

## РОЛЬ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ДОКАЗАТЕЛЬСТВЕ ЭЛИМИНАЦИИ КОРИ

*Самойлович Е.О.<sup>1</sup>, Семейко Г.В.<sup>1</sup>, Ермолович М.А.<sup>1</sup>, Свирчевская Е.Ю.<sup>1</sup>,  
Высоцкая В.С.<sup>2</sup>, Глинска И.Н.<sup>2</sup>,  
<sup>1</sup>РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, <sup>2</sup>РЦГЭиОЗ,  
Беларусь, Минск*

*Статья посвящена анализу ситуации по кори, сложившейся в Республике Беларусь в 2018 г. на фоне значительного роста заболеваемости корью в Европейском регионе. Показано, что в течение года было зарегистрировано 259 случаев кори, из них 225 лабораторно подтверждены выявлением IgM антител и/или обнаружением РНК вируса кори, 34 являлись эпидемиологически связанными с лабораторно подтвержденными случаями. Результаты секвенирования вируса кори от 31 пациента показали, что они принадлежали к четырем генетическим вариантам: D8, Gir Somnath (2 варианта: вариант 1 – 19 пациентов, вариант 2 – 1 пациент), D8, Cambridge (2 пациента), B3, Dublin (9 пациентов). Данные эпидемиологического расследования каждого случая и результаты генотипирования вируса кори подтвердили наличие не менее 40 эпизодов завоза вируса кори на территорию Республики Беларусь. Выявлено 17 цепочек передачи вируса кори на территории отдельных регионов. Циркуляция каждого из выявленных генетических вариантов вируса продолжалась не более 2-3 месяцев после чего прекращалась, что в настоящее время позволяет исключить восстановление эндемичной циркуляции вируса кори и связать рост заболеваемости корью в Республике Беларусь в 2018 г. с многократными повторяющимися завозами вируса.*

**Ключевые слова:** *корь, вирус кори, генотипы, эндемичная передача.*

## MEASLES IN THE REPUBLIC OF BELARUS IN 2018: MULTIPLE REPEATED VIRUS IMPORTATIONS OR REINTRODUCTION OF ENDEMIC CIRCULATION

*Samoilovi E.O.<sup>1</sup>, Semeiko G.V.<sup>1</sup>, Yermalovich M.A.<sup>1</sup>, Svirchevskaya E.I.<sup>1</sup>,  
Visotskaya V.S.<sup>2</sup>, Hlinskaya I.N.<sup>2</sup>*

*<sup>1</sup>Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, <sup>2</sup>Republican center for hygiene, epidemiology and public health,  
Belarus, Minsk*

*The article analyzes the situation of measles in the Republic of Belarus in 2018 on the background of a significant increase in the incidence of measles in the European Region. It was shown that during this year 259 cases of measles were*

reported, of which 225 were laboratory confirmed by detecting IgM antibodies and/or detecting measles virus RNA, 34 were epidemiologically linked with laboratory confirmed cases. The results of sequencing the measles virus from 31 patients showed that they belonged to four genetic variants: D8, Gir Somnath (2 variants: first – 19 patients, second – 1 patient), D8, Cambridge (2 patients), B3, Dublin (9 patients). The data of the epidemiological investigation of each case and the results of the genotyping of the measles virus confirmed the presence of at least 40 episodes of the importation of the measles virus into the territory of the Republic of Belarus. 17 chains of measles virus transmission were identified in the regions. The circulation of each of the identified genetic variants of measles virus lasted no more than 2-3 months after which it stopped, that that allows us to exclude the reintroduction of measles virus the endemic circulation and associates the increased incidence of measles in the Republic of Belarus in 2018 with multiple repeated importation of virus.

