

го запаху нафтопродуктів, тоді як поліефіри на основі ксиліту Л-805 та пропіленгліколю Л-10002 не впливають на цей показник.

3. Вплив Л-564 і Л-805 на організм людини властивості води супроводжується виникненням гірко-в'язкого присмаку.

4. Усі досліджувані речовини виявляють здатність утворювати піну.

5. У концентраціях до 100,0 мг/л поліефіри не впливають на кольоровість і прозорість водних розчинів.

6. Результати проведених досліджень дозволяють рекомендувати як порогову за організмом ознакою шкідливості концентрацію у воді Л-564 і Л-805 на рівні 0,3 мг/л, а Л-10002 — 0,1 мг/л (лімітуючий критерій — піноутворення).

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Деревянко Я.Я. Пути снижения негативного влияния окружающей природной среды на здоровье населения / Я.Я. Деревянко, Т.Б. Рахимова // Экология и здоровье человека. Охрана водного и воздушного бассейнов. — Бердянск, 2008. — Т. 1. — С. 3-6.

2. Никула Е.Т. Основные этапы комплексной медико-экологической оценки влияния отрицательных факторов окружающей среды на здоровье населения / Е.Т. Никула, М.Ю. Антомонов // Гигиена населенных мест. — 2004. — С. 356-360.

3. Эксплуатация, реконструкция и охрана водных объектов в городе / И.Г. Бойкова [и др.]. — М.: [б.и.], 2008. — 256 с.

4. Луцевич И.Н. Изучение токсичности продуктов трансформации химических веществ в условиях острого опыта // Здоровье населения и окружающая среда. — Саратов: СГУ, 1986. — С. 68-70.

5. Штабский Б.М. О методике исследования и гигиенической оценке стабильности и трансформации вредных веществ в воде в процессе хлорирования / Б.М. Штабский, В.И. Федоренко // Гигиена и санитария. — 1982. — № 5. — С. 64-66.

6. Теоретико-методичні основи екологічного аналізу систем водопостачання та водовідведення / Ю.Г. Бондаренко, Л.І. Білик, М.М. Олексієнко та ін. — Черкаси: Вертикаль, 2004. — 142 с.

Надійшла до редакції 06.02.2011.

## MOLECULAR BIOLOGICAL RESEARCH AND PROJECTING OF GENOTYPE-SPECIFIC EFFICACY OF ROTAVIRUS VACCINE ON THE TERRITORY OF UKRAINE

Dzyublyk I., Obertynska O., Solovyov S., Trokhymenko O.

### МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ПРОГНОЗУВАННЯ ГЕНОТИП-СПЕЦИФІЧНОЇ ЕФЕКТИВНОСТІ ПРОТИРОТАВІРУСНОЇ ВАКЦИНИ НА ТЕРИТОРІЇ УКРАЇНИ

**П**

острі кишкові інфекції (ГКІ) є однією з найбільш значущих проблем охорони здоров'я в усіх країнах світу. Спектр збудників, що викликають ГКІ, різноманітний (патогенні та умовно-патогенні бактерії, найпростіші, а також віруси). Серед них саме ротавірусної інфекції (РВІ) належить провідна роль у структурі вірусних діарейних захворювань у новонароджених і дітей віком до 5 років. Щорічно в усьому світі мільйони дітей хворіють на тяжку форму ротавірусної діареї, з яких понад 440 тисяч помирають, переважно у країнах, що розвиваються [1]. 2006 року лише у країнах Європейського Союзу було зареєстровано 3600 тисяч випадків ротавірусної інфекції, 87 тисяч госпіталізацій, 213 летальних результати [2]. В Україні ГКІ вірусної етіології недостатньо вивчені у зв'язку з

**ДЗЮБЛИК І.В.,  
ОБЕРТИНСЬКА О.В.,  
СОЛОВЙОВ С.О.,  
ТРОХИМЕНКО О.П.**

Національна медична академія післядипломної освіти  
ім. П.Л. Шупика МОЗ України,  
м. Київ

