

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ЭПИДЕМИОЛОГИИ И
МИКРОБИОЛОГИИ ИМЕНИ ПОЧЕТНОГО АКАДЕМИКА Н.Ф. ГАМАЛЕИ»
ПОДРАЗДЕЛЕНИЕ «ИНСТИТУТ ВИРУСОЛОГИИ ИМЕНИ Д. И.
ИВАНОВСКОГО» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Козлова Алина Александровна

ИЗУЧЕНИЕ АРЕАЛА ВИРУСА ЗАПАДНОГО НИЛА В ЕВРОПЕЙСКОЙ
ЧАСТИ РОССИИ

03.02.02 - вирусология

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Научный руководитель:

доктор биологических наук, профессор

Бутенко Александр Михайлович

Москва - 2020

ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	19
1.1. История изучения вируса Западного Нила.....	19
1.2. Таксономия и характеристика вируса Западного Нила	20
1.3. Распространение, заболеваемость, сероэпидемиологические исследования.....	21
1.4. Эпидемиологическая характеристика вспышки лихорадки Западного Нила в Южном регионе РФ.....	32
1.5. Переносчики и хозяева - природные резервуары вируса Западного Нила.....	35
1.6. Клиническая картина при лихорадке Западного Нила	38
1.7. Патологическая анатомия при лихорадке Западного Нила	39
1.8. Лечение лихорадки Западного Нила	39
1.9. Специфическая диагностика лихорадки Западного Нила	40
1.10. Эпидемический надзор и профилактика лихорадки Западного Нила	43
1.11. Специфическая и неспецифическая профилактика лихорадки Западного Нила	44
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	46
2.1. Вирусы и штаммы, использованные в работе.....	46
2.2. Сыворотки крови.....	46
2.3. Приготовление антигенов.....	47

2.4. Иммунные асцитные жидкости белых мышей.....	48
2.5. Выделение и конъюгирование иммуноглобулинов класса G.....	48
2.6. Метод ИФА для выявления специфических иммуноглобулинов класса G (ИФА-IgG)	49
2.7. Метод ИФА для выявления специфических иммуноглобулинов класса M (MAC-ELISA).....	50
2.8. Реакция нейтрализации.....	51
2.9. Вирусологическое обследование клинических материалов.....	51
2.10. Статистические методы.....	52

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ОБСЛЕДОВАНИЯ СЫВОРОТОК КРОВИ НАСЕЛЕНИЯ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ НА АНТИТЕЛА К ВИРУСУ ЗАПАДНОГО НИЛА.....

3.1. Южный федеральный округ.....	55
3.1.1. Астраханская область.....	55
3.1.2. Ростовская область.....	59
3.1.3. Краснодарский край.....	59
3.2. Северо-Кавказский федеральный округ.....	61
2.2.1. Ставропольский край.....	61
3.3. Приволжский федеральный округ.....	61
3.3.1. Саратовская область.....	61
3.3.2. Ульяновская область.....	64
3.3.3. Республика Татарстан.....	64

3.4. Центральный федеральный округ.....	64
3.4.1. Воронежская область.....	64
3.4.3. Курская область.....	65
3.4.4. Липецкая область.....	65
3.4.4. Тамбовская область.....	65
3.4.5. Тульская область.....	67
3.4.6. Калужская область.....	68
3.4.7. Москва.....	68
3.4.8. Московская область.....	68
3.4.9. Рязанская область.....	68
3.4.10. Тверская область.....	69
3.5. Северо-Западный федеральный округ.....	69
3.5.1. Вологодская область.....	69
3.6. Заключение.....	70
ГЛАВА 4. СЛУЧАИ ЛИХОРАДКИ ЗАПАДНОГО НИЛА В ТУЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ.....	74
ГЛАВА 5. ОБСЛЕДОВАНИЕ РЕКОНВАЛЕСЦЕНТОВ, ПЕРЕНЕСШИХ ЛИХОРАДКУ ЗАПАДНОГО НИЛА, НА СПЕЦИФИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА IgM, IgG И НЕЙТРАЛИЗУЮЩИЕ АНТИТЕЛА.....	82
ГЛАВА 6. ВИРУСОЛОГИЧЕСКОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ ОТ БОЛЬНЫХ ОСТРЫМИ ЛИХОРАДЧНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ НЕЯСНОЙ ЭТИОЛОГИИ.....	88
6.1. Выделение и идентификация штаммов арбовирусов.....	89

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	102
ВЫВОДЫ.....	105
Список сокращений.....	107
Список литературы.....	109
Приложение 1.....	130
Приложение 2.....	138

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

Арбовирусы – это экологическая группа вирусов позвоночных, передающихся человеку и животным через укусы кровососущих членистоногих. Число вирусов и генотипов вирусов этой группы точно не известно. Актуальность проблемы арбовирусных инфекций определяется их глобальным распространением, масштабами эпидемий и эпизоотий, тяжестью клинических проявлений, высокой летальностью, отсутствием этиотропных средств лечения, ограниченным ассортиментом имеющихся эффективных вакцин и диагностических тест-систем, что связано с огромным разнообразием известных возбудителей и постоянным открытием новых патогенных агентов и ассоциированных с ними ранее неизвестных нозологических форм заболеваний. Особое внимание в настоящее время привлекает процесс распространения многих арбовирусов на неэндемичные территории мира в результате их интродукции из эндемичных регионов. В качестве примеров можно привести неожиданное возникновение эпидемий лихоради Западного Нила (ЛЗН) в Северной Америке, эпидемии лихорадок Зика и Чикунгунья в Южной Америке, распространение японского энцефалита в восточном направлении до Непала и южном направлении до Австралии, появление аутохтонных эпидемических вспышек лихорадок денге и Чикунгунья в странах Южной Европы.

Вирус Западного Нила (ЗН) по сравнению с другими известными арбовирусами имеет наибольший ареал распространения, охватывающий эндемичные регионы Африки, Европы, Азии, Австралии, Северной и Южной Америки. Среди зоонозных вирусных инфекций эндемичных для России, ЛЗН имеет наиболее важное эпидемиологическое значение наряду с Крымской-Конго геморрагической лихорадкой (ККГЛ), клещевым энцефалитом (КЭ),

геморрагической лихорадкой с почечным синдромом (ГЛПС) и, возможно, заболеваниями, вызванными вирусами серогруппы калифорнийского энцефалита.

Вирус ЗН впервые в СССР был выделен из преимаго клещей *Hyalomma marginatum*, собранных в 1963 г. в Астраханской области [42], где в 1967 г. в результате вирусологического и серологического обследования 29 больных острыми лихорадочными заболеваниями было верифицировано 11 случаев ЛЗН [10, 18], а в период с 1990 по 1998 гг. еще 27 [46]. В 1999 г. первая эпидемическая вспышка ЛЗН наблюдались в южном регионе Европейской части России, когда в Астраханской, Волгоградской областях и Краснодарском крае было зарегистрировано 560 лабораторно подтвержденных случаев. Следующая значительная вспышка (510 больных) на этой территории имела место в 2010 году [7, 46].

Начиная с 1999 года в Европейской части территории России происходит значительное расширение ареала ЛЗН.

В 2000 г. случаи ЛЗН были выявлены в Ростовской области, в 2010 гг. в Воронежской и Саратовской областях, в 2012 г. в Липецкой, Самарской и Белгородской областях (интернет-информация Роспотребнадзора), Тульской области [8].

Учитывая эту тенденцию, актуальное значение приобрели исследования, направленные на мониторинг активности циркуляции вируса ЗН в эндемичных регионах страны и сопредельных территориях с целью определения современного ареала этой инфекции и возможно прогнозирования эпидемиологической ситуации. Для решения этого вопроса важное значение имеют результаты серодиагностических, сероэпидемиологических и вирусологических исследований. Большое значение при выполнении диссертационной работы имели методологические аспекты, важные для интерпретации результатов серологических исследований. Первый связан с наличием перекрестных антигенных связей, выявляемых между родственными флавивирусами в серологических реакциях. По этой причине, сыворотки

жителей регионов, эндемичных по клещевому энцефалиту (в случае положительных результатов ИФА-IgG с антигеном вируса ЗН), были обследованы параллельно методом ИФА-IgG с антигенами вирусов ЗН и клещевого энцефалита, а также в реакции нейтрализации с вирусом ЗН для определения специфичности антител.

Второй аспект заключался в необходимости изучения персистенции специфических IgM, IgG и нейтрализующих антител у больных ЛЗН и реконвалесцентов, перенесших это заболевание, с целью определения пригодности методов ИФА - IgM, ИФА - IgG и реакции нейтрализации (РН) для выявления ранних и анамнестических антител к вирусу ЗН у обследуемого населения.

Кроме того, представлялось целесообразным проведение вирусологического обследования клинических материалов, собранных от больных острыми лихорадочными заболеваниями неясной этиологии в Астраханской области или пациентов, возвратившихся в Москву из эндемичных по ЛЗН регионов мира для получения дополнительной информации о циркуляции и ареале вируса ЗН, выявления эпидемиологической активности других арбовирусных агентов, идентификации выделенных штаммов и возможного их использования для создания диагностических тест-систем.

Степень разработанности темы исследования

Многие аспекты этиологии, клиники, патогенеза, эпидемиологии, экологии вируса и специфической диагностики ЛЗН достаточно исследованы и отражены в отечественных и зарубежных публикациях. Однако, в связи с продолжающимся глобальным расширением ареала этой инфекции, в том числе на территории Российской Федерации, исключительно актуальным остается вопрос о постоянном контроле за активностью вируса ЗН в эндемичных, а также сопредельных регионах, с использованием, в том числе, методов

сероэпидемиологических исследований в целях прогнозирования заболеваемости ЛЗН и проведения профилактических мероприятий.

Личный вклад соискателя

Основные разделы диссертационной работы (серологические и вирусологические исследования, статистическая обработка результатов) выполнены автором лично. Сыворотки крови доноров-жителей Европейской части России и больных, госпитализированных с подозрением на ЛЗН и другие арбовирусные инфекции, были получены в рамках научного сотрудничества из специализированных диагностических лабораторий, лечебных и научных учреждений Южного, Северо-Кавказского, Приволжского, Центрального и Северо-Западного федеральных округов РФ.

Молекулярно-генетическая характеристика выделенных диссертантом штаммов вирусов ЗН, ККГЛ, денге, Зика и Чикунгунья выполнена старшим научным сотрудником лаборатории биологии и индикации арбовирусов А. С. Климентовым, сотрудниками лаборатории механизмов популяционной изменчивости патогенных организмов (заведующий - В. А. Гуцин), лаборатории молекулярной генетики (заведующий - А. Г. Прилипов) и лаборатории биотехнологии (заведующий – С. В. Альховский). Диссертант является соавтором удостоверений о депонировании выделенных штаммов в Государственной коллекции вирусов и Генбанке (Genbank).

Помощь в статистической обработке данных оказали научный сотрудник лаборатории неспецифической профилактики инфекционных заболеваний И. С. Шмыр и сотрудница лаборатории трансляционной биомедицины Д. В. Васина.

Цель исследования

Изучение ареала вируса ЗН на территории Европейской части Российской Федерации по данным сероэпидемиологических и серодиагностических

исследований. Решение методических вопросов, имеющих отношение к этой теме, вирусологическая диагностика острых лихорадочных заболеваний, близких ЛЗН по клиническим характеристикам.

Задачи исследования:

- Обследование сывороток крови населения, проживающего на территориях различных ландшафтно-климатических зон Европейской части России на IgG, IgM и нейтрализующие антитела к вирусу ЗН.

- Серологическая диагностика случаев лихорадки ЗН на территориях, ранее благополучных по этой инфекции.

- Применение альтернативных серологических методов (ИФА-IgM, ИФА-IgG и реакция нейтрализации) для подтверждения достоверности и специфичности выявляемых антител к вирусу ЗН.

- Изучение динамики специфических IgM, IgG и нейтрализующих антител у больных ЛЗН и реконвалесцентов, перенесших это заболевание.

- Вирусологическое обследование больных острыми лихорадочными заболеваниями неясной этиологии с целью возможной дополнительной верификации случаев ЛЗН.

Научная новизна

Впервые с применением трех альтернативных методов (ИФА-IgG, ИФА-IgM и реакции нейтрализации) проведены широкие (включающие 6341 сывороток крови доноров) сероэпидемиологические исследования, направленные на изучение ареала вируса ЗН на территориях Европейской части России, общей площадью 907,3 км² с населением более 49 млн. человек. Полученные данные в сочетании с официальной статистикой заболеваемости свидетельствуют об активности очагов лихорадки ЗН в Южном, Северо-

Кавказском, Приволжском (Саратовская область), Центральном округах (лесостепная, черноземная зона) и Тульская область (зона лиственных лесов). Результаты обследования сывороток доноров из Калужской, Рязанской, Тверской, Вологодской областей и Татарстана, оказались отрицательными. Установлено, что современная северная граница ареала вируса Западного Нила находится, на широте Тульской области.

В результате серологического обследования (в ИФА-IgG, ИФА-IgM и реакции нейтрализации) сывороток крови 132 больных острыми сезонными лихорадочными заболеваниями впервые в Тульской области среди местных жителей впервые верифицированы 4 случая лихорадки Западного Нила.

Установлен факт отсутствия специфических IgM антител у реконвалесцентов, обследованных через 243-358 дней после начала заболевания ЛЗН, при сохранении IgG антител в 88,5% случаев и нейтрализующих антител в 91,7%. Эти данные подтверждают адекватность принятых в РФ критериев и тактики серологической диагностики ЛЗН, основанной на применении метода MAC-ELISA (ИФА-IgM) и целесообразность параллельного применения методов ИФА-IgG и реакции нейтрализации для проведения сероэпидемиологических исследований.

В результате вирусологического обследования клинических материалов (пробы крови, сывороток крови, слюны и мочи), собранных от лихорадящих больных в Астраханской области или пациентов, возвратившихся в Москву после посещения других регионов, эндемичных по ЛЗН, были выделены и идентифицированы один штамм вируса ЗН, 6 штаммов вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки, 17 штаммов вируса денге, 2 штамма вируса Зика и один штамм вируса Чикунгунья.

Данные по идентификации штаммов вирусов денге, выделенных от больных-граждан Российской Федерации, возвратившихся в Москву из поездок в страны Юго-Восточной Азии, указывают на доминирующую циркуляцию генотипов вирусов денге 1 и 2, что совпадает с результатами зарубежных исследований. Выделение шести штаммов вируса ККГЛ и штамма вируса

Западного Нила генотипа 1a подтверждают факт стабильности генетических популяций и циркуляции генотипов этих вирусов в Астраханской области на протяжении пятидесяти с лишним лет.

Теоретическая и практическая значимость

Теоретическое значение имеют результаты работы, свидетельствующие о расширении ареала вируса ЗН на территории Европейской части России, что вероятно, связано с процессом глобального потепления климата. Важным свидетельством продвижения границ циркуляции вируса ЗН в северном направлении является выявление случаев ЛЗН, впервые верифицированных нами в Тульской области, где в настоящее время проходит установленная граница его ареала. Результаты серологического обследования населения более северных областей (Калужская, Рязанская, Московская, Тверская, Вологодская) и более восточных территорий (Ульяновская область и Татарстан) оказались отрицательными.

Данные по обследованию сывороток крови больных ЗН на специфические IgM, IgG и нейтрализующие антитела в течение 3-18 дней заболевания и в период реконвалесценции (через 243-359 дней от начала) носят теоретический и практический характер: они расширяют сведения о динамике гуморального иммунитета и подтверждают адекватность принятых в России критериев и тактики серологической диагностики ЛЗН, основанной на применении метода MAC-ELISA (ИФА-IgM).

Штаммы вирусов Крымской-Конго геморрагической лихорадки, Зика, Чикунгунья и денге, выделенные в процессе вирусологического обследования клинических материалов от больных острыми лихорадочными заболеваниями, могут быть использованы для проведения филогенетических исследований и совершенствования конструирования диагностических тест-систем.

Полноразмерный геном штамма Z 2017 (азиатского генотипа вируса Зика), секвенированный в лаборатории молекулярной генетики, депонирован в

ГенБанке под номером MF 66436. На 3 штамма вируса ККГЛ (Аст 133, Аст 149, Аст 199), 1 штамм вируса ЗН (Аст 212), 4 штамма вируса денге (Ш 2012, З 2012, С 2012, М 2013) получены удостоверения о депонировании штаммов в Госколлекцию вирусов (Приложение 1).

Разработан набор реагентов для дифференциального определения IgM-антител к вирусам Зика, денге, Западного Нила и Чикунгунья методом иммуноферментного анализа «ИФА-IgM Зика, денге, ЗН, Чикунгунья». Регистрационное удостоверение на медицинское изделие РЗН 2018/7810 от 26 ноября 2018 года (Приложение 2).

Положения, выносимые на защиту:

1. В результате обследования методами ИФА-IgG и реакции нейтрализации 6341 сывороток крови населения Северо-Кавказского, Южного, Приволжского, Центрального и Северо-Западного федеральных округов антитела к вирусу ЗН обнаружены в Ставропольском крае (в 5,4% случаев), Краснодарском крае (4,5%), Астраханской (19,6%), Саратовской (0,9%), Воронежской (1,6%), Тульской (1,5%), Тамбовской (0,7%) и Липецкой (0,6%) областях. Две серопозитивные находки антител (0,2%) выявлены у жителей Москвы и Московской области, инфицированных, возможно, во время пребывания в эндемичных регионах. Эти данные свидетельствуют об активности очагов лихорадки ЗН в Южном Федеральном округе (Краснодарский край и Астраханская область), Приволжском округе (Саратовская область) и Центральном округе (лесостепная зона) и Тульская область (зона лиственных лесов), что коррелирует с показателями заболеваемости, известной продолжительностью эпидемиологической активности ЛЗН и свидетельствуют о расширении очагов этой инфекции на территории Европейской части России. Наиболее активные и стабильные очаги находятся в Астраханской, Волгоградской, Ростовской областях и Краснодарском крае.

2. С использованием методов ИФА-IgM, ИФА-IgG и реакции нейтрализации впервые диагностированы 4 случая лихорадки ЗН в Тульской области. Неврологическая симптоматика наблюдалась у двух пациентов в виде менингеального синдрома и энцефалопатии с астенической симптоматикой (у одного) и менингеальным синдромом у другого.

3. Учитывая наличие перекрестных антигенных связей между вирусами ЗН и клещевого энцефалита, выявляемых методом ИФА-IgG, сыворотки жителей регионов, эндемичных по клещевому энцефалиту, необходимо было параллельно обследовать на антитела к этим вирусам как в ИФА-IgG, так и в реакции нейтрализации.

4. Специфические IgM антитела к вирусу ЗН, присутствующие у всех 26 обследованных пациентов на 3-18 дни заболевания, не обнаруживаются в период поздней реконвалесценции (через 243-358 дней после начала болезни), при сохранении IgG (в 88,5% случаев) и нейтрализующих антител (в 91,7%), что подтверждает пригодность метода ИФА-IgM для диагностики ЛЗН в ранний период болезни, а ИФА-IgG и реакции нейтрализации для проведения сероэпидемиологических исследований.

5. В результате вирусологического обследования клинических материалов от больных острыми лихорадочными заболеваниями с целью получения дополнительной информации о распространении вируса ЗН был выделен 1 штамм вируса ЗН генотипа 1a, 6 штаммов вируса ККГЛ генотипа Европа 1 (Астраханская область), 17 штаммов вирусов денге, 1 штамм вируса Чикунгунья, 2 штамма вируса Зика от пациентов, возвратившихся в Москву после посещения тропических стран, где регистрируются спорадические случаи ЛЗН. Эти данные свидетельствуют о низкой активности циркуляции вируса ЗН в тропических регионах Ю. Америки и Ю.-В. Азии. Результаты идентификации штаммов вирусов денге указывают на доминирующую циркуляцию вирусов денге 1 и 2 в странах Ю.-В. Азии. Выделение штаммов вирусов ККГЛ генотипа Европа 1 и ЗН генотипа 1a подтверждают факт стабильности генетических

популяций этих вирусов в Астраханской области на протяжении пятидесяти с лишним лет.