**Key words:** measles, measles virus, genotypes, endemic transmission.

Успешное выполнение программы элиминации кори и краснухи в Европейском регионе ВОЗ в 2018 г. было омрачено существенным ростом заболеваемости (83540 случаев, что 3 раза больше в сравнении с 2017г. и в 15 раз больше в сравнении с 2016 г.) и наличием летальных случаев кори (74) [1]. Лидером по заболеваемости корью в регионе стала Украина (53218 случаев, 1209 на млн. населения). В число стран с высокой заболеваемостью корью (от 84,1 до 579,3 на млн. населения) вошли также Сербия, Грузия, Албания, Израиль, Черногория, Греция, Кыргызстан, Словакия, Республика Молдова [1].

В Республике Беларусь с конца 90-х годов прошлого столетия заболеваемость корью, как правило, не превышала показатель 1 на 100000 населения, в отдельные годы достигала показателя 1 на млн. населения или случаи кори вовсе не регистрировались. Результаты молекулярно-эпидемиологического мониторинга этой инфекции свидетельствовали, что, начиная с 2004г. эндемичная циркуляции вируса кори в нашей стране отсутствует. Достаточно часто отмечались завозы вируса кори в республику, и их частота, как правило, зависела от ситуации по этой инфекции в соседних странах, хотя имели место и завозы вируса из дальнего зарубежья (Таиланд, Объединенные Арабские Эмираты, Малайзия и др.). Среди заболевших более 70%, а в отдельные годы более 90% составляли взрослые [2, 3].

По итогам работы Европейской региональной комиссии по верификации элиминации кори за 2017г. Республика Беларусь была отнесена к странам, где корь элиминирована (т.е. эндемичная циркуляция вируса отсутствует по меньшей мере на протяжении 36 месяцев (2015-2016-2017 гг.)). В эту же группу стран вошли еще 37 из 53 стран Европейского региона [4].

Изменение эпидемической ситуации по кори в регионе в 2018 г. отразилось и на ситуации в Республике Беларусь. Начиная с середины февраля и до конца года случаи кори регистрировались ежемесячно.

Целью настоящего исследования явился анализ эпидемиологических данных и результатов генотипирования вируса кори для ответа на вопрос связан ли рост заболеваемости корью в Республике Беларусь в 2018 г. с частыми завозами вируса кори и их ограниченным распространением или он связан с восстановлением эндемичной циркуляции вируса кори.

Материалы и методы. В качестве подозрительных рассматривались случаи, соответствующие стандартному определению случая кори для целей эпидемиологического надзора [5, 6]. Выявление подозрительных на корь пациентов и направление клинического материала на лабораторное исследование проводилось в соответствии с Санитарными нормами и правилами «Требования к организации и проведению санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленных на предотвращение заноса, возникновения и распространения кори и краснухи» №130 от 26.12.2013 г. Лабораторное обследование всех подозрительных пациентов было выполнено в Республиканской референс-лаборатории по кори и краснухе (РНПЦ эпидемиологии и микробиологии).

В соответствии с рекомендациями ВОЗ основным методом исследования было выявление IgM антител к вирусам кори в ИФА [7]. В отдельных случаях (при сомнительном результате исследования IgM антител, при наличии клинической картины инфекции у ранее вакцинированного пациента) проводилось выявление нарастания концентрации IgG антител в парных сыворотках и обнаружение РНК вируса в клиническом материале в ПЦР [7]. Кроме того, выявление РНК вируса в ПЦР с последующим генотипированием вируса проводили для всех тех случаев, которые не имели четкой эпидемиологической связи с другим лабораторно подтвержденным случаем.

Антитела классов IgM и IgG к вирусам кори определяли с использованием соответствующих иммуноферментных тест-систем производства Siemens, Германия.

Выделение вирусной РНК из клинического материала выполняли с использованием набора «QIAamp Viral RNA Mini Kit» (QIAGEN, Германия).

С диагностической целью детекцию вирусной РНК в клиническом материале (сыворотка крови, носоглоточный мазок, моча) проводили методом одностадийной ОТ-ПЦР в режиме реального времени [8].

