 1, pp. 839-895.
100. Paul A. V., Van Boom J. H., Filippov D., Wimmer E. Protein-primed RNA synthesis by purified poliovirus RNA polymerase. *Nature*. 1998, vol. 393, pp. 280-284
101. Perera D., Podin Y., Akin W., Tan C. S., Cardoso M. J. Incorrect identification of recent Asian strains of Coxsackievirus A16 as human enterovirus 71: improved primers for the specific detection of human enterovirus 71 by RT PCR. *BMC Infect Dis*, 2004, vol. 4, p. 11.
102. Picornaviridae. Chapter 26. In Fenner's Veterinary Virology (Fourth Edition), Editors MacLachlan N.J., Dubovi E.J. 2011, Academic Press: San Diego, pp. 425-441.
103. Polio Eradication Strategy 2022–2026: delivering on a promise. Geneva, WHO. 2021. Available online: <https://polioeradication.org/wp-content/uploads/2022/06/Polio-Eradication-Strategy-2022-2026-Delivering-on-a-Promise.pdf> [10/03/2026].
104. Pons-Salort M., Grassly N.C. Serotype-specific immunity explains the incidence of diseases caused by human enteroviruses. *Science*, 2018, vol. 361, no. 6404, pp. 800-803.
105. Puenpa J., Auphimai C., Korkong S., Vongpunsawad S., Poovorawan Y. Enterovirus A71 Infection, Thailand, 2017. *Emerg Infect Dis*, 2018, vol. 24, no. 7, pp. 1386-1387.
106. Puenpa J., Wanlapakorn N., Vongpunsawad S., Poovorawan Y. The history of enterovirus A71 outbreaks and molecular epidemiology in the Asia-Pacific region. *Journal of biomedical science*, 2019, vol. 26, no. 1, p. 75.
107. Racaniello V.R. One hundred years of poliovirus pathogenesis. *Virology*, 2006, vol. 344, no. 1, pp. 9-16.
108. Rao C.D. Enteroviruses in gastrointestinal diseases. *Reviews in Medical Virology*, 2021, vol. 31, no. 1, pp.1-12.
109. Ray C.G. Enteroviruses. In: Sherris Medical Microbiology, 4th Edition. Ed. Ryan K.J., Ray C.G., The McGraw-Hill Companies, 2004, pp. 531-541.

110. Rhoades R.E., Tabor-Godwin J.M., Tsueng G., Feuer R. Enterovirus Infections of the Central Nervous System Review. *Virology*, 2011, vol. 411, no. 2, pp. 288–305.
111. Rhodes A.J. Classification and nomenclature of the poliomyelitis group of viruses. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1953, vol. 56, no. 3, pp. 596-600.
112. Roberts G.B.S., Boyd J.F. The histopathology of enterovirus infections of newborn mice. *Journal of Infection*, 1987, vol. 15, no. 1, pp. 45-56.
113. Romanenkova N.I., Golitsyna L.N., Nguyen T.T.T., Ponomareva N.V., Leonov A.V., Kanaeva O.I., et al. Epidemiological and etiological aspects of enterovirus infection in Russia and Vietnam. *Russian Journal of Infection and Immunity*, 2021, vol. 11, no. 5, pp. 905–916.
114. Romanenkova N.I., Nguyen T.T.T., Golitsyna L.N., Ponomareva N.V., Rozaeva N.R., Kanaeva O.I., et al. Enterovirus 71-Associated Infection in South Vietnam: Vaccination Is a Real Solution. *Vaccines (Basel)*, 2023, vol. 11, no. 5, p. 931.
115. Romero-Brey I., Merz A., Chiramel A., Lee J. Y., Chlanda P., Haselman U., et al. Three-dimensional architecture and biogenesis of membrane structures associated with hepatitis C virus replication. *PLoS Pathog*, 2012, vol. 8, no. 12, p. e1003056.
116. Royston L., Tapparel C. Rhinoviruses and Respiratory Enteroviruses: Not as Simple as ABC. *Viruses*, 2016, vol. 8, no. 1, p. 16.
117. Sabanathan S., Thwaites L., Wills B., Qui P.T., van Doorn H.R. Enterovirus 71 related severe hand, foot and mouth disease outbreaks in South-East Asia: current situation and ongoing challenges. *J Epidemiol Community Health*, 2014, vol. 68, no. 6, pp. 500-502.
118. Sabin A.B., Boulger L.R. History of Sabin attenuated poliovirus oral live vaccines. *J Biol Stand*, 1973, vol. 1, pp. 115–118.
119. Saraswathy T.S., Zahrin H.N., Apandi M.Y., Kurup D., Rohani J., Zainah S., Khairullah N.S. Acute flaccid paralysis surveillance: looking beyond the global poliomyelitis eradication initiative. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 2008, vol. 39, no. 6, pp. 1033-1039.