Внедрение результатов исследования

Полученные результаты могут быть использованы при подготовке рекомендаций по мониторингу территорий с целью выявления (или отсутствия) циркуляции вируса ЗН. Они должны предусматривать необходимость обследования репрезентативного числа доноров; применение альтернативных методов ИФА-IgG и РН для подтверждения специфичности результатов; необходимость параллельного тестирования сывороток доноров в регионах, эндемичных по клещевому энцефалиту, методами ИФА-IgG и РН на антитела к вирусам клещевого энцефалита и ЗН; сравнительный анализ данных сероэпидемиологических исследований и заболеваемости лихорадкой ЗН.

Данные по изучению персистенции специфических IgM, IgG и нейтрализующих антител у больных лихорадкой ЗН и реконвалесцентов подтверждают адекватность принятой в РФ тактики серологической диагностики этого заболевания, основанной на применении метода ИФА-IgM, а так же ИФА-IgG и РН для проведения сероэпидемиологических исследований.

Штаммы арбовирусов, выделенные в процессе выполнения работы могут использоваться для проведения филогенетических исследований и совершенствования диагностических тест-систем.

Полученные данные включены в курс лекций «Арбовирусы и арбовирусные инфекции» на кафедре инфектологии и вирусологии ИПО ФГАОУ «Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова», а также внедрены в схему лабораторной диагностики в ГБУЗ «Инфекционной клинической больницы №1» Департамента здравоохранения г. Москвы.

Достоверность результатов исследований

Достоверность результатов исследований обеспечена репрезентативным количеством обследованных сывороток крови населения, собранных на различных по ландшафтно-климатическим условиям территориях Европейской части России; использованием альтернативных серологических методов с целью подтверждения результатов и верификации специфичности антител к вирусу ЗН; сравнительным анализом сероэпидемиологических данных и показателей заболеваемости лихорадкой ЗН; использованием современной аппаратуры и сертифицированных реактивов для проведения исследований и учета полученных результатов; применением серологических и молекулярно-генетических методов идентификации выделенных штаммов арбовирусов; результатами статистической обработки данных.

Методология и методы исследований

Методология диссертационных исследований основывалась на анализе данных литературы и использовании методических рекомендаций, посвященных вопросам этиологии и специфической диагностики арбовирусных инфекций. В процессе выполнения работы были использованы серологические методы (ИФА-IgM, ИФА-IgG, реакции нейтрализации), выделение вирусов на новорожденных белых мышах и клеточных культурах, идентификация выделенных патогенных агентов с применением методов ИФА, ОТ-ПЦР и секвенирования геномов, а так же стандартных технологий приготовления компонентов ИФА-тест систем: специфические и нормальные антигены, иммуноглобулины, пероксидазные конъюгаты, контрольные сыворотки (K+) и т. п.

Апробация работы

Результаты работы представлены на следующих конференциях, совещаниях и заседаниях:

1. Конференции Проблемной комиссии РАМН «Арбовирусы и другие вирусы зоонозов», 16 марта 2014 г. «Актуальные вопросы изучения лихорадки Западного Нила и лихорадки денге в Российской Федерации», «НИИ вирусологии им. Д.И.Ивановского» Минздрава РФ;

2. Межведомственном совещании «Чувствительность, специфичность и эффективность иммунодиагностических тест-систем для обнаружения возбудителя ЛЗН, а также тактики их использования для диагностики ЛЗН», Волгоград, 19 июня 2014 г.;

3. Межведомственной конференции «Эндемичные и завозные арбовирусные инфекции в Российской Федерации», 24-25 ноября 2015 г. Подразделения Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ имени Н. Ф. Гамалеи» Минздрава РФ;

4. Заседании Ученого совета ФГБУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава РФ, 28 мая 2015г.;

5. Заседании Отдела арбовирусов Подразделения Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ имени Н. Ф. Гамалеи» Минздрава РФ, 18 декабря 2019 г.;

6. Заседании апробационного совета Подразделения Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ имени Н. Ф. Гамалеи» Минздрава РФ, 25 декабря 2019 г., протокол № 42.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют п. 8, п. 9 и п. 10 паспорта специальности 03.02.02 – «вирусология».

Публикации

По теме диссертации опубликовано 5 статей в рецензируемом научном журнале, входящем в перечень изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки России для публикации результатов диссертации.

Объем и структура работы

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, 5 глав собственных исследований, заключения, выводов, списка литературы (47 отечественных и 125 зарубежных источников) и двух приложений. Общий объем работы составляет 134 страницу машинописного текста, включающего 26 таблиц.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 История выделения вируса Западного Нила

Вирус ЗН (штамм В 956) впервые был выделен в 1937 году в Уганде в провинции Западный Нил из крови больной с острым лихорадочным заболеванием [160].

В 1950 году в ходе изучения вспышки полиомиелита в Египте из 251 пробы сывороток, взятых преимущественно у детей, живущих в Каире, было изолировано три штамма вируса ЗН [128].

В 1941-1950, 1951 и 1952 годах на территории Израиля наблюдались отдельные случаи и вспышки заболевания с характерными для лихорадки Западного Нила легкими симптомами поражения нервной системы. Первый смертельный случай был описан у пожилого пациента в 1957 году [82, 165].

В 1963 году в опытах на взрослых белых мышах и сирийских хомяках из проб преимаго клещей *Hyalomma plumbeum plumbeum* Panz (современное название - *H. marginatum marginatum*), собранных в Астраханской области, сотрудниками Института полиомиелита и вирусных энцефалитов, было выделено и идентифицировано три штамма своеобразного нейротропного вируса ЗН [4]. В том же году штаммы вируса ЗН были выделены из комаров, отловленных в южном регионе Франции, и таким образом впервые на Европейском континенте установлена циркуляция вируса ЗН [4].

В 60-х годах штаммы вируса ЗН в Астраханской области были выделены из преимаго *H. marginatum* [4], из крови больных людей, мозга вороны и комаров разных видов [10, 43], в 1999 и 2000 годах - из крови больных людей (штаммы Аст. 986 и Аст.901) [22].

1.2 Таксономия и характеристика вируса ЗН

Вирус ЗН входит в состав рода *Flavivirus*, семейства *Flaviviridae*, относится к антигенному комплексу вируса японского энцефалита (Таблица 1). Представители комплекса передаются различными видами комаров, относящимся преимущественно к родам *Culex* и *Aedes* [24].

Таблица 1- Род *Flavivirus*, комплекс вируса японского энцефалита

Вирусы	Распространение	Клинические проявления болезни
Японского энцефалита (<i>Japanese encephalitis virus</i>)	Австралия (Океания), Азия (Россия)	Лихорадка, энцефалит
Каципакоре (<i>Cacipacore virus</i>)	Южная Америка	Лихорадка
Кутанго (<i>Koutango virus</i>)	Африка	Лихорадка
энцефалита долины Муррея (Австралийского энцефалита) (<i>Murray Valley encephalitis virus</i>); близкородственный вирус (серотипы): Алфай (<i>Alfuy virus</i>)	Австралия (Океания)	Лихорадка, энцефалит
Энцефалита Сент-Луис (<i>Louis encephalitis virus</i>)	Северная, Южная Америка	Лихорадка, энцефалит
Усуту (<i>Usutu virus</i>)	Африка, Европа	Лихорадка, энцефалит
Западного Нила (<i>West Nile virus</i>).	Африка, Европа, Азия, Северная и Южная Америка, Австралия.	Лихорадка, энцефалит
Яунде (<i>Yaounde virus</i>)	Африка	-

Вирион вируса ЗН имеет сферическую форму (50 нм) [24], состоит из нуклеокапсида (30 нм) - корового белка (11кДа), покрытого липопротеиновой оболочкой. В оболочку встроены два поверхностных гликопротеида М (8кДа) и Е (50кДа). Геном вириона представлен линейной однонитевой РНК+, кэпированной и полиаленилированной, состоящей из около 11000 н.о. РНК является инфекционной и при попадании в клетку служит мРНК для синтеза вирусных белков, которые кодируются 5'-концевой областью генома. На 5'-конце кодируются структурные белки: коровый и два оболочечных М и Е. Остальная часть полипротеина включает неструктурные белки NS1-NS5,

которые осуществляют регуляторную и ферментативную функции. Репликация вируса происходит в цитоплазме по полуконсервативному механизму [24].

Исследованные штаммы вируса ЗН разделяются на 5 генотипов. Первый включает две линии: 1a и 1b. Подтип 1a является самым широко распространенным и включающим африканские, европейские, индийские и американские изоляты. Линия 1b представлена штаммами австралийского вируса Кунджин. К генотипу II относятся африканские и европейские изоляты, которые на африканском континенте ассоциируются с менее тяжелым течением болезни, чем в Европе и Южной Африке. III генотип представлен 2 штаммами вируса Rabensburg (штаммы 97-103 и 99-222), выделенными из комаров, собранных на пограничной территории между Чехией и Австрией в 1997 и 1999 годах [53]. К генотипу IV относят штамм LEIV-Krmd88-190, который был выделен в Краснодарском крае в 1998 году. V генотип состоит из штаммов, доминирующих в Индии [121].

1.3 Распространение, заболеваемость, сероэпидемиологические исследования.

В соответствии с информацией, содержащейся в International Catalogue of Arboviruses, 1985, The American Society of Tropical Medicine and Hygiene [104], ареал лихорадки ЗН, установленный по данным регистрации заболеваемости и результатам выделения штаммов вируса, охватывал следующие страны мира:

-в Африке: Уганда, Египет, Конго (Конго-Леопольдвиль, позднее Заир, в настоящее время Демократическая Республика Конго), Центрально-Африканская Республика, Мозамбик, Кения;

-в Европе: СССР, Франция, Кипр, Португалия;

-в Азии: Израиль, Индия.

По результатам сероэпидемиологических исследований циркуляция вируса ЗН была установлена в ряде других стран Африки, в Малайзии, Таиланде, Филиппинах, Турции, Албании и на Корсике.

К настоящему времени информация о распространении вируса ЗН и вызываемого им заболевания значительно расширилась. Ниже приводятся данные, определяющие современный ареал этой инфекции в Африке, Европе, Азии, Австралии и Америке.

Африка. Спорадические заболевания и эпидемические вспышки ЛЗН регистрировались во многих странах континента, в том числе в 1974 году в Южной Африке, хотя отдельные случаи среди людей и лошадей наблюдались и ранее [107]; в 1994 году в Алжире (более 50 случаев, 8 летальных), в 1997 в Тунисе (173 случая), в 1996 и 2002 годах в Марокко (заболевание среди людей и лошадей), в 1993 году в Сенегале, в 1998 году в Кении [18].

Имеется информация об 11 случаях ЛЗН в 2006 году в Гвинее [107]. Смертельный исход зарегистрирован у одного больного в Габоне в 2009 году [67].

В 2010 году штамм вируса ЗН генотипа 1а, был выделен в ЮАР из ткани мозга погибшей лошади [167].

Вспышки ЛЗН среди лошадей отмечались в 2010 году в Марокко [78], в 2012 году – в Тунисе [67], спорадические случаи – в Египте и Алжире [92, 162], в 2016 году - в Сирии, Турции, Египте, Тунисе [94].

В 1990 году на Мадагаскаре были обнаружены IgG антитела к вирусу ЗН в 29,9% случаев при обследовании 3177 доноров в возрасте от 5 до 20 лет [130].

Случаи ЛЗН, связанные со вторым генотипом вируса на Мадагаскаре, протекали, как правило, в стертой форме, хотя один больной с нейроинвазивной формой заболевания умер в 2011 году [115].

В 2010-2011 годах заболевания среди людей в Джибути (Восточная Африка) были ассоциированы со 2-м генотипом вируса ЗН, выделенным так же из комаров [79].

В Нигерии у 25% обследованных лихорадящих пациентов обнаруживались антитела к вирусу ЗН. Многие из них были больны малярией и сальмонеллезом [51]. В сыворотках крови лошадей, собранных в 2011 и 2012 годах, 90,3% проб

содержали IgG антитела, 35,7% из них были положительными так же в реакции нейтрализации [87].

Данные серологических исследований, выполненных в 2009 году, подтвердили факт циркуляции вируса в Сенегале [77].

В Замбии в 2018 году из комаров *Culex quinquefasciatus* был выделен штамм вируса ЗН, принадлежащий ко второму генотипу [138].

Азия. В Израиле в 2000 году среди примерно 150 больных ЛЗН, наблюдалось 35 смертельных исходов [171]. С 2000 года до настоящего времени спорадические случаи этого заболевания в Израиле регистрируются ежегодно [112, 92, 50]. По другим данным, в 2000 году в этой стране было зарегистрировано 429 верифицированных случаев с 29 летальными исходами (6,8%) [116], в 2012 году - 59, в 2013 - 57, в 2015 - 89, в 2016 году - 71 [92]. В Юго-Восточной Анатолии (Турция) в 1977 году в 41,8% случаев (из 937 сывороток) были выявлены антигемагглютинирующие антитела к вирусу ЗН [125]. Циркуляция вируса ЗН в различных регионах Турции была установлена в ходе сероэпидемиологических исследований, проведенных в конце 20-го и начале 21-го века [75, 125, 140]. В 2010 году было зарегистрировано 47 случаев лихорадки ЗН с поражением ЦНС и десятью летальными исходами [107]. Специфические нейтрализующие антитела выявляли у ослов, крупного рогатого скота, собак, лошадей и овец [139].

Антитела к вирусу ЗН в Иране в сыворотках крови местного населения были обнаружены в 1970-х годах [67]. В 2008 и 2009 годах с использованием метода ПЦР было верифицировано 3 случая ЛЗН, кроме того, активность вируса ЗН была подтверждена находками специфических антител у лошадей [68, 49].

В 1998 году в Иордании методами ИФА-IgM и ИФА-IgG на антитела к вирусу ЗН была обследована 261 проба сывороток крови жителей небольшого населенного пункта Хашимиат, где отмечалась высокая численность комаров. Результаты ИФА-IgM оказались отрицательными, IgG антитела обнаружены в 8,0% случаев [59]. Два случая ЛЗН у лошадей с симптомами поражения ЦНС

были подтверждены серологически при обследовании сывороток крови методом ИФА-IgM. Среди 253 сывороток, собранных в пяти регионах страны, 63 пробы (24,9%) содержали IgG антитела к вирусу ЗН, при отсутствии IgM антител [48].

Сведения о заболеваниях ЛЗН в Ливане отсутствуют, однако имеется информация по обнаружению специфических нейтрализующих антител у доноров в Бейруте [85].

Штаммы вируса ЗН были выделены в Казахстане, Таджикистане и Туркмении [21]. В Казахстане зарегистрированы случаи заболевания ЛЗН среди людей [17].

В Непале из клинических образцов, собранных в 2009 и 2010 годах, были выделены 2 штамма вируса ЗН, наиболее близких генотипу 1а, хотя гомология по одному из фрагментов РНК была более выраженной со вторым генотипом [67].

Первые подтвержденные случаи ЛЗН в Китае были зарегистрированы в 2013 году [117]. В 1998 году специфические антитела обнаружены в сыворотках крови птиц в провинции Юньнань [67], в 2008-2010 годах - у различных видов птиц в Шанхае и окрестностях. Результаты обследования в реакции нейтрализации 341 пробы сывороток крови лошадей оказались отрицательными [113]. В 2010 году в Шанхае антитела были обнаружены в 14,9% случаев среди 309 обследованных кошек и в 4,9% у 367 обследованных собак, а также у местных видов птиц. В Южных и Восточных регионах Китая случаев заболевания ЛЗН среди людей не наблюдалось [114]. Методами ИФА - IgM и реакции нейтрализации были обследованы сыворотки пациентов из провинции Синьцзян с диагнозом японский энцефалит. Некоторые сыворотки содержали нейтрализующие антитела к вирусу Западного Нила, нейтрализующие антитела к вирусу японского энцефалита отсутствовали или их титр был значительно ниже [65].

В Малайзии IgG к вирусу ЗН были обнаружены у 9 из 742 (1,2%) обследованных коренных жителей [123].

В 2004 году из крови лихорадящего больного в Индонезии был изолирован штамм вируса ЗН, относящийся ко 2-му генотипу [67]. Специфические антитела обнаружены у жителей Мьянмы, Тайланда и на Филлипинах [152].

У жителей Пакистана антитела к вирусу ЗН встречались в 12-54% случаев [89, 163]. В 2015-2016 годах при обследовании 995 сывороток от больных с симптомами «арбовирусной инфекции» в 105 сыворотках были обнаружены IgM антитела, а в 71 сыворотке - нейтрализующие антитела к вирусу Западного Нила. В 75 пробах из 105 наблюдались перекрестные реакции с вирусом японского энцефалита в ИФА-IgM [110].

В 50-х и 70-х годах антитела обнаруживались на всей территории Индии и в прилегающих восточных регионах Мьянмы (ранее – Бирма) [161, 150].

Случаи ЛЗН с поражением ЦНС в Индии у детей часто встречались во время эпидемических вспышек этого заболевания [86]. Первые три случая смерти среди детей были зарегистрированы в 1980-1981 годах [86]. В 2006 году в штате Ассам на востоке Индии из 103 образцов сывороток крови и 88 образцов СМЖ, полученных от 167 пациентов с синдромом острого энцефалита, в 12 пробах (11,6%) методом ИФА были выявлены специфические IgM антитела [67]. Наибольшее число изолятов вируса ЗН в Индии относится к 5-му генотипу, хотя наблюдается и активная циркуляция генотипа 1а [62, 159, 54]. Во время вспышки ЛЗН в штате Тамия Наду, связанной с генотипом 1а, у больных наблюдались офтальмологические осложнения [157].

В 2015 году на острове Шри-Ланка у трех больных с симптомами энцефалита и менингоэнцефалита были обнаружены специфические IgM антитела (при отрицательных результатах обследования методом ОТ-ПЦР) и наличии нейтрализующих антител в титре 1:80 в двух случаях и сомнительном результате обследования в реакции нейтрализации у третьего пациента [118].

Европа. Предположение о присутствии вируса ЗН в Европе впервые было установлено в 1958 году, когда у двух жителей Албании были обнаружены специфические вируснейтрализующие антитела [53, 36].

Впервые в Европе штаммы вируса ЗН были выделены в 1963 году во Франции от больных людей, лошадей и комаров *Culex modestus* [99] и России (в Астраханской области) из личинок и нимф клещей *Hyalomma marginatum* [43].

Во Франции в 1963 году были зарегистрированы 10 случаев ЛЗН у людей с поражением ЦНС году на территории дельты реки Роны в национальном парке Camargue, где одновременно было верифицировано 50 случаев этого заболевания с симптомами энцефаломиелита у лошадей [88], осенью 2000 года - 76 случаев ЛЗН (с неврологическими симптомами) среди местной популяции лошадей [64] и летальностью 27, 6%. В 2001-2003 годах – зарегистрированы отдельные случаи и вспышки среди людей [67], в 2008 году - случаи заболевания людей и лошадей [67], в 2015 и 2017 годах - по одному случаю заболевания человека [97].

В Австрии вирус ЗН был обнаружен у птиц и комаров в 2008 и 2009 годах [67]. В 2014 был зарегистрирован один случай ЛЗН, в 2015 - 7, в 2016 и 2017 годах - по 5 случаев, в 2018 году – 20 [92].

В Португалии штамм вируса ЗН был выделен в 1969 году из комаров *Anopheles maculipennis* [80, 102].

Циркуляция вируса в Испании установлена на основании результатов сероэпидемиологических исследований [81]. Один верифицированный случай ЛЗН зарегистрирован в Португалии и по 3 в Испании в 2015 и 2016 годах [93, 94].