В целях генотипирования выполняли секвенирование С-терминальной области N-гена (450 нуклеотидов) вируса кори. Искомый фрагмент амплифицировали в гнездовой ОТ-ПЦР, описанной J.R. Kremer и соавт. [9]. Синтез ПЦР-продуктов анализировали методом электрофореза в 1,5% агарозном геле в трис-ацетатном буфере, pH 8,5 (0,04М трис-ацетат, 0,002М ЭДТА) с добавлением красителя бромистый этидий.

Аmplифицированные фрагменты кДНК вируса кори вырезали из геля, очищали с использованием набора QIAEX II Gel Extraction Kit (QIAGEN, Германия) и секвенировали в обоих направлениях с использованием набора BigDye Terminator v.3.1 Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems, США) на капиллярном секвенаторе (Model 3500 Avant, Applied Biosystems, США).

Множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей осуществляли с использованием алгоритма Clustal W, встроенного в программу BioEdit Sequence Alignment Editor v.7.0.9.0. Филогенетический анализ выполняли с помощью программы MEGA версии 6 [10]. Эволюционные расстояния между последовательностями определяли на основании двухпараметрической модели эволюции Кимура. Достоверность топологий филограм оценивали методом псевдореплик (анализировались 1000 псевдореплик).

В течение 2018г. в Республике Беларусь было выявлено и лабораторно обследовано на корь 667 подозрительных пациентов. Диагноз корь был подтвержден обнаружением IgM антител у 234 из них. Два пациента не были обследованы серологически, в их клиническом материале была выявлена РНК вируса кори. Таким образом, число случаев с подтвержденным диагнозом корь составило 236. Из них у 75 пациентов диагноз корь был подтвержден и серологическими и молекулярными методами. Среди лиц с подтвержденным диагнозом корь 231 составили граждане Республики Беларусь, и 5 – граждане Украины, временно пребывающие в Республике Беларусь. Как подозрительные на корь, так и лабораторно подтвержденные случаи кори были выявлены во всех регионах Республики Беларусь (табл. 1).

Секвенирование N-гена вируса кори было выполнено для 31 пациента. На основании результатов секвенирования было выявлено, что обнаруженные у пациентов вирусы кори принадлежали к четырем генетическим вариантам: D8, Gir Somnath (2 варианта: вариант 1 – 19 пациентов, вариант 2 – 1 пациент), D8, Cambridge (2 пациента), B3, Dublin (9 пациентов). Информация о нуклеотидных последовательностях всех выявленных вирусов кори передана в Международную базу данных MeaNS.

На основании результатов тщательного эпидемиологического расследования каждого выявленного случая кори и результатов генотипирования вируса было установлено, что на протяжении февраля-декабря 2018г. имели место не менее 40 эпизодов завоза вируса кори на территорию Республики Беларусь. В основном это были завозы вируса гражданами Республики Беларусь, выезжавшими в Украину или другие страны через аэропорт Борисполь (Украина), либо гражданами Украины, прибывшими в Республику Беларусь.

Таблица 1. Результаты лабораторных исследований на корь по регионам Республики Беларусь, 2018 г.

Регион	Число обследованных пациентов	Число выявленных случаев кори	Число исключенных случаев	Показатель исключенных случаев (на 100000 населения)
Брестская область	76	11	65	4,7
Витебская область	43	14	29	2,4
Гомельская область	210	120	90	6,4
Гродненская область	84	47	37	3,6
г. Минск	58	17	41	2,1
Минская область	97	19	78	5,5
Могилевская область	99	8	91	8,6
Республика Беларусь	667	236	431	4,5

На основании эпидемиологических данных и данных по генотипированию вирусов установлено, что некоторые завозы вируса привели к его дальнейшему распространению на территории отдельных регионов Республики Беларусь, другие выражались единичными случаями без распространения.

