

ЭНТЕРОВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ: МНОГООБРАЗИЕ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ И КЛИНИЧЕСКИХ ФОРМ

О.И. Канаева

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Энтеровирусы являются широко распространенными возбудителями инфекционных заболеваний человека. Несмотря на то, что в большинстве случаев инфицирование не влечет за собой заболевание, у некоторых инфицированных может наблюдаться широкий спектр симптомов: от признаков простуды до серозного менингита и миокардита. В редких случаях энтеровирусы вызывают тяжелые заболевания с летальным исходом. Большое значение для здравоохранения представляет способность энтеровирусов становиться возбудителями вспышек и эпидемий энтеровирусной инфекции. Учитывая высокую генетическую изменчивость энтеровирусов, в будущем возможно появление их новых высокопатогенных штаммов. В ряде стран, в том числе в Российской Федерации, помимо программы ВОЗ, направленной на ликвидацию полиомиелита, проводится постоянный эпидемиологический надзор за энтеровирусными инфекциями. Лабораторная диагностика энтеровирусных инфекций осложняется большим количеством серотипов возбудителя, поэтому наряду с классическими вирусологическими методами в диагностике используют молекулярно-биологические методы, позволяющие секвенировать геном возбудителя и определить филогенетические связи между различными штаммами энтеровирусов.

Ключевые слова: энтеровирус, энтеровирусная инфекция, полиомиелит, диагностика.

Строение и таксономия энтеровирусов

Род энтеровирусов относится к семейству пикорнавирусов (*Picornaviridae*), порядок *Picornavirales*. Это семейство характеризуется икосаэдрической симметрией капсида и одноцепочечной +РНК как носителем наследственной информации [8, 45]. Пикорнавирусы принадлежат к числу самых мелких из известных РНК-содержащих вирусов, отсюда и происходит их название: *pico* — очень маленькие, *gna* — РНК. Они составляют одно из наиболее многочисленных и важных семейств возбудителей заболеваний человека и сельскохозяйственных животных, таких как полиовирус, непوليوмиелитные энтеровирусы, вирус гепатита А, риновирусы [18, 45].

Согласно последним изменениям базы данных Международного комитета по таксономии вирусов (ICTV, 2012 г.), основанной на геномных характеристиках вирусов, семейство пикорнавирусов включает в себя 17 родов, из которых

особенно важен род энтеровирусов. К нему относятся 4 вида энтеровирусов человека (А, В, С, D), в том числе полиовирусы трех серотипов, принадлежащие к виду С. Серотипы отличаются друг от друга по иммунному ответу хозяина, используемым рецепторам и, в меньшей степени, по спектру клинических проявлений. Согласно первоначальной классификации, в зависимости от способности размножаться в клетках человека и приматов, инфекционности и патогенности для различных видов животных и от антигенных различий энтеровирусы делили на полиовирусы, вирусы Коксаки А, Коксаки В и эховирусы (ЕСНО: Enteric Cytopathic Human Orphan). После введения молекулярных методов типирования и пересмотра ограничений старой классификационной схемы энтеровирусы делят на виды в зависимости от организации их генома, сходства последовательности нуклеотидов и биологических свойств [37, 43]. В настоящее время известно более ста серотипов энтеровирусов (табл.) [52].

Автор:

Канаева О.И., младший научный сотрудник лаборатории этиологии и контроля вирусных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург.

Адрес для переписки:

Канаева Ольга Ильинична
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14, ФБУН НИИЭМ имени Пастера.
Тел.: (812) 233-21-56 (служебн.). Факс.: (812) 232-92-17.
E-mail: ol.kanaeva@yandex.ru

поступила в редакцию 20.01.2014
принята к печати 18.02.2014

© Канаева О.И., 2014

ТАБЛИЦА. КЛАССИФИКАЦИЯ ЭНТЕРОВИРУСОВ ЧЕЛОВЕКА

Группа/вид	Серотипы, принадлежащие к группе
Энтеровирус человека А	Коксаки А 2–8, 10, 12, 14, 16 Энтеровирус 71, 76, 89–92, 114
Энтеровирус человека В	Коксаки А9, Коксаки В 1–6 ЕСНО 1–7, 9, 11–21, 24–27, 29–33 Энтеровирусы 69, 73–75, 77–88, 93, 97, 98, 100, 101, 106, 107
Энтеровирус человека С	Коксаки А 1, 11, 13, 17, 19–22, 24 ЕСНО 95, 96, 99, 102, 104, 105, 109, 113, 116 Полиовирус 1–3
Энтеровирус человека D	Энтеровирусы 68, 70, 94, 111

Впервые детальное строение энтеровирусов было определено путем рентгеноструктурного анализа в 1985 г. Вирионы имеют диаметр 22–30 нм. Центральная их часть занята свернутой молекулой РНК, окруженной белковым чехлом из 60 субъединиц, собранных в икосаэдр (рис. 1) [46].

Липопротеидная оболочка у вириона отсутствует. Его общая молекулярная масса составляет 8,5 МДа. Белки капсида представлены четырьмя негликозилированными полипептидами: VP1, VP2, VP3, VP4 (пронумерованы согласно убыванию молекулярной массы). Части VP1–3 находятся на поверхности вириона, тогда как N-концы VP1–3 и все молекулы VP4 расположены полностью в его внутренней части. Вирусный серотип определяется соединительными петлями и C-концами капсидных белков, которые находятся на внешней поверхности вириона — это главные антигенные участки вируса. Геном энтеровирусов представлен одноцепочечной молекулой РНК длиной от 7,2 до 8,4 килобаз. С 5'-концом РНК ковалентно связан белок VPg (virus protein, genome linked) массой 2–3 кДа. Предполагается, что только после его удаления клеточными ферментами начинается синтез вирусной РНК. Продуктом трансляции РНК является гигантская молекула протеина-предшественника, которая затем разрезается вирусными протеазами на отдельные структурные белки (VP1–VP4), РНК-зависимую РНК-полимеразу, протеазы и другие неструктурные белки [25, 45, 54]. В начале РНК цепочки за 5'-нетранслируемым регионом (5'UTR) следует открытая рамка считывания, кодирующая полипротеин. За ней следует короткий 3'-нетранслируемый регион (3'UTR) и поли(А) хвост [35, 37] (рис. 2) [30].

Модель репликации пикорнавирусов разрабатывалась по большей части путем изучения репликации полиовируса, многие ее детали до сих пор не ясны. Процесс начинается с прикрепления вируса к специфическому клеточному рецептору. К настоящему моменту охарактеризованы некоторые рецепторы пикорнавирусов, включая рино- и полиовирусы [54]. Так, рецептор к полиовирусу — это гликопротеин CD155, экспрессируемый на поверхности многих типов клеток человека и некоторых других приматов. После связывания с рецептором структура вириона меняется: N-конец белка VP1 переходит на внешнюю поверхность капсида, а VP4 удаляется в межклеточное пространство. Вирион попадает в клетку путем эндоцитоза, в цитоплазме геном вируса освобождается и клеточные ферменты удаляют белок VPg с 5'-конца РНК [25]. После этого участок внутренней посадки рибосомы (IRES), находящийся на 5'UTR, взаимодействует с рибосомами инфицированной клетки, чтобы инициировать трансляцию вирусного генома [47].