В 1998 году в Италии наблюдали 14 тяжелых случаев лихорадки ЗН у лошадей с двумя летальными исходами [168]. Вспышки этого заболевания среди людей и лошадей имели место с 2008 по 2011 годам [64, 153]. В 2012 году была обнаружена одновременная циркуляция 1-го и 2-го генотипов вируса [57, 58]. В 2015, 2016 и 2017 годах зарегистрировано соответственно 60, 76, 57 случаев [92].

В 2010 и 2011 году в Греции было зарегистрировано соответственно 262 и 100 случаев ЛЗН у людей [122], в 2014 - 15 [97], в 2017 – 5 [95], в 2018 - 211

[95, 96]. В 2012 году была установлена циркуляция 2 генотипа вируса при обследовании пулов комаров *Culex spp.* [142].

В июле-октябре 1996 г. имела место эпидемическая вспышка ЛЗН в Юго-Восточной Румынии, связанная с генотипом 1a вируса ЗН. Показатель заболеваемости составил 194 на 100 тысяч населения. Вспышка охватила 14 административных округов, в том числе в нижнем течении Дуная, Бухарест и его окрестности, где было выявлено наибольшее число больных. Серологически было подтверждено 393 случая, в 352-х из которых наблюдались симптомы поражения ЦНС. Погибли 17 больных (4,8%) в возрасте старше 50 лет. Эта вспышка продолжалась до 2000 года [90]. В 2014 - 23 [97], в 2015 году в Румынии было зарегистрировано 19 случаев [91], в 2016 году – 93 [94], в 2017 – 66 [95], в 2018 - 277 [96].

В Венгрии в 2008 году генотип 2 вызвал вспышку ЛЗН (в нейроинфекционной форме), во время которой было зарегистрировано 22 случая заболевания людей и 12 лошадей [52]. Отдельные случаи наблюдались в 2010-2014 годах [92]. В 2015 и 2016 годах верифицировано соответственно 18 и 44 случаев среди людей. В 2018 году было зарегистрировано 215 случаев заболевания с одним смертельным случаем [96]. В Хорватии в 2012 году было выявлено 7 случаев ЛЗН [91, 128, 146], в 2013 - 16 [92], в 2016 - 1 [96], в 2017- 5 [95], в 2018 - 53 [96]. В 2012 году в Сербии было зарегистрировано 58 случаев лихорадки с разной степенью тяжести и 9-ю летальными исходами [146]. Спорадическая заболеваемость отмечалась в 2013 - 2017 годах, в 2018 году диагностировано 415 случаев [92]. На Украине в 70-х годах штаммы вируса ЗН были выделены от птиц (7 изолятов), комаров (3 изолята), от больных людей (4 изолята) [99]. В 1985 году было зарегистрировано 38 случаев заболевания людей, в том числе, 16 с неврологической симптоматикой [11].

Имеются данные о выделении штаммов вируса ЗН в Словакии (1 изолят от комаров и 2 от мигрирующих птиц) и Чехии (2 изолята из комаров и 4 от больных людей). В Чехии были выявлены так же нейтрализующие антитела к вирусу ЗН у 13 из 619 (2,1%) обследованных лихорадящих больных [99, 101].

Единичные случаи ЛЗН были зарегистрированы в 70-х годах в Брестской области Белоруссии [13]. Имеются публикации о выделении штаммов вируса ЗН из полевых материалов в Молдавии [99]. По информации European Center for Disease Prevention and Control (ECDC) в 2015 году на территории Европы (за исключением России) было зарегистрировано 218 случаев заболевания ЛЗН, в том числе: в Австрии – 3, в Болгарии – 2, во Франции – 1, в Венгрии – 18, в Италии – 58, в Португалии – 1, в Румынии – 17, в Сербии – 24 [93]. В 2016 году – 307 случаев, в том числе в Румынии - 92, в Италии – 61, в Сербии – 36, в Венгрии – 35, в Болгарии – 1, на Украине – 1 [93].

Н. М. Мирзоева и соавт. [30] сообщили о выделении 5 штаммов вируса ЗН в Азербайджане от больных с симптомами поражения ЦНС (менингоэнцефалиты). В той же статье упоминаются предыдущие публикации по клинической картине ЛЗН в Азербайджане в 1971 году (Е. С. Кетиладзе и соав.) и 1974-1975 года (Н. М. Мирзоева и соавт.). Штаммы вируса ЗН в конце 60-х годов были выделены от черного дрозда и поползня, добытых в субтропических лесах Талышских гор [15]. Имеется информация о циркуляции вируса ЗН в Армении и Грузии [21].

Австралия. На территории этого континента циркулирует вирус Кунджин, выделенный впервые в 1960 году [67]. В настоящее время он является единственным представителем подтипа 1b генотипа 1 вируса ЗН. Связанные с ним заболевания, протекают относительно легко, в редких случаях с симптомами поражения ЦНС и без летальных исходов [119, 155]. Спорадические случаи этой инфекции наблюдаются у людей и лошадей преимущественно в северо-западном регионе страны, где циркулирует также родственный флавивирус энцефалита долины Мюррей [155]. В 2011 году была зарегистрирована вспышка ЛЗН среди лошадей в юго-западной части Австралии, вызванная штаммом NSW2011 вируса Кунджин, имеющего две аминокислотные замены, с которыми связана возросшая вирулентность штамма NY99 в Северной Америке [84, 121, 147].

Северная Америка

Соединенные Штаты Америки. Первые случаи ЛЗН на американском континенте были зарегистрированы в Нью-Йорке и его пригородах в июле-сентябре 1999 года, когда заболели 62 человека. Штаммы вируса, выделенные во время этой вспышки, оказались близкородственными штаммам генотипа 1а, изолированными в 1990 году в Израиле и в 1999 году в Астраханской области [19]. Занос вируса произошел, вероятно, с инфицированными комарами, интродуцированными из портов Средиземного или Черного морей в трюмах кораблей [133] или с экзотическими птицами, закупленными для Нью-Йоркских зоопарков. В сентябре и октябре 1999 года вирус ЗН был обнаружен у комаров рода *Culex* и *Aedes vexans* в Нью-Йорке, а также в штатах Нью-Джерси и Коннектикут [133]. По расчетным данным, основанным на результатах сероэпидемиологических исследований, во время вспышки ЛЗН в Нью-Йорке было инфицировано 2,6% населения города [133]. Летом 2000 года в штатах Нью-Джерси и Коннектикут был зарегистрирован 21 случай этой инфекции, включая 19 случаев с поражением ЦНС и двумя летальными исходами [103].

В 2001 году в 10 штатах было выявлено 66 случаев, в 2002 году – в сорока штатах 4156 больных ЛЗН с 284 погибшими, в 2003 году – 9862 случаев. Далее крупных вспышек не наблюдалось. С 1999 по 2006 года было зарегистрировано 23279 случаев ЛЗН с летальностью в разные годы от 2,4 до 13,6% [19]. С 2008 по 2011 года наблюдался спад заболеваемости (1356 и 712 случаев, соответственно). В 2012 году 5674 случая [67], в 2013 году – 2469, в 2015 и 2016 годах соответственно 2175 и 2149, в 2017 году – 2175, в 2018 году – 2149. По данным Центра по контролю и предотвращению заболеваний (Centers for Disease Control and Prevention, CDC, <http://www.cdc.gov/>) общее число больных за период с 1999 по 2018 года составило 50830 человек, из них 2330 (4,6%) умерли [67, 98].

Канада. В 2001 году вирус ЗН был обнаружен у 128 мертвых птиц и 9 пулах комаров в провинции Онтарио [67]. Первые вспышки ЛЗН

зарегистрированы в 2002 году в провинциях Онтарио (394 случая) и Квебек (20 случаев), в 2003 году (в целом по стране) верифицирован 1481 случай (в том числе, 10 летальных), в 2007 году - 2215[67]. В 2009 году в Британской Колумбии наблюдались 2 случая среди людей, 3 случая заболевания лошадей и обнаружено 10 пулов комаров, содержащих вирус ЗН [156]. С 2012 года случаи ЛЗН среди людей наблюдались регулярно. Имеется информация по обнаружению вируса в комарах, а также при обследовании лошадей и мертвых птиц [148]. В 2017 году в 6 провинциях Канады было зарегистрировано 193 случая ЛЗН с 8-ю летальными исходами. Из 17 374 обследованных пулов комаров, 544 (3,13%) содержали антиген вируса ЗН [148].

Мексика. Вспышки энцефалита, вызванного вирусом ЗН у лошадей, впервые наблюдались в 2002 году на границе со штатом Техас, США [76]. В 2003 году был выделен штамм вируса от мертвой вороны [76]. Первый верифицированный случай заболевания ЛЗН был зарегистрирован в 2004 году [74], первый летальный случай в 2009 году [151].

Центральная Америка. В 2003-2004 годах антитела к вирусу ЗН были обнаружены в сыворотках крови птиц в Гватемале [132], в 2004 году в Коста-Рике [91]. Один случай заболевания ЛЗН наблюдался в 2006 году в Никарагуа у испанского миссионера [120].

Островные государства бассейна Карибского моря. В 2001 году ЛЗН была выявлена у жителей Каймановых островов [67, 111]. Случай ЛЗН, протекавшей у больного с поражением ЦНС, был верифицирован на Багамских островах в 2003 году [67]. В 2004 году специфические антитела были обнаружены у 3 и 5% обследованных лошадей и птиц [67].

В 2002 году у 18 птиц, постоянно обитающих на Ямайке, были обнаружены нейтрализующие антитела к вирусу ЗН [71]

Два случая ЛЗН были диагностированы при обследовании лихорадящих больных на Гаити в 2004 году [60], в 2003 и 2004 годах на Кубе - у трех больных с выраженными симптомами поражения ЦНС и у четырех лошадей с бессимптомным течением инфекции [149]. В 2004 году специфические

антитела к вирусу ЗН были обнаружены у перелетных и местных птиц в Пуэрто-Рико и на Кубе [72], в 2004-2005 годах у лошадей в Пуэрто-Рико, в 2007 году у нескольких доноров в Пуэрто-Рико [104]. У штамма вируса ЗН, выделенного в Пуэрто-Рико в 2007 году, обнаружена мутация, характерная для генотипа WN02, отличающегося от оригинального американского генотипа Нью-Йорк 99 [67, 56].

Южная Америка. Первые свидетельства циркуляции вируса ЗН в Аргентине в 2005 году были получены в ходе серологического обследования сывороток крови птиц и лошадей в провинциях Кордова, Чако и Тукуман [69]. В 2006 году органы здравоохранения Аргентины сообщили о трех случаях заболевания людей в городе Маркос-Хуарес в провинции Кордова и трех случаях в провинции Чако [131].

Циркуляция вируса ЗН в Бразилии была обнаружена в результате обследования сывороток крови лошадей, собранных в 2009 году в провинции Пантанал Центрально-Западного региона страны, где специфические антитела были обнаружены у 5 из 168 обследованных лошадей [144], в последующие годы у лошадей и кур [127, 143]. Антитела к вирусу ЗН были выявлены так же в 2009 году в сыворотках крови лошадей в штате Параиба на востоке страны [137, 158]. В 2014 году были выявлены нейтрализующие антитела у человека в СМЖ при отрицательном результате ПЦР [169]. В 2019 году появилось сообщение, что в штате Эспириту-Санту на востоке Бразилии из мозговой ткани лошади с симптомами поражения ЦНС на культуре клеток *Aedes albopictus clone C6/36* был выделен штамм вируса ЗН, относящийся к генотипу 1a [124].

По данным обследования 20880 сывороток крови больных, собранных в 2000-2007 годах в Боливии, Парагвае, Эквадоре и Перу, только в одной пробе были обнаружены нейтрализующие антитела к вирусу ЗН [5]. Однако в 2011 году циркуляция вируса была установлена в Боливии в результате выявления специфических антител у лошадей [134].

1.4 Эпидемиологическая характеристика вспышки ЛЗН в Южном регионе РФ

В 1999 году во время первой крупной эпидемической вспышки ЛЗН в Российской Федерации было зарегистрировано 560 верифицированных случаев этого заболевания: в Волгоградской области 380, в Астраханской 95, в Краснодарском крае 85. За период с 1999 по 2006 год в Астраханской области ЛЗН была диагностирована у 341 больного, в том числе у 298 (87,4%) взрослых, 43 (12,6%) у детей в возрасте до 14 лет, у 199 (59%) мужчин и 142 (41,0%) женщин. В зоне высокого риска заражения ЛЗН оказались жители Астрахани (205 случаев, 60,1%), Приволжского (41 случай; 12,2%) и Наримановского (35 случаев; 10,7%) районов: рыбаки, охотники, лица, занятые сельскохозяйственной деятельностью (в том числе на приусадебных и дачных участках). Распределение по социальным группам: студенты - 5,1%, работающие граждане - 3,9%, неработающие - 51,4%, школьники - 8,8%. Все больные незадолго до заболевания отмечали укусы комаров или находились в условиях, не исключающих такую возможность. Сезонные уровни заболеваемости ЛЗН в Астраханской области коррелировали с показателями численности комаров рода *Culex* - основных видов переносчиков вируса ЗН: в мае наблюдалось 3 случая (0,9%), в июне - 15 (4,4%), в июле - 42 (12,4%), в августе - 150 (43,9%), в сентябре - 116 (34,0%), в октябре - 15 (4,4%).

Показатели летальности в разные годы варьировали от 2,0 до 7,1% [6].

В 1989 году в Астраханской области в результате обследования сывороток доноров методом ИФА-IgG-антитела к вирусу ЗН были обнаружены у 48,2% населения [6].

После эпидемической вспышки ЛЗН 1999 году по сравнению с 1998 годом произошло увеличение серопозитивных лиц с 31,6 до 50,0% ($p < 0,001$), в основном, за счет возрастания (на 18%) числа доноров, имеющих нейтрализующие антитела к вирусу ЗН. В 1998 году результаты обследования

сывороток крови 142 доноров, собранных в июле - сентябре 1998 года на IgM антитела к вирусу Западного Нила оказались отрицательными [6, 45].

В июле-октябре 1999 года специфические IgM были обнаружены у 5 из 162 (3,1%) практически здоровых жителей г. Астрахани, что свидетельствовало о недавно перенесенной иннапаратной форме ЛЗН. Сравнение этих данных с относительным показателем заболеваемости на 100 тыс. населения по г. Астрахани и области (12,2%) позволило определить примерное соотношение манифестных и иннапаратных форм ЛЗН в 1999 году как 1:300 [6, 45].

В 1998 году показатели иммунной прослойки к вирусу ЗН у мужчин и женщин составляли соответственно 39,7% и 32,8% ($p < 0,32$). В 1999 году антитела у мужчин встречались значительно чаще (54,4%), чем у женщин (39,6%) ($p < 0,001$), что согласуется с фактом преобладания лиц мужского пола (75,6%) среди больных ЛЗН во время эпидемической вспышки лихорадки Западного Нила в 1999 году [6, 45]. В 1998 году иммунная прослойка к вирусу ЗН была практически одинаковой среди городских и сельских жителей: 31,7% и 30,4%, соответственно. В 1999 году наблюдалась другая ситуация: в сыворотках крови доноров, проживающих в сельской местности, антитела к вирусу ЗН обнаруживались достоверно чаще (60,3%), чем у горожан (44,2%). По результатам исследований за эти два года, 51,9% доноров из сельской местности и 35,0% горожан имели антитела к вирусу ЗН [6, 45].

Показатели гуморального иммунитета к вирусу ЗН у населения трех районов Астраханской области в декабре 2001 году, по данным обследования 145 сывороток крови в ИФА-IgG, составили: в Приволжском районе - 25,5%, в Наримановском районе - 16,4%, в Камызякском районе - 18,2% (в среднем - 19,4%). IgM к вирусу ЗН не были обнаружены ни в одном случае [6, 44]. В возрастных группах населения 15-39 и 40-75 лет IgG антитела к вирусу ЗН встречались, соответственно, в 12,7% и 24,6% случаев ($p < 0,02$) [6, 45].

В 1999 году в Волгоградской области за период с 25 июля по 27 сентября обратилось за медицинской помощью 942 человека с симптомами серозного менингита (422 человека), менингоэнцефалита (92 человека) и

общей интоксикационного синдрома (428 человек). В 380 случаях был установлен диагноз ЛЗН [45]. В целом по области показатель заболеваемости составил 14,2 на 100 тыс. населения, у детей до 14 лет - 6,7 на 100 тыс. населения. Наиболее пораженными оказались г. Волжский (32,3 на 100 тыс. населения) и г. Волгоград (25,5 на 100 тыс. населения), а также расположенные рядом с ними Светлоярский, Городищенский и Среднеахтубинский районы области (17,7; 9,22 и 14,2 на 100 тыс. населения соответственно). Основное число заболевших ЛЗН в 1999 году приходилось на период с 9 августа по 7 сентября и составило 297 человек или 78, 2% от общего числа заболевших. В 2000 году максимум больных ЛЗН был отмечен в период с 4 по 28 августа и составил 18 человек (56,3% от общего числа).

По суммарным данным за 1999-2000 гг. количество случаев серьезных менингитов и менингоэнцефалитов составило 87,4% от числа 412 лабораторно подтвержденных случаев ЛЗН. Легкие формы инфекции составили 5,2%, среднетяжелые 56,4%, тяжелые 38,4%. Летальность среди заболевших менингитами и менингоэнцефалитами была очень высокой: в 1999 году в целом по области - 10,8%, по г. Волгограду - 8,1%, по г. Волжскому - 4,5%, по районам области - 11,4%. В 2000 году в целом по области - 15,6%, по Волгограду - 16,6%, по Волжскому - 11,2%, по районам - 20,0%.

Подавляющее число больных были госпитализированы на 3 и 2 дни болезни (32,4% и 47,7% соответственно). В 2000 году среди 32 заболевших преобладали женщины (53,1%). Распределение больных по социальным группам было следующим: неработающие пенсионеры - 40%, лица не имеющие постоянного места работы - 12%, рабочие - 17%, служащие - 10% [45].

В августе-сентябре 1999 года в Краснодарском крае увеличилось число взрослых больных с менингитами, на некоторых территориях в 20 раз по сравнению с тем же периодом 1998 года. В этой связи был расширен дифференциально-диагностический поиск и лабораторное обследование данной категории пациентов на лептоспироз, сыпной тиф, энтеровирусные инфекции, грипп, ОРВИ и ЛЗН [40]. Специфические IgM и IgG антитела к вирусу ЗН были

обнаружены у 85 больных из 142 обследованных. 90% случаев ЛЗН было зарегистрировано в августе и сентябре, единичные случаи в последующие месяцы. У 95% из них наблюдалась картина менингита или серозного менингоэнцефалита, что свидетельствовало о недостаточном выявлении более легких форм этой болезни. Все заболевшие были жителями Краснодарского края, которые в сроки возможного инкубационного периода не покидали мест своего постоянного проживания [40].

Первые 7 случаев ЛЗН в Ростовской области были верифицированы в 2000 г., 5 в 2001, 3 в 2003, 7 в 2004, 18 в 2005. В период с 2000 по 2004 гг. в результате обследования методом ИФА-IgG сывороток крови 2364 жителей области антитела к вирусу ЗН были обнаружены в 3,4% случаев с максимальным показателем 10,7% на одной из территорий. Основное число больных зарегистрировано в Ростове-на-Дону (60,4%), Сальске и Сальском районе (18,6%), Каменске-Шахтинском (8,3%), в Азовском районах (6,3%), в Волгодонске, Волгодонском и Багаевском районах (в сумме 2,0%) [1, 31].

Общие данные о заболеваемости ЛЗН на территории Европейской части России с 1999 по 2019 гг. содержатся в Таблице 2.

