HAL
open science

Геном ентеровірусів у сироватці крові хворих на гостре порушення мозкового кровообігу

N.G. Andryushkova, N.S. Turchin, L.V. Dolinchuk, V.A. Ponyatovskyy, V.V. Melnik, V.P. Shyrobokov, L.N. Trepet

To cite this version:

N.G. Andryushkova, N.S. Turchin, L.V. Dolinchuk, V.A. Ponyatovskyy, V.V. Melnik, et al.. Геном ентеровірусів у сироватці крові хворих на гостре порушення мозкового кровообігу. Medical perspectives (Medicni Perspektivi), 2016, 21 (4), pp.33-38. ⟨hal-01450411⟩

HAL Id: hal-01450411

https://hal.science/hal-01450411v1

Submitted on 31 Jan 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

УДК 616.831-005-036.11:578.835.1

Н.Г. Андрюшкова [*],
Н.С. Турчина [**],
Л.В. Долінчук [*],
В.А. Понятовський [*],
В.В. Мельник [*],
В.П. Широбоков [*],
Л.М. Трепет [***]

ГЕНОМ ЕНТЕРОВІРУСІВ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ХВОРИХ НА ГОСТРЕ ПОРУШЕННЯ МОЗКОВОГО КРОВООБІГУ

Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця
кафедра мікробіології, вірусології та імунології [*]
(зав. – акад. НАН та НАМН України, д. мед. н., проф. В.П. Широбоков)
пр. Перемоги, 34, Київ, 03680, Україна
кафедра неврології [**]
(зав. – д. мед. н., проф. Л.І. Соколова)
вул. Мечникова 39/1, корпус 3., 3 поверх, м. Київ, 01601, Україна
Олександрівська клінічна лікарня м. Києва [***]
Відділення цереброваскулярної патології
(зав. – Л.М. Трепет)
вул. Мечникова 39/1, корпус 3, 3 поверх, м. Київ, 01601, Україна
Bogomolets National Medical University
Microbiology, virology and immunology department [*]
Peremogy av., 34, Kyiv, 03680, Ukraine
Neurology department [**]
Mechnikova str., 39/1, building 3., 3 rd level, Kyiv, 01601, Ukraine
Oleksandrivs'ka clinical hospital [***]
Cerebrovascular pathology department
Mechnikova str., 39/1, building 3., 3 rd level, Kyiv, 01601, Ukraine
e-mail: andriushkovan@yandex.ua
e-mail: tinney@yandex.ua

Ключові слова: *ентеровіруси, Коксакі В віруси, гостре порушення мозкового кровообігу, полімеразна ланцюгова реакція*
Key words: *enteroviruses, Coxsackie B virus, acute cerebrovascular accident, polymerase chain reaction*

Реферат. Геном энтеровирусов в сыворотке крови больных с острым нарушением мозгового кровообращения. Андрюшкова Н.Г., Турчина Н.С., Долинчук Л.В., Понятовский В.А., Мельник В.В., Широбоков В.П., Трепет Л.Н. *Целью исследования было определение присутствия генома энтеровирусов в сыворотке крови больных с острым нарушением мозгового кровообращения (ОНМК) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Была исследована сыворотка крови 72 больных с ОНМК и контрольной группы из 30-ти больных с заболеваниями не сосудистого происхождения для выявления генома энтеровирусов. Исследование энтеровирусных РНК проводили при помощи ПЦР с применением обратной транскрипции. Выделение вирусов проводили на линиях клеток HeLa и HEp-2. В 17 из 72 отобранных проб сыворотки крови исследуемой группы (23,6±5,0%) был выявлен геном энтеровирусов, тогда как в контрольной группе был получен позитивный результат только с одной сывороткой крови (3,3±3,2%). Выделить цитопатогенные агенты на культурах клеток HEp-2 и HeLa удалось из 11 сывороток у больных из исследуемой группы, давших позитивный результат на энтеровирусы в ПЦР. Из остальных ПЦР-позитивных и ПЦР-негативных сывороток вирусы выделить не удалось. Ни в одной из сывороток крови больных контрольной группы цитопатогенные агенты выделить не удалось. Присутствие энтеровирусов в крови больных с ОНМК разрешает предположить этиопатогенетическую связь между ними. Внедрение ПЦР с целью выявления энтеровирусных агентов у больных с ОНМК может дополнить уже существующие методы диагностики.*

