

Досвід лабораторної діагностики вірусу грипу

Хоронжевська І.С., Стаховська Л.І., Шевченко Г.М., Резніков А.П.
Рівненська обл.СЕС

На протязі тривалого часу грип залишається серйозною проблемою для більшості країн світу. Під час епідемічного сезону грипом хворіють біля десяти процентів населення земної кулі, тобто більше 500 млн. людей. За час пандемії число хворих може зростати в 4-5 разів. Якщо порівняти всі інфекційні хвороби по відношенню до грипу, то за даними аналізу, який було проведено у США (Nath. Acad. Press W., 1955), встановлено, що економічні витрати, які спричиняє ця інфекція, значно вищі, ніж від будь-якого іншого інфекційного захворювання.

Особливості епідемічного процесу цієї інфекції визначаються взаємодією неоднорідних популяцій вірусів грипу, які постійно змінюються, і людей.

Тому важливе значення має встановлення постійного нагляду за циркулюючою збудників грипу з метою попередження можливості попадання у популяцію людей їх рекомбінантних форм.

У сезон 2004-2005 років вірусологічною лабораторією Рівненської обл.СЕС для вірусологічної діагностики грипу на культурі клітин МДСК було застосовано трипсин фірми Sigma, каталожний номер T-1426, який був розведений в основному середовищі 1:1000 і профільтрований через фільтруючі насадки Міллекс, розмір пор 0,22 мкм у лабораторії епідеміології та профілактики грипу НДІ вірусології ім. Д.Й. Івановського (м.Москва) д.м.н. Бурцевою О.І. Розведений трипсин зберігали в морозильній камері при мінус 20°C.

Для приготування підтримуючого середовища трипсин добавляли до основного середовища з розрахунку 100 мкл трипсину (в розведенні 1:1000) на 100 мл основного середовища.

Для культивування та субкультивування культури клітин МДСК використовували розчин Версену, в який добавляли хімопсин (1 флакон хімопсину на 500 мл розчину Версену). Основне середовище готували із 500 мл. середовища 2 MEM з додаванням 2 флаконів глутаміну і 1 мл гетаміцину (50 мкг/мл). Ростове середовище готували з основного середовища з додаванням телячої ембріональної сироватки до кінцевої концентрації 10%. Для приготування підтримуючого середовища у основне середовище додавали 1 мкл/мл

трипсину в розведенні 1:1000. Підтримуюче середовище готували безпосередньо перед використанням.

Матеріал від хворих грипом та ГРВІ (змиви з носоглотки) відбирали в інфекційному відділенні міської лікарні і Костопольської ЦРЛ в пробірки з розчином Хенкеу. Зберігали забраний матеріал при +4°C. В пробу добавляли гентаміцин з розрахунку 0,1 мл 4% гентаміцину на 1 мл проби з наступним центрифугуванням.

При первинному зараженні використовували пеніцилінові флакони з моношаром клітин МДСК. Із флаконів видаляли ростове середовище і двічі відмивали клітини 1,0 мл основного середовища. Після видалення середовища на моношар вносили по 0,2 мл змиви від одного хворого, витримували в термостаті 30-60 хвилин при 37 С. Потім в усі флакони вносили по 1,0 мл підтримуючого середовища з трипсином і витримували в термостаті 7 днів, щоденно контролюючи моношар. Цитопатичну дію вірусів грипу на культурі клітин МДСК спостерігали на 3-й день.

При дослідженні змивів від 30 хворих грипом та ГРВІ у 2 хворих було виділено вірус грипу типу В. Перший ізолят вірусу було виділено 4.02.2005 від хворої 19 років, титр вірусу 1:160, другий ізолят було виділено 22.02.2005 року від хворої віком 41 рік, титр вірусу 1:64.

В НДІ вірусології ім. Д.І.Івановського наш ізолят був типований зі спектром імунних сироваток до циркулюючих вірусів грипу А і В в РТГА і встановлена його приналежність до вірусу грипу В, подібного В/Січуань/379/99. Ізоляту був присвоєний номер колекції інституту В/Рівне/7/2005.