1.5 Переносчики и хозяева - природные резервуары вируса и переносчики ЗН

Эпидемиологическое значение в качестве переносчиков вируса ЗН имеют не менее 43 видов комаров (*Diptera, Culicidae*), однако, наиболее важная роль принадлежит орнитофильным видам рода *Culex*. В Африке и на Ближнем Востоке - это *Cx. univittatus* (в некоторых регионах так же *Cx. poicilipes*, *Cx. niavei*, *Cx. decens*, *Aedes albocephalis* и *Mimomyia spp.*). В Европе - *Cx. pipiens*, *Cx. quinquefascialis*, *Cx. tritaeniorhynchus* и *Cx. vishnui*. Успешная передача вируса была установлена в экспериментах с *Culiseta longiareolata*, *Cx. bitaeniorhynchus* и *Ae. albopictus*. Трансовариальная передача вируса в

Таблица 2 - Заболеваемость ЛЗН в РФ с 1999 по 2019 гг. (без учета импортированных случаев) (Интернет-информация Роспотребнадзора с дополнением)

Регион	Число случаев по годам																					
	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	ВСЕГО
Астраханская область	95	24	49	31	11	25	73	14	33	1	3	12	18	67	70	5	16	24	1	9	81	662
Волгоградская область	380	32	15	15	-	-	3	12	63	2	5	411	57	210	48	5	-	6	-	28	12	1304
Воронежская область	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	27	34	36	6	4	3	8	1	2	14	135
Республика Дагестан	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	1	-	3
Ставропольский край	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	2	4	7
Краснодарский край	85	3	-	-	-	-	2	-	7	2	-	5	3	-	-	-	1	2	-	3	119	232
Липецкая область	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	35	3	1	1	3	1	-	5	49
Ростовская область	-	7	5	-	3	7	18	13	18	1	2	63	16	48	11	1	5	2	1	25	93	339
Самарская область	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9	-	4	3	3	-	1	20
Саратовская область	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	33	1	-	87	-	2	-	125
Белгородская область	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	3	1	-	-	-	-	-	9
Тульская область	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-	1	5
Курская область	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	4
Республика Мордовия	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
Полуостров Крым	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	10
Итого:	560	66	69	46	14	32	96	39	121	6	10	520	128	406	183	18	31	135	8	72	345	2905

июле-сентябре, что коррелирует с динамикой заболеваемости ЛЗН. Вирус накапливается в слюнных железах комаров в количествах, достаточных для передачи вируса через укус при температуре 14°C через 58 суток, при 18°C - через 22 суток, при 23,5-30°C - через 11-15 суток. Для поддержания эпидемиологической активности вируса ЗН необходимы показатели температур 24-30°C на протяжении минимум 2-х месяцев.

Считают маловероятным возможность заражения комаров при кормлении на больных ЛЗН в связи с недостаточно высоким уровнем вирусемии (10^3 БОЕ), хотя некоторые авторы не отрицают такого варианта [17].

Имеются данные о выделении вируса ЗН из аргасовых и иксодовых клещей: в Астраханской области из преимаго *Hyalomma marginatum*, в Азербайджане из *Ornithodoros capensis*, *Rhipicephalus turanicus* и *Hyalomma marginatum*, в Египте из *Argas hermanni*, в Молдавии из *Dermacentor marginatum*, в Туркмении из *Hyalomma detritum*, в Центрально-Африканской Республике из *Amblyomma variegatum* и *Rhipicephalus muhsamae* [100, 132, 169]. В поддержании циркуляции вируса в природных очагах могут участвовать также клещи *Argas reflexus*, *Ornithodoros moubata* и *O. coniceps* [100].

В экспериментальных условиях некоторые виды клещей, относящиеся к родам *Ornithodoros*, *Rhipicephalus*, *Dermacentor* и *Haemophysalis*, оказались способными к передаче вируса восприимчивым животным [5, 17].

Доказательства значения роли клещей в передаче вируса ЗН человеку отсутствуют.

Резервуарами вируса ЗН в природе являются многие виды птиц: водные, околоводные и обитающие на суше. У инфицированных птиц иногда наблюдаются симптомы энцефалита и летальные исходы, но, как правило, выявляется вирусемия (достаточная по напряженности для заражения питающихся на них комаров) и длительная персистенция вируса в органах (у уток и голубей - от 20 до 100 дней) с периодическим появлением вируса в крови в высоких титрах. По этим причинам миграция птиц представляется реальным механизмом переноса вируса ЗН на большие расстояния. Известны

данные о выделении штаммов вируса ЗН от мышевидных грызунов, зайцев, лошадей, коров, собак, лемуру и других млекопитающих, однако, они вряд ли имеют значение в поддержании циркуляции вируса в природе в связи с низким уровнем вирусемии [5].

Некоторые животные обладают более высокой чувствительностью к вирусу ЗН и в период вирусемии могут заражать питающихся на них комаров. К ним относятся лемуры, аллигаторы (возможно, другие рептилии), озерные лягушки и, при определенных условиях - лошади [17].

1.6 Клиническая картина ЛЗН

Инкубационный период длится 2-8 дней, чаще 3-6 дней. Заболевание начинается остро. Лихорадочный период составляет 3-16 дней. Температурная кривая имеет постоянный и ремиттирующий характер. Наблюдаются слабость, озноб, боли в глазных яблоках, мышечные и суставные боли, анорексия, склерит, конъюнктивит, гиперемия дужек в зеве, катаральные явления [38].

Заболевание может сопровождаться тошнотой, рвотой, болью в животе, жидким стулом, увеличением печени и селезенки, лимфаденопатией и кожными высыпаниями. Увеличение и небольшая чувствительность при пальпации касается всех групп периферических лимфоузлов. Полиаденит может наблюдаться от 2 недель до 1 или полутора месяцев [38].

Кожные экзантемы в виде пятнистых, пятнисто-папулезных или розеолезных сыпей появляются на коже туловища, конечностей и лица, и не сопровождаются зудом. Экзантемы отмечаются примерно у половины больных ЛЗН. Сыпь появляется на 2-4 дни от начала болезни преимущественно на верхней половине туловища и исчезает через несколько дней. Как редкие исключения описаны случаи заболевания ЛЗН с острым гепатитом, панкреатитом и миокардитом [38].

Возможно поражение центральной нервной системы в виде синдрома серозного менингита и менингоэнцефалита, развитие которого сопровождаются

резкой головной болью, рвотой, гиперстезией, заторможенностью, признаками очагового поражения ЦНС. В тяжелых случаях могут наблюдаться парезы, параличи и летальный исход [38].

В крови наблюдается лейкопения со сдвигом формулы влево [38].

Спинномозговая жидкость при менингитах и менингоэнцефалитах прозрачна, вытекает под повышенным давлением. Содержит увеличенное число лимфоцитов. Содержание белка нормальное или сниженное [38].

1.7 Патологическая анатомия при ЛЗН

Для ЛЗН характерна определенная локализация поражения головного мозга в виде продуктивно-некротического васкулита мягкой мозговой оболочки, продолговатого мозга, гипоталамуса, ретикулярной формации, превентиккулярных зон III желудочка мозга и белого вещества больших полушарий мозга. Васкулит сочетается с выраженными дистрофическими, некробиотическими и некротическими изменениями нервных клеток на фоне тяжелых расстройств кровообращения: полнокровия, стазов, периваскулярных отеков и очаговых кровоизлияний [39].

1.8 Лечение ЛЗН

В связи с отсутствием эффективных лечебных препаратов этиотропная терапия ЛЗН не применяется. Основу симптоматической терапии составляют меры, направленные на устранение отека мозга, устранение нарушения функций сердечно-сосудистой системы, устранение судорог и гипертермического синдрома, нарушения внешнего дыхания. Проводится обязательная коррекция водно-электролитного обмена и дегидратационная терапия. Необходимо применять глюкокортикостероиды [28, 47].

Во время вспышки 1999-2002 годов в Волгограде для лечения больных ЛЗН применяли индуктор интерферона амиксин, что способствовало

сокращению лихорадочного периода (в полтора раза), второй волны лихорадки (в 2 раза) и более редкому проявлению интоксикационного синдрома [33].

1.9 Специфическая диагностика ЛЗН

Специфическая диагностика ЛЗН основана на результатах вирусологического, молекулярно-генетического и серологического обследования больных.

Вирус ЗН может быть выделен из проб крови и, реже, ликвора, взятых у больных в острый период болезни, как правило, до 5-го дня болезни от начала заболевания, а так же из проб лимфатических желез, селезенки, печени, головного и спинного мозга. Лабораторными моделями для выделения вируса являются новорожденные и молодые белые мыши и различные виды клеточных культур.

Выявление вирусной РНК в клинических и полевых материалах возможно с помощью ПЦР со специфическими праймерами. ПЦР обладает большей чувствительностью по сравнению с выделением вируса на лабораторных моделях, поскольку позволяет детектировать генетический материал вируса, по той или иной причине неспособного к репликации. В референтных лабораториях специфичность ПЦР (>95%), может быть повышена путем постановки нескольких вариантов ПЦР с праймерами к нескольким участкам генома вируса ЗН или проведения ПЦР в формате реального времени с дополнительным специфическим зондом. При необходимости филогенетического анализа выделенных изолятов вируса ЗН в референтных лабораториях проводится секвенирование амплифицированных фрагментов генома вируса.

При лихорадке ЗН, по причине короткого периода вирусемии, методы выделения вируса, а также обнаружения вирусной РНК в крови или ликворе больных обладают ограниченной эффективностью.

Серологическая диагностика ЛЗН возможна с использованием методов РТГА, РСК, реакции нейтрализации. Однако в настоящее время в практике наибольшее применение получил иммуноферментный метод (ИФА), позволяющий обнаруживать специфические антитела IgM и IgG. Ранние антитела IgM выявляются уже в самые первые дни болезни и их титры достигают очень высокого уровня через 1-2 недели после начала заболевания, но редко обнаруживаются у реконвалесцентов спустя 6 и более месяцев. В очагах ЛЗН, где возможна циркуляция нескольких флавивирусов, сыворотки больных людей следует обследовать и на антитела к другим родственным флавивирусам, что позволяет уточнить специфичность антител и правильно интерпретировать полученные результаты.

Диагноз ЛЗН может быть поставлен по результату обнаружения специфических IgM в одной пробе крови, взятой в острый период болезни, а также на основании выявления положительной или отрицательной динамики IgM в парных сыворотках. При обследовании на IgG необходимо в одном опыте проводить сравнительное титрование парных сывороток. Диагностическое значение в этом случае имеют следующие результаты:

- отсутствие специфических антител IgG в пробе 1 и наличие их в пробе 2;
- четырекратное и более значительное нарастание (или снижение) титров IgG в пробе 2 по сравнению с пробой 1 [29].

Важным критерием для дифференциации острой инфекции ЛЗН от предшествующей - перенесенной в предыдущий год или ранее, является продолжительность персистенции специфических IgM антител у реконвалесцентов, перенесших это заболевание. Обнаружение у пациентов IgM антител к вирусу ЗН обычно рассматривается как свидетельство недавно приобретенного заболевания ЛЗН.

Однако сведения по этому вопросу весьма противоречивы. В статье G. Tardei и соавт. [164], опубликованной по материалам изучения вспышки ЛЗН в Румынии, говорится о том, что IgM антитела к вирусу ЛЗН через 2-3 мес заболевания обнаруживались у 50% реконвалесцентов. По данным В.Ф.

Ларичева и соавт. [18], специфические IgM антитела не выявлялись методом MAC-ELISA ни у одного из 40 реконвалесцентов через 6–7 мес после заболевания ЛЗН, перенесенного в 1999 г. в Волгоградской области (даже при минимальном разведении сывороток крови 1:50). При этом IgG антитела присутствовали у 35 (87,5%) из них. J. Roehring и соавт. [153] сообщили о результатах обследования сывороток крови 29 реконвалесцентов, перенесших ЛЗН в США в 1999 г. При учете результатов анализов методом MAC-ELISA авторы расценивали показатели (ratio) оптической плотности сывороток (P/N) следующим образом: более 3,0 – как положительные, более 2,0 и менее 3,0 – как сомнительные и менее 2,0 – как отрицательные. В периоды примерно 200, 200–400 и более 500 дней от начала заболевания были обследованы соответственно 22 (1-я группа), 21 (2-я группа) и 12 (3-я группа) сывороток. В 1-й группе достоверные показатели наличия антител IgM были обнаружены в 14 (64%) пробах, а с учетом сомнительных результатов - в 18 (82%). Во 2-й и 3-й группах частота выявления IgM составляла 43 и 42% соответственно, а с учетом сомнительных результатов – 62 и 58%.

При обследовании 39 сывороток крови, взятых у 38 реконвалесцентов через 8 и более месяцев после заболевания ЛЗН в Канаде, 28 (71,8%) проб содержали специфические IgM антитела, 5 (12,8%) оказались сомнительными и 6 (15,4%) отрицательными [166]. По наблюдениям Н. Prince и соавт. [152] в США у доноров с установленным присутствием РНК вируса ЛЗН в крови (и серологически подтвержденной инаппарантной формой ЛЗН) IgM антитела к вирусу ЛЗН в 32% случаев обнаруживались примерно в течение 200 дней, а через год после инфицирования в 13–17% (в предельно низкой концентрации). На этом основании авторы пришли к выводу, что детекция IgM к вирусу ЛЗН остается полезным диагностическим критерием для идентификации недавней инфекции ЛЗН.

Л.С. Карань и соавт. на конференции Проблемной комиссии “Арбовирусы и другие вирусы зоонозов” [9] сообщили об обнаружении IgM к вирусу ЛЗН у 50 из 87 (57,5%) обследованных реконвалесцентов с лабораторно

подтвержденным диагнозом ЛЗН через 264–283 дня после начала заболевания. У 22 (25,3%) из них титры IgM достигали значений, более или равных 1:800. По данным А. Рара и соавт. [141], в Греции при обследовании 26 реконвалесцентов время обнаружения IgM антител составляло примерно 164 дня после появления симптомов заболевания ЛЗН, хотя у 3 (12%) из них специфические IgM сохранялись на низком уровне в течение 180–270 дней. Сыворотки тех же трех реконвалесцентов оказались положительными на IgM через 3 года после заболевания, но с предельно низкими показателями оптической плотности.

1.10 Эпидемический надзор и неспецифическая профилактика ЛЗН

Основными компонентами эпиднадзора и эпидемиологического обследования очагов ЛЗН являются: выявление, регистрация и анализ заболеваемости с обязательной серодиагностической верификацией случаев; определение видового состава, численности и зараженности комаров в различных биотопах, мониторинг зараженности птиц вирусом ЗН, особенно птиц, павших в июне-октябре; определение показателей гуморального иммунитета у людей, птиц и млекопитающих животных [29].

Эпидемиологический анализ заболеваемости позволяет выявить ландшафтно-географические и эпидемиологические особенности очага ЛЗН на каждой конкретной территории.

В регионах, эндемичных по ЛЗН, вводится обязательная регистрация всех случаев заболевания ЛЗН, определяются правила и формы эпидемиологического обследования каждого случая [29].

Мероприятия по общественной профилактике ЛЗН направлены на снижение численности комаров, что достигается проведением дезинсектицидных обработок мест выплода комаров в городской черте и на прилегающих территориях, а также на территориях вблизи загородных баз отдыха, профилакториев, детских лагерей. Подлежат так же обработке подвалы жилых и общественных зданий в том числе и вне эпидемиологического сезона

для уничтожения комаров, зимующих в стадии имаго. Рекомендуется снижение плотности популяций синантропных птиц (вороны, галки, воробьи, голуби, чайки и др.). Проведение санитарно-просветительной работы среди местного населения и приезжих лиц [29].

Индивидуальная неспецифическая профилактика сводится к применению в эпидемический период репеллентов и одежды, защищающей от укусов комаров, засечиванию окон, выбору для отдыха мест и времени суток с наименьшей численностью и активностью комаров. В эндемичных регионах важное значение имеет санитарно-просветительская работа среди местного населения и приезжих лиц [29].

1.11 Специфическая профилактика ЛЗН

В настоящее время коммерческие вакцины для профилактики ЛЗН у людей не применяются.

Существуют следующие коммерческие вакцины для иммунизации лошадей:

- Инактивированные вакцины для лошадей, испытанная на мышах, лошадях и людях: West Nile-Innovator и Vetera WNV [68, 138].
- Рекомбинантная вакцина ResombiTEK, лицензированная в 2004 году [68, 108,161].
- Химерная вакцина, созданная на основе штамма вируса желтой лихорадки 17D, испытанная на мышах, лошадях и людях. Одобрена Министерством сельского хозяйства США. [66, 106]

Разработаны несколько экспериментальных вакцин:

- Экспериментальная рекомбинантная субъединичная вакцина, апробированная на хомяках [106, 170] .
- Несколько экспериментальных вариантов ДНК вакцин опробированных на мышах [173] и лошадях [66, 69].

- Экспериментальная вакцина из аттенуированного штамма вируса ЗН, опробованная на мышах и гусях [106].

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Вирусы и штаммы, использованные в работе

Для постановки реакции нейтрализации, приготовления специфических вирусных антигенов и получения иммуноглобулинов использовали вирусы ЗН (штамм Аст 986, выделенный из крови больного ЛЗН в Астраханской области, относящийся к Ia генотипу), клещевого энцефалита (штамм 4072, сибирский генотип) и Усуту (штамм SAAr 1776).

2.2 Сыворотки крови

В процессе работы были обследованы в общей сложности 6341 проба сывороток крови доноров, полученных в 2010-2014 г.г. из Астраханской области (657 проб), Ставропольского края (56), Краснодарского края (243), Саратовской (1448), Воронежской (128), Калужской (52), Липецкой (614), Курской (61), Вологодской областей (203), Москвы (424), Московской области (140), Рязанской (124), Тамбовской (1023), Тверской (97), Тульской (400), Ульяновской областей (471) и Татарстана (200). Пробы для серологического обследования были предоставлены Т. К. Дзагуровой (ФГБНУ ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН), А. Р. Азарян, А. П. Гришановой, Е. И. Иващенко, Г. Л. Шендо (ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Астраханской области»), О. М. Пиликовой (ФКУЗ «Причерноморская ПЧС» Роспотребнадзора), Н. Ф. Василенко (ФБУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт»), С. М. Елисеевой (ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Тверской области»), Д. М. Зориной (ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Вологодской области»), М. И. Корабельниковой, Е. Н. Кудрявцевой (ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского), С. Д. Лебедевой (ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан»), М. В. Лесниковой (ООО «Интер-

Фарм Вологда»), Н. В. Недия (ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Рязанской области»), М.В.Соколовой (ГБЗУ Инфекционная клиническая больница №1 Департамента здравоохранения г. Москвы).

Вирусологически, главным образом методом заражения новорожденных белых мышей, было обследовано 176 сывороток крови больных острыми вирусными заболеваниями неясной этиологии, полученных из Центра гигиены и эпидемиологии (ЦГиЭ) в Астраханской области и Астраханской областной инфекционной больницы им. А. Н. Ничоги; пробы крови (59), слюны (2) и мочи (6), взятые у больных, госпитализированных в Инфекционную клиническую больницу (ИКБ) №1 г. Москвы после возвращения из поездок в тропические страны Южной, Юго-Восточной Азии, Южной Америки и Мексики (всего 243 пробы от 235 больных). Пробы были предоставлены М. А. Сайфуллиным (ГБЗУ «Инфекционная клиническая больница №1 Департамента здравоохранения г. Москвы»). Выражаем глубокую благодарность всем сотрудникам перечисленных лечебных и научных учреждений за любезное предоставление этих материалов.

2.3 Приготовление антигенов

Антигены для серологических реакций готовили из мозговой ткани инфицированных новорожденных белых мышей (нбм), взятой на высоте клинических проявлений болезни, методом сахарозо-ацетоновой экстракции. 20% суспензию мозга в 8,5% охлажденном растворе сахарозы трижды обрабатывали охлажденным ацетоном. Осадок высушивали под вакуумом, а затем растворяли в 0,1М буферном растворе Трис-HCl (pH 9,0) и инкубировали 18 - 20 часов при 4⁰С, центрифугировали при температуре 4⁰С в течение 1 часа при 10 тыс. об/мин. Надосадочную жидкость использовали в качестве антигена. Для инактивации инфекционной активности проводили обработку антигена бета-пропилактоном. Через 7 суток экспозиции при 4⁰С проводили тест на безвредность препарата путем внутримозгового заражения н.б.м. Наблюдение

за мышатами вели до 14 дней. Специфичность и активность полученных антигенов проверяли с помощью ИФА [16, 35].