120. Schlesinger R.W., Morgan I.M., Olitsky P.K. Transmission to Rodents of Lansing Type Poliomyelitis Virus Originating in the Middle East. *Science*, 1943, vol. 98, no. 2551, pp. 452-454.
121. Sinclair W., Omar M. Enterovirus. StatPearls. Publishing 31 Jul 2023. Available online: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562330/> [10/03/2026].
122. Solomon T., Lewthwaite P., Perera D., Cardoso M.J., McMinn P., Ooi M.H. Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of enterovirus 71. *Lancet Infect Dis*, 2010, vol. 10, no. 11, pp. 778-790.
123. Statement following the Thirty-eighth Meeting of the IHR Emergency Committee for Polio. Available online: <https://www.who.int/news/item/08-04-2024-statement-following-the-thirty-eighth-meeting-of-the-ihf-emergency-committee-for-polio> [10/03/2026].
124. Strikas R.A., Anderson L.J., Parker R.A. Temporal and geographic patterns of isolates of nonpolio enterovirus in the United States, 1970-1983. *J Infect Dis*, 1986, vol. 153, no. 2, pp. 346-351.
125. Suhy D.A., Giddings Jr. T.H., Kirkegaard K. Remodeling the endoplasmic reticulum by poliovirus infection and by individual viral proteins: an autophagy-like origin for virus-induced vesicles. *J Virol*, 2000, vol. 74, no. 19, pp. 8953-8965.
126. Sun H., Gao M., Cui D. Molecular characteristics of the VP1 region of enterovirus 71 strains in China. *Gut Pathog*, 2020, vol. 12, p. 38.
127. Suresh S., Forgie S., Robinson J. Non-polio Enterovirus detection with acute flaccid paralysis: A systematic review. *J Med Virol*, 2018, vol. 90, no. 1, pp. 3-7.
128. Takahashi S., Metcalf C. J. E., Arima Y., Fujimoto T., Shimizu H., Rogier van Doorn H., et al. Epidemic dynamics, interactions and predictability of enteroviruses associated with hand, foot and mouth disease in Japan. *J R Soc Interface*, 2018, vol. 15, no. 146, p. 20180507.
129. Tan L.V., Thai L.H., Phu N.H., Nghia H.D.T., Chuong L.V. Viral aetiology of central nervous system infections in adults admitted to a tertiary referral hospital in southern Vietnam over 12 years. *PLoS Negl Trop Dis*, 2014, vol. 8, no. 8, p. e3127.

130. Taylor M.P., Burgon T.B., Kirkegaard K., Jackson W.T. Role of microtubules in extracellular release of poliovirus. *Journal of virology*, 2009, vol. 83, no. 13, pp. 6599-6609.
131. Thao N.T.T., Donato C., Trang V.T.H., Kien N.T., Trang P.M.T., Khanh T.Q., et al. Evolution and Spatiotemporal Dynamics of Enterovirus A71 Subgenogroups in Vietnam. *J Infect Dis*, 2017, vol. 216, no. 11, pp. 1371-1379.
132. Thoa L.P.K., Chiang P.S., Khanh T.H., Luo S.T., Dan T.N.H., Wang Y.F., et al. Genetic and antigenic characterization of enterovirus 71 in Ho Chi Minh City, Vietnam, 2011. *PLoS One*, 2013, vol. 8, no. 7, p. e69895.
133. Tran C.B.N., Nguyen H.T., Phan H.T.T., Tran N.V., Wills B., Farrar J., et al. The seroprevalence and seroincidence of enterovirus71 infection in infants and children in Ho Chi Minh City, Viet Nam. *PloS one*, 2011, vol. 6, no. 7, p. e21116.
134. van der Schaar H.M., Dorobantu C.M., Albuлесcu L., Strating J.R., van Kuppeveld F.J. Fat(al) attraction: Picornaviruses Usurp Lipid Transfer at Membrane Contact Sites to Create Replication Organelles. *Trends Microbiol*, 2016, vol. 24, no. 7, p. 535-546.
135. Van Pham H., Hoang T.N., Duong H.T., Phan L.T., Phan U.T., Ho N.X., Hoang C. Q. Clinical characteristics of hand, foot and mouth disease in Daklak Province, Vietnam and associated factors of severe cases. *Virus disease*, 2017, vol. 28, no. 4, pp. 430-433.
136. Van Tu P., Thao N.T.T., Perera D., Truong K. H., Tien N.T.K., Thuong T.C., et al. Epidemiologic and virologic investigation of hand, foot, and mouth disease, southern Vietnam, 2005. *Emerg Infect Dis*, 2007, vol. 13, no. 11, pp. 1733-1741.
137. Viktorova E.G., Nchoutmboube J.A., Ford-Siltz L. A., Iverson E., Belov G.A. Phospholipid synthesis fueled by lipid droplets drives the structural development of poliovirus replication organelles. *PLoS Pathog*, 2018, vol. 14, no. 8, p. e1007280.
138. Wang C., Li J., Liu Y., Sun Q., Liu Z. Pathogenesis of enterovirus infection in central nervous system. *Biosafety and Health*, 2023, vol. 5, no. 4, pp. 233-239.