Ранее исследователи отмечали, что количество вирусных белков, синтезируемых в инфицированной клетке, гораздо больше, чем может быть закодировано в небольшом геноме энтеровируса. Загадка разрешилась, когда выяснилось, что РНК кодирует гигантскую молекулу протеина-

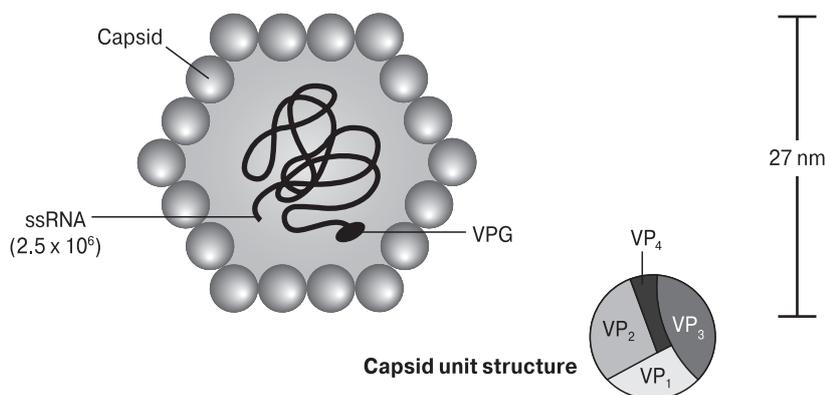


Рисунок 1. Схема строения энтеровируса

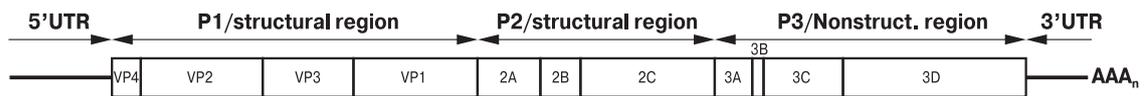


Рисунок 2. Схема строения генома энтеровируса

предшественника, которая затем подвергается серии расщеплений. В результате образуются белки P1–3, причем N-конец белка P1 впоследствии трансформируется, а сам белок разрезается на белки VP0, VP3 и VP1, которые участвуют в формировании капсида: VP0 разрезается на VP2 и VP4. Дальнейшее протеолитическое расщепление приводит к образованию ряда других вирусных белков, включая АТФазу, VPg и РНК-полимеразу — продукты протеолиза VP3 [25].

После инфицирования клетки экспрессия генов хозяина прекращается из-за подавления активности РНК-полимераз. Синтез вирусных белков не страдает, так как происходит по кэп-независимому механизму. Участие ядра для репликации вирусного генома не требуется, что показано в опытах на клетках, лишенных ядер [25]. Репликация и сборка происходят в цитоплазме, вирусные частицы высвобождаются из клетки при разрушении последней [8]. Вирусные протеины активируют в клетке сначала механизмы, которые препятствуют апоптозу — чтобы клетка оставалась живой до того, как вирус завершит свою репликацию, затем другие вирусные протеины активируют механизм апоптоза, что позволяет вирионам покинуть клетку. В нескольких работах было описано разрушающее действие энтеровирусов на нейроны, например, вируса Коксаки В3 на пирамидальные нейроны гиппокампа [47]. Цикл репродукции пикорнавирусов обычно не превышает нескольких часов (от первого контакта вируса с клеткой до завершения выхода новообразованного вируса из клетки). РНК пикорнавирусов инфекционна, то есть экстрагированные из вирионов или зараженных клеток вирусспецифические РНК могут в определенных условиях проникать в клетку и инициировать инфекцию. Удаление поли(А)-последовательности приводит к резкому снижению инфекционности РНК [5].

Энтеровирусы подвержены интенсивной генетической изменчивости, из-за чего время от времени могут появляться новые патогенные для человека серотипы (например, энтеровирусы 70 и 71). Важную роль при этом играет процесс рекомбинации, когда два вируса, находясь в одной клетке, обмениваются участками генетического материала. В результате получают гибридные формы вирусов, совмещающие признаки обоих родительских штаммов, с возможным изменением тропизма, антигенного профиля или патогенности. Было установлено, что рекомбинантные потомки двух совместно культивируемых в течение одного пассажа штаммов составляют от 1 до 20% от общего числа вирусов. Сравнительная частота рекомбинации в разных

участках генома неодинакова: структурные гены подвергаются рекомбинации реже, чем неструктурные [8, 54, 48]. Генетическая изменчивость является причиной возникновения полиовирусов вакцинного происхождения, обладающих повышенной нейровирулентностью. Вакцинородственные штаммы, подвергшиеся определенной мутации в области генома капсидного белка VP1, представляющей собой «горячую точку» мутаций, могут вызвать паралитический полиомиелит, ассоциированный с вакцинацией [47].

Полиовирусы вакцинного происхождения в организме человека могут рекомбинировать с другими штаммами энтеровирусов вида С [48]. В процессе длительной репликации вакцинных полиовирусов в одном организме повышается вероятность их рекомбинации с неполиоэнтеровирусами, попавшими в тот же организм. В таком случае капсидный участок РНК рекомбинантного вириона заимствуется из генома вакцинного полиовируса, а неструктурные участки частично либо целиком принадлежат другому энтеровирусу [30]. Кроме того, в процессе репликации таких вирусов могут иметь место нуклеотидные замены (мутации). Если это случается в сайте аттенуации, то происходит возврат вируса к дикому типу. Образуются вакцинородственные штаммы, обладающие повышенной нейровирулентностью и способные вызывать паралитические формы заболевания. Случаи спорадических заболеваний и вспышек, вызванных подобными рекомбинантными вирусами, описаны в разных странах [49].

Заболевания, вызываемые энтеровирусами

Повсеместная циркуляция энтеровирусов среди населения обусловлена рядом факторов, среди которых следует отметить высокую восприимчивость людей, возможность длительного вирусноносительства при отсутствии видимых проявлений, способность вирусов долго сохраняться в объектах окружающей среды (водоемах, сточной воде). В большинстве случаев энтеровирусная инфекция клинически никак не проявляется, однако у некоторых пациентов может наблюдаться широкий спектр симптомов. Различные энтеровирусы способны обусловить развитие одних и тех же симптомов, вместе с тем, один и тот же энтеровирус может быть причиной заболеваний с разной клинической картиной [4]. Частота носительства энтеровирусов у здоровых детей зависит от возраста: чем младше ребенок, тем чаще он бывает носителем. С возрастом прослойка детей, имеющих

антитела к циркулирующим на данной территории штаммам энтеровирусов, увеличивается [8]. Так, к 1 году жизни порядка 50% детей серопозитивны к наиболее распространенным серотипам энтеровирусов [9].