2.4 Иммунные асцитные жидкости белых мышей

Иммунные асцитные жидкости (ИАЖ) готовили по общепринятой методике. Для этого взрослых белых беспородных мышей массой 20-22 г. иммунизировали внутрибрюшинно по 0,2 мл 10% осветленной центрифугированием мозговой вируссодержащей суспензией пятикратно с интервалом в 1 неделю. При первичной иммунизации вводили суспензию, содержащую инактивированный вирус без адьюванта; при последующих – живой вирус с равным объемом адьюванта Фрейнда. Через неделю после последней инъекции животным вводили клетки саркомы мышей TG-180. Сбор ИАЖ проводили через 10 – 14 дней. Полученную асцитную жидкость центрифугировали для удаления саркомных клеток. После оттаивания замороженных ИАЖ, образовавшиеся хлопья фибрина удаляются так же центрифугированием [16, 35].

2.5 Выделение и конъюгирование IgG

Иммуноглобулины выделяли по методике фирмы Sigma. На хроматографическую колонку, содержащую сефарозу, ковалентно связанную с протеином А (фирмы Sigma), наносили профильтрованные ИАЖ при pH 7,4. Изменяя pH элюирующего буфера до 3,0 собирали глобулиновую фракцию.

Полученный глобулин использовался для конъюгирования с ферментом пероксидазой хрена методом периодатного окисления. 4 мг фермента (Sigma, тип IV) растворяли в 1 мл дистиллированной воды. Затем добавляли 5 мкл раствора NaIO_4 (38,5 мг/мл), выдерживали 20 мин при комнатной температуре и фильтровали через колонку с сефадексом G-10 или G-25, при pH 4,0. Доводили pH окрашенных фракций, содержащих пероксидазу, 0,2М NaOH до 9,5. После

чего добавляли 8 мг иммуноглобулина класса G (IgG) в 1 мл 0,01 М натрий-карбонатного буфера с рН 9,5. Через 2 ч перемешивания при комнатной температуре добавляли 100 мкл раствора боргидрида натрия (4 мг/мл), инкубировали 2 ч при 4⁰С и ставили на диализ против фосфатно-солевого буфера (ФСБ) в течение ночи. Гель-фильтрацию проводили на сефакриле S-200 в ФСБ, собирая пиковую фракцию [2, 16].

Технология приготовления конъюгатов предусматривала использование полупроницаемых ультрафильтрационных мембран производства Владипор и Миллипор различных типов: полисульфоновые, ацетилцеллюлозные, а так же ядерные фильтры с размерами пор от 2 нм до 100 нм [2, 16].

2.6 Метод ИФА для выявления специфических иммуноглобулинов класса G (ИФА-IgG)

В лунках планшетов сорбировали поликлональные мышинные специфические IgG в карбонатно-бикарбонатном буфере (КББ) с экспозицией при 37⁰С в течении 1 часа. После этого лунки промывали 2 раза 0,01М фосфатно-буферным раствором рН 7,4 с 0,05% твина-20 (ФБР-т). Далее в лунки вносили по 150 мкл 1% раствора бычьего сывороточного альбумина на ФБР-т и инкубировали при 37⁰С 30 минут. После промывания вносили специфический и нормальный антигены, разведенные 1% раствора бычьего сывороточного альбумина на ФБР-т. Планшеты инкубировали в течение часа при 37⁰С. После удаления раствора альбумина параллельно в 2 лунки (со специфическим и нормальным антигенами) вносили по 100 мкл образцов, разведенных в 1% растворе бычьего сывороточного альбумина на ФБР-т. Планшеты инкубировали 1 час при 37⁰С. Лунки промывали три раза ФБР-т, затем вносили по 100 мкл конъюгата анти-IgG человека (мышинные антитела против IgG человека, меченные пероксидазой хрена) на 1% растворе бычьего сывороточного альбумина на ФБР-т. Инкубировали 1 час при 37⁰С, промывали 6 раз ФБР-т, вносили по 100 мкл индикаторного раствора, состоящего из 1mM

раствора тетраметилбензидина, 0,01% перекиси водорода в цитратном буфере (рН4.0). Через 10 минут добавляли 1N серную кислоту по 100 мкл в лунку. После этого проводили учет реакции на приборе μ -Quant (Bio-Tek Instruments, USA), с длиной волны 450 нм, при референсной длине волны 620 нм. Результат считался положительным, если в лунке со специфическим антигеном оптическая плотность (ОП) исследуемого образца была равной или больше 0,3 и в 3 раза превышала ОП этого же образца в лунке с нормальным антигеном [16, 126].

2.7 Метод ИФА для выявления специфических иммуноглобулинов класса М (MAC-ELISA)

Лунки сорбировали мышинными моноклональными антителами против μ -цепи человеческого глобулина (производство ООО "Сорбент" Россия) в концентрации 5,0 мкг/мл. Антитела разводили в 0,05М КББ. Планшеты инкубировали 2 часа при температуре 37°C, 2 раза отмывали ФБР-т, вносили по 150 мкл 1% раствора бычьего сывороточного альбумина на ФБР-т и инкубировали при 37°C 30 минут. Содержимое удаляли из лунок. Параллельно в две лунки вносили исследуемые образцы сывороток крови, разведенные в ФБР-т с 1% альбумином (для контроля с нормальным и специфическим антигенами), инкубировали 1 час при температуре 37°C, промывали три раза ФБР-т, вносили специфический и нормальный антигены, инкубировали в течение часа при 37°C. Промывали планшет три раза ФБР-т. Далее во все лунки вносили антивирусный конъюгат и инкубировали 1 час при 37°C. Промывали планшет 6 раз ФБР-т. Вносили 100 мкл индикаторного раствора для выявления пероксидазной метки. Через 10 минут добавляли по 100 мкл 1N серной кислоты. С помощью прибора μ -Quant (Bio-Tek Instruments, USA) проводили учет реакции (при длине волны 450 нм, референсная длина волны - 620 нм). Результат считался положительным, если ОП исследуемого образца в лунке со

специфическим антигеном была более 0,3 и в 3 раза больше, чем в лунке с нормальным антигеном [16, 63].

2.8 Реакция нейтрализации

Реакцию нейтрализации выполняли микрометодом [156] в 96-луночных планшетах (фирма Costar) в перевиваемой культуре клеток Vero E6, выращенной на среде Игла с 5% эмбриональной телячьей сывороткой. В поддерживающую среду добавляли 1% сыворотки. Для заражения монослоя клеточной культуры использовали смесь десятикратных разведений обследуемых сывороток, начиная с разведения 1:20, а также суспензию мозга инфицированных мышей, содержащую 100 ЦПД₅₀ вируса Западного Нила. В ходе опыта использовали следующие контроли: определение токсичности сывороток для клеток Vero E6, титрование исходной вирусосодержащей суспензии, контроль рабочей дозы вируса, контроль нейтрализации вируса с контрольной иммунной сывороткой. Результаты учитывали с 3 по 8 дни, просматривая лунки планшета в инвертируемом микроскопе. За титр антител принимали наибольшее разведение сыворотки, при котором наблюдалась защита культуры от 100 ЦПД₅₀ вируса. В некоторых случаях положительные сыворотки из числа обследованных в ИФА IgG и РН на антитела к вирусу ЗН для подтверждения специфичности результатов тестировали на антитела к антигеннородственным флавивирусам клещевого энцефалита и Усуту [156].

2.9 Вирусологическое обследование клинических материалов

Выделение вирусов проводили методом интрацеребрального заражения нбм (в возрасте 1-3 дня), иногда - путем заражения культуры клеток Vero E6 с последующей инокуляцией нбм пробами культуральной жидкости инфицированных культур [32].

2.10 Статистические методы

Статистический анализ полученных результатов проводился в программах MS Excel 2007 и GraphPad Prism 6. При обработке данных обследования сывороток крови использовался расчет средних геометрических титров, среднеквадратичных отклонений, а также определение доверительных интервалов методом Клоппера-Пирсона. Для оценки достоверности различий результатов обследования разных групп использовали критерии Фишера и Манна-Уитни. Статистически значимыми принимались различия при $p < 0,05$. Для сравнительного анализа результатов обнаружения антител методами ИФА и РН использовался критерий Уилкоксона [41].

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ОБСЛЕДОВАНИЯ СЫВОРОТОК КРОВИ НАСЕЛЕНИЯ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ НА АНТИТЕЛА К ВИРУСУ ЗН

Первые случаи лихорадки ЗН в Астраханской области были верифицированы в 1967 г. [10], в 1999 г. Волгоградской области и Краснодарском крае [7], в 2000 г. в Ростовской области, в 2010 г.г. в Воронежской и Саратовской областях, в 2012 г. в Липецкой, Самарской, Белгородской (интернет-информация Роспотребнадзора) и Тульской областях [8], в 2015 г. Ставропольском крае и Дагестане (интернет-информация Роспотребнадзора по 2018 год). С 1999 по 2018 годы в РФ было зарегистрировано более 2500 случаев ЛЗН (Таблица 2). Данные о заболеваемости ЛЗН свидетельствует о необходимости дальнейшего уточнения ареала этой инфекции. При проведении подобных исследований важно значение имеют результаты сероэпидемиологического обследования населения. Имеющиеся сведения по этому вопросу (за исключением данных по Астраханской и Волгоградской областям) довольно ограничены.

В настоящей главе приводятся данные обследования 6341 сывороток населения, проживающего на территориях Южного, Северо-Кавказского, Центрального, Приволжского и Северо-Западного округов, существенно отличающимся по климатическим условиям и ландшафтам. Территории Ставропольского и Краснодарского краев находятся в степной, полупустынной, лесолуговой и субтропических зонах, Саратовская область в зонах лесостепей и степей, Воронежская, Курская, Липецкая и Тамбовская области в пределах лесостепной зоны, Тульская область в зоне лиственных лесов, Ульяновская область в лесостепной зоне и зоне лиственных лесов, Рязанская, Калужская, Московская, Тверская области и Республика Татарстан в границах поясов южно-таежных и лиственных лесов, Вологодская область в лесных зонах средне-таежного и южно-таежного типов. Ниже приводится краткая информация о предшествующих исследованиях, посвященных обнаружению

антител к вирусу Западного Нила в тех регионах, из которых были получены сыворотки крови доноров для выполнения нашей работы. В Астраханской области в 1964-1965 гг. при обследовании методом РТГА антитела к вирусу ЗН были обнаружены в среднем у 3,3% жителей области [4], 1967-1970 гг. в дельтовых районах у 16,3%, в г. Астрахани и прилегающих территориях у 4,1%. В 1989 г. специфические IgG антитела выявлялись (в среднем по области) в 48,2% случаев, в 1998-1999 гг. в 37,9%, в 2001 г. в 19,4%, 2010-2012 гг. в 19,6% [6].

В Краснодарском крае частота обнаружения антигемагглютининов к вирусу ЗН у населения различных районов в 1981-1993 гг. варьировала от 1,2 до 2,8% [3], в 2007 г. специфические IgG встречались в диапазоне от 0,5 до 12,5% [33], в Темрюкском районе в 2006 и 2007 гг. в 7,5 и 11,7% случаев соответственно в 2006 и 2007 годах [26].

В Ставропольском крае в 1991 г. методом РТГА антитела к вирусу ЗН были обнаружены у населения Ставрополя и Невинномысска в 0,7% случаев, позднее методом ИФА-IgG - у 1,1% обследованных лиц [12].

В Саратовской области в 1990-1991 гг. IgG антитела к вирусу ЗН встречались в 8,1% случаев [27]. В последующей публикации содержалась информация о выявлении IgG антител у жителей 8 районов, расположенных в степной зоне и 4-х районов, относящихся к полупустынной зоне [46].

В 1986-1993 гг. в НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН при обследовании сывороток крови жителей Липецкой и Тамбовской областей в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) с антигеном вируса ЗН положительные находки были выявлены соответственно в 0,9% и 0,6% проб. Среди 242 сывороток из Рязанской области антитела к вирусам ЗН и клещевого энцефалита встречались в 3,3% проб [23]. По данным Роспотребнадзора (информационное письмо № Ц01/14340-13-32 от 16.12.2013) в 2013 г. методом ИФА-IgG антитела к вирусу ЗН обнаружены у населения Астраханской, Волгоградской, Ивановской*, Кемеровской*, Курской*, Мурманской*, Нижегородской*, Новосибирской*, Омской*, Орловской, Ульяновской,

Челябинской* областей, Красноярского края*, Республики Коми* и Удмуртии*. (Звездочками отмечены административные территории, эндемичные по клещевому энцефалиту)

Известно, что антитела к вирусу клещевого энцефалита могут реагировать с вирусом ЗН, поэтому сыворотки жителей регионов, эндемичных по клещевому энцефалиту (в случае положительных реакций в ИФА-IgG с антигеном вируса ЗН) в нашей работе параллельно обследовались с двумя этими антигеннородственными вирусами для определения специфичности антител.

3.1 Южный федеральный округ

3.1.1 Астраханская область (полупустынная и пустынная ландшафтная зоны)

При обследовании 657 сывороток крови доноров, полученных из 12 сельских районов Астраханской области и г. Астрахани, антитела к вирусу ЗН были обнаружены в 129 пробах (19,6%). В реакции нейтрализации из 588 проставленных сывороток положительными оказались 88 (13,4%), в ИФА-IgG 129 (из 657). Совпадение положительных результатов реакции нейтрализации и ИФА-IgG составило 80,7%. Антитела к вирусу ЗН обнаружены у жителей в г. Астрахани, Володарского, Икрянинского, Камызякского, Красноярского, Лиманского, Наримановского, Приволжского и Енотаевского районов (Таблица 3). Число обследованных проб из северных районов области (Ахтубинского, Харабалинского и Черноярского) было крайне незначительным.

У жителей сельских районов дельты Волги (n=364) и Астрахани (n=291) антитела к вирусу ЗН были обнаружены соответственно в 11,7 и 26,1% (p<0,05) (Таблица 3).

Таблица 3 - Суммарные результаты обследования жителей Астраханской области на антитела к вирусу ЗН методами ИФА-IgG и реакции нейтрализации (2010-2012 гг.)

Территории	Число сывороток		% положительных и доверительные интервалы [ДИ 95%]
	обследованных	положительных	
Дельта Волги			
г. Астрахань	291	34	11,7 [8,2; 15,9]
Районы:			
Володарский	151	38	25,2 [18,5; 32,9]
Икрянинский	10	5	50,0 [18,7; 81,3]
Камызякский	139	35	25,2 [0,2; 36,0]
Красноярский	13	1	7,7 [18,2; 33,2]
Лиманский	11	4	36,4 [10,9; 69,2]
Наримановский	20	5	25,0 [8,7; 49,1]
Приволжский	11	4	36,4 [10,9; 69,2]
Всего	646	126	19,5 [16,5; 22,8]
Северные районы поймы Волги			
Ахтубинский	1	0	0 [0; 97,5]
Енотаевский	4	1	25,0 [0,6; 80,6]
Харабалинский	2	0	0 [0; 84,2]
Черноярский	2	0	0 [0; 84,2]
Всего	9	1	11,1 [0,3; 48,3]
район не известен	2	2	100 [15,8; 100]
В целом по области	657	129	19,6 [16,7; 22,9]

Показатели обнаружения антител у мужчин и женщин оказались практически одинаковыми, соответственно 20,2 и 18,0% ($p > 0,05$) (Таблица 4). В возрастных группах 30-39 лет, 40-49 лет, 50 и старше лет – 23,9, 22,8 и 17,8% ($p > 0,05$), значительно ниже (12,9%) в группе от 18 до 29 лет (Таблица 5).

Таблица 4 - Показатели обнаружения антител к вирусу ЗН у мужчин и женщин (2010-2012 гг.)

Пол	Число сывороток		% положительных Доверительный интервал [ДИ 95%]	Средние геометрические титров, $\log_2 \pm \sigma$	
	обследованных	положительных		ИФА	РН
Мужчины	411	83	20,2 [16,4; 24,4]	9,35±1,6	5,52±1,2
Женщины	244	44	18,0 [13,4; 22,9]	9,52±1,5	6,025±1,4
Неизвестен	2	2	100 [15, 8; 100]	9,64±0	9,64±0
Всего	657	129	19,6 [16,7; 22,9]	9,48±1,5	5,84±1,3

Таблица 5 - Возрастная структура гуморального иммунитета к вирусу ЗН у населения Астраханской области (2010-2012 гг.)

Возрастные группы	Число сывороток		% положительных [ДИ 95%]	Средние геометрические титров, $\log_2 \pm \sigma$	
	обследованных	положительных		ИФА	РН
18 -29 лет	225	33	12,9 [9,1; 17,7]	9,96±1,4	6,00±1,1
30 – 39 лет	163	39	23,9 [17,6; 31,2]	9,0±1,3	5,77± 1,6
40 – 49 лет	149	34	22,8 [16, 4; 30,4]	9,59±1,7	6,03±0,9
50 лет и старше	118	21	17,8 [11,4; 25,9]	9,55±1,8	5,50±1,4
Неизвестно	2	2	100 [15,8; 100]	9,64±0	8,32±7,3
Всего	657	129	19,6 [16,7; 22, 9]	9,48±1,5	5,84±1,3

В качестве примера, иллюстрирующего активность IgG и нейтрализующих антител в сыворотках крови доноров из Астраханской области, приводятся титры IgG и нейтрализующих антител в положительных пробах (Таблица 6).

Титры IgG значительно превышали титры нейтрализующих антител ($p < 0,0001$). Средние геометрические титров ИФА-IgG и нейтрализующих антител к вирусу ЗН составляли соответственно 1:391 и 1:116. Между результатами обследования сывороток крови мужчин и женщин не было выявлено достоверных отличий ($p > 0,05$).

Пять сывороток серопозитивных доноров из Астраханской области, содержащих нейтрализующие антитела к вирусу ЗН были обследованы в реакции нейтрализации с вирусами ЗН и Усуту, родственным вирусу ЗН флавивирусу, распространенному в Африке, Южной и Центральной Европе (Таблица 7). Результаты этого опыта подтвердили специфичность антител к вирусу ЗН.

Таблица 6 - Титрование сывороток крови доноров из Астраханской области на антитела к вирусу ЗН в ИФА-IgG и реакции нейтрализации

№№ сывороток	Титры антител	
	в ИФА-IgG	в РН
479	1:200	1:40
481	1:400	1:80
486	1:200	1:1280

Продолжение Таблицы 6

486	1:200	1:1280
487	1:200	1:160
492	1:400	1:80
500	1:400	1:40
506	1:400	1:20
517	1:200	1:20
519	1:400	1:640
541	1:400	1:320
545	1:400	1:80
547	1:200	1:40
551	1:800	1:320
560	1:400	1:40
562	1:200	1:20
571	1:1600	1:160
580	1:200	1:320
582	1:800	1:80
583	1:800	1:320
588	1:400	1:160
593	1:800	1:160
601	1:200	1:80
610	1:400	1:640
611	1:1600	1:80
614	1:100	1:20
631	1:1600	1:160
633	1:400	1:320
634	1:200	1:80
663	1:400	1:320
669	1:100	1:40
673	1:800	1:160
674	1:800	1:320
Средние геометрические титров	1: 391	1:116

Таблица 7 - Обследование сывороток крови доноров из Астраханской области на антитела к вирусам ЗН и Усуту в реакции нейтрализации

№№ сывороток	Результаты РН с вирусами	
	ЗН	Усуту
487	1:160	отр*
506	1:20	отр
519	1:640	отр
601	1:80	отр
610	1:640	отр

* - отрицательный результат в разведении 1:20

3.1.2 Ростовская область (степная и лесостепная ландшафтные зоны)

Для подтверждения специфичности антител к вирусу ЗН, выявляемых у населения этого эндемичного по ЛЗН региона России, 11 сывороток крови больных с серологически подтвержденным диагнозом ЛЗН были обследованы методом МАС-ELISA с антигенами вирусов ЗН и Усуту-антигеннородственного флавивируса, циркулирующего в Африке и странах Южной и Центральной Европы. Полученные результаты свидетельствуют о том, что антитела, обнаруженные в этой группе лиц, появились в результате инфицирования вирусом ЗН, но не вирусом Усуту (Таблица 8).