УДК 616.988:578.823.91-084-  
037.615.371:614.47:577.2.001.  
5(417)

**МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ И ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ГЕНОТИП-СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВОРОТАВИРУСНОЙ ВАКЦИНЫ НА ТЕРРИТОРИИ УКРАИНЫ**

**Дзюблик И.В., Обертинская О.В., Соловьев С.А., Трохименко Е.П.**

Острые кишечные инфекции (ОКИ) являются одной из наиболее значимых проблем здравоохранения во всех странах мира, спектр возбудителей которых разнообразен и включает в себя патогенные и условно-патогенные бактерии, простейшие, а также вирусы. Среди них именно ротавирусной инфекции (РВИ) принадлежит ведущая роль в структуре вирусных диарейных заболеваний у новорожденных и детей в возрасте до 5 лет. Целью работы было прогнозирование генотип-специфической эффективности противоротавирусной вакцины, содержащей штамм ротавирус человека RIX4114 с генотипом G1P[8], на основе молекулярно-биологических исследований циркуляции ротавирусных разных генотипов среди детей с ОКИ в разных регионах Украины. В результате исследования была спрогнозирована ее высокая эффективность при условии использования ее на территории Украины для профилактики тяжелых форм РВИ.

**Ключевые слова:** ротавирусы, противоротавирусная вакцина, генотипы, эффективность, специфическая профилактика.

© Дзюблик І.В., Обертинська О.В., Соловйов С.О., Трохименко О.П. СТАТТЯ, 2011.

тим, що обстеження пацієнтів з симптомами гастроентеритів здійснюється переважно на наявність бактеріальних патогенів з використанням стандартних мікробіологічних методів. У рідкісних випадках цей перелік доповнюється дослідженням клінічного матеріалу простими/швидкими тестами або застосовуються комерційні імуноферментні тест-системи для виявлення антигенів ротавірусів групи А. У результаті майже половина випадків ГКІ (28381-46134 щорічно) залишаються етіологічно нерозшифрованими і належать до кишкових інфекцій невстановленої етіології [3]. Проте нині вже розроблено молекулярно-біологічні методи виявлення РНК ротавірусів у клінічному матеріалі на основі полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією (ЗТ-ПЛР), ампліфікацією та подальшою детекцією утворених ампліфікатів електрофорезом в агарозному гелі або гібридизаційно-флуоресцентною детекцією у "реальному часі" або за "кінцевою точкою". На їх основі сконструйовано сучасні високочувливі і високоспецифічні мультиплексні тест-системи для одночасного виявлення генетичного матеріалу збудників ГКІ, зокрема рота-, норо-, астровірусів у клінічних пробах [4]. Разом з тим методи G/P-генотипування ротавірусів з використанням ЗТ-ПЛР почали розробляти та застосовувати як сучасні "інструменти" при вивченні циркуляції ротавірусів серед людей у різних регіонах світу, що нині є особливо актуальним у контексті реалізації програм з вакцинопрофілактики ротавірусної інфекції у дітей. На часі живу атенуйовану протиротавірусну вакцину зареєстровано в Україні, а вакцинація нею дітей від 6 тижнів до 2-х років (у закритих дитячих закладах для профілактики гастроентеритів, що викликані ротавірусом) включена до календаря профілактичних щеплень України, затвердженого наказом МОЗ України № 765 від 09.09.2010 р. (Розділ 4. Рекомендовані щеплення) [5].

**Мета роботи** полягала у прогнозуванні генотип-специфічної ефективності протиротавірусної вакцини, що містить штам ротавірусів людини RIX4114, на основі молекулярно-біологічних досліджень циркуляції ротавірусів різних



## ПРОБЛЕМИ САНІТАРНОЇ МІКРОБІОЛОГІЇ ТА ВІРУСОЛОГІЇ

генотипів серед дітей з ГКІ у різних регіонах України.