На наш погляд, для покращення вірусологічної діагностики грипу необхідно застосовувати трипсин фірми Sigma, каталожний номер Т-1426, який можна закуповувати централізовано і по 200-400 мкл (в розведенні 1:1000) видавати у вірусологічні лабораторії. Транспортувати розведений трипсин можна в термосумках на заморожених термоелементах та зберігати при мінус 20 °С у холодильнику.

Особенности эпидиоцесса по заболеваемости корью в г.Севастополе за период с 1953 по 2006гг.

(заведующая эпидотделом городской санэпидстанции Титова Л.А.,г.Севастополь)

Эпидемическая ситуация по заболеваемости корью среди населения г.Севастополя не имеет значительных отличий от других регионов Украины.

Проведенный ретроспективный анализ заболеваемостью корью с 1953г. показал, что в результате применения живой коревой вакцины с 1969г. произошло снижение заболеваемости более чем в 100 раз уже в 1971 году в сравнении с 50-ми годами.

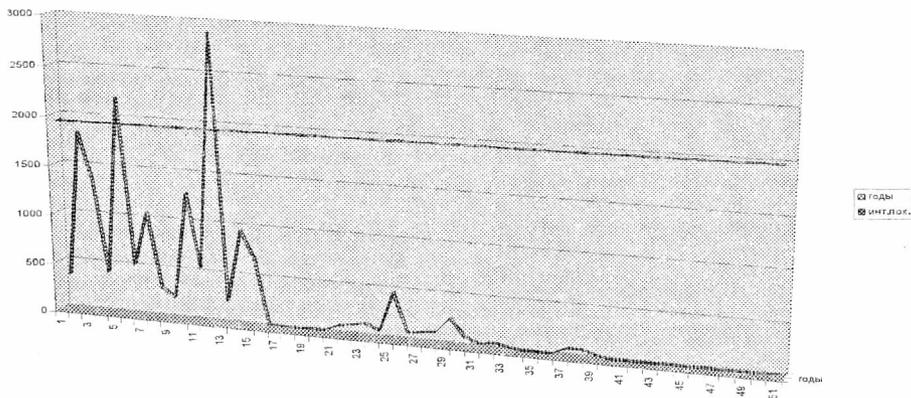


Таблица 1. Сравнительные данные заболеваемости корью в г. Севастополе за период с 1953 по 2006 гг.

В довакцинальный период уровень заболеваемости корью колебался от 2886,0 на 100 тыс населения до 300-400. В эпидпроцесс преимущественно вовлекались дети в возрасте 3-6 лет, регистрировались вспышки и групповые очаги.

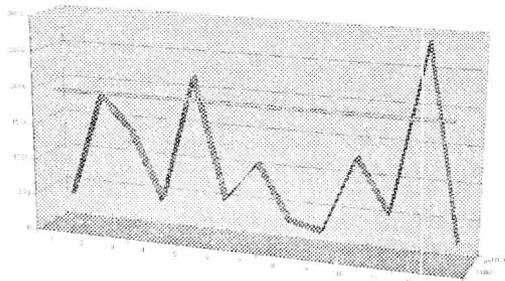


Таблица 2. Сравнительные данные заболеваемостью довакцинальный период. (1953-1957 гг.)

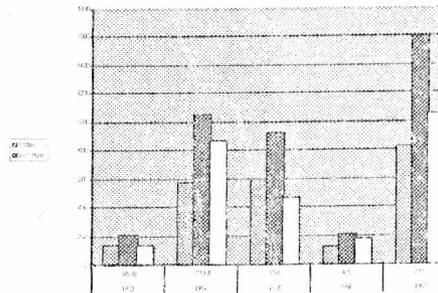


Таблица 3. Возрастная структура корью в заболевших корью

Начиная с 1970 г. тенденция снижения уровня заболеваемости продолжилась (Таблица 4). В первые годы после начала вакцинации регистрировался низкий уровень заболеваемости- и.п. составлял 11,5-25,7 (с 1971 по 1975 гг.). Подъемы заболеваемости отмечались с периодичностью 2-4 года (1977-1978-1980-1984-1987 гг.). Последний подъем заболеваемости в городе был зарегистрирован в 1992-1993 гг. (и.п. на 100 тыс населения-67-68,0). В 70-е годы в эпидпроцесс активно вовлекались дети в возрасте 3-6, 7-14 лет, в организованных коллективах регистрировались групповые очаги.