Таблица 8 - Результаты обследования IgM-положительных сывороток крови больных ЛЗН из Ростовской области в ИФА-IgM на антитела к вирусу Усуту

№№ сывороток	Титры IgM антител с антигенами вирусов	
	Западного Нила	Усуту
231	1:3200	0*
242	1:1600	0
252	1:100	0
290	1:3200	1:400
291	1:200	0
304	>1:3200	1:800
311	1:800	0
323	1:200	0
339	1:400	0
368	1:200	0
382	>1:3200	1:200

* 0 – отрицательный результат в разведении сывороток 1:100

3.1.3 Краснодарский край (степная, лесо-луговая и субтропическая ландшафтные зоны)

В Краснодарском крае среди 243 обследованных сывороток было выявлено 11 положительных проб (4,5%), содержащих антитела к вирусу ЗН: 11 в ИФА IgG (4,5%) и 9 в реакции нейтрализации (3,7%). Процент совпадения положительных результатов по двум реакциям составил 72,2%.

У мужчин антитела встречались в 4,1% случаев, среди женщин в 3,6% случаев ($p>0,05$) (Таблица 9).

Таблица 9 - Показатели обнаружения антител к вирусу ЗН в Краснодарском крае у мужчин и женщин (2012 г.)

Пол	Число сывороток		Процент положительных и доверительные интервалы [ДИ 95%]	Средние геометрические титров, $\log_2 \pm \sigma$	
	обследованных	положительных		ИФА	РН
Мужчины	73	3	4,1 [0,9; 11,5]	9,59±1,4	6,80±0,7
Женщины	83	3	3,6 [0,8; 10,2]	8,01±2,9	5,99±2,8
Неизвестно	87	5	5,7 [1,9; 12,9]	9,03±1,8	9,31±1,8
Всего	243	11	4,5 [2,3; 7,9]	8,95±1,9	7,33±1,7

Средние геометрические титры ИФА-IgG и нейтрализующих антител к вирусу ЗН составляли соответственно 8,9 \log_2 (1:548) и 6,4 \log_2 (1:103) ($p<0,0001$). Между результатами обследования сывороток мужчин и женщин не было выявлено достоверных отличий ($p>0,05$) (Таблица 10).

Таблица 10 - Титрование сывороток крови жителей Краснодарского края (2012 г.) на антитела к вирусу ЗН в ИФА-IgG и реакции нейтрализации

№№ сывороток	Титры антител	
	в ИФА-IgG	в РН
28	1:1600	1:160
71	1:100	1:20
98	1:800	1:160
135	1:100	отр
162	1:3200	1:320
183	1:3200	1:1280
188	1:400	1:20
195	1:200	отр
206	1:200	1:40
221	1:1600	отр
223	1:400	1:80
Средние геометрические титров	1: 548	1:104

3.2 Северо-Кавказский федеральный округ

3.2.1 Ставропольский край (степная, полупустынная, лесо-луговая и субтропическая ландшафтные зоны)

Единичные пробы сывороток (n=56) были получены из городов Ставрополя и Кисловодска и 17 сельских районов края: Александровского, Апанасенковского, Арзгирского, Благодарненского, Буденновского, Ипатовского, Красногвардейского, Курского, Левокумского, Минералводского, Нефтекумского, Новоалександровского, Новоселицкого, Петровского, Труновского, Туркменского и Шпаковского. Положительными оказались 3 пробы (5,4%). IgG антитела к вирусу ЗН обнаружены у двух (3,6%) жителей Ипатовского района, нейтрализующие - у одного жителя (1,8%) Левокумского района. Процент серопозитивных находок среди женщин составил 6,7%, среди мужчин - 3,4% ($p > 0,05$).

3.3 Приволжский федеральный округ

3.3.1 Саратовская область (лесостепная и степная ландшафтная зоны)

В результате обследования 1448 сывороток крови из Саратовской области IgG антитела к вирусу ЗН были обнаружены в 13 сыворотках (0,9%). Девять из них (0,6%) оказались положительными и в реакции нейтрализации. Процент совпадения положительных результатов двух реакций составил 69,2%.

Сыворотки были получены из 14 районов Саратовской области. Положительные находки выявлены у жителей 7 районов: Базарно-Карабулакского (4,5%), Воскресенского (1,6%), Аткарского (1,1%), Балтайского (1,0%), Калининского (0,9%), Романовского (0,9%) и Саратовского (0,8%) районов (Таблица 11).

Таблица 11 - Результаты обследования населения Саратовской области на антитела к вирусу ЗН методами ИФА-IgG и реакции нейтрализации

Районы	Число сывороток		Процент положительных и доверительные интервалы [ДИ 95%]	Средние геометрические титров, $\log_2 \pm \sigma$	
	обследованных	положительных		ИФА	РН
Аткарский	179	2	1,1 [0,1; 3,9]	9,6±1,4	7,3±0
Базарно - Карабулакский	122	5	4,5 [1,3;9,3]	9,0±1,1	7,2±1,7
Балтайский	100	1	1 [0,03; 5,5]	9,6±0	0
Вольский	138	0	0 [0; 2,6]	0	0
Воскресенский	126	2	1,6 [0,2; 5,6]	10,6±0	4,7±2,8
Екатериновский	61	0	0 [0; 5,87]	0	0
Калининский	108	1	0,9 [0,02; 5,1]	7,6±0	5,3±0
Лысогорский	24	0	0 [0; 14,3]	0	0
Новобурасский	78	0	0 [0; 4,6]	0	0
Петровский	97	0	0 [0; 3,7]	0	0
Романовский	117	1	0,9 [0,02; 4,7]	11,6±0	6,3±0
Ртищевский	93	0	0 [0; 3,9]	0	0
Саратовский	126	1	0,8 [0,02; 4,3]	11,6±0	4,3±0
Хвалынский	89	0	0 [0; 4,1]	0	0
Всего по области	1448	13	0,9 [0,5; 1,5]	9,6±1,4	6,2±1,7

В возрастных группах населения от 19 до 29, 30-49, 50-69, 70-89 лет антитела к вирусу ЗН встречались соответственно в 0,6; 0,9; 1,0; 2,2% случаев ($p > 0,05\%$), у мужчин в 0,7%, у женщин в 0,8% ($p > 0,05\%$) (Таблицы 12, 13).

Таблица 12 - Возрастная структура гуморального иммунитета у населения Саратовской области к вирусу ЗН

Возрастные группы	Число сывороток		Процент положительных [ДИ 95%]
	обследованных	положительных	
до 19 до 29 лет	329	2	0,6 [0,1; 2,2]
от 30 до 49 лет	543	5	0,9 [0,3;2,1]
от 50 до 69 лет	300	3	1,0 [0,2;2,9]
от 70 до 89 лет	137	3	2,2 [0,5; 6,3]
Всего	1448	13	0,9 [0,5;1,5]

Таблица 13 - Показатели обнаружения антител к вирусу ЗН у мужчин и женщин в Саратовской области (2011-2012 гг.)

Пол	Число сывороток		Процент положительных [ДИ 95%]
	обследованных	положительных	
Мужчины	456	3	0,7 [0,1; 1,2]
Женщины	852	9	1,1 [0,5; 2,0]
Неизвестен	140	1	0,7 [0,02; 3,9]
Всего	1448	13	0,9 [0,5; 1,5]

Так же как и при обследовании сывороток крови населения Астраханской области и Краснодарского края титры IgG у серопозитивных доноров из Саратовской области были значительно выше, чем титры нейтрализующих антител ($P < 0,0001$) (Таблица 14).

Таблица 14 - Титрование сывороток крови жителей из Саратовской области, позитивных на антитела к вирусу ЗН

№№ сывороток	Титры антител	
	ИФА IgG	РН
76	1:200	1:40
224	1:400	1:640
231	1:1600	отр
236	1:800	отр
267	1:400	1:80
286	1:200	1:80
596	1:400	отр
608	1:1600	1:160
644	1:1600	1:20
646	1:1600	1:320
825	1:800	отр
1677	1:3200	1:80
1801	1:3200	1:20
Средние геометрические титров	1:844	1:86

3.3.2 Ульяновская область (лесостепная ландшафтная зона и зона лиственных лесов)

Из Ульяновской области была получена 471 сыворотка крови: 416 из Димитровградского района, 21 из Инземского района, 11 из шести других районов. Адреса 23 доноров установить не удалось. Результаты обследования на антитела к вирусу ЗН методами ИФА-IgG и реакции нейтрализации оказались отрицательными.

3.3.3 Республика Татарстан (ландшафтная зона средне-таежных и лиственных лесов)

Распределение 200 обследованных сывороток по территории Республики было следующим: Арский район – 19, Высокогорский район - 20, Кукморский район – 108, Сабинский район – 7, Тетюшинский район - 42, г. Казань – 2, Актамышинский и Балтасинский районы – по 1-й пробе; по возрастным группам : от 4 до 12 лет – 42, от 15 до 18 лет – 34, от 21 до 30 - 43, от 31 до 40 - 40, от 41 до 50 – 34 и старше – 7. Результаты во всех случаях оказались отрицательными.

3.4 Центральный федеральный округ

3.4.1 Воронежская область (лесостепная ландшафтная зона)

Из 128 сывороток крови доноров, полученных из Терновского и Верхнехавского района области, две пробы (1,6%) содержали нейтрализующие антитела к вирусу ЗН, одна из них (0,8%) IgG (в титре 1:400). Среди обследованных лиц в возрасте до 29 лет (n=33), 30-49 лет (n=43), 50 и более лет (52) по одной серопозитивной находке обнаружено в группах 20-29 и 30-39 лет (соответственно в 3,0% и 2,3%). Не удалось установить адреса и возраст 21-го и пол 35-и доноров.

3.4.2 Курская область (лесостепная ландшафтная зона)

Результаты обследования на антитела к вирусу ЗН 61 пробы сывороток крови, собранных в г. Курске и 20 сельских районах области, оказались отрицательными. Среди доноров было 28 мужчин и 33 женщины в возрасте от 19 до 50 и более лет.

3.4.3 Липецкая область (лесостепная ландшафтная зона)

Из Липецкой области были обследованы 614 сыворотки, собранные в г. Липецке (210 проб) и четырех районах: Данковском (117), Добровском (107), Елецком (80) и Липецком (100). IgG и нейтрализующие антитела к вирусу ЗН обнаружены у 2-х из 210 жителей Липецка (0,95%) и одного из 117 жителей Данковского района (0,9%). Результаты обследования в ИФА-IgG и реакции нейтрализации полностью совпали. Титры IgG антител в трех позитивных сыворотках составили 1:400, 1:400, 1:1600, титры нейтрализующих антител – 1:20 ($p < 0,0001$). В среднем по области антитела выявлены у 0,5% населения: у женщин ($n=319$) в 0,3% случаев, у мужчин ($n=295$) в 0,7%; в возрастных группах от 20 до 49 лет ($n=227$) в 0,9%, от 49 лет и старше ($n=356$) в 0,3% ($p > 0,05\%$). Результаты обследования лиц в возрасте до 19 лет ($n=31$) оказались отрицательными.

3.4.4 Тамбовская область (лесостепная ландшафтная зоны)

При обследовании 1023 сывороток крови из Тамбовской области IgG антитела к вирусу ЗН были обнаружены в семи пробах (0,7%), 4 (0,4%) из которых оказались положительными и в реакции нейтрализации (Таблица 15).

Большинство сывороток (656) были получены из Тамбова, Тамбовского района, а так же 23 других территорий области. Адреса 367 доноров не были установлены. Положительные находки выявлены (в сумме) у шести жителей

Жердевского, Мордовского, Моршанского, Петровского, Уваровского районов и одного донора с неизвестным местом жительства.

Таблица 15 - Титрование сывороток крови жителей Тамбовской области, позитивных на антитела к вирусу ЗН, в ИФА-IgG и реакции нейтрализации

№№ сывороток	Титры антител	
	в ИФА-IgG	в РН
203	1:400	1:20
209	1:1600	1:40
246	1:200	отр.
280	1:1600	отр.
281	1:400	отр.
878	1:3200	1:40
978	1:400	1:20
Средние геометрические титров	1:724	1:25

В среднем по области антитела были обнаружены у 0,7% населения: у женщин (n=691) в 0,9%, у мужчин (n=332) в 0,3% ; в возрастных группах от 20 до 29 лет (n=107) в 0,9%, от 30 до 49 лет (n=252) в 0,4%, от 50 лет и старше (n=500) в 0,6% (p>0,05). Результаты обследования лиц в возрасте до 19 лет (n=42) оказались отрицательными. Среди сывороток 122 доноров, чей возраст установить не удалось, выявлено две серопозитивные пробы (1,6%).

В целом в результате обследования 1826 сывороток крови населения, проживающего на территориях лесостепной зоны (Воронежская, Курская, Липецкая и Тамбовская области) антитела к вирусу ЗН были обнаружены в 12 пробах (0,7%): в 11-и в ИФА-IgG и в 9 из них в реакции нейтрализации. Результаты двух тестов совпали в 81,9%. Частота обнаружения антител у лиц мужского (n=683) и женского (n=1101) пола составила соответственно 0,4% и 0,7% (p>0,05); в возрастных группах 20-29 (n=244), 30-49 (n=570), 50 и более лет (n=530) в 1,3; 0,5; 0,75% соответственно. Не было выявлено достоверных отличий по полу и возрасту (p>0,05). У доноров в возрасте до 19 лет антитела не были обнаружены.

3.4.5 Тульская область (зона лиственных лесов)

Методами ИФА-IgG и реакции нейтрализации было обследовано 400 сывороток крови жителей Тульской области: 100 проб из г. Новомосковск, 98 из г. Тулы, 91 из Чернского района, 77 из Плавского района, 34 из г.г. Донской, Ефремов, из Белевского, Заокского, Куркинского, Одоевского и Ясногорского районов. В шести пробах были обнаружены как IgG, так и нейтрализующие антитела к вирусу ЗН со значительным превышением ($p < 0,0001$) (Таблица 16).

Таблица 16 - Титрование сывороток крови доноров из Тульской области, позитивных на антитела к вирусу Западного Нила в ИФА-IgG и реакции нейтрализации

№№ сывороток	Титры антител	
	в ИФА-IgG	в РН
62	1:1600	1:20
68	1:1600	1:20
140	1:800	1:20
270	1:800	1:20
367	1:3200	1:320
480	1:400	1:20
Средние геометрические титров	1:1132	1:32

Частота обнаружения положительных находок по области составила 1,5%, среди жителей Тулы, Чернского района и г. Новомосковск соответственно 3,1; 2,2; и 1,3%. В возрастных группах населения от 20 до 39 лет ($n=114$), от 40 до 49 лет ($n=56$) от 50 лет и старше ($n=193$) показатели выявления антител составили соответственно 2,6; 1,8 и 1,0% ($p > 0,05$), у лиц в возрасте до 19 лет ($n=22$) антитела не обнаружены. У женщин ($n=227$) и мужчин ($n=132$) антитела встречались 1,8 и 0,8 % случаев ($p > 0,05$). Как и в других регионах, титры IgG антител оказались значительно выше, чем нейтрализующих ($p < 0,0001$).

3.4.6 Калужская область (ландшафтная зона южно-таежных и лиственных лесов).

Методами ИФА-IgG и реакции нейтрализации с отрицательными результатами были обследованы 52 сыворотки крови доноров, в возрастных группах от 19 до 50 лет и старше, проживающих в г. Калуге (18 проб), Козельском районе (9) и 12 других районах области (25 проб). Среди обследованных было 27 мужчин и 25 женщин.

3.4.7 Москва (ландшафтная зона южно-таежных и лиственных лесов)

В результате обследования 424 сывороток крови жителей Москва (154 детей в возрасте от 4 до 14 лет, 270 взрослых мужчин и женщин. IgG и нейтрализующие антитела к вирусу ЗН, в титрах соответственно 1:400 и 1:80, были выявлены у одного ребенка (0,2%).

3.4.8 Московская область (ландшафтная зона южно-таежных и лиственных лесов)

Из Московской области были обследованы 140 сывороток крови доноров (в возрасте от 20 до 60 лет), проживающих на территориях южных, северных, западных и восточных районов. В одной пробе (0,7%) обнаружены IgG антитела к вирусу ЗН (в титре 1:400) при отсутствии нейтрализующих.

3.4.9 Рязанская область (ландшафтная зона южно-таежных и лиственных лесов).

Результаты обследования 124 сывороток крови, полученных из Касимовского (27 проб), Клепикского (22), Скопинского (17), Спасского (43)

районов и Рязани (12) оказались отрицательными. В трех случаях IgG к вирусу ЗН (в титрах 1:200, 1:200 и 1:400) и нейтрализующие антитела (в титре 1:20) были обнаружены у трех из 25 сезонных сельскохозяйственных рабочих - граждан Таджикистана и Молдавии - территорий, эндемичных по лихорадке ЗН.

3.4.10 Тверская область (ландшафтная зона южно-таежных и лиственных лесов)

По данным обследования в ИФА-IgG и реакции нейтрализации антитела к вирусу ЗН отсутствовали у 97 доноров – жителей Вышне-Волочёцкого района: 79 женщин и 18 мужчин в возрасте 30-50 лет.

3.5 Северо-Западный федеральный округ

3.5.1 Вологодская область (ландшафтная зона средне-таежных и южно-таежных лесов)

Территория области является гиперэндемичной по клещевому энцефалиту, поэтому 203 сыворотки крови доноров-жителей г. Вологды и Вологодского района были обследованы методом ИФА-IgG параллельно на антитела к вирусам клещевого энцефалита и лихорадки ЗН. С антигеном вируса клещевого энцефалита положительно реагировали 7 сывороток (3,4%), из них 5 (2,5%) с антигеном вируса ЗН. Титры антител в ИФА-IgG-КЭ значительно превышали титры гетерологичных антител, выявляемых в наборе ИФА-IgG-ЗН. Результаты обследования тех же проб в реакции нейтрализации с вирусом ЗН оказались отрицательными (Таблица 17). Таким образом, серопозитивные пробы содержали специфические антитела к вирусу КЭ, но не к вирусу ЗН.

Таблица 17 - Результаты обследования позитивных сывороток крови жителей Вологодской области методом ИФА-IgG с антигенами вирусов клещевого энцефалита и Западного Нила

№№ сывороток	Титры антител с антигенами вирусов	
	КЭ	ЗН
43	1:800	1:100
60	1:100	0*
84	1:800	1:200
109	1:400	0
156	1:200	1:100
158	1:1600	1:400
172	1:3200	1:100

*отрицательный результат в разведении 1:100

3.6 Заключение

В 2010-2014 гг. методами ИФА-IgG и реакции нейтрализации была обследована 6341 проба сывороток крови доноров, проживающих на территориях Южного, Северо-Кавказского, Приволжского, Центрального и Северо-Западного федеральных округов России. Антитела к вирусу Западного Нила (ЗН) обнаружены у жителей Астраханской области (в 19,6% случаев), Краснодарского края (4,5%), Ставропольского края (4,5%), Саратовской (0,9%), Воронежской (1,6%), Тульской (1,5%), Тамбовской (0,7%) и Липецкой (0,6%) областей. Две серопозитивные пробы выявлены у жителей Москвы и Московской области, инфицированных, возможно, во время пребывания в регионах, эндемичных по лихорадке ЗН. Результаты тестирования сывороток местных жителей Калужской, Рязанской, Тверской, Вологодской, Ульяновской областей и Республики Татарстан оказались отрицательными.