**Матеріали та методи.** Вірусологічними та молекулярно-біологічними дослідженнями було охоплено 600 дітей (клінічний матеріал) віком до 5 років з ГКІ, які перебували на лікуванні у педіатричних відділеннях Київської дитячої клінічної інфекційної лікарні № 2, дитячої клінічної лікарні м. Києва № 2 (181 дитина), дитячих відділень Комунальної інфекційної клінічної лікарні м. Львова (97 дітей), клінічної лікарні м. Умані (99 дітей), педіатричних відділень обласних лікарень Одеської (70 дітей), Сумської (100 дітей), Харківської (100 дітей) областей. Індикацію рота-, норо-, астро- та аденовірусних антигенів у клінічному матеріалі здійснювали методом імунохроматографічного аналізу (ІХА), використовуючи прості/швидкі тести CitoTest Rota, SerTest (Іспанія), методом імуноферментного аналізу (ІФА) з використанням тест-систем Ridascreen®ELISA (R-biopharm, Німеччина) та методом мультиплексної ЗТ-ПЛР з гібридизаційно-флуоресцентною детекцією продуктів ампліфікації "за кінцевою точкою" тест-системою АмпліСенс®Rotavirus-EPH (ФГУН ЦНДІ епідеміології Росспоживнагляду). Генотипування ротавірусів у позитивних пробах здійснювали за допомогою адаптованої до практичного застосування методики [P]G генотипування ротавірусів групи А за А.Т. Подколзіним [6]. Прогнозування генотип-специфічної ефективності вакцини проводили за методом J. Rose [7].

**Результати та обговорення.** Було показано, що віруси-збудники гострих діарейних інфекцій відіграють провідну роль у структурі ГКІ у дітей молодшого віку в Україні і виявляються у 44,9% клінічних проб фекалій, відібраних у зимовий період. Серед них норо- і ротавіруси відповідно ста-

новили 18,6% і 17,1% випадків, а їхня питома вага у структурі вірусних гастроентеритів становила 42% і 37% відповідно, тому ці віруси можна розглядати як основні етіологічні агенти ГКІ у дітей на території України. Разом з цим кількість позитивних знахідок астро- та аденовірусів мала статистично більш низький рівень значущості ( $p < 0,001$ ). Асоційовані інфекції були визначені у 6,5% дітей (відносна густина асоціації ротавіруси/норовіруси становила 35,1%, ротавіруси/астровіруси — 21,6%, норовіруси/астровіруси — 10,8%, ротавіруси/аденовіруси — 16,2%, аденовіруси/норовіруси — 10,8%). Питома вага практично всіх збудників вірусних інфекцій, з винятком аденовірусів, була в 1,5-2,5 рази вищою у південно-західній частині країни. За досліджений період у структурі ГКІ вірусної етіології у різних містах України ротавіруси становили у Львові 51%, в Одесі — 42%, у Чернігові та Сумах — 15%, у Харкові — 30%, у Києві — 20%. Підтверджено зимово-весняну сезонність ротавірусної інфекції, оскільки максимальну кількість випадків РВІ було виявлено у дітей у січні та лютому. У віковій групі дітей до 3 років середня частота виявлення ротавірусів була найбільшою і становила  $70,1 \pm 4,0\%$ .

Враховуючи значну небезпеку РВІ, особливо для дітей перших років життя, у багатьох країнах, у тому числі і в Україні, впроваджується специфічна профілактика РВІ, проте цілковита відсутність будь-якої інформації щодо генотипів циркулюючих ротавірусів серед хворих на ГКІ унеможливає впровадження вакцинації та попередження зростаючого числа спалахів РВІ. У результаті генотипування відібраних 210 позитивних зразків у 176 випадках (83,8%) було виявлено Р-генотипи, у 182 випадках — G-генотипи ротавірусів (86,6%). У 3,3% зразків не було виявлено

P-генотип, у 4,3% — G-генотип, у 5,7% випадків не виявлялися обидва генотипи. У досліджений період було виявлено циркуляцію чотирьох основних генотипів РВ групи А: G1P[8], G4P[8], G3P[8], G2P[4]. Слід зазначити, що у Києві, Львові, Одесі та Харкові більшість випадків РВІ (понад 70%) була викликана ротавірусом групи А з генотипом G1P[8]. У Сумах домінував генотип G4P[8]. В Одесі в окремих випадках було виявлено ротаві-