индекс.

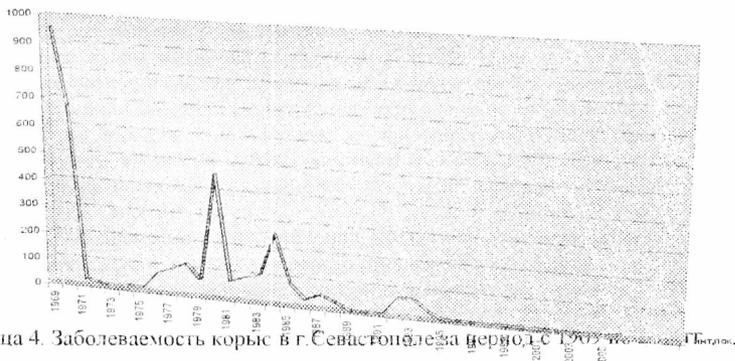


Таблица 4. Заболеваемость корью в г. Севастополе за период с 1959 по 2007 гг.

В 80-е годы дети в возрасте 10-14 лет заболевали корью в 1,5-3 раза чаще, чем дети в возрастных группах 3-4,5-6,7-9 лет (Таблица 5).

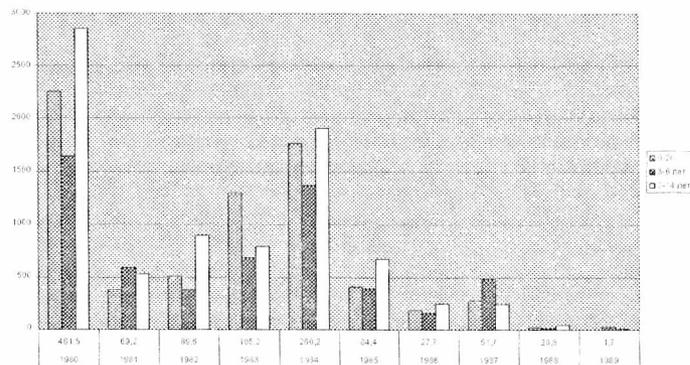


Таблица 5. Возрастная структура заболевших корью (1980-1989гг.)

В годы подъема заболеваемости отмечалась активизация эпидпроцесса среди учащихся средних специальных и высших учебных заведений.

В 90-е годы интенсивность эпидпроцесса определялась заболеваемостью детей в возрасте до 2-х лет, не привитых против кори из-за медицинских противопоказаний (Таблица 6).

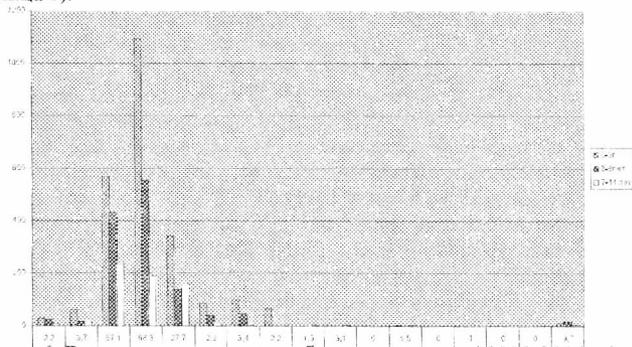


Таблица 6. Возрастная структура заболевших корью (1990-2006гг.)

До 90-х годов в структуре заболевших преобладал удельный вес вакцинированных против кори (кроме вспышки 1980г.), вероятными причинами могли послужить, на наш взгляд, нарушения условий соблюдения «холодовой цепи», использование вакцины с недостаточной иммуногенностью(так, при лабораторном контроле коревой вакцины на базе вирусологической лаборатории городской санэпидстанции удельный вес проб вакцины с низкой биологической активностью составлял в 1987 г.-54,3%, 1989г.-25%, в 1990г.-всего 2%). В 90-е годы в структуре заболевших преобладали не привитые против кори из-за медотводов.

Состояние иммунитета населения против кори оценивается уровнем охвата вакцинацией и ревакцинацией живой коревой вакциной детей в декретированные сроки и результатами выборочных серологических исследований в индикаторных группах населения. Охват прививками считается достаточным, если вакцинировано и ревакцинировано не менее 97% подлежащих.