Abstract. The genom of enteroviruses in the blood serum of patients with acute stroke. Andryushkova N.G., Turchin N.S., Dolinchuk L.V., Ponyatovskyy V.A., Melnik V.V., Shyrobokov V.P., Trepet L.N. *Objective of the study was determination of enterovirus genom presence in the blood serum of patients with acute stroke by polymerase chain reaction (PCR). The blood serum of 72 patients with acute stroke and control group of 30 patients with another vascular disease was studied to reveal genom of enteroviruses. Detection of enterovirus RNA was performed by PCR using the reverse transcription. Viruses were isolated on HeLa and HEp-2 cell lines. The enterovirus genom detected by PCR was in 17 of 72 samples of the tested serum in the research group (23,6±5,0%). In the control group only one*

serum was PCR-positive for enteroviruses (3,3±3,2%). Cytopathogenic agents were isolated in HEp-2 and HeLa cell lines from 11 PCR-positive samples of blood serum from the experimental group of patients. No viruses were isolated from the remaining PCR-positive and PCR-negative sera. The presence of enteroviruses in the blood of patients with acute stroke suggests etiopathogenetical link between them. The introduction of PCR to detect enteroviral agents in patients with acute stroke can complement existing methods of diagnosis.

Серед вірусів, що викликають захворювання у людини, важливого значення на сьогодні набувають ентеровіруси. Науковий інтерес до них зумовлений низкою причин: кількість виділених типів ентеровірусів щорічно збільшується, розширюється спектр захворювань, виникнення яких пов'язують з цією інфекцією. Нові дані значною мірою пов'язані з використанням молекулярно-генетичних методів діагностики. Важливою особливістю ентеровірусів є те, що вони здатні до персистенції в людському організмі, встановлено вірусоносійство з довготривалим виділенням збудника в навколишнє середовище [10]. Людина може інфікуватись ентеровірусами протягом всього року, але значний зріст захворюваності на ці інфекції спостерігається в літньо-осінній період [9].

Ентеровіруси є поліорганотропними та вражають людей різного віку, але найчастіше ці інфекції зустрічаються в дитячому віці: здорові діти в 7,2%-20,1% випадків є вірусоносіями, тоді як у віковій групі дітей до року частота вірусоносійства становить 32,6% (Анохин В.А. и др., 2014). З віком рівень природного імунітету збільшується, і в деяких регіонах у 90% і більше п'ятирічних дітей виявляються антитіла до ентеровірусів. У дорослих виявляються антитіла до найбільш розповсюджених сероваріантів; серопозитивність серед населення вища в регіонах з низьким рівнем соціально-побутових умов проживання [11]. Низка досліджень ряду авторів (Амосова К.М., 1996; Гіріна О.Н., 1996; Zhang L. et al., 2009; Ботвиньев В.В. и соавт., 2012; Бондаренко В.І. зі співав., 2008; Плоткин В.Я. и соавт., 2009) доводять патогенетичну роль ентеровірусів при інфаркті міокарда, міокардиті, перикардиті, дилятаційній кардіоміопітії, атеросклерозі, гострому коронарному синдромі, в патології нирок, розвитку апендициту, при гепатиті, юнацькому діабеті, дерматомікозах, псоріазі [1, 2, 3, 4, 10, 11, 12, 13-16].

Незважаючи на те, що у більшості випадків прогноз при ентеровірусних інфекціях є сприятливим, ураження центральної нервової системи може спровокувати ускладнення неврологічного характеру, а міоперикардити та хронічні менінгоенцефаліти у хворих з імунодефіцитним станом можуть призвести до летальних наслідків [11].

Встановлення ролі ентеровірусної інфекції в розвитку судинної патології, що базується на використанні молекулярно-генетичних технологій, є актуальним на сьогодні [6, 7].