Використовуючи дані щодо циркуляції трьох підгруп штамів ротавірусів за гомологією до вакцинного штаму як значущі ваги, у місті Києві та Одеській області за методом [7] на основі одержаних результатів було розраховано прогнозну генотип-специфічну ефективність протиротавірусної вакцини проти ГКІ, спричинених ротавірусами, з тяжкістю за шкалою Vesikari <11 та >11 балів. Розрахунок проводили за формулою:

$$\text{Повна ефективність вакцини} = \sum_{i=1}^3 \frac{\text{Частка групи штамів певної гомології}}{\text{Генотип-специфічна ефективність вакцини проти штамів певної гомології}}$$

руси генотипу G9P[8]. Загальну картину циркуляції ротавірусів різних генотипів представлено на рисунку 1.

Результати молекулярно-генетичного дослідження циркуляції ротавірусів серед населення України були згруповані у кожному випадку за гомологією до вакцинного штаму ротавірусів RIX4114 з генотипом G1P[8], визначено частку кожної групи серед усіх позитивних знахідок (рис. 2).

Ці підгрупи відповідають різним ступеням гомології з вакцинним штамом G1P[8]: співпадають за G- та P-генотипами, співпадають тільки за G- або P-генотипом та не співпадають за жодним з генотипів.

У формулі використані попередньо розраховані частки групи штамів певної гомології в інтервалі [0, 1] (рис. 2) та літературні дані щодо генотип-специфічної ефективності вакцини проти штамів ротавірусів певної гомології, отримані під час клінічних досліджень вакцини в 11 латиноамериканських країнах та Фінляндії [8, 9].

При розрахунках прогнозована ефективність вакцини для України була встановлена на рівні — 0,814 проти ротавірусного гастроентериту з тяжкістю за шкалою Vesikari <11 балів, 0,812 — проти тяжкого ротавірусного гастроентериту з тяжкістю за шкалою Vesikari >11 балів (табл.).

За даними літератури відомо, що наведена методика прогнозування специфічної ефективності вакцини була перевірена з використанням даних фази II її клінічних досліджень у Фінляндії [7]. Використовуючи дані щодо поширення генотипів ротавірусів серед дітей у групі дослідження, було оцінено очікувану ефективність вакцини на рівні 0,859. Водночас, за даними клінічних спостережень, фактична ефектив-

ність вакцини у цій групі становила 0,86 (95% довірчий інтервал: 0,63-0,96), що підтверджує адекватність використаної методики [9].