Охват прививками против кори в г.Севастополе не соответствовал критериям эффективности в 1985 (R-93,8%),1991 (V-95%), 1992 (V-93,4%,R-70%),1999 (V-86,5%,R-85,9%),2000 (V-86,4%,R-85,9%), 2005 (R-90,3%) из-за нерегулярных поставок ИБП (в 2000

году вакцина отсутствовала 5 месяцев с июня по октябрь, в 2005г 50% годовой потребности было поставлено в ноябре) (Таблица 7).

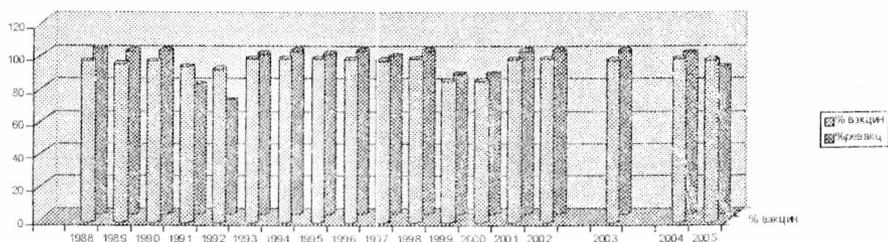


Таблица 7. Охват прививками против кори подлежащих контингентов в г. Севастополе за 1987-2005гг.

В результате, в последующие годы отмечался рост заболеваемости в возрастных группах 3-6 лет – в 1992-1993гг и 7-14 лет – в 1992-1994гг.

Не соответствующий критериям эффективности охват иммунизацией в 1991-1992гг., 1999-2000гг. привел к повышению процента незащищенных лиц в 1993,1996, 2002,2003гг. (Таблица 8).

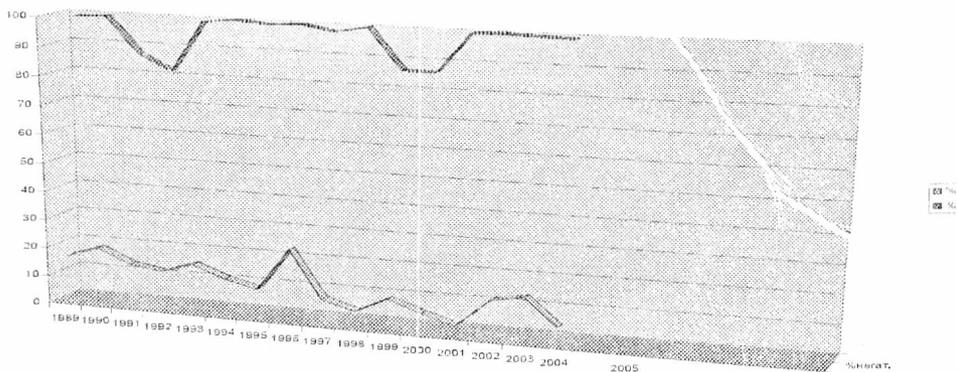


Таблица 8. Охват прививками против кори и удельный вес серонегативных с 1989 по 2005гг.

Результаты мониторинга за напряженностью иммунитета в 1993-1998гг показали, что наибольший удельный вес серонегативных детей был выявлен в возрастной группе 6-8 лет (20-40%), наименьший – в группе 1-2 года (10-24%).

На фоне стабильно благополучной эпидситуации по заболеваемости корью в г.Севастополе за последние 5 лет, анализ структуры серонегативных лиц в разных возрастных группах показал, что:

- в возрастной группе до 5 лет уд.вес серонегативных лиц превышал стандарты ВОЗ (15%) в 1999,2000,2005гг.,
- в возрасте 5-9 лет превышение стандарта не отмечалось (10%),
- в возрасте 10-14 лет стандарты ВОЗ были превышены в 1999-2000гг. (незначительно), в 2002-2003гг. – в 3 и > раз,
- среди подростков стандарты ВОЗ были превышены в 2001-2003гг.(Таблица 9).