Источником инфекции могут стать как больные, так и здоровые носители, у которых не проявляются симптомы инфекции. Основной путь передачи вируса — контактно-бытовой, меньшую роль играют водный и пищевой пути. Основным механизмом передачи энтеровирусных инфекций — фекально-оральный, вероятен также аэрозольный. В первые дни инфицирования возбудитель в большом количестве выделяется из слизистых оболочек зева пациента, обнаруживается в крови, моче, носоглотке и фекалиях за несколько дней до появления клинических симптомов. Выделение с фекалиями может продолжаться от нескольких недель до двух месяцев, когда вирус уже не обнаруживается ни в крови, ни в смывах из зева. Длительность выделения зависит от штамма вируса и состояния иммунной системы индивидуума [8, 22, 46]. Основным резервуаром энтеровирусов во внешней среде являются хозяйственно-бытовые сточные воды, загрязненные фекалиями. Энтеровирусы устойчивы к различным физическим и биологическим воздействиям, кроме того, в сточных водах содержится большое количество белковых компонентов, стабилизирующих структуру вируса и замедляющих их разрушение — хотя некоторые компоненты промышленных стоков могут наоборот инактивировать вирус. Загрязненные сточные воды могут попадать в открытые водоемы, используемые для забора питьевой воды и для купания населения, и обуславливать заболеваемость ЭВИ. Нередко из образцов воды, взятой из этих водоемов и системы центрального водоснабжения, обнаруживаются энтеровирусы тех же серотипов, которые вызвали вспышку [15, 22].

Энтеровирусные заболевания наблюдаются повсеместно в виде спорадических форм, групповых заболеваний и эпидемических вспышек. Некоторые штаммы могут доминировать в циркуляции в течение нескольких лет, затем исчезать, чтобы появиться годы спустя. Появление лидирующих серотипов непредсказуемо. В странах с умеренным климатом энтеровирусные инфекции обладают ярко выраженной сезонностью: наибольшее количество заболевших появляется в летние и осенние месяцы. В тропическом климате энтеровирусы циркулируют среди населения круглый год [46].

Энтеровирусы обладают тропизмом к нервной ткани, мышцам и эпителиальным клеткам, что проявляется и в клинической картине болезни, и в морфологических изменениях тканей [6], причем разные виды энтеровирусов поражают различные участки ЦНС [47]. Энтеровирусы Коксаки В чаще всего ответственны за вирусные болезни сердца, например, инфекционный мио-

кардит: серьезное заболевание, которое может стать причиной дилатационной кардиомиопатии и сердечной недостаточности [53]. Инфекционный миокардит может также быть вызван энтеровирусом ЕСНО 6 и полиовирусами [36]. Энтеровирусы Коксаки А могут вызвать вялый паралич, тогда как Коксаки В — спастический. Другие заболевания, связанные с вирусами Коксаки А, это геморрагический конъюнктивит, с Коксаки В — герпангина, плевродиния, перикардит, панкреатит и менингоэнцефалит. С обеими этими группами энтеровирусов могут быть связаны асептический менингит и обычная простуда [31]. Энтеровирусы считаются наиболее частой причиной асептического менингита, некоторые из них (Коксаки В5, ЕСНО 6, 9 и 30) вызывают крупные вспышки этого заболевания, другие чаще провоцируют отдельные случаи менингита [3, 10, 33]. Вирусы ЕСНО вызывают различные симптомы: от насморка и лихорадки до асептического менингита и острого геморрагического конъюнктивита [47]. Инфицирование энтеровирусами Коксаки во время беременности может привести к спонтанному аборту, миокардиту у плода и задержке развития у новорожденного [27].

Наиболее уязвимыми категориями населения являются новорожденные, дети и лица с иммунодефицитом, у которых заболевание может перейти в тяжелую форму или привести к летальному исходу [31]. Ряд авторов указывают на возможность летальных исходов как у взрослых, так и у детей с диагнозами энцефалит, ящуроподобное заболевание (ЯПЗ), полиомиелитоподобное заболевание, кишечные расстройства, миокардит, вызванными различными серотипами вирусов [8]. Так, летальность у новорожденных с вирусным миокардитом может составлять от 30 до 83% [50]. Но чаще всего у больных наблюдается простудоподобное заболевание (гипертермия, нарушение общего самочувствия, катаральные симптомы), заканчивающееся без последствий [9].

Наиболее частым проявлением энтеровирусной инфекции, требующим госпитализации, является серьезный (асептический) менингит — энтеровирусный менингит (ЭВМ). Заболевание протекает доброкачественно и, как правило, заканчивается полным выздоровлением без остаточных явлений. Продолжительность госпитализации больных составляет обычно 7–10 дней. Чаще болеют городские жители, преимущественно дети в возрасте до 7 лет. Серьезные менингиты распространены повсеместно как в форме спорадической заболеваемости, так и в форме вспышек, нередко весьма масштабных [9]. За последние годы в РФ был зафиксирован ряд вспышек энтеровирусной инфекции: Свердловская область (2005 г., 2006 г., ЕСНО 6) [19], Хабаровск (2006 г., ЕСНО 30 и ЕСНО 6) [10], Владивосток (2008 г., ЭВМ и ЭВ лихорадка, ЕСНО 30) [20], Архангельск (2008 г., ЭВМ, ЕСНО 30) [21],

Новгородская область (2008 г., ЭВМ, ЕСНО 6 и ЕСНО 30) [1], Мурманская область (2010 г., энтеровирусная экзантема полости рта и конечностей, Коксаки А16) [11] и др.

Энтеровирус 71 (ЭВ-71) вызывает крупные вспышки вирусной экзантемы полости рта и конечностей (ящуроподобное заболевание) с возможными последующими неврологическими осложнениями. Впервые этот вирус был выделен в 1969 г., и хотя носители этого вируса встречаются во многих странах, больше всего от связанных с ним заболеваний страдают жители Азиатско-Тихоокеанского региона [51]. Болеют преимущественно дети до 5 лет. Неврологические проявления различны: асептический менингит, острый вялый паралич, энцефалит и серьезные системные расстройства, включая отек легких и кардиореспираторный коллапс [42]. В азиатских и тихоокеанских странах регулярно происходят масштабные эпидемии, вызванные этим вирусом. Так, в 1997 г. ЭВ-71 вызвал крупную вспышку с высокой смертностью в Малайзии (около 2,5 тыс. зарегистрированных случаев ЯПЗ, 29 летальных исходов). В 1998 г. во время эпидемии в Тайване пострадали 129 тыс. человек, 405 человек были госпитализированы с тяжелыми осложнениями, из них 78 пациентов погибло [29]. К концу 2010 г. в Китае было зарегистрирована эпидемия, вызванная ЭВ-71, было поражено около 3,5 млн человек, погибло 1384 человека. Почти все случаи неврологических осложнений и все случаи со смертельным исходом были связаны с диагнозом ЯПЗ [55]. В 2011 г. вспышка, вызванная ЭВ-71, была зарегистрирована на территории Вьетнама. Было поражено около 175 тыс. человек, 200 детей погибло [32]. На территории Европы пока регистрируют спорадические случаи и немногочисленные групповые заболевания, вызванные ЭВ-71. Однако нельзя исключить заносы высокопатогенных штаммов, циркулирующих в Азии, на территории европейских стран.