Мета дослідження – визначення наявності ентеровірусів та їх РНК у сироватці хворих з гострими порушеннями мозкового кровообігу (ГПМК) за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) та вірусологічного методу дослідження.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

У дослідження було залучено 102 пацієнти, які перебували на стаціонарному лікуванні в неврологічному відділенні та відділенні цереброваскулярної патології Олександрівської клінічної лікарні м. Києва в 2009-2015 роках. Дослідну групу становили 72 хворі з різними формами гострого порушення мозкового кровообігу (ГПМК), які відповідали критеріям включення: вік старше 18 років, підтверджено діагноз ГПМК, відсутність критеріїв виключення. Критеріями виключення були: тривалість перебування у стаціонарі менше 2-х тижнів або неможливість взяття сироватки крові з інтервалом у два тижні. Контрольну групу (30 осіб) становили хворі, які перебували на лікуванні у відділенні з неврологічними захворюваннями, що не пов'язані із судинною патологією. Дослідження було схвалено Комісією з біоетики Національного медичного університету імені О.О. Богомольця. Всі пацієнти надали добровільну письмову згоду на участь у дослідженні. Вік обстежених хворих коливався від 31 року до 86 років і в середньому становив 62,6±12,0 років. До вибірки увійшли 41 жінка (56,9%) і 31 чоловік (43,1%). Контрольна група включала 30 осіб віком від 16 до 86 років, середній вік становив 56,3±19,3 року. До вибірки увійшли 19 жінок (63,3%) і 11 чоловіків (36,7,1%).

З метою встановлення можливої наявності геному ентеровірусів у сироватці хворих було проведено ПЛР із застосуванням зворотної транскрипції (ЗТ-ПЛР). Для цього в перші 1-2 доби після надходження в стаціонар у всіх хворих було взято на дослідження кров з ліктьової вени, для отримання сироватки.

Молекулярно-генетичний та вірусологічний методи дослідження проводилися на базі кафедри мікробіології, вірусології та імунології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця. Для проведення ЗТ-ПЛР

використовували комерційні тест-системи «АмпліСенс» (набір реагентів розроблений і випускається ФГУН «ЦНДІ Епідеміологія Росспоживнагляду» (м. Москва)). Виділення РНК ентеровірусів з клінічного матеріалу проводили методом афінної сорбції на частинках силикагеля за Boom et al., використовуючи набір реагентів «РИБО-сорб» («АмпліСенс», РФ). Реакцію зворотної транскрипції проводили відразу після виділення РНК з використанням ферменту ревертази з набору «Реверта L-100» («АмпліСенс», РФ). Ампліфікацію вірусної кДНК проводили на багатоканальному ампліфікаторі «Parkin Elmer-2400» (США), використовуючи реактиви тест-системи «АмпліСенс Enterovirus-207». Детекцію продуктів ампліфікації здійснювали методом горизонтального електрофорезу в 1,5% -агарозному гелі з бромідом етидію. Облік результатів здійснювали візуально, переглядаючи гель в УФ-трансілюмінаторі (довжина хвилі 254 нм), використовуючи червоний світлофільтр.

Для виділення цитопатогенних ентеровірусів було використано такі перещеплювані лінії культур клітин: HeLa – лінія клітин, отримана з ракової пухлини шийки матки, та HEp-2 (Cincinnati) – лінія, отримана з епідермоїдної карциноми людини. Вирощували перещеплювані клітинні культури та проводили виділення ентеровірусів за загальноприйнятою методикою [8].

Статистичну обробку проводили за допомогою пакетів статистичних програм «Statistica 6,0 for Windows», EXCEL.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У результаті досліджень доведено, що 17 з 72 відібраних проб сироватки крові дослідної групи дали позитивний результат (23,6±5,0% від усіх досліджених проб). У решти 55 хворих, що становило 76,4±5,0% від загальної кількості проб у дослідній групі, результати дослідження були негативними. У контрольній групі було отримано позитивний результат лише з однією сироваткою крові, що становило 3,3±3,2 % (табл. 1).