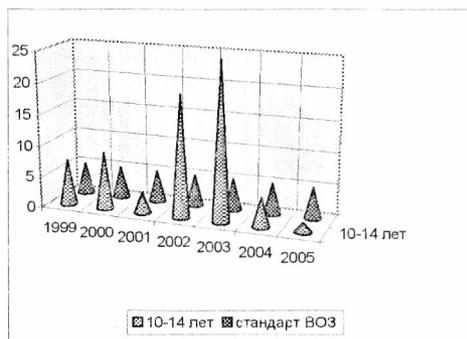
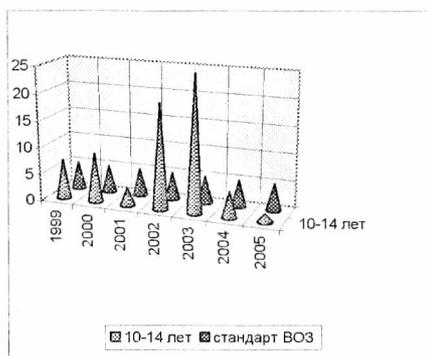
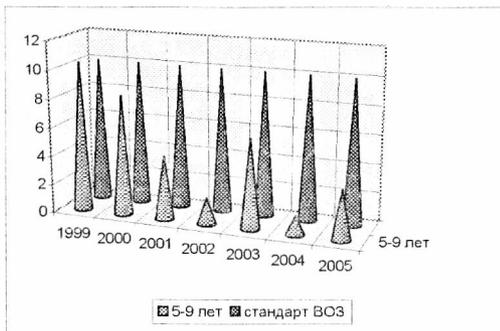
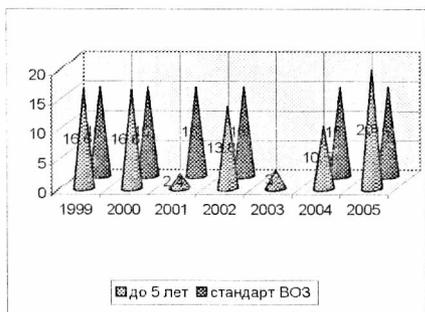


Таблица 9. УДЕЛЬНЫЙ ВЕС СЕРОНЕГАТИВНЫХ ЛИЦ В РАЗНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУППАХ (1999-2005гг.)

Представленный анализ за последние годы свидетельствует, что, несмотря на высокий охват иммунизацией подлежащих контингентов (98%-99% с 2001г.), иммунную прослойку с 1996г. не ниже 98%, состояние иммунитета по результатам выборочных серологических исследований не позволит предотвратить регистрацию случаев заболевания корью и ее распространение.

В 2006г. мы столкнулись с завозом первых случаев кори после контакта с больными в городах Клеве, Ивано-Франковске, Черкассах в декабре 2005г.-январе 2006г. Всего зарегистрировано 37 сл. и.п. на 100 тыс. составил 9,7, в т.ч. взрослых 33, детей до 14 лет –4. Распределение заболевших по возрастным группам показало, что самый высокий интенсивный показатель на 100 тыс. населения отмечался среди лиц 15-19 лет-и.п.61,3, затем среди детей в возрасте до 1 года - и.п. 56,3, в группе 20-29 лет показатель составил 41,4, в группе 3-4 года-32,2, в группе 30-39 лет-10,2. Таким образом, оставаясь «детской инфекцией», в эпидпроцесс при кори активно вовлекаются лица в возрасте 15-19 и 20-29 лет. (Таблица 10)

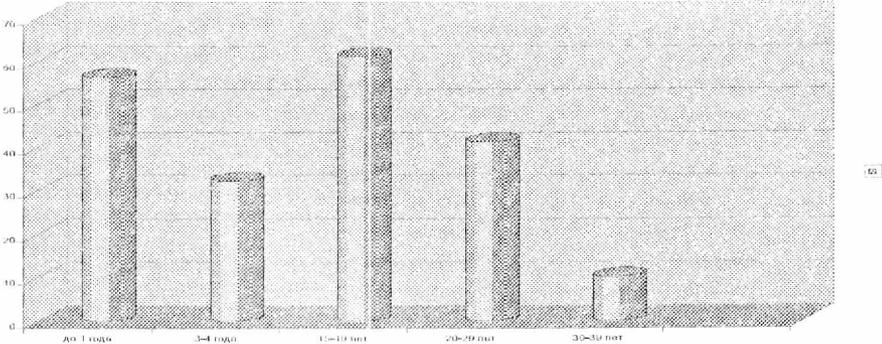


Таблица 10. Возрастная структура заболевших корью в г. Севастополе за 8 месяцев 2006г. (в интенсивных показателях на 100тыс.)