Несмотря на широту распространения энтеровирусов и экономический ущерб от случаев временной нетрудоспособности, вызванной энтеровирусной инфекцией, вакцинация доступна лишь в отношении полиовирусов. Разнообразие серотипов энтеровирусов и их генетическая изменчивость затрудняют разработку вакцин против этой группы возбудителей. В настоящее время исследователи пытаются разработать вакцину против энтеровируса 71, однако ни одна из заявленных кандидатных вакцин еще не прошла все стадии клинических испытаний [34].

Полиомиелит

Среди инфекций, вызываемых энтеровирусами, наиболее известен и хорошо изучен полиомиелит. Полиовирус передается только от человека к человеку преимущественно контактно-бытовым путем. После инфицирования вирус размножается в желудочно-кишечном

тракте и выделяется с фекалиями. В редких случаях вирус поражает центральную нервную систему и разрушает моторные нейроны, что приводит к характерному острому вялому параличу. Паралитическое заболевание развивается только в 1% случаев инфицирования, общие клинические проявления развиваются примерно у 5%, у остальных инфицированных лиц никаких симптомов не наблюдается [13, 26, 38]. Инкубационный период при полиомиелите составляет 3–35, чаще 7–14 дней. Наиболее интенсивно вирус выделяется перед развитием паралича и в течение двух недель после появления первых симптомов. До начала массовой вакцинации против полиомиелита около 10% больных паралитическими формами инфекции умирали и около 40% оставались инвалидами [13].

После успешной ликвидации натуральной оспы в 1980 г. Всемирная организация здравоохранения поставила задачу искоренить полиомиелит. Программа глобальной ликвидации полиомиелита стартовала в 1988 г., когда в мире ежегодно регистрировалось более 350 тыс. случаев полиомиелита в 125 странах. К 2000 г. благодаря усилиям ВОЗ, национальных правительств и поддержке благотворительных фондов число случаев этого заболевания во всем мире снизилось на 99% [23]. Дикая полиовирус серотипа 2 не выявляется в мире с октября 1999 г., количество выделенных диких полиовирусов серотипа 3 постепенно сокращается, что свидетельствует о снижении интенсивности их циркуляции. Вместе с тем, в настоящее время стало очевидно, что полностью ликвидировать эту инфекцию значительно сложнее, чем представлялось вначале [2]. К 2013 г. в мире осталось три страны с продолжающейся местной циркуляцией дикого полиовируса (Пакистан, Нигерия, Афганистан), из которых вирус периодически заносится в другие страны. Самая крупная вспышка полиомиелита, вызванного импортированным диким полиовирусом, произошла в 2010 г. в Таджикистане (458 лабораторно подтвержденных случаев). Она была вызвана полиовирусом серотипа 1, генетически родственным штаммам из Индии, где в то время еще циркулировал дикая полиовирус [7]. В 2011 г. в Китае был зарегистрирован 21 случай паралитического полиомиелита, вызванного диким полиовирусом типа 1. С помощью молекулярного секвенирования было показано, что выделенные от больных вирусы были генетически родственны полиовирусам из Пакистана. Весной 2013 г. в сточной воде в Израиле был обнаружен дикая полиовирус типа 1, генетически связанный со штаммами дикого полиовируса, циркулирующего в Пакистане. В стране зарегистрировано 85 случаев выделения дикого полиовируса из проб сточной воды и 40 случаев выделения вируса от здоровых детей, привитых ИПВ [44]. Заболеваний паралитическим полиомиелитом в Израиле не было отмечено. Эти случаи показывают, что хотя в настоящее время

был достигнут значительный прогресс в деле ликвидации полиомиелита, об окончательном избавлении человечества от этого заболевания говорить пока рано.

Лабораторная диагностика энтеровирусной инфекции

С 2006 г. в Российской Федерации введена обязательная регистрация всех случаев энтеровирусной инфекции. Надзор за энтеровирусными инфекциями включает мониторинг заболеваемости ЭВИ, в том числе энтеровирусного менингита — наиболее распространенной формы энтеровирусной инфекции, требующей госпитализации. И кроме того, необходимо слежение за циркуляцией неполиомиелитных энтеровирусов путем исследования материала от больных с подозрением на энтеровирусную инфекцию и проб из объектов окружающей среды [16, 28]. Лабораторный мониторинг осуществляет сеть вирусологических лабораторий Центров гигиены и эпидемиологии, шесть вирусологических лабораторий Региональных центров по надзору за полиомиелитом и острыми вялыми параличами (ОВП), курирующих закрепленные за ними административные территории, и Национальный центр по диагностике полиомиелита и энтеровирусных инфекций.

Для лабораторной диагностики энтеровирусной инфекции в зависимости от особенностей клинической картины заболевания используют следующие типы клинического материала: спинномозговая жидкость; смыв из ротоглотки/носоглотки; отделяемое конъюнктивы, везикул, язв при герпангине; образцы фекалий. В ряде случаев может быть исследован аутопсийный материал: ткани головного, спинного, продолговатого мозга, печени, легких, миокарда, лимфоузлы, содержимое кишечника и ткань кишечной стенки (в зависимости от особенностей имевшей место клинической картины заболеваний) [16, 22]. Лабораторную диагностику проводят как путем классических вирусологических методов, так и, в последнее время, с помощью молекулярно-биологических методов [37].

Выделение вирусов проводят на чувствительных культурах клеток. Согласно Руководству ВОЗ по лабораторным исследованиям полиомиелита [17], для исследования материала, потенциально содержащего полиовирусы, рекомендованы две культуры клеток: RD (клетки рабдомиосаркомы человека) и L20B (генетически модифицированные мышечные клетки, экспрессирующие рецептор к полиовирусу). Выбор двух данных линий позволяет стандартизовать методику исследования проб в разных лабораториях, осуществляющих надзор за циркуляцией полио и энтеровирусов. Клетки RD поддерживают рост полиовирусов, вирусов ECHO и Коксаки А (за исключением А1, А19 и А22), клетки L20B поддерживают только рост полиовирусов

и некоторых серотипов Коксаки А (2–6, 8, 10 и 14), причем цитопатогенное действие (ЦПД), оказываемое на эту культуру вирусами Коксаки А, отличается от действия полиовирусов. Кроме того, для увеличения вероятности выделения энтеровируса из исследуемого материала возможно использовать культуру Нер-2, чувствительную к полиовирусам и вирусам группы Коксаки В [17, 22]. Выделение вируса дает ответ на вопрос об этиологии заболевания и позволяет использовать выделенный вирус для последующих исследований.