Совпадение результатов обследования сывороток в ИФА-IgG и реакции нейтрализации составило 100% по Вологодской, Калужской, Курской, Липецкой областям, г. Москве, Республике Татарстан, Рязанской, Тверской, Тульской и Ульяновской областям; по Астраханской области 80,7%, по Краснодарскому краю 72,7%, по Саратовской, Тамбовской и Воронежской

областям, соответственно 69,2; 57,1 и 50% (в среднем по всем обследованным сывороткам 75,5%) (Таблица 18).

Серозидемиологические исследования, выполненные в 2010 – 2014 гг. охватили территории Европейской части России (от Ставропольского края и Краснодарского края до Вологодской области) общей площадью 907,3 тысяч км², на которой проживает более 49 млн. человек. Наши данные в сочетании со статистикой заболеваемости лихорадкой ЗН свидетельствуют об активности очагов этой инфекции в Южном и Северо-Кавказском Федеральном округах, Приволжском округе (Саратовская область) и Центральном округе (лесостепная зона и Тульская область, расположенная в зоне лиственных лесов) (Таблица 19). Северная граница ареала вируса ЗН находится, очевидно, на территории Тульской области, в пределах географических координат: на севере - 54°50' с.ш., 37°25'52' в.д.; на юге - 52°57' с.ш., 38°19' в.д.; на западе - 53°50' с. ш., 35°54' в. д.; на востоке - 53°43' с. ш., 38°56' в. д.

Таблица 18 - Общие результаты обследования сывороток крови населения Европейской части России на антитела к вирусу ЗН

Территории	Годы обследования	Число обследованных сывороток	Число и % положительных			
			в РН	в ИФА IgG	Всего в РН и ИФА	Совпадение результатов в РН и ИФА IgG (%)
Астраханская область	2010-2012	657	88 (13,2)	129 (19,6)	109 (16,6)	88 (80,7%)
Вологодская область	2013	203	0	0	0	0 (100)
Воронежская область	2011	128	2 (1,6)	1 (0,8)	2 (1,6)	1 (50)
Калужская область	2014	52	0	0	0	0 (100)
Краснодарский край	2012	243	9 (3,7)	11 (4,5)	11 (4,5)	8 (72,7)
Курская область	2014	61	0	0	0	0 (100)
Липецкая область	2012, 2013, 2014	614	3 (0,5)	3 (0,5)	3 (0,5)	0 (100)
Москва	2013	424	1 (0,2)	1 (0,2)	1 (0,2)	1 (100)
Московская область	2013	140	0	1 (0,6)	1 (0,6)	0 (0)
Рязанская область	2014	124	3* (2,4)	3 (2,4)	3 (2,4)	3 (100)
Ставропольский край	2013	56	1 (1,8)	2 (3,6)	3 (5,4)	0 (0)
Тамбовская область	2012-2013	1023	4 (0,4)	7 (0,7)	7 (0,7)	4 (57,1)
Тверская область	2013	97	0	0	0	0 (100)
Республика Татарстан	2012	200	0	0	0	0 (100)
Саратовская область	2011-2012	1448	9 (0,6)	13 (0,8)	13 (0,8)	9 (69,2)
Тульская область	2012	400	6 (1,5)	6 (1,5)	6 (1,5)	6 (100)
Ульяновская область	2014	471	0	0	0	0 (100)
ВСЕГО	-	6341	126 (1,98)	177 (2,8)	159 (2,5)	120(75,5)

* Три положительные сыворотки (из 25 обследованных) сывороток сезонных сельскохозяйственных рабочих-граждан Таджикистана и Молдавии.

Таблица 19 - Распределение находок антител к вирусу ЗН у населения, проживающего на территориях различных ландшафтных зон Европейской части России по данным обследования в ИФА-IgG и РИ

Ландшафтные зоны	Площадь (тыс. кв. км)	Население (тыс. чел)	Число сывороток		% положительных и доверительные интервалы [ДИ 95%]
			обследованных	положительных	
Степная, полупустынная, лесо-луговая и субтропическая <i>Ставропольский край Краснодарский край</i>	142,5	7620	299	14	4,7 [2,6; 7,7]
Полупустынная и пустынная <i>Астраханская область</i>	44,1	1022,3	657	129	19,6 [16,7; 22,9]
Лесостепная и степная <i>Саратовская область</i>	100,2	2737,5	1448	13	0,9 [0,5; 1,5]
Лесостепная <i>Воронежская, Курская, Липецкая, Тамбовская области</i>	140,6	6405,3	1826	12	0,7 [0,3; 1,2]
Лесостепная зона и зона лиственных лесов <i>Ульяновская область</i>	37,3	1490	471	0	0 [0; 0,8]
Зона лиственных лесов <i>Тульская область</i>	25,7	1808,9	400	6	1,5 [0,6; 3,2]
Зона южно-таёжных и лиственных лесов <i>Москва, Московская, Тверская, Калужская, Рязанская области, Татарстан</i>	271,2	26576,5	1037	2	0,2 [0,02;0,7]
Зона средне-таёжных и южно-таёжных лесов <i>Вологодская область</i>	145,7	1345,0	203	0	0 [0;1,8]
Всего	907,3	4900,5	6341	176	2,8 [2,4; 3,2]

ГЛАВА 4. СЛУЧАИ ЛИХОРАДКИ ЗАПАДНОГО НИЛА В ТУЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ

К началу выполнения диссертационной работы отсутствовали какие-либо сведения о циркуляции вируса ЗН и случаях заболевания ЛЗН на этой территории, хотя пограничная Липецкая область и близлежащая Воронежская область являются эндемичными по этой инфекции, где первые случаи ЛЗН были зарегистрированы соответственно в 2012 и 2010 гг. (интернет-информация Роспотребнадзора). В 2013 году было обследовано 143 сыворотки крови от 132 больных острыми лихорадочными заболеваниями, госпитализированных в лечебные учреждения Тулы летом 2012 года с целью проведения серодиагностики ГЛПС. Эти пробы были предоставлены Т. К. Дзагуровой - заведующей лабораторией геморрагических лихорадок ФГБНУ Федеральный Научный центр исследования и разработки иммунобиологических препаратов им. М. П. Чумакова РАН. Ранее они были тестированы методом непрямой иммунофлуоресценции на ГЛПС и методом РМАЛ на лептоспироз с отрицательными результатами.

При обследовании методами ИФА-IgM (MAC-ELISA), ИФА-IgG и реакции нейтрализации 143-х сывороток крови 132 больных антитела к вирусу ЗН были обнаружены у 7 пациентов. В сыворотке крови, взятой у больной К.Г.В. на 11 день болезни были обнаружены IgM, IgG и нейтрализующие антитела к вирусу ЗН в титрах соответственно 1:3200, 1:3200 и 1:20, у больного О.С.С. на 11 день болезни в титрах 1:12800, 1:1600 и 1:40. У больного П.А.В. на 13 и 17 дни после начала болезни в равных титрах (1:6400) выявлялись специфические IgM, нейтрализующие антитела (1:40) и сероконверсия IgM (от 1:800 до 1:3200). От больной А.Н.И. были получены 3 пробы сыворотки: через 11, 18 и 317 дней после начала болезни. Титры IgM в I, II и III пробах составляли соответственно 1:3200, 1:3200 и <1:50 (отрицательный результат при разведении 1:50), IgG – 1:3200, 1:3200, 1:3200, в РН \leq 1:20, \leq 1:20 (сомнительный (\pm) результат при разведении 1:20) и 1:320.

Подобная картина динамики IgM, IgG и нейтрализующих антител (с учетом сроков обследования больных) является типичной для лихорадки ЗН, а полученные данные указывают на этиологическое значение вируса ЗН в этих случаях. В сыворотках крови трех пациентов (М.В.С., К.И.В. и О.Ю.В.) при отсутствии IgM к вирусу ЗН были обнаружены специфические IgG и нейтрализующие антитела. Результаты обследования всех проб на IgG к вирусу клещевого энцефалита оказались отрицательными (Таблица 20).

Таблица 20 - Результаты обследования в ИФА-IgM, ИФА-IgG и РН сывороток крови больных с подозрением на ГЛПС из Тульской области (июнь-сентябрь 2012г.) на антитела к вирусу Западного Нила

Больные	Дата заболевания	Дата взятия сывороток	Антитела к вирусу Западного Нила			IgG к вирусу клещевого энцефалита
			IgM	IgG	РН	
М. С. В.	02.07	04.07.2012	отр	1:800	1:20	отр
К. И. В.	-	31.07.2012	отр	1:3200	1:320	отр
		03.08.2012	отр	1:3200	1:320	отр
К. Г. В.	03.08	13.08.2012	1:3200	1:3200	1:20	отр
О. С.С.	03.08	13.08.2012	1:12800	1:1600	1:40	отр
П. А. В.	18.08	30.08.2012	1:6400	1:800	1:40	отр
		03.09.2012	1:6400	1:3200	1:40	отр
А. Н. И.	18.08	28.08.2012	1:3200	1:3200	1:20?*	отр
		04.09.2012	1:3200	1:3200	1:20?*	отр
		02.07.2013	отр	1:3200	1:320	отр
О. Ю.В.	-	03.09.2012	отр	1:400	1:20	отр

* 1:20? - сомнительный результат (+/-)

Таким образом, в Туле и Тульской области впервые диагностированы 4 верифицированные случая ЛЗН, что указывает на происходящее расширение ареала ЛЗН. Наличие анамнестических IgG и нейтрализующих антител к вирусу ЗН (при отсутствии IgM) у трех больных (местных жителей) подтверждают факт циркуляции вируса ЗН на территории области и свидетельствуют об инфицировании этих пациентов в предыдущие годы.

Полученные данные позволяют дифференцировать выявленные случаи ЛЗН от клещевого энцефалита, вызываемого антигенно-родственным

флавивирусом, эндемичным для многих территорий Европейской части страны, где встречаются клещи *Ixodes ricinus* и *I. persulcatus*.

Случай 1. (О.С.С.) 1952 г.р. Место жительства: г. Тула. Заболел 3.08.2012. Госпитализирован в инфекционное отделение ГУЗ «Городская больница №2 г.Тулы» с 7 по 14 августа 2012 г. с диагнозом острая вирусная инфекция, гипертермический менингеальный синдром; сопутствующий диагноз – дисметаболическая энцефалопатия с астенической рассеянной симптоматикой. Жалобы при обращении: головная боль, высокая температура, ломота в мышцах, суставах, тошнота. Анамнез заболевания: болен 5 дней, температура до 40⁰С. Артериальная гипертензия. Объективно при осмотре: температура 39,5⁰С, состояние тяжелое, сознание ясное, но на вопросы отвечает медленно и неуверенно, кожные покровы бледные со следами после гнойной сыпи. Зев чистый, периферические лимфоузлы не изменены, склеры субиктеричны, отеки отсутствуют. Дыхание равномерное, частота 20 в минуту, жесткое, хрипы отсутствуют, легочный звук не изменен. Тоны сердца приглушены, ритм правильный, АД 120/80. Язык влажный, обложен налетом, живот мягкий, безболезненный, печень безболезненная, уплотненная, выступает на 3 см, селезенка не увеличена. Симптом Пастернацкого отрицательный. Ригидность мышц затылка отсутствует, симптом Кернига сомнительный. ЭКГ: ритм sin, отклонение ЭОС смещено влево, ЧСС – 103.

Общий анализ крови

Дата	ЭР	Нв	Тр	СОЭ	Л.	П.	С.	Лимф.	Мон
08.08.12	4,73	157	191	8	16	5	67	22	6
13.08.12	5,2	171	279	5	10	-	53	45	5

Гликемический профиль

дата	8-00	11-00	16-00
08.08.12	4.1	4,9	7,0

Биохимия

Дата	Креатинин	Мочевина	Билирубин	АСТ	АЛТ	ALP	ГГТ
08.08.12	130	5,7	19,1	34	33	138	37,2

Анализ мочи от 08.08.2012г., общий: удельный вес 1015, белок 0,3, сахар

17.

Рентгенография легких от 08.08.2012 г. без патологии.

Консультация невролога 07.08.12 г.: дисметаболическая энцефалопатия с астенией, рассеянной симптоматикой; 08.08.12 г. состояние улучшилось, менингеальных знаков нет, диагноз тот же. При консультации эндокринолога патологии не выявлено.

УЗИ брюшной полости и почек от 13.08.2012 г.: диффузные изменения печени, хронический холецистит, диффузные изменения поджелудочной железы, уплотнение почечной ткани.

Состояние при выписке 14.08.2012 г.: температура с 9.08.2012 г. субфебрильная, затем нормальная, состояние улучшилось, выписан под расписку.

Серологическое обследование на ГЛПС в МФА от 13.08.2012г., и в РМАЛ на лептоспироз от 13.08.2012 с отрицательным результатом.

Эпиданамнез: проживает в центре г. Тула в многоэтажном доме, отмечает подтопление подвальных помещений и наличие комаров. За 2 недели до заболевания, выезжал в п. Бородино, Киреевского района Тульской области.

Случай 2. (К.Г.В.) 1938 г.р. Место жительства: г. Тула. Заболела 3.08.2012 г., когда появился озноб, слабость, температура до 40⁰С. С 7 по 21 августа находилась в инфекционном отделении ГУЗ «Городская больница №2 г. Тулы» с диагнозом обострение хронического пиелонефрита. Жалобы при обращении: общая слабость, головокружение. Перенесенные и сопутствующие заболевания: грипп, ОРВИ, сахарный диабет 2 типа, гипертоническая болезнь, хронический пиелонефрит, холецистэктомия в 1983 г. Объективно при осмотре: состояние средней тяжести, тип конституции гиперстенический, питание повышенное, кожные покровы бледные, зев чистый, периферические лимфоузлы увеличены.

Дыхание равномерное, ЧДД 20 в минуту, хрипы отсутствуют, легочный звук не изменен. Тоны сердца глухие, АД 130/80, ритм правильный. Живот правильной формы, мягкий, безболезненный, печень безболезненная, выступает на 1 см, селезенка не увеличена. Симптом Пастернацкого отрицательный. ЭКГ: ритм sin, отклонение ЭОС влево, ЧСС 103, изменения в верхней боковой стенке.

Общий анализ крови

Дата	ЭР	Нв	СОЭ	Л.	П.	С.	Лимф.	Мон.
08.08.12	4,88	150	15	14,2	-	68	26	5
20.08.12	4,59	-	3	11,7	-	-	-	-

Гликемический профиль

Дата	8-00	11-00	16-00
10.08.12	6,1	10,3	10,0
20.08.12	7,0	5,1	7,0

Биохимия

Дата	Креатинин	Мочевина	Билирубин	АСТ	АЛТ	Холестерин
08.08.12	173	7,73	8,9	42,5	48,9	7,73
20.08.12	123	8,63	-	-	-	-

Анализ мочи от 10.08.12 г. общий: удельный вес 1025, белок +, сахар +, лейкоциты – 20-30 в поле зрения.

Рентгенография легких от 10.08.2012 г. без патологии.

УЗИ брюшной полости и почек: признаки жирового гепатоза, состояние после холецистэктомии, признаки хронического пиелонефрита, более выраженные слева. Состояние при выписке удовлетворительное.

Серологическое обследование на ГЛПС в реакции МФА от 13.08.2012 г. с отрицательным результатом.

Эпиданамнез: проживает в центре г.Тула в многоэтажном доме, отмечает наличие комаров. Садово-огородного участка и загородного дома нет, из города летом не выезжала.

Случай 3. (П.А.В.), 1970 г.р. Место жительства: Тульская область, г. Донской. Дата заболевания 18.08.2012 г. С 22.08 по 5.09.2012 г. находился в

инфекционном отделении ГУЗ «Тульская областная клиническая больница» с диагнозом ГЛПС, средней тяжести. При поступлении жалобы на слабость, температура до 39⁰С.

Анамнез заболевания: заболел остро 18.08.2012 г., температура до 39⁰С, слабость. 18.08. и 19.08.2012 г. вызывал скорую помощь. 20.08.12 г. обратился к участковому терапевту. При осмотре неврологом, менингеальных симптомов не выявлено, 21.08.12 г. госпитализирован в инфекционное отделение ГУЗ «Донская городская больница» с диагнозом лихорадка неясной этиологии, 22.08.12г. головная боль, температура 39⁰С, слабость, разбитость. 22.08.2012г. переведен в инфекционное отделение ГУЗ «Тульская областная клиническая больница». Перенесенные заболевания: грипп, ОРВИ.

Объективно при осмотре: общее состояние средней тяжести, правильного телосложения, умеренного питания, кожные покровы и склеры обычной окраски, менингеальные знаки сомнительные, зев розовый, чистый, периферические лимфоузлы не увеличены. В легких дыхание везикулярное, хрипов нет. Тоны сердца ритмичные, приглушены, АД 196/60, пульс 72 удара в минуту. Живот мягкий, безболезненный, печень и селезенка не увеличены. Стул оформленный, мочеиспускание свободное, безболезненное, отеков нет.

Общий анализ крови

Дата	ЭР.	Нв	Тр.	СОЭ	Л.	Нейтр.	Э.	Мон.	Лимф.
22.08.12	5	151	167	33	11	79,5	0,6	4,6	14,5
03.09.12	4,91	150	247	11	6,2	52	1,6	7,5	33,8

Глюкоза – 3,9 ммоль/л.

Биохимия

Дата	Креатинин	Мочевина
03.09.12	86	5,81

Общий анализ мочи от 24.08.12 г.: реакция кислая, лейкоциты 0-2 в п.зр., эритроциты 0-3 в п.зр.

ЭКГ от 23.08.2012 г. ритм правильный, вертикальное положение ЭОС.

УЗИ почек и надпочечников 28.08.2012 г.: признаки нефропатии.

Консультация невролога: данных за менингит нет, регрессирующий менингизм на фоне основного заболевания. Серологическое обследование 30.08 и 03.09.2012 на ГЛПС в МФА и лептоспироз в РМАЛ с отрицательным результатом.

Эпиданамнез: проживает в г.Донском, есть дача. Со 2 по 14 августа 2012 г. выезжал в Абхазию на отдых.

Случай 4. (А.Н.И.) 1948 г.р. Место жительства: г.Тула. Заболела 18.08.2012 г., когда появился озноб. Температура до 39,5⁰С. Находилась на госпитализации в инфекционном отделении ГУЗ «Городская больница №2 г.Тулы» с 21 августа по 6 сентября 2012 г. с диагнозом обострение хронического бронхита. Жалобы при обращении: температура до 39,5⁰ С, озноб, сухость во рту, слабость.

Перенесенные заболевания: артериальная гипертензия, инфаркт миокарда. Объективно при осмотре: состояние средней тяжести, сознание ясное, кожные покровы бледные, периферические лимфоузлы не изменены. ЧДД 22 в минуту, дыхание везикулярное, ослабленное, хрипы сухие единичные. Ритм сердца правильный, ЧСС 60, АД 150/80. Живот безболезненный, печень и селезенка не увеличены. Почки: симптом Пастернацкого отрицательный.

Общий анализ крови

Дата	ЭР	Нв	СОЭ	Л.	П.	С.	Лимф.	Мон.
22.08.12	8,2	153	17	4,9	2	65	23	10
27.08.12	9,23	143	10	5,01	8	60	24	10

Глюкоза – 5,2.

Биохимия

Дата	Креатинин	Мочевина	Холестерин
22.08.12.	147	10,02	5,04
27.08.12.	153	5,57	-
31.08.12.	122	5,73	-

Анализ мочи от 08.08.12 г., общий: удельный вес 1020, белок 0,1. Анализ по Зимницкому: удельный вес 1005-1015.

Рентгенография легких от 21.08 и 05.09.2012 без патологии.

Серологическое обследование 28.08 и 04.09.2012 на ГЛПС в реакции МФА и 04.09 на лептоспироз в РМАЛ с отрицательным результатом.

Эпиданамнез: проживает в многоэтажном доме на окраине г.Тула и на даче в Ленинском районе Тульской области. Летом 2012 г. за пределы области не выезжала.