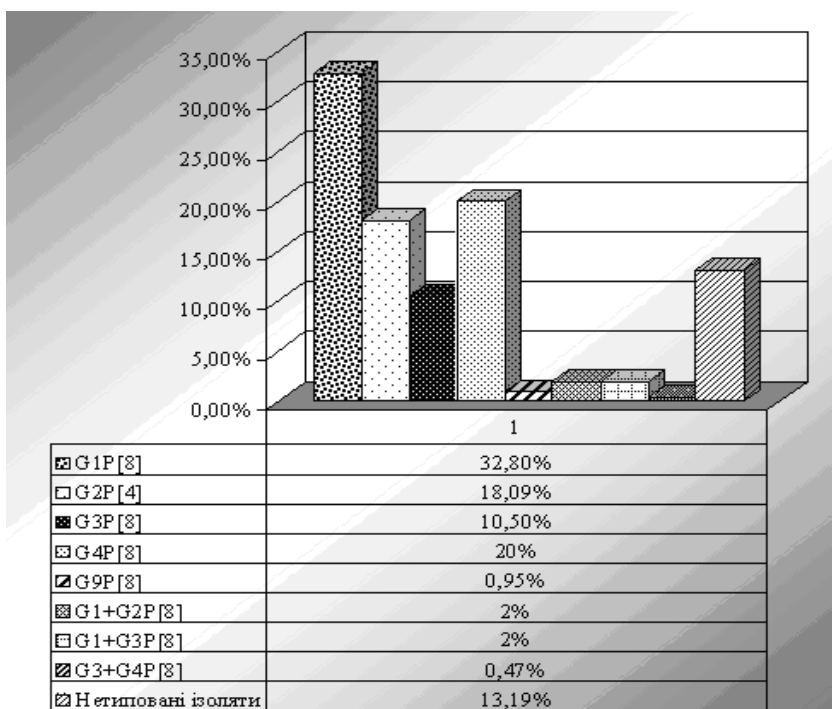
#### Висновки

Вперше було показано, що ротавіруси групи А з генотипами G1P[8], G4P[8], G3P[8], G2P[4] є основними етіологічними агентами виникнення вірусних гастроентеритів у дітей віком до трьох років в Україні, пік спорадичної захворюваності на які припадав на січень-лютий. На основі молекулярно-біологічних досліджень штамів ротавірусів в Україні спрогнозовано високу ефективність живої атенуйованої протиротавірусної вакцини на основі штаму RIX4114 з генотипом G1P[8] за умов її використання на території України для профілактики тяжких форм РВІ. Застосований метод прогнозування може бути корисним при прийнятті стратегічних рішень щодо масового використання протиротавірусної вакцини у масштабах усієї країни.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Rotavirus and severe childhood diarrhea / U.D. Parashar, C.J. Gibson, J.S. Bresse, R.I. Glass // Emerg. Infect. Dis. — 2006. — № 12. — P. 304-306.
2. Soriano-Gabarro M. Burden of rotavirus disease in European union countries / M. Soriano-Gabarro, J. Mrućowicz, T. Vesikari et al. // Pediatric Infect. Dis. — 2006. — Vol. 25. — P. 7-11.
3. Кракович А.В. Епідеміологічна характеристика ротавірусної інфекції та шляхи удосконалення епідеміологічного нагляду: автореф. дис. канд. мед. наук: 14.02.02 / А.В. Кракович. — К., 2006. — 24 с.
4. Разработка методик детекции возбудителей острых

**Рисунок 1**  
**Співвідношення G-, P-генотипів ротавірусів групи А, виділених на території України у 2006-2009 роках у дітей з гострою діареєю у зразках фекалій (N = 210)**



**MOLECULAR BIOLOGICAL RESEARCH AND PROJECTING OF GENOTYPE-SPECIFIC EFFICACY OF ROTAVIRUS VACCINE ON THE TERRITORY OF UKRAINE**

**Dzyublyk I., Obertynska O., Solovyov S., Trokhymenko O.**

Acute intestinal infections (AII) are one of the most significant health problems around the world, which spectrum of pathogens is diverse and include pathogenic and opportunistic bacteria, protozoa and viruses. Among them rotavirus infection (RVI) has a leading role in the structure of viral diarrhea in infants and children under 5

years old. The aim of the study was the projecting of the genotype-specific efficacy of rotavirus vaccine with strain of human rotavirus RIX4114 genotype G1P[8], based on molecular biological studies of different genotypes of rotavirus circulating among children with acute intestinal infections in different regions of Ukraine. The study predicted its high efficiency under the condition of its use on the territory of Ukraine for the prevention of severe forms of RVI.

**Keywords: rotavirus, rotavirus vaccine, genotypes, efficiency, specific prevention.**

кишечных инфекций на основе мультиплексной ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации "по конечной точке" / А.Т. Подколзин, Н.Ю. Абрамы-

чева, Е.Б. Фенске и др. // Генодиагностика инфекционных болезней: матер. Рос. науч.-практ. конф. — Новосибирск, 2005. — С. 216-221.

5. Про порядок проведення

профілактичних щеплень в Україні та контроль якості й обігу медичних імунобіологічних препаратів: наказ МОЗ України № 765.