Идентификацию полиовирусов вирусологическим методом проводят путем постановки реакции микронеутрализации с набором диагностических иммунных сывороток, специфичных к трем серотипам полиовирусов, в 96-луночном планшете. Идентификацию неполиомиелитных энтеровирусов осуществляют с помощью смесей сывороток, поскольку большое число различных серотипов энтеровирусов делает типирование моноспецифичными сыворотками практически невозможным. Смеси сывороток готовят по перекрывающей схеме, что позволяет определить большинство наиболее часто встречающихся энтеровирусов [16, 17]. Эти смеси производства Национального института охраны здоровья и окружающей среды (Нидерланды) рекомендуются для исследований в сети полиолабораторий ВОЗ [17]. Однако не все энтеровирусы могут быть идентифицированы этим методом.

Наряду с классическими вирусологическими методами используются молекулярно-биологические методы: полимеразная цепная реакция (ПЦР) и секвенирование генома вирусов, которые осуществляются в соответствии с нормативными документами [14]. Мишенью для ПЦР-диагностики чаще всего является высококонсервативный 5'-нетранслируемый регион, что позволяет обнаруживать практически все серотипы энтеровирусов [39]. Применение ПЦР рекомендовано при:

- необходимости проведения исследований большого количества образцов при развитии вспышек ЭВИ;
- решении рутинных задач клинической диагностики;
- осуществлении эпидемиологического надзора за энтеровирусами как элемента скрининга в сочетании с методиками молекулярного генотипирования энтеровирусов и/или вирусологическими исследованиями;
- осуществлении оперативного надзора за определенными серотипами энтеровирусов, ассоциированными со вспышками заболеваний (EV71 — HFMD) с применением генотипоспецифических тест-систем;
- для выявления энтеровирусов, не вызывающих ЦПД на культуре клеток [22].

Молекулярное типирование основано на определении нуклеотидной последовательности области генома, кодирующей капсидный белок

VP1. Полипептид VP1 содержит аминокислотные последовательности, определяющие серотип вируса, и является главным рецепторным локусом вириона [12]. Путем секвенирования участка генома VP1 и сравнения полученной нуклеотидной последовательности с другими последовательностями, содержащимися в базе данных GenBank, возможно достаточно точное определение серотипа энтеровируса за короткий срок. В работах Oberste M.S. и др. [40, 41] была показана 100%-ная корреляция между серотипами энтеровирусов, определенными с помощью реакции нейтрализации специфическими сыворотками и секвенирования участка генома VP1. Этот участок был признан наиболее подходящим для молекулярного типирования. С помощью секвенирования были идентифицированы новые серотипы энтеровирусов, такие как ЭВ 96, 99 и 102. Предполагается, что штаммы, имеющие по крайней мере 75% идентичности по участку генома VP1 и 88% идентичных аминокислот, относятся к одному серотипу [24].

Помимо определения серотипа ЭВ с помощью данных, полученных в результате секвенирования, проводят филогенетический анализ изучаемых штаммов. Таким образом можно установить источник инфицирования, проследить связь

между предполагаемым источником инфекции и зараженными людьми, а также выявить территорию, откуда произошел занос вируса.

Заключение

Одной из главных проблем в изучении энтеровирусов является их высокая генетическая изменчивость, которая в процессе эволюции привела к большому разнообразию серотипов этих вирусов. Во многих случаях идентификация энтеровирусов классическими вирусологическими методами затруднена, вследствие чего исследователям приходится секвенировать геном выделенных энтеровирусов.

Многообразие возбудителей приводит к разнообразию клинических форм заболеваний. Хотя в большинстве случаев инфицирование проходит без клинических проявлений, энтеровирусы способны вызывать такие заболевания, как серозный менингит, увеит, инфекционный миокардит, ящуроподобное заболевание, паралич, перикардит, панкреатит, менингоэнцефалит и другие. Бессимптомное носительство, высокая контагиозность, способность длительно сохраняться в водных объектах, отсутствие специфической профилактики являются причинами возникновения массовых вспышек энтеровирусных инфекций по всему миру.

Список литературы

1. Бичурина М.А., Пьяных В.А., Новикова Н.А., Леонова Н.П., Клевцова Г.А., Романенкова Н.И., Иванова Т.Г., Голицына Л.Н., Фомина Л.Б., Розаева Н.Р., Цейц О.Е., Луковникова Л.Б., Канаева О.И., Елифанова Н.В. Сезонный подъем заболеваемости энтеровирусным менингитом в Новгородской области // *Инфекция и иммунитет*. — 2012. — Т. 2, № 4. — С. 747–752.
2. Бичурина М.А., Романенкова Н.И., Розаева Н.Р., Воротникова В.А. Глобальная ситуация по полиомиелиту. Стратегия и тактика ВОЗ по ликвидации полиомиелита // *Журнал инфектологии*. — 2011. — Т. 3, № 2. — С. 5–14.
3. Голицына Л.Н., Фомина С.Г., Новикова Н.А. Молекулярно-генетические варианты вируса ЕСНО 9, идентифицированные у больных серозным менингитом в России в 2007–2009 гг. // *Вопросы вирусологии*. — 2011. — № 6. — С. 37–42.
4. Демина А.В., Нетесов С.В. Энтеровирусы. Часть 2. Энтеровирусные инфекции: многообразие клинических проявлений // *Бюл. СО РАМН*. — 2009. — № 6. — С. 116–125.
5. Жданов В.М., Гайдамович С.Я. Общая и частная вирусология. — М.: Медицина, 1982. — Т. II. — 518 с.
6. Злобин В.И. Энтеровирусные инфекции // *Инфекционные болезни*. — М.: Медицина, 1999. — 654 с.
7. Иванова О.Е. Полиомиелит и стратегия вакцинации в Российской Федерации в постсертификационный период // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. — 2011. — № 3. — С. 110–114.
8. Лобзин Ю.В., Скрипченко Н.В., Мурина Е.А. Энтеровирусные инфекции. Пособие для врачей. — СПб., 2012. — 432 с.
9. Лукашев А.Н., Иванова О.Е., Худякова Л.В. Социально-экономическая значимость энтеровирусной инфекции и ее роль в структуре инфекционной патологии в мире // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. — 2010. — № 5. — С. 113–120.
10. Лукашев А.Н., Резник В.И., Иванова О.Е., Еремеева Т.П., Каравенская Т.Н., Перескокова М.А., Лебедева Л.А., Лашкевич В.А., Михайлов М.И. Молекулярная эпидемиология вируса ЕСНО 6 — возбудителя вспышки серозного менингита в Хабаровске в 2006 г. // *Вопросы вирусологии*. — 2008. — Т. 53, № 1. — С. 16–21.
11. Лукичева Л.А., Тареев С.Ю. Опыт работы специалистов территориального отдела Управления Роспотребнадзора и филиала ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Мурманской области» по ликвидации территориальной вспышки энтеровирусной инфекции (ЭВИ) в Ковдорском районе Мурманской области // *Отечественная эпидемиология в 21 веке: материалы юбилейной Всерос. науч. конф.* — СПб., 2012. — С. 173–174.
12. Молекулярно-генетические исследования при мониторинге энтеровирусной инфекции: методические рекомендации. — Н. Новгород, 2012. — 28 с.
13. Онищенко Г.Г., Дроздов С.Г., Лялина Л.В., Бичурина М.А., Грачев В.П., Иванова О.Е., Ясинский А.А., Романенкова Н.И., Жебрун А.Б., Чернявская О.П., Воронцова Т.В., Розаева Н.Р. Проблемы ликвидации полиомиелита. — СПб., 2008. — 304 с.
14. Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности: Методические указания МУ 1.3.2569-09. — М., 2009. — 45 с.