Таблиця 1

Виділення ентеровірусної РНК у сироватці крові пацієнтів контрольної та дослідної груп

Група	Кількість хворих	Кількість сироваток хворих, що виявилися позитивними на наявність ентеровірусної РНК	
		абс.	%
Дослідна	72	17	23,6±5,0
Контрольна	30	1	3,3±3,2

Виділити цитопатогенні вірусні агенти на культурах клітин HEp-2 та HeLa вдалося з 11 сироваток хворих з дослідної групи, що дали позитивний результат на ентеровіруси у ПЛР (табл. 2). З решти ПЛР-позитивних сироваток та ПЛР-негативних сироваток віруси виділити не вдалося. З жодної сироватки крові хворих контрольної групи цитопатогенні агенти виділити не вдалося.

Таблиця 2

Виділення цитопатогенних агентів із сироватки крові пацієнтів контрольної та дослідної груп

Група	Кількість хворих	Кількість сироваток хворих, що виявилися позитивними на наявність ентеровірусної РНК	
		абс.	%
Дослідна	72	11*	15,3±4,2
Контрольна	30	0	0

Примітка: * - усі сироватки, з яких вдалося виділити цитопатогенні агенти, були ПЛР-позитивними.

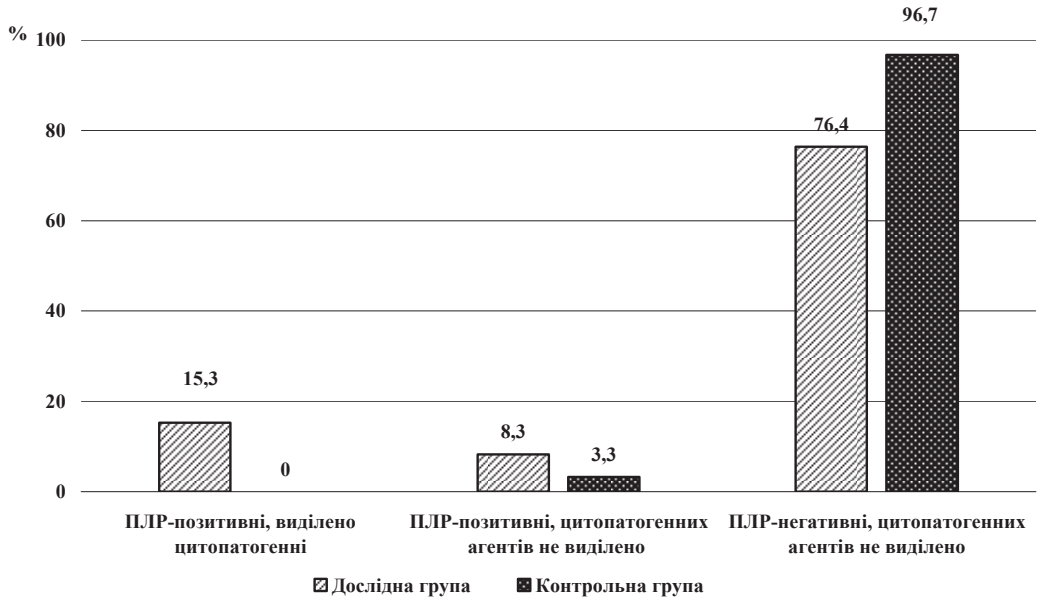

Рис. 1. Частота виявлення ентеровірусів за допомогою ПЛР та вірусологічного методу у хворих на ГПМК

Згідно з методичними рекомендаціями з епіднагляду та профілактики ентеровірусної (неполіомієлітної) інфекції, підставою для лабораторного підтвердження ентеровірусної інфекції служить виявлення ентеровірусів або їх РНК в стерильних типах клінічного матеріалу із застосуванням прямих методів їх виявлення, або визначення сероконверсії, або чотириразового наростання титру антитіл при дослідженні парних сироваток, взятих з інтервалом у 14 днів [8]. Таким чином, виявлення в крові обстежених хворих РНК ентеровірусів свідчить про наявність у них ентеровірусної інфекції. Наші дані узгоджуються з даними Плоткина В.Я. и др. [12] про значущість неполіомієлітних ентеровірусів у розвитку ГПМК. Менша частота виявлення ентеровірусів культуральним методом за їх цитопатичною дією пояснюється тим, що не всі ентеровіруси можуть бути виділені на культурі клітин, а також низьким титром ентеровірусів у крові хворих [5].