6. Адаптированная к практическому применению методика [P]G генотипирования ротавирусов группы А / А.Т. Подколзин, Е.Б. Фенске, Н.Ю. Абрамычева и др. // Молекулярная диагностика. — 2007: сб. тр. VI Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. — М., 2007. — Т. 3. — С. 284-286.

7. Rose J. Simulating the impacts of mass vaccination with live attenuated human rotavirus vaccine in a developing country: Thesis/dissertation for the Doctor of Philosophy degree / J. Rose. — Case Western Reserve University. — January, 2010.

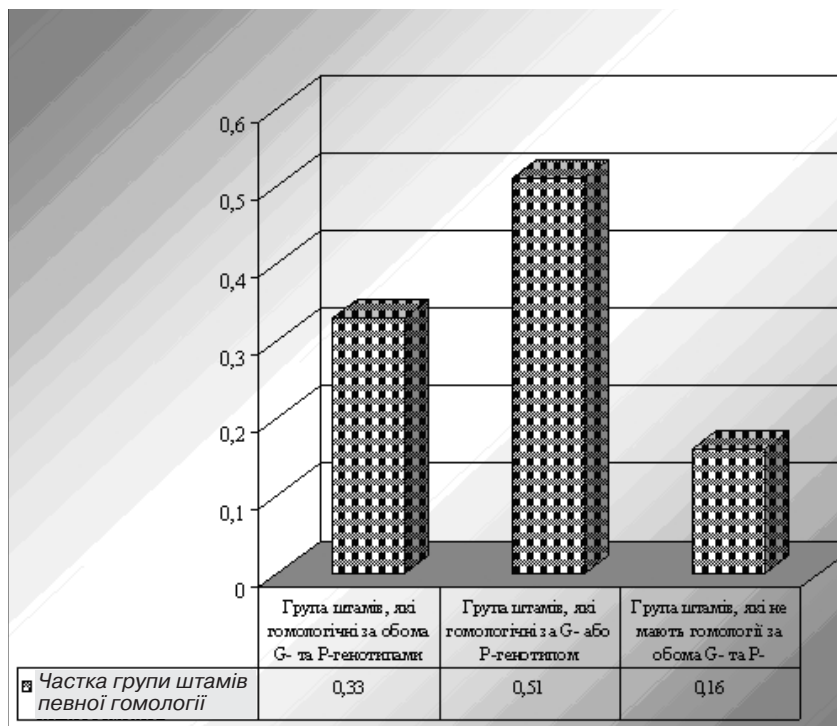
8. Evaluation of safety, immunogenicity and efficacy of an attenuated rotavirus vaccine, RIX4414: A randomized, placebo-controlled trial in Latin American infants / B. Salinas, Schael I. Perez, A.C. Linhares et al. // *Pediatr. Infect. Dis. J.* — 2005. — Vol. 24, № 9. — P. 807-816.

9. Efficacy of RIX4414 live attenuated human rotavirus vaccine in Finnish infants / T. Vesikari, A. Karvonen, L. Puustinen et al. // *Pediatr. Infect. Dis. J.* — 2004. — Vol. 23, № 10. — P. 937-943.

Надійшла до редакції 18.03.2011.

Таблиця

**Частки груп циркулюючих штамів ротавірусів відповідно до гомології вакцинному штаму RIX4114 з генотипом G1P[8]**



**Очікувана ефективність протиротавірусної вакцини на території України**

Антигенні білки, гомологічні білкам вакцинного штаму G1P[8]	Поширення генотипів на території України	Генотип-специфічна ефективність вакцини проти ротавірусного гастроентериту [8]		Результат	
		Тяжкість за шкалою Vesikari <11 балів	Тяжкість за шкалою Vesikari >11 балів	Тяжкість за шкалою Vesikari <11 балів	Тяжкість за шкалою Vesikari >11 балів
Гомологічні за G- та P-генотипами	0,33	0,918	0,908	0,303	0,3
Гомологічні за G- або P-генотипом	0,51	0,873	0,869	0,445	0,44
Не мають гомології за G- та P-генотипами	0,16	0,410	0,454	0,066	0,072
Сумарна ефективність				0,814	0,812