Всего в 2018 г. на территории Республики Беларусь было выявлено 17 цепочек передачи вируса кори. Для каждой из цепочек передачи был установлен генотип вируса. Цепочки передачи вируса кори были выявлены во всех регионах Республики Беларусь. В основном они являлись короткими (2-8 случаев), но были выявлены и 5 более длинных цепочек, которые включали от 17 до 76 случаев кори (Гродненская область, Волковысский район, вирус В3, Dublin, 38 случаев, продолжительность между днями начала сыпи у первого и последнего заболевшего – 12.02.2018-16.03.2018; Гомельская область, Жлобинский и Рогачевский районы, вирус D8, Gir Somnath, 76 случаев, продолжительность – 11.03.2018 – 02.06.2018; Брестская область, Малоритский район, вирус D8, Cambridge, 25 случаев, продолжительность – 09.04.2018 – 26.05.2018; Витебская область, г. Орша, вирус D8, Gir Somnath, 17 случаев, продолжительность – 18.06.2018 – 26.07.2018 г.). Наиболее продолжительной была вспышка, вызванная вирусом D8, Gir Somnath, в Гомельской области (около трех месяцев).

Завозные случаи кори без распространения включали 30 случаев. Они были классифицированы как завозные на основании эпидемиологических данных (в течение инкубационного периода пациент находился за пределами страны). Вирус кори был генотипирован в 6 из них (4 – D8, Gir Somnath, по одному – D8, Cambridge и В3, Dublin).

Выполненная в соответствии с результатами лабораторной диагностики, эпидемиологического расследования и генотипирования вируса классификация

случаев кори в зависимости от их происхождения представлена в таблице 2. Как следует из представленных данных, 40 случаев были классифицированы как завозные, 220 – как связанные с завозными, для 4 случаев кори происхождение установить не удалось (из страны не выезжал, с пациентами, подозрительными на корь, не контактировал).

Таблица 2. Классификация случаев кори, выявленных в Республике Беларусь в 2018 г., по происхождению инфекции

Корь	Лабораторно-подтверждённые	Эпидемиологически связанные	Клинически совместимые*	Всего
Завозные случаи	38	2	0	40
Связанные с завозными	188	32	0	220
Эндемичные	0	0	0	0
Неизвестно	4	0	0	4
Всего	230	34	0	264**

\* Клинически совместимый случай кори: подозрительный на основании клинических симптомов случай, который не был адекватно обследован в лаборатории и который не был связан эпидемиологически с лабораторно подтвержденным случаем кори.

\*\* 264 случая включают 259 случаев у граждан Республики Беларусь (включены в официальную регистрацию) и 5 – у граждан Украины, временно пребывающих в Республике Беларусь

Как известно, широта проведения лабораторных исследований на корь, на основании результатов которой рассчитывается показатель исключенных случаев, является важным критерием выполнения программы элиминации кори. В соответствии с рекомендациями ВОЗ, показатель исключенных случаев (т.е. случаев, для которых на основании результатов лабораторных исследований диагноз корь был отвергнут) должен составлять не менее 2 на 100000 населения в целом по стране и этот показатель должен быть достигнут на территории 80% и более регионов страны [4]. Как следует из представленных данных (таблица 1), показатель исключенных случаев кори в Республике Беларусь в 2018 г. составил 4,5 на 100 000 населения. Рекомендованный ВОЗ показатель (не менее 2 на 100 000) был достигнут в каждом из 7 регионов страны, что подтверждает соответствие эпидемиологического надзора за корью в стране международным стандартам.

Еще одним важным критерием выполнения программы элиминации кори является показатель лабораторных исследований, т.е. доля лабораторно подтвержденных случаев среди зарегистрированных [4]. По результатам эпидемиологического надзора за корью 2018 г. лабораторно-подтвержденными являлись 225 из зарегистрированных 259 случаев (5 случаев из 236 подтвержденных на основании результатов лабораторных исследований в 2018 г. были выявлены у граждан Украины, 6 случаев лабораторно подтверждены в конце декабря 2018 г. и включены в официальную регистрацию за 2019). Таким образом 86,9% зарегистрированных случаев кори получили лабораторное

подтверждение. Еще 34 случая (табл. 2) являлись эпидемиологически связанными с другим лабораторно подтвержденным случаем кори и, следовательно, не требовали обязательного лабораторного подтверждения. В соответствии с рекомендациями ВОЗ, при проведении эпидемиологического анализа их следует относить к лабораторно подтвержденным случаям. Случаев кори, в которых диагноз был бы установлен только на основании клинических симптомов без лабораторного обследования и без доказательства эпидемиологической связи (так называемых клинически совместимых случаев кори), зарегистрировано не было.