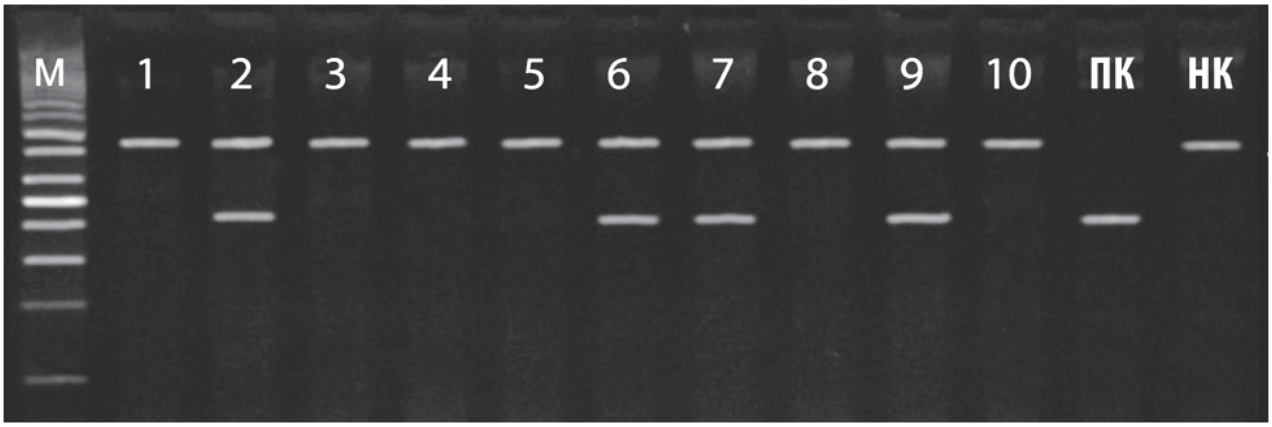

Рис. 2. Результати електрофорезу досліджуваних сироваток крові хворих дослідної групи (1-10 – досліджувані проби, з яких у пробах 1, 3-5, 8, 10 – негативний результат, у пробах 2, 6, 7, 9 – позитивний резутат; М – маркер; ПК – позитивний контроль, НК – негативний контроль)

Крім того, за допомогою модифікованої реакції зв'язування комплементу Zhang L. et al. підтверджено кількісне виявлення антигенів ентеровірусів у крові 49% пацієнтів з гострим

коронарним синдромом, а також у тканини коронарних артерій (у 23 з 24 випадків – 98 %) і серця (у 51 з 94 випадків – 54,3%) пацієнтів з інфарктом міокарда (ІМ), померлих від кардіогенного шоку і / або розриву міокарда. Відносна кількість ентеровірусного антигену в крові була вірогідно вище в групі хворих на ІМ, з ускладненням у вигляді кардіогенного шоку або розриву міокарда, порівняно з аналогічними показниками в пацієнтів з неускладненим ІМ. Ці дані свідчать про те, що ентеровіруси є одним з факторів ризику гострого коронарного синдрому та беруть участь у його патогенезі, сприяють розвитку таких ускладнень ІМ, як кардіогенний шок і розрив міокарда [16].

Кардіотропність вірусів Коксакі В1 та В6 дозволяє припустити їх участь у розвитку ГПМК, тому при розшифровці видової належності виділених нами неполіомієлітних ентеровірусів слід, перш за все, виявляти саме їх [10]. Отже, негативний результат не виключає наявності ентеровірусної інфекції, оскільки циркуляція ентеровірусів у крові обмежується першими тижнями захворювання. Надалі підтвердження інфекції можливе шляхом проведення серодіагностики.

Результати цього дослідження демонструють перспективність використання молекулярно-генетичного методу для виявлення ентеровірусів у хворих з ГПМК (рис. 1, 2). Перевагою застосування генетичного методу діагностики (ПЛР) перед вірусологічним є вища чутливість та специфічність методу, значна економія часу, можливість виявлення ентеровірусів, що не реплікуються в культурі клітин.

Подальші дослідження будуть зосереджені на типуванні виділених нами штамів ентеровірусів з визначенням тих, що відіграють етіопатогенетичну роль у виникненні та розвитку ГПМК.