В качестве заключения к представленным данным можно сказать, что больные ЛЗН в возрасте 42, 60, 62 и 64 года, инфицировались в течение августа 2012 г. в характерный для эндемичных регионов России период наибольшей активности циркуляции вируса ЗН. У этих пациентов отмечалась высокая температура (до 39-40°C). Продолжительность заболевания (от начала до выписки из больницы) составляла соответственно 13, 16, 19 и 20 дней; продолжительность госпитализации: 8, 12, 15 и 17 дней; диагнозы при госпитализации: острая вирусная инфекция (случай 1), ГЛПС, лихорадка неясной этиологии (случай 2), обострение хронического пиелонефрита (случай 3), обострение хронического бронхита (случай 4). Неврологическая симптоматика у двух больных выражалась в наличии менингеального синдрома и энцефалопатии с астенической симптоматикой (случай 1) и слабовыраженным менингеальным синдромом (случай 2). Заражение больных (с учетом продолжительности инкубационного периода при ЛЗН) произошло через укусы комаров в Туле (случай 2), в Туле и Тульской области (случаи 1 и 4), в Туле или Абхазии (случай 3).

ГЛАВА 5. ОБСЛЕДОВАНИЕ РЕКОНВАЛЕСЦЕНТОВ, ПЕРЕНЕСШИХ ЛИХОРАДКУ ЗАПАДНОГО НИЛА, НА СПЕЦИФИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА IgM, IgG И НЕЙТРАЛИЗУЮЩИЕ АНТИТЕЛА

Диагностика большинства арбовирусных инфекций, включая ЛЗН, основана на результатах вирусологического, молекулярно-генетического и серологического обследования больных. В случае ЛЗН по причине короткого периода вирусемии методы выделения вируса, а также обнаружения вирусной РНК в крови или ликворе обладают ограниченной эффективностью. Основное диагностическое значение имеют методы иммуноферментного анализа (прежде всего МАС-ELISA), позволяющие выявлять специфические антитела IgM, которые появляются в крови, как правило, на 2-5-й день болезни и достигают очень высокого уровня через 1,5-2 недели. Опыт многолетнего использования метода МАС-ELISA в научных и практических лабораториях России лег в основу ряда методических указаний и рекомендаций, основанных на применении, главным образом, сертифицированных наборов производства ЗАО «Биосервис» (Москва) и ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск) [28, 46]. Важным критерием для дифференциации острой инфекции ЛЗН от предшествующей перенесенной в предыдущий год или ранее, является продолжительность персистенции специфических IgM антител у реконвалесцентов, перенесших это заболевание. Обнаружение у пациентов IgM антител к вирусу ЗН обычно рассматривается как свидетельство недавно приобретенной ЛЗН.

Литературные данные отечественных и иностранных авторов по вопросу продолжительности персистенции IgM антител у реконвалесцентов, перенесших ЛЗН, значительно отличаются.

В этой связи 2013-2014 гг. с участием трех лабораторий (ЦГиЭ в Астраханской области, Волгоградского ПЧИ и НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского) было проведено обследование 29 сывороток крови от 26 больных и реконвалесцентов с серологически подтвержденным диагнозом ЛЗН.

Сыворотки были собраны в ранний период через 243-358 дней (8,1-11,9 месяцев), в среднем через 308 дня (10,2 месяца) после начала заболевания. Обследование сывороток в вирусологической лаборатории ЦГиЭ (Астрахань) и лаборатории биологии и индикации арбовирусов НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского было выполнено с использованием ИФА-IgM и ИФА-IgG тест-систем «Биоскрин» (ЗАО «Биосервис», Москва) и экспериментальных наборов НИИ вирусологии. В Волгоградском ПЧИ применяли тест-системы ИФА-IgM «Биоскрин» и ИФА-IgG «Euroimmun» (Германия) в соответствии с инструкциями производителей. Кроме того, сыворотки реконвалесцентов обследованы нами в реакции нейтрализации в культуре клеток *Vero Eb*.

Среди 19 сывороток крови, взятых у больных ЛЗН в период от 3 до 8 дня от начала заболевания, специфические IgM были обнаружены в 18 случаях (94,7%), в период с 9 по 18 дни во всех 11 обследованных пробах (100%) (Таблица 21).

Таблица 21 - Результаты обследования сывороток крови реконвалесцентов, перенесших лихорадку Западного Нила в Астраханской области в 2013-2014 гг.

Больные ЛЗН	Обследование в 2013 г				Обследование в 2014 г							
	День болезни	IgM	IgM	IgG	День от начала заболевания	IgM			IgG			РН
		Аст	Мск			Аст	Влг	Мск	Аст	Влг	Мск	Мск
1	4	3200	6400	отр	281	отр	отр	отр	+	+	1600	160
2	5	≥3200	25600	400	287	400	отр	400	+	+	400	80
3	11	1600	3200	800	243	отр	отр	отр	+	+	200	40
4	8	≥3200	≥3200	отр	265	отр	отр	отр	+	+	800	80-160
5	10	6400	12800	1600	299	отр	отр	отр	+	+	1600	160- 320
6	4	3200	3200	отр	289	отр	отр	отр	+	+	≥400	40-80
	9	+	6400	1600								
7	11	≥3200	12800	отр	289	отр	+-	отр	+	+	3200	320
8	4	≥3200	12800	отр	284	400	отр	400	+	+	400	80

Продолжение Таблицы 21

9	11	≥3200	12800	800	281	отр	отр	отр	отр	отр	отр	отр
10	6	6400	25600	800	299	отр	отр	отр	+	отр	800	80-160
11	3	3200	6400	отр	277	отр	+-	отр	+	отр	200	н/о
12	4	3200	12800	отр	262	отр	отр	отр	отр	отр	отр	н/о
	5	+	25600	отр								
13	5	6400	25600	отр	334	отр	отр	отр	+	+	200	80
14	5	1600	но	но	355	отр	отр	отр	+	+	800	160-320
15	7	1600	1600	отр	349	отр	отр	отр	+	+	200	40
16	4	1600	6400	отр	349	отр	отр	отр	+	+	400	80-160
17	18	6400	25600	отр	342	отр	отр	отр	+	+	800	320
18	8	1600	1600	3200	358	отр	отр	отр	+	+	≥400	80
19	10	≥3200	51200	отр	321	отр	отр	отр	+	+	800	40
20	17	≥800	25600	800	321	отр	отр	отр	+	+	≥400	40
21	7	1600	1600	отр	323	отр	отр	отр	+	+	≥400	отр
22	8	3200	6400	отр	319	отр	отр	отр	отр	отр	200	отр
23	9	3200	6400	800	328	отр	отр	отр	+	+	800	80
24	4	отр	отр	отр	306	отр	отр	отр	+	+	400	40
	11	1600	3200	отр								
25	5	≥3200	51200	200	322	отр	отр	отр	+	+	200	80
26	9	1600	800	200	338	отр	отр	отр	+	+	200	40

Примечание. У больных №1-5, 9, 10, 12 наблюдалась нейроинвазивная форма ЛЗН, у остальных лихорадочная форма. 3200 - обратная величина титра антител; отр - отрицательный; +- - сомнительный; + - положительный результат при разведении сыворотки 1:100; н/о - сыворотка не обследована; Аст - Астрахань; Влг - Волгоград; Мск - Москва.

Титры IgM варьировали от 1:1600 до 51200. Средние геометрические титров IgM составляли 1:7233 с 3 по 8 дни после начала болезни, 1:9341 с 9 по 18 дни болезни, 1:7997 с 3 по 18 дни болезни (Таблица 22).

IgG антитела к вирусу ЗН в сыворотках крови, взятых с 1 по 8 (n=16) с 9 по 18 (n=11) дни болезни были выявлены соответственно в 4-х (25,0%) и 7-и (63,6%) пробах, в среднем в 40,7%. Титры IgG в положительных сыворотках

находились в пределах от 1:200 до 1:3200. Средние геометрические титров IgG составляли 1:673 с 3 по 8 дни после начала болезни, 1:800 с 9 по 18 дни болезни, 1:751 с 3 по 18 дни болезни (Таблица 23).

Таблица 22 - Титры специфических IgM у серопозитивных больных ЛЗН, обследованных в периоды с 1 по 8 и с 9 по 18 дни заболевания

Дни болезни	Число сывороток			Титры IgM						
	обследованных	положительных	отрицательных	1600*	3200	6400	12800	25600	51200	Средние геометрические титров
с 3 по 8	19	18	1	4	2	4	2	4	1	7233
с 9 по 18	11	11	0	1	2	2	3	2	1	9341
с 3 по 18	29	28	1	5	4	6	5	6	2	7997

* - обратная величина титра

Таблица 23 - Титры специфических IgG у серопозитивных больных ЛЗН, обследованных в периоды с 3 по 8 и с 9 по 18 дни заболевания

Дни болезни	Число сывороток			Титры IgG					Средние геометрические титров
	обследованных	положительных	отрицательных	200*	400	800	1600	3200	
с 3 по 8	16	4	12	1	1	1	-	1	673
с 9 по 18	11	7	7	1	-	4	2	-	800
с 3 по 18	27	11	16	2	1	5	2	1	751

* - обратная величина титров

В 2014 году при обследовании сывороток крови 26 реконвалесцентов, взятых через 243-358 дней после заболевания лихорадкой ЗН, специфические IgG антитела были обнаружены в 24 случаях (92,3%) в титрах от 1:200 до 1:3200 (среднее геометрическое титров - 1:476).

22 сыворотки из числа 24-х, обследованных в реакции нейтрализации (91,7%), содержали нейтрализующие антитела с диапазоном титров от 1:40 до 1:320 (среднее геометрическое титров - 1:88) (Таблицы 24, 25).

Таблица 24 - Титры специфических антител IgG у серопозитивных реконвалесцентов (n=24), перенесших лихорадку ЗН, через 243-358 дней от начала заболевания

Число IgG позитивных сывороток с титрами антител от 1:160 до 1:512 *					
1:200	1:400	1:>400	1:800	1:1600	1:3200
7	4	4	6	2	1

Таблица 25 - Титры нейтрализующих антител у серопозитивных реконвалесцентов (n=22), перенесших лихорадку ЗН, через 243-358 дней от начала заболевания

Число сывороток позитивных в реакции нейтрализации в разведениях от 1:40 до 1:320 *			
1:40	1:80	1:160	1:320
6	10	3	3

Полученные данные подтверждают факт продолжительной персистенции специфических IgG и нейтрализующих антител к вирусу ЗН и свидетельствуют о пригодности методов ИФА-IgG и реакции нейтрализации для проведения сероэпидемиологических исследований с целью выявления циркуляции вируса ЗН.

Результаты обследования сывороток 24 (92,3%) о 26 реконвалесцентов на IgM антитела к вирусу лихорадки ЗН оказались отрицательными. У реконвалесцентов №2 и 8, по данным лабораторий Астрахани и Москвы, наблюдались низкие титры IgM (1:400) при незначительных показателях оптической плотности сывороток (0,3-0,4) и отрицательных результатах обследования в Волгоградском ПЧИ. Результаты анализа сывороток реконвалесцентов № 5 и 7 были слабоположительными или сомнительными при постановке в Волгоградском ПЧИ и отрицательными при повторном обследовании в НИИ вирусологии. Специфические IgG антитела были обнаружены у 24 (92,3%) из 26 реконвалесцентов, вируснейтрализующие у 22 (91,7%) из 24.

Расхождение данных разных авторов о длительности персистенции специфических IgM у реконвалесцентов, перенесших ЛЗН, можно объяснить несколькими причинами:

1) использование неравнозначных по характеристиками ИФА-IgM тест-систем разных производителей;

2) отсутствием в большинстве из них контроля «позитивных» сывороток с нормальным антигеном (что может привести к учету ложноположительных результатов);

3) возможным занижением фирмами-производителями тест-систем пороговых уровней оптических плотностей, являющихся основой дифференциации положительных, сомнительных и отрицательных результатов обследования сывороток;

4) различиями в продолжительности сезона заболеваемости ЛЗН на территориях эндемичных стран, определяющими возможность повторного инфицирования в течение одного года;

5) различиями в числе обследованных больных ЛЗН с разными клиническими формами заболевания (нейроинфекционная, лихорадочная, иннапарнтная);

6) возможностью перекрестных реакций антигенов вируса ЛЗН с сыворотками, содержащими антитела к гетерологичным флавивирусам.

ГЛАВА 6. ВИРУСОЛОГИЧЕСКОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ ОТ БОЛЬНЫХ ОСТРЫМИ ЛИХОРАДЧНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ НЕЯСНОЙ ЭТИОЛОГИИ

В процессе выполнения данного раздела работы методом заражения новорожденных белых мышей, а в некоторых случаях культуры клеток Vero E6 с последующей инокуляцией нбм пробами культуральной жидкости инфицированных культур в 2012 - 2018 годах были использованы следующие материалы: сыворотки крови больных острыми лихорадочными заболеваниями, полученные из вирусологической лаборатории Астраханского ЦГиЭ и Астраханской областной инфекционной больницы им. А. М. Ничоги, пробы крови, слюны и мочи, полученные в 2010-2017 гг. из Инфекционной клинической больницы (ИКБ) №1 г. Москвы от лиц, госпитализированных после возвращения из поездок в тропические страны Южной, Юго-Восточной Азии, Южной Америки и Мексики. Все эти регионы являются эндемичными по лихорадке Западного Нила и другим этиологически и клинически сходным арбовирусным заболеваниям, диагностика которых невозможна без обследования пациентов методами специфической диагностики. Вирусологическое обследование больных подобными инфекциями является важным элементом расшифровки этиологии подобных случаев, последующего филогенетического анализа штаммов и их возможного использования для создания диагностических препаратов.

В процессе работы было обследовано 176 сывороток крови, 59 проб крови, 6 проб мочи и 2 пробы слюны, взятые от 235 больных с подозрением на арбовирусные инфекции (Таблица 26).

Таблица 26 - Распределение обследованных проб клинических материалов по территориям заболевания пациентов

Страны	Количество проб
Россия (Астраханская область)	Сыворотки крови - 176
Южная и Юго-Восточная Азия	
Таиланд	Кровь - 24
Индонезия	Кровь - 11
Вьетнам	Кровь - 4
Мальдивская республика	Кровь - 2
Республика Филиппины	Кровь - 1
Малайзия	Кровь - 1
Бангладеш	Кровь - 1 Моча - 1
Острова Карибского моря	
Доминиканская республика	Кровь - 8 Моча - 4 Слюна - 2
Антильские острова	Кровь - 1
Южная Америка	
Венесуэла	Кровь - 2
Кооперативная Республика Гайяна	Кровь - 1
Северная Америка	
Мексика	Кровь - 2 Моча - 1
Острова Тихого Океана (Океания)	
Республика Фиджи	Кровь - 1
Всего	243

6.1 Выделение и идентификация штаммов арбовирусов

Вирус денге 1, штамм Ш 2012. Пациент заболел и был госпитализирован 8.11.2010 г. в день возвращения из Таиланда. Проба крови, взятая на 2 сутки после начала заболевания, хранилась в течении двух лет при температуре -70°C. После первичного заражения семи нбм 4.12.2012 г. 3 из них заболели через 10 дней. На уровне 2-го пассажа на 7-й день после заражения заболели 10 из 10 инфицированных нбм. В поливалентной ИФА тест-системе титр антигена, приготовленного из мозговой ткани инфицированных мышей, составлял 1:3200.

В лаборатории молекулярной генетики штамм Ш 2012 был генотипирован как вирус денге 1 по участкам со 159 по 281 н.о. и депонирован в Госколлекцию вирусов под номером 1256/2.

Вирус ККГЛ, штамм Аст 133. Больной, житель села Ясан-Сокал Красноярского района Астраханской области, заболел 21.04.2012 г.. Госпитализирован в Областную инфекционную больницу им. А. М. Ничоги. Сывороткой крови, взятой у него на 6 день заболевания, 5.12.12 г. были заражены 9 нбм, 5 из которых заболели на 8-ой день. К третьему пассажу инкубационный период сократился до 5 дней. Активность антигена штамма Аст 133 (приготовленного из мозговой ткани инфицированных нбм) при испытании в ИФА-тест системе с иммуноглобулином к штамму Уз-148 вируса ККГЛ составляла 1:6400.

По результатам секвенирования полноразмерного генома штамма Аст 133 А. С. Климентовым установлена его принадлежность к генотипу Европа 1 вируса ККГЛ. Гомология по L сегменту с прототипным штаммом вируса ККГЛ «Дроздов» (Астрахань, 1967 г.) составляет 98,4%, со штаммом «Кашманов» (Ростов-на-Дону, 1967 г.) 98,7%; по M сегменту со штаммом «Дроздов» - 98,7%, со штаммом «Кашманов» 94,5%; по S сегменту со штаммом «Дроздов» - 98,4%, со штаммом «Кашманов» 98,7%. В сыворотке крови от 26.04.2012 в Астраханском ЦГиЭ обнаружены специфические IgM-антитела и РНК вируса ККГЛ. Штамм депонирован 16 апреля 2014 года в Государственную коллекцию вирусов под номером 1241/2.

Вирус денге 2, штамм З 2012. Больной был госпитализирован в ИКБ№1 г. Москвы в первый день болезни 17. 01.2012 г. после возвращения из Таиланда. Кровь была взята на вторые сутки. Через 7 и 8 дней после первичного заражения (6.12.2012 г.) заболели 7 из 12 инфицированных нбм, после первого пассажа 8 из 8-ми. Инкубационный период заболевания на уровне 1-го и 2-го пассажей составлял 7-8 дней.

В сыворотке крови больного, взятой на 5 день болезни, обнаружены IgM антитела к вирусам денге в титре более или равно 1:800.

Мозговой антиген штамма З 2012 при постановке методом ИФА с поливалентным иммуноглобулином, содержащим антитела ко всем четырем вирусам денге, реагировал в титре 1:3200. Штамм генотипирован в лаборатории молекулярной генетики как вирус денге 2 по участку от 400 до 2470 н.о. и депонирован в Госколлекцию вирусов 24 апреля 2017 года под номером 1255/2.

Вирус денге 2, штамм С 2012. Выделен из сыворотки крови, взятой у больной 22.11.2012 года на вторые сутки заболевания после возвращения из Индонезии и госпитализации в ИКБ №1 города Москвы 24 ноября 2011 года.

Через 11 дней после первичного заражения 6.12.2012 г. заболели все 11 инфицированных нбм. При первом пассаже инкубационный период сократился до 7 дней.

Мозговой антиген штамма С 2012 при постановке методом ИФА с поливалентным иммуноглобулином, содержащим антитела ко всем четырем вирусам денге, реагировал в титре 1:3200. Штамм был генотипирован А. Г. Прилиповым как вирус денге 2 по участкам со 159 по 281 н.о. В сыворотке крови, взятой 25.11.2011 г. обнаружены IgM антитела к вирусу денге в титре более 1: 800. Штамм депонирован в Госколлекцию вирусов 24 апреля 2017 года под номером 1254/2.

Вирус ККГЛ, штамм Аст 149. Выделен от больного, проживающего в селе Килинчи Приволжского района Астраханской области. Пробой сыворотки крови, взятой в Областной инфекционной клинической больнице им. А. М. Ничоги 05.05.2012 г. на (4-ый день после начала заболевания). 6.12.12 г. было заражено 12 нбм, 10 из которых заболели через 8 дней после заражения, а одна на 11-й день. При следующем пассаже заболело 3 нбм из 13 на 8 день. К 3-ему пассажи инкубационный период сократился до 6 дней.

Активность антигена штамма Аст 149, приготовленного из мозговой ткани инфицированных нбм, на уровне третьего пассажа при испытании в ИФА-тест системе с иммуноглобулином к референс-штамму Уз-148 вируса КГЛ составляла 1:12800. По результатам секвенирования генома штамма Аст 149 А.

С. Климентовым установлена его принадлежность к генотипу Европа 1 вируса КГЛ. Гомология по L сегменту с прототипным штаммом Дроздов (Астрахань, 1967 год) и штаммом Кашманов (Ростов-на-Дону, 1967 год) составляет соответственно 98,3 и 98,6%; по M сегменту 97,9 