15. Перескокова М.А., Резник В.И., Лебедева Л.А., Савосина Л.В., Исаева Н.В. Роль санитарно-вирусологических исследований сточных вод для оценки эпидситуации по энтеровирусным инфекциям // Дальневосточный журн. инфекц. патологии. — 2008. — № 12. — С. 15–26.
16. Романенкова Н.И., Бичурина М.А. Энтеровирусы // Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. — Т. II. — 928 с.
17. Руководство по лабораторным исследованиям полиомиелита. — ВОЗ, Женева, 2005. — 112 с.
18. Рюкерт Р.Р. Пикорнавирусы и их репликация // Вирусология; под ред. Филдса Б. и др.; пер. с англ. — М.: Мир, 1999. — Т. 2. — С. 190–256.
19. Снитковская Т.Э., Скрябина С.В. Характеристика энтеровирусных инфекций в Свердловской области // Гигиена и эпидемиология. — 2008. — № 8. — С. 146–149.
20. Тарасенко Т., Косенок Е.В., Каленик А.В., Дзюба Г.Т. О вспышке энтеровирусной инфекции во Владивостоке // Здоровье. Медицинская экология. Наука. — 2009. — № 3. — С. 81–82.
21. Шишко Л.А., Романенкова Н.И., Бичурина М.А., Гордиенко Т.А., Розаева Н.Р., Голицына Л.Н., Фомина Н.Б., Канаева О.И., Лялина Л.В., Новикова Н.А. Этиология сезонных подъемов заболеваемости энтеровирусной инфекцией в Архангельской области // Инфекция и иммунитет. — 2013. — Т. 3, № 1. — С. 65–72.
22. Эпидемиологический надзор и профилактика энтеровирусных (неполио) инфекций: Методические указания МУ 3.1.1.2363-08. — М., 2008. — 61 с.

Ссылки 23–77 см. в References (с. 35–36). See References for numbers 23–77 at pp. 35–36.

Infekciã i immunitet (Infection and Immunity)
2014, vol. 4, no. 1, pp. 27–36

REVIEWS

ENTEROVIRUS INFECTION: VARIETY OF ETIOLOGICAL FACTORS AND CLINICAL MANIFESTATIONS

Kanaeva O.I.

St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Enteroviruses are widely distributed human infectious pathogens. In spite of infection a disease does not manifest in majority number of cases. However, in some infected persons the different kind of symptoms can be observed; from common cold signs up to aseptic (serous) meningitis and myocarditis. Severe enteroviral cases with lethal outcomes are rarely reported. Ability of enteroviruses to cause large outbreaks and even epidemic distribution is very significant for health care systems. Taking in account a high genetic diversity of enteroviruses it is possible appearance of new highly pathogenic strains in the future. In some countries including the Russian Federation the permanent surveillance for enteroviral infections is provided besides of WHO polio elimination program. The laboratory diagnostics of enterovirus infections is complicated by numerous of pathogen serotypes. Thus, classical virological methods should be supported by molecular-biological tools to sequence pathogen genome and to define phylogenetic relations between different enterovirus strains.

Key words: *enterovirus, enteroviral infection, poliomyelitis, diagnostics.*

Author:

Kanaeva O.I. ✉, Junior Researcher, Laboratory of Etiology and Control of Viral Infections, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, 197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14, St. Petersburg Pasteur Institute.
Phone: (812) 233-21-56 (office). Fax: (812) 232-92-17. E-mail: ol.kanaeva@yandex.ru.

References

1. Bichurina M.A., P'yanykh V.A., Novikova N.A., Leonova N.P., Klevtsova G.A., Romanenkova N.I., Ivanova T.G., Golitsyna L.N., Fomina L.B., Rozaeva N.R., Tseyts O.E., Lukovnikova L.B., Kanaeva O.I., Epifanova N.V. Sezonnyy pod'em zaboлеваemosti enterovirusnym meningitom v Novgorodskoy oblasti [The seasonal increase of enteroviral infection incidence in the Novgorod oblast]. *Infektsiya i immunitet — Infection and Immunity*, 2012, vol. 2, no 4, pp. 747–752.
2. Bichurina M.A., Romanenkova N.I., Rozaeva N.R., Vorotnikova V.A. Global'naya situatsiya po poliomiellitu. Strategiya i taktika VOZ po likvidatsii poliomiellita [Global polio situation. WHO strategy and tactics at polio eradication]. *Zhurnal infektologii — Infectology Journal*, 2011, vol. 3, no. 2, pp. 5–14.
3. Golitsyna L.N., Fomina S.G., Novikova N.A. Molekulyarno-geneticheskie varianty virusa ECHO 9, identifikirovannyye u bol'nykh seroznym meningitom v Rossii v 2007–2009 gg. [Molecular genetic echovirus 9 variants identified in patients with aseptic meningitis in Russia in 2007–2009]. *Voprosy virusologii — Problems of Virology*, 2011, no. 6, pp. 37–42.
4. Demina A.V., Netesov S.V. Enterovirusy. Chast' 2. Enterovirusnye infektsii: mnogoobrazie klinicheskikh proyavleniy [Enteroviruses. Part II: Enteroviral infections: the variety of clinical implications (review)]. *Byulleten' SO RAMN — Bulletin of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2009, no. 6, pp. 116–125.