ПІДСУМОК

Присутність ентеровірусів у крові хворих з ГПМК дозволяє припустити етіопатогенетичний зв'язок між ними. Впровадження ПЛР з метою виявлення ентеровірусних агентів у хворих на ГПМК у перспективі доповнить вже існуючі методи діагностики.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Амосова Е.Н. Дилятационная кардиомиопатия (клиника, особенности, дифференциальная диагностика с ревматическими пороками сердца, лечение): автореф. дис. на соискание учен. степени д-ра мед. наук: спец. 14.00.06 / Е.Н. Амосова. – Киев, 1996. – 44 с.
2. Андрюшкова Н.Г. Значення ентеровірусів у серцево-судинній патології / Н.Г. Андрюшкова // Медична наука України. – 2015. – Т. 11, № 1-2. – С. 105-109.
3. Ботвиньев В.В. Современные возможности диагностики, профилактики и лечения энтеровирусной инфекции Коксаки у детей / В. В. Ботвиньев, Л. С. Намазова-Баранова, О. Б. Гордеева // Педиатрическая фармакология. – 2012. – Т. 9, № 3. – С. 40-44.
4. Гіріна О.Н. Імунопатогенетичні та ендокринні зміни при різних формах ішемічної хвороби серця в умовах вірусної інфекції та їх терапевтична корекція: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра мед. наук: спец. 14.01.11 / О.Н. Гіріна. – Київ, 1996. – 45 с.
5. Понятовський В.А. Очищення стічних вод від ентеровірусів та бактеріофагів на спорудах бортницької станції аерації / В.А. Понятовський, В.В. Бобир, В.П. Широбоков // Мікробіол. журнал. – 2014. – Т. 76, № 2. – С. 53-58.
6. Прилуцький А.С. Методичні підходи до молекулярно-генетичної діагностики ентеровірусних інфекцій / А.С. Прилуцький, А.Г. Колеснікова, С.В. Бабенко // Методичні підходи до молекулярно-генетичної діагностики ентеровірусних інфекцій. – 2013. – Т. 9, № 2. – С. 252-254.
7. Разработка и применение современных лабораторних методов в эпидемиологическом мониторинге, диагностике и лечении энтеровирусных инфекций / А.С. Прилуцкий, С.В. Бабенко, А.Г. Колесникова, С.О. Чернуцкий // Таврич. мед.-биол. вестник. – 2009. – Т. 12, № 3 (47). – С. 63-68.
8. Руководство по вирусологическим исследованиям полиомиелита. – Москва, 1998. – 114 с.
9. Сабитова А.М. Современные клинико-эпидемиологические особенности энтеровирусной различных клинических форм инфекции / А.М. Сабитова, Т.А. Александрова // Сб. материалов X Рос. конф. «Педиатрия и детская хирургия в Приволжском Федеральном округе». – Казань, 2013. – С. 60.
10. Бондаренко В.І. Сучасні погляди на роль ентеровірусів у патології серцево-судинної системи / В.І. Бондеренко, В. І. Задорожна, Н. Л. Зубкова [та ін.] // Профілактична медицина. – 2008. – № 3. – С. 57-62.
11. Энтеровирусные инфекции: современные особенности / В.А. Анохин, А.М. Сабитвов, И.Э. Кравченко, Т.М. Мартынова // Практическая медицина. Педиатрия. – 2014. – № 9 (85). – С. 58-67.
12. Энтеровирусы и острый коронарный синдром / В.Я. Плоткин, В.Л. Воронель, М.А. Тимошина [и др.] // Вестник Санкт-Петербур. ун-та. – 2009. – № 3.- С. 38-44.
13. Caserta T. Overview of Enterovirus Infections. Last full review / Caserta T. – [Content last modified August 2013]. – Mode accessed: http://www.merckmanuals.com/professional/infectious-diseases /enteroviruses/ overview-of-enterovirus-infections

14. Clinical features, diagnosis and management of enterovirus 71 / M.H. Ool, S.C. Wong, P. Lewthwaite [et al.] // Neurol. Lancet. – 2010. – Vol. 9. – P. 1097.

15. Harvala H. Parechoviruses children: understanding a new infection / H. Harvala, K.C. Malters, P. Simmonds // Curr. Opin. Infect. Dis. – 2010. – Vol. 23. – P. 224.