Как известно, критически важное значение для процесса верификации элиминации кори имеет мониторинг цепочек передачи вируса и способность страны различать эндемичные случаи и случаи, связанные с завозом вируса [4]. В соответствии с разработанными ВОЗ индикаторными показателями оценки качества надзора за корью на этапе элиминации ставится задача генотипирования вируса от 80% и более цепочек его передачи. Для выполнения этой задачи в Республике Беларусь было проведено тщательное эпидемиологическое расследование каждого выявленного случая кори. На основании имеющихся эпидемиологических данных проводился анализ первоочередной целесообразности молекулярно-генетических исследований вируса. При проведении молекулярно-генетических исследований основное внимание уделялось амплификации в ПЦР РНК вируса кори и последующему секвенированию N гена для определения генотипа по крайней мере для одного изолята от каждой цепочки его передачи. Кроме того, было важно генотипировать случаи новых завозов вируса кори на территорию страны, а также случаи неизвестного происхождения (из страны не выезжал, эпидемиологическая связь с другим случаем кори не выявлена).

Комплексный анализ эпидемиологических данных и результатов генотипирования вируса позволил установить наличие множественных завозов вируса кори на территорию Республики Беларусь (не менее 40). Ежегодные завозы вируса кори имели место и ранее [2, 3], однако с таким количеством завозов ранее сталкиваться не приходилось. Как и в предыдущие годы многие завозы вируса закончились единичным случаем кори и не привели к дальнейшему распространению вируса, что свидетельствует о существовании хорошей иммунной прослойки в окружении заболевшего. Однако, в отличие от предыдущих годов, когда только в 1-2 случаях происходило ограниченное распространение вируса кори [11, 12], в 2018 г. дальнейшее распространение вируса произошло в 17 случаях. Следует отметить, что цепочки передачи вируса были короткими (2-8 пациентов) и быстро прерывались. И лишь в 5 случаях имела место относительно продолжительная передача вируса, включавшая от 17 до 76 пациентов. Наиболее длительная цепочка передачи вируса кори Gir Somnath имела место в Гомельской области, но и она продолжалась не более трех месяцев, что позволяет исключить возобновление

эндемичной передачи вируса. В соответствии с определением ВОЗ, возобновление эндемичной передачи – это ситуация, при которой эпидемиологические и лабораторные данные свидетельствуют о наличии цепочек передачи вируса, которая непрерывно продолжается в течение 12 месяцев и более на определенной географической территории, где ранее была достигнута элиминация этой болезни [5].

Наличие случаев кори, происхождение которых установить не удалось (из страны не выезжал, с пациентами, подозрительными на корь не контактировал), несколько осложняет интерпретацию полученных результатов, поскольку причиной таких случаев может быть нераспознанная циркуляция вируса. В соответствии с критериями выполнения программы элиминации кори доля случаев неустановленного происхождения не должна превышать 20%. И хотя в Республике Беларусь доля таких случаев невысока (4 из 259, 1,5%), требуются дальнейшие усилия по их минимизированию.