5. Zhdanov V.M., Gaydamovich S.Ya. Obshchaya i chastnaya virusologiya [General and special virology]. Moscow: Medicina, 1982, vol. 2. 518 p.
6. Zlobin V.I. Enterovirusnye infektsii. Infektsionnye bolezni [Enterovirus infections. In Infectious diseases]. Moscow: Medicina, 1999. 654 p.
7. Ivanova O.E. Poliomielit i strategiya vaksinatcii v Rossiyskoy Federatsii v postsertifikatsionnyy period [Poliomyelitis and vaccination strategy in Russian Federation in post-certification period]. Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii — Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology, 2011, no. 3, pp. 110–114.
8. Lobzin Yu.V., Skripchenko N.V., Murina E.A. Enterovirusnye infektsii. Posobie dlya vrachev [Enterovirus infections]. St. Petersburg, 2012. 432 p.
9. Lukashev A.N., Ivanova O.E., Hudyakova L.V. Sotsial'no-ekonomicheskaya znachimost' enterovirusnoy infektsii i ee rol' v strukture infektsionnoy patologii v mire [Social and economic significance of enterovirus infection and its role in etiologic structure of infectious diseases in the world]. Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii — Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology, 2010, no. 5, pp. 113–120.
10. Lukashev A.N., Reznik V.I., Ivanova O.E., Ereemeeva T.P., Karavenskaya T.N., Pereskokova M.A., Lebedeva L.A., Lashkevich V.A., Mikhaylov M.I. Molekulyarnaya epidemiologiya virusa ECHO 6 — vzbuditelya vspyshki seroznogo meningita v Habarovske v 2006 g. [Molecular epidemiology of ECHO 6 virus which caused the outbreak of aseptic meningitis in Khabarovsk, 2006]. Voprosy virusologii — Problems of Virology, 2008, vol. 53, no. 1, pp. 16–21.
11. Lukicheva L.A., Tareev S.Yu. Opyt raboty spetsialistov territorial'nogo otdela Upravleniya Rospotrebnadzora i filiala FBUZ "Tsentr gigieny i epidemiologii v Murmanskoy oblasti" po likvidatsii territorial'noy vspyshki enterovirusnoy infektsii (EVI) v Kovdorskom rayone Murmanskoy oblasti [Experience of specialist's action at the liquidation of enterovirus infection outbreak in Kovdor district of Murmanskaya oblast]. Otechestvennaya epidemiologiya v 21 veke: materialy yubileynoy Vserossiyskaya nauchnaya konferentsiya [Conference "National Epidemiology in XXI century"]. St. Petersburg, 2012, pp. 173–174.
12. Molekulyarno-geneticheskie issledovaniya pri monitoringe enterovirusnoy infektsii: metodicheskie rekomendatsii [Molecular genetic investigations in monitoring of enterovirus infections. Methodical instructions]. Nizhni Novgorod, 2012. 28 p.
13. Onishchenko G.G., Drozdov S.G., Lyalina L.V., Bichurina M.A., Grachev V.P., Ivanova O.E., Yasinskiy A.A., Romanenkova N.I., Zhebrun A.B., Chernyavskaya O.P., Vorontsova T.V., Rozaeva N.R. Problemy likvidatsii poliomielita [The problems of the polio eradication]. St. Petersburg, 2008. 304 p.
14. Organizatsiya raboty laboratoriy, ispol'zuyushchikh metody amplifikatsii nukleinovyykh kislot pri rabote s materialom, sodержashchim mikroorganizmy I–IV grupp patogenosti: Metodicheskie ukazaniya MU 1.3.2569–09. [Organization of the working process in laboratories using nucleic acid amplification methods in working with material, containing microorganisms of I–IV pathogenic groups. Methodical instructions 1.3.2569–09]. Moscow, 2009, 45 p.
15. Pereskokova M.A., Reznik V.I., Lebedeva L.A., Savosina L.V., Isaeva N.V. Rol' sanitarno-virusologicheskikh issledovaniy stochnykh vod dlya otsenki epidemicheskoy situatsii po enterovirusnym infektsiyam [The role of sewage sanitary virologic research for the estimation of enterovirus infections epidemical situation]. Dal'nevostochnyy zhurnal infektsionnoy patologii — Russian Far East Journal of Infectious Pathology, 2008, no. 12, pp. 15–26.
16. Romanenkova N.I., Bichurina M.A. Enterovirusy. Klinicheskaya laboratornaya diagnostika: natsional'noe rukovodstvo [Enteroviruses. Clinical laboratory diagnostics: national guide]. Moscow: GEOTAR-Media, 2012, vol. 2. 928 p.
17. Rukovodstvo po laboratornym issledovaniyam poliomielita [Manual for the laboratory investigation of polio]. WHO, Geneva, Switzerland, 2005. 112 p.
18. Ryukert R.R. Pikornavirusy i ikh replikatsiya. Virusologiya; pod red. Fildsa B. i dr.; per. s angl. [Picornaviruses and their replication. In Virology, ed. Fields et al.]. Moscow: Mir, 1999, vol. 2, pp. 190–256.
19. Snitkovskaya T.E., Skryabina S.V. Harakteristika enterovirusnykh infektsiy v Sverdlovskoy oblasti [Description of enterovirus infections in Sverdlovskaya oblast]. Gigiena i epidemiologiya — Epidemiology and hygiene, 2008, no. 8, pp. 146–149.
20. Tarasenko T., Kosenok E.V., Kalenik A.V., Dzyuba G.T. O vspyshke enterovirusnoy infektsii vo Vladivostoke [About the outbreak of enterovirus infection in Vladivostok]. Zdorov'e. Meditsinskaya ekologiya. Nauka — Health. Medical ecology. Science, 2009, no. 3, pp. 81–82.
21. Shishko L.A., Romanenkova N.I., Bichurina M.A., Gordienko T.A., Rozaeva N.R., Golitsyna L.N., Fomina N.B., Kanaeva O.I., Lyalina L.V., Novikova N.A. Etiologiya sezonnykh pod'emov zabolevaemosti enterovirusnoy infektsiei v Arkhangel'skoy oblasti [Etiology of seasonal increasing of enteroviral infection incidence in Arkhangel'sk oblast]. Infektsiya i immunitet — Infection and Immunity, 2013, vol. 3, no. 1, pp. 65–72.
22. Epidemiologicheskii nadzor i profilaktika enterovirusnykh (nepolio) infektsiy: Metodicheskie ukazaniya MU 3.1.1.2363–08. [Epidemiological surveillance and prophylactics of enterovirus (nonpolio) infections. Methodical instructions 3.1.1.2363–08]. Moscow, 2008, 61 p.
23. Aylward B., Tangermann R. The global polio eradication initiative: Lessons learned and prospects for success. Vaccine, 2011, vol. 29, no. 4, pp. 80–85.
24. Brown B.A., Maher K., Flemister M.R., Naraghi-Arani P., Uddin M., Oberste M.S., Pallansch M.A. Resolving ambiguities in genetic typing of human enterovirus species C clinical isolates and identification of enterovirus 96, 99 and 102. J. Gen. Virol., 2009, vol. 90, no. 7, pp. 1713–1723.
25. Carter J., Saunders V. Virology: Principles and Applications. John Wiley & Sons: 2007, pp. 157–172.
26. Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases. Ed. Atkinson W., Wolfe C., Hamborsky J., 12th ed., Public Health Foundation, 2012, pp. 249–262.
27. Euscher E., Davis J., Holzman I., Nuovo G.J. Coxsackie virus infection of the placenta associated with neurodevelopmental delays in the newborn. Obstet. Gynecol., 2001, vol. 98, no. 6, pp. 1019–1026.
28. Guidelines for environmental surveillance of poliovirus circulation. Geneva, Switzerland, WHO, 2003.
29. Ho M., Chen E.R., Hsu K.H., Twu S.J., Chen K.T., Tsai S.F., Wang J.R., Shih S.R. An epidemic of enterovirus 71 infection in Taiwan. Taiwan Enterovirus Epidemic Working Group. N. Engl. J. Med., 1999, vol. 341, no. 13, pp. 929–935.