В структуре заболевших по профессиональным группам, исключив прочих (29,7%) и неработающих (21,6%), преобладают студенты-18,9%, неорганизованные дети-10,8%, медицинские работники и педагоги с работниками ДУУ –по 8,1%. (Таблица 11).

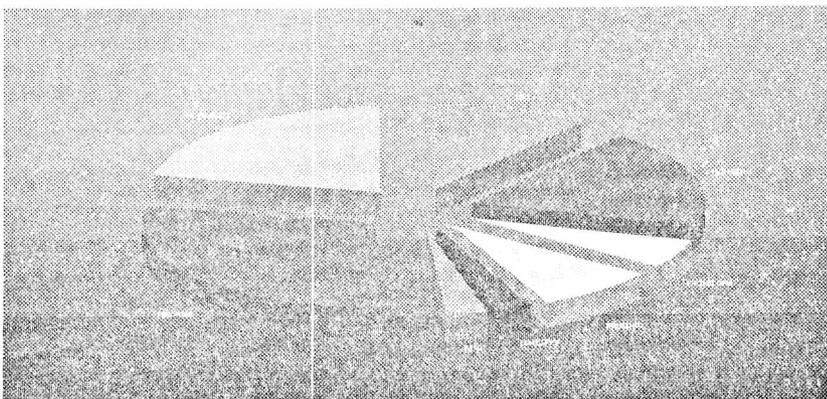


Таблица 11. Заболеваемость корью по группам населения в г. Севастополе за 8 месяцев 2006г. (удельный вес)

Анализ состояния привитости заболевших корью свидетельствует, что 43,2% не были привиты, у 45,9% отсутствовало документальное подтверждение об иммунизации, у остальных (13,5%)-документально подтверждено получение 2-х доз вакцины против кори. (Таблица 12)

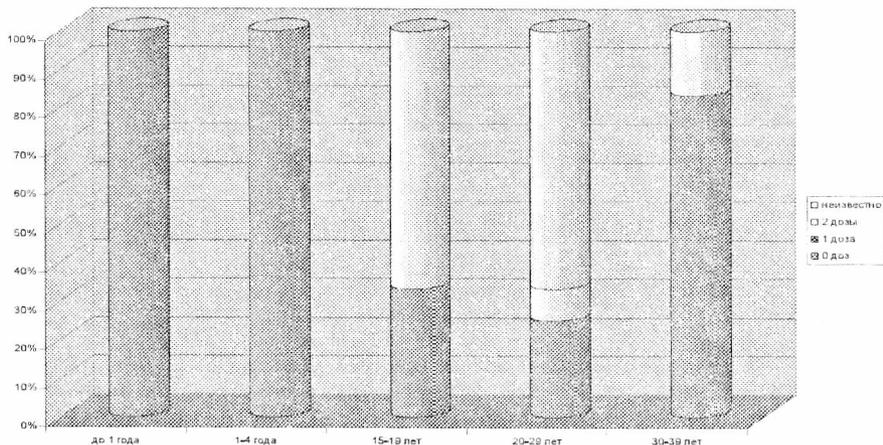


Таблица 12. Состояние привитости у заболевших корью в г.Севастополе за 8 месяцев 2006г.

Лабораторно подтверждено 32 сл.-86,5%(что соответствует критериям качества эпиднадзора за корью), в остальных случаях установлена эпидемиологическая связь с лабораторно подтвержденным случаем.

Основные пути совершенствования эпиднадзора за корью в г.Севастополе:

1. Мониторинг выполнения программы иммунизации: обеспечение высокого уровня охвата населения прививками –98-99%, сероэпидемиологический надзор
2. Контроль за заболеваемостью корью- выявление всех случаев корью, их лабораторное подтверждение.
3. Анализ полученных результатов.
4. Разработка профилактических и противоэпидемических мероприятий.