139. Wang J., Zhang S. Epidemiological characteristics and trends of hand-foot-mouth disease in Shanghai, China from 2011 to 2021. *Front Public Health*, 2023, vol. 11, p. 1162209.
140. Welsch S., Miller S., Romero-Brey I., Merz A., Bleck C.K., Walther P., et al. Composition and three-dimensional architecture of the dengue virus replication and assembly sites. *Cell Host Microbe*, 2009, vol. 5, no. 4, p. 365-375.
141. Wessels E., Duijsings D., Notebaart R.A., Melchers W.J., Van Kuppeveld F.J. A proline-rich region in the coxsackievirus 3A protein is required for the protein to inhibit endoplasmic reticulum-to-golgi transport. *J Virol*, 2005, vol. 79, no. 8, pp. 5163-5173.
142. WHO Global action plan for poliovirus containment. 4th edition, 2022. Available online: <https://polioeradication.org/wp-content/uploads/2022/07/WHO-Global-Action-Plan-for-Poliovirus-Containment-GAPIV.pdf> [10/03/2026].
143. WHO. Polio Case Count. Available online: <https://extranet.who.int/polis/public/CaseCount.aspx> [10/03/2026].
144. World Health Organization & UNICEF Viet Nam. World Immunization Week: WHO and UNICEF encouraging efforts in Viet Nam to catch up on routine childhood vaccinations. WHO Viet Nam Newsroom. April 28 2023. Available online: <https://www.who.int/vietnam/news/detail/28-04-2023-world-immunization-week--who-and-unicef-encouraging-efforts-in-viet-nam-to-catch-up-on-routine-childhood-vaccinations> [10/03/2026].
145. Xie Z., Khamrin P., Maneekarn N., Kumthip K. Epidemiology of Enterovirus Genotypes in Association with Human Diseases. *Viruses*, 2024, vol. 16, no. 7, pp. 1165.
146. Yan D., Li L., Zhu S., Zhang Y., An J., Wang D., et al. Emergence and localized circulation of a vaccine-derived poliovirus in an isolated mountain community in Guangxi, China. *J Clin Microbiol*, 2010, vol. 48, no. 9, pp. 3274-3280.
147. Zaoutis T., Klein J.D. Enterovirus infections. *Pediatrics in review*, 1998, vol. 19, no. 6, pp. 183-191.

148. Zell R., Delwart E., Gorbalenya A.E., Hovi T., King A.M.Q., Knowles N.J., et al. ICTV Virus Taxonomy Profile: Picornaviridae. *J Gen Virol*, 2017, vol. 98, no. 10, pp. 2421-2422.
149. Zhong T., Zhang L.Y., Wang Z.Y., Wang Y., Song F.M., Zhang Y.H., Yu J.H. Rheum emodin inhibits enterovirus 71 viral replication and affects the host cell cycle environment. *Acta Pharmacol Sin*, 2017, vol. 38, no. 3, pp. 392-401.
150. Zhu F.C., Meng F.Y., Li J.X., Li X.L., Mao Q.Y., Tao H., et al. Efficacy, safety, and immunology of an inactivated alum-adjuvant enterovirus 71 vaccine in children in China: a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet*, 2013, vol. 381, no. 9882, pp. 2024-2032.
151. Zhu F., Xu W., Xia J., Liang Z., Liu Y., Zhang X., et al. Efficacy, safety, and immunogenicity of an enterovirus 71 vaccine in China. *N Engl J Med*, 2014, vol. 370, no. 9, pp. 818-828.
152. Zhu P., Ji W., Li D., Li Z., Chen Y., Dai B., et al. Current status of hand-foot-and-mouth disease. *J Biomed Sci*, 2023, vol. 30, no. 1, p. 15.