16. Zhang L. Microbial infections in eight genomic subtypes of chronic fatigue syndrome / myalgic encephalomyelitis (CFS/ME) / L. Zhang, J. Goudh, D. Christmas // J. Clin. Pathol. – 2010. – P. 156-164.

REFERENCES

1. Amosova EN. [Dilated cardiomyopathy (clinic, features, differential diagnostika with rheumatic heart disease, treatment]: dissertation thesis of the doctor of medical sciences: 14.00.06. Kiyv, Institute of Cardiology named after ND Strazhesko. 1996;1-44. Russian.

2. Andrushkova NG. [The value of enteroviruses in cardiovascular disease]. Medichna nauka Ukraini. 2015;11(1-2):105-9. Ukrainian.

3. Botvinyev VV, Namazova-Baranova LS, Gordeeva OB. [Modern diagnostics, prevention and treatment of Coxsackie enterovirus infection in children]. Pedyatricheskaya farmakologya. 2012;9(3):40-44. Russian.

4. Gyryna ON. [Imunopathogenetic and endocrine changes in various forms of ischemic heart disease in terms of viral infections and their therapeutic correction] : dissertation thesis of the doctor of medical sciences: 14.00.06. Kiyv, National OO. Bogomolets Medical University. 1996;1-45. Ukrainian.

5. Ponyatovskiy VA, Bobir VV, Shyrobokov VP. [Wastewater from enteroviruses and bacteriophages in buildings Bortnicheskoy WWTP]. Mikrobiologichniy zhurnal. 2014;76(2):53-58. Ukrainian.

6. Pryluckyj AS, Kolesnykova AG, Babenko SV. [Methodological approaches to molecular genetic diagnosis of enteroviral infections] Tavrycheskyj medyko-byologycheskyj vestnyk. 2013;9(2):252-4. Ukrainian.

7. Pryluckyj AS, Babenko SV, Kolesnykova AG, Chernuckyj SO. [The development and use of modern laboratory methods in the epidemiological monitoring, diagnosis and treatment of enteroviral infections]. Tavrycheskyj medyko-byologycheskyj vestnyk. 2009;12(3):63-68. Russian.

8. [Guidelines for virological studies of polio]. WHO, Moskva. 1998:1-114. Russian.

9. Sabytova AM, Aleksandrova TA. [Current clinical and epidemiological features of enterovirus different clinical forms of infection]. Sbornyk materyalov X Rossyjskoj konferencyy «Pedyatryja y detskaja hyrurgyja v Pryvolzhskom Federal'nom okruge», November 26-28, 2013;1-60. Russian.

10. Bondarenko VI, Zadorogna VI, Zubkova NL, et al. [Modern views on the role of enteroviruses in the pathology of cardiovascular system]. Profylaktichna medicina. 2008;3:57-62. Ukrainian.

11. Anohyn VA, Sabitvov AM, Kravtchenko YA, Martinova TM. [Enterovirus infection: modern features]. Prakticheskaya medicina. Pediatria. 2014;85(9):58-67. Russian.

12. Plotkin VY, Voronel VL, Tymoshyna, et al. [Enteroviruses and acute coronary syndrome]. Vestnik Sankt-Peterburgkogo Universyteta. 2009;3:38–44. Russian.

13. Caserta T. Overview of Enterovirus Infections. Last full review [Internet] Merck Manual [Content last modified August 2013]. Available from: http://www.merckmanuals.com/professional/infectious-diseases /enteroviruses/overview-of-enterovirus-infections

14. Ool MH, Wong SC, Lewthwaite P, Cardosa MJ, Solomon T. Clinical features, diagnosis and management of enterovirus 71. Neurol Lancet. 2010;9(11):1097.

15. Harvala H, Malters KC, Simmonds P. Parechoviruses in children: understanding a new infection. Curr Opin Infect Dis. 2010;23(3):224-30.

16. Zhang L, Goudh J, Christmas D. Microbial infections in eight genomic subtypes of chronic fatigue syndrome / myalgic encephalomyelitis (CFS/ME). J Clin Pathol. 2010;63(2):156-64.

Стаття надійшла до редакції
07.09.2016