Таким образом, полученные данные подтверждают высокое качество эпидемиологического надзора за корью в Республике Беларусь, позволяющее выявлять и лабораторно обследовать подозрительных на корь пациентов, проводить диагностику этой инфекции с использованием серологических и молекулярных методов, проводить генотипирование вирусов кори, дифференцировать эндемичные случаи и случаи завоза вируса. Анализ данных 2018 г. с использованием всего арсенала имеющихся методов свидетельствует о том, что рост заболеваемости корью в Республике Беларусь в 2018 г. был связан с многочисленными завозами вируса на территорию страны. В отдельных регионах страны произошло достаточно широкое распространение вируса кори, что представляло угрозу восстановления его эндемичной циркуляции. Однако циркуляция каждого из выявленных генетических вариантов вируса продолжалась не более 2-3 месяцев после чего прекращалась, что в настоящее время позволяет исключить восстановление эндемичной циркуляции. Повторяющиеся завозы вируса одного и того же генотипа осложняют проведение работы по дифференциации эндемичных и завозных случаев кори, требуют усиления мер по надзору за этой инфекцией и разработки новых подходов к молекулярно-генетическому анализу вируса кори. Как эпидемиологические данные, так и молекулярная характеристика вируса являются критическими для выявления завозных случаев, определения вспышек завозного характера и понимания путей трансмиссии вируса, тем самым способствуя оценке прекращения его эндемической передачи.

#### Список литературы

1. World Health Organization Regional Office for Europe. WHO EpiBrief, 2019 [Electronic resource]. – 2019. – Mode of access: [http://www.euro.who.int/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0013/400252/EpiBrief\\_1\\_2019\\_EN.pdf?ua=1](http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0013/400252/EpiBrief_1_2019_EN.pdf?ua=1) – Date of access: 24.03.2019.



2. Самойлович, Е.О. Надзор за корью в Республике Беларусь; подготовка к верификации элиминации инфекции / Е.О. Самойлович // – Мед. журн.– 2014. – №2. – С.94-99.
3. Достижения в элиминации кори и краснухи в Республике Беларусь / Е.О. Самойлович [и др.] // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2016. – №4 (89). – С.94-99.
4. World Health Organization Regional office for Europe (2018). Seventh Meeting of the European Regional Verification Commission for Measles and Rubella Elimination. Report 2018. Copenhagen. [Electronic resource]. – 2018. – Mode of access: <http://www.euro.who.int/en/health-topics/communicable-diseases/measles-and-rubella/publications/2018/7th-meeting-of-the-european-regional-verification-commission-for-measles-and-rubella-elimination-rvc.-report> – Date of access: 24.03.2019.
5. Элиминация кори и краснухи. Основы процесса верификации в Европейском регионе ВОЗ // Всемирная Организация Здравоохранения. Европейское региональное бюро ВОЗ- 2014. – 32 с.
6. WHO Regional Office for Europe. Surveillance Guidelines for Measles, Rubella and Congenital Rubella Syndrome in the WHO European Region, Copenhagen – 2010. – 48 p.
7. WHO. Manual for the laboratory diagnosis of measles and rubella virus infection, second ed., Geneva: WHO – 2006. – 100 p.
8. Quantification of measles, mumps and rubella viruses using real-time quantitative TaqMan-based RT-PCR assay / Y. Ammour [et al.] // J. Virol. Methods. – 2013. – Vol. 187, №1. – P. 57-64.
9. Genotyping of recent measles virus strains from Russia and Vietnam by nucleotide-specific multiplex PCR / J.R. Kremer [et al.] // J. Med. Virol. – 2007. – Vol. 79, № 7. – P. 987-994.
10. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods / K. Tamura [et al.] // Mol. Biol. Evol. – 2011. – Vol. 20, №10. – P. 2731-2739.
11. Самойлович, Е.О. Корь: успехи и проблемы элиминации / Е.О Самойлович [и др.] // Сб.научю тр. междунар. науч-практ. конф. «Здоровье и окружающая среда», посвящ. 90-летию санитарно-эпидемиол. службы Республики Беларусь (Минск, 28 октября 2016 г.). Т.2 / редкол.: Н.П. Жукова [и др.]. – Минск: БГМУ, 2016 – С.205-209.
12. Самойлович, Е.О. Молекулярно-генетические характеристики кори в республике Беларусь / Е.О Самойлович [и др.] // Молекулярная диагностика – 2018: сб. тр. междунар. науч.-практ. конф., Минск, 27-28 сент. 2018 г. / под ред. акад. РАН В. И. Покровского. – Минск: СтройМедиаПроект, 2018. – С. 150-152.