30. Joffret M.-L., Jégouic S., Bessaud M., Balanant J., Tran C., Caro V., Holmblat B., Razafindratsimandresy R., Reynes J.-M., Rakoto-Andrianarivelo M., Delpeyroux F. Common and diverse features of cocirculating type 2 and 3 recombinant vaccine-derived polioviruses isolated from patients with poliomyelitis and healthy children. *J. Infect. Dis.*, 2012, vol. 205, no. 9, pp. 1363–1373.
31. Kemball C.C., Alirezaei M., Whitton J.L. Type B coxsackieviruses and their interactions with the innate and adaptive immune systems. *Future Microbiol.*, 2010, vol. 5, no. 9, pp. 1329–1347.
32. Khanh T.H., Sabanathan S., Thanh T.T., Thoa le P.K., Thuong T.C., Hang V.T., Farrar J., Hien T.T., Chau N., van Doorn H.R. Enterovirus 71-associated Hand, Foot, and Mouth Disease, Southern Vietnam, 2011. *Emerg. Infect. Dis.*, 2012, vol. 18, no. 12, pp. 2002–2005.
33. Lee B.E., Davies H.D. Aseptic meningitis. *Curr. Opin. Infect. Dis.*, 2007, vol. 20, no. 3, pp. 272–277.
34. Lee M.-S., Tseng F.-C., Wang J.-R., Chi C.-Y., Chong P., Su I.-J. Challenges to licensure of Enterovirus 71 vaccines. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 2012, vol. 6, no. 8, e1737.
35. Lukashov A.N. Role of recombination in evolution of Enteroviruses. *Rev. Med. Virol.*, 2005, vol. 15, pp. 157–167.
36. Lv S., Rong J., Ren S., Wu M., Li M., Zhu Y., Zhang J. Epidemiology and diagnosis of viral myocarditis. *Hellenic J. Cardiol.*, 2013, vol. 54, no. 5, pp. 382–391.
37. Muir P., Kämmerer U., Korn K., Mulders M.N., Pöyry T., Weissbrich B., Kandolf R., Cleator G.M., van Loon A.M. Molecular typing of Enteroviruses: current status and future requirements. *Clin. Microb. Rev.*, 1998, vol. 11, no. 1, pp. 202–227.
38. Nathanson N., Kew O.M. From emergence to eradication: the epidemiology of poliomyelitis deconstructed. *Am. J. Epidemiol.*, 2010, vol. 172, no. 11, pp. 1213–1229.
39. 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.
40. Oberste M.S., Maher K., Kilpatrick D.R., Flemister M.R., Brown B.A. Typing of Human Enteroviruses by partial sequencing of VP1. *J. Clin. Microbiol.*, 1999, vol. 37, no. 5, pp. 1288–1293.
41. Oberste M.S., Maher K., Kilpatrick D.R., Pallansch M.A. Molecular evolution of the human enteroviruses: correlation of serotype with VP1 sequence and application to picornavirus classification. *J. Virol.*, 1999, vol. 73, no. 3, pp. 1941–1948.
42. Ooi M.H., Wong S.C., Lewthwaite P., Cardoso M.J., Solomon T. Clinical features, diagnosis and management of human enterovirus 71 infection. *Lancet Neurol.*, 2010, vol. 9, no. 11, pp. 1097–1105.
43. 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, pp. 839–895.
44. Polio weekly global update. WHO, 16 October 2013.
45. Racaniello V.R. Picornaviridae: The Viruses and Their Replication. In *Fields Virology, 5th Edition*. Ed. Knipe D.M., Howley P.M., Lippincott Williams & Wilkins, 2007, pp. 795–839.
46. 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.
47. 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.
48. Runckel C., Westesson O., Andino R., DeRisi J.L. Identification and manipulation of the molecular determinants influencing poliovirus recombination. *PLoS pathogens*, 2013, vol. 9, no. 2, e1003164.
49. Sadeuh-Mba S.A., Bessaud M., Massenet D., Joffret M.L., Endegue M.C., Njouom R., Reynes J.M., Rousset D., Delpeyroux F. High frequency and diversity of species C enteroviruses in Cameroon and neighboring countries. *J. Clin. Microbiol.*, 2013, vol. 51, no. 3, pp. 759–770.
50. Schlapbach L.J., Ersch J., Balmer C., Prêtre R., Tomaske M., Caduff R., Morwood J., Provenzano S., Stocker C. Enteroviral myocarditis in neonates. *J. Paediatr. Child. Health*, 2013, vol. 49, no. 9, pp. E451–454.
51. 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. 778–90.
52. Stanway G.F.B., P. Christian, Hovi T., Hyyhia T., King A.M.Q., Knowles N.J., Lemon S.M., Minor P.D., Pallansch M.A., Palmenberg A.C., Skern T. Family Picornaviridae. Ed. Fauquet C.M., Mayo M.A., Maniloff J., Desselberg U., Ball L.A. *Virus taxonomy, 8th Report of ICTV*, 2005.
53. Tam P.E. Coxsackievirus myocarditis: interplay between virus and host in the pathogenesis of heart disease. *Viral Immunol.*, 2006, vol. 19, no. 2, pp. 133–146.
54. Yin-Murphy M., Almond J.W. Picornaviruses. In *Medical Microbiology, 4th edition*. Ed. Baron S., The University of Texas Medical Branch, 1996, 1273 p.
55. Zeng M., El Khatib N.F., Tu S., Ren P., Xu S., Zhu Q., Mo X., Pu D., Wang X., Altmeyer R. Seroepidemiology of Enterovirus 71 infection prior to the 2011 season in children in Shanghai. *J. Clin. Virol.*, 2012, vol. 53, no. 4, pp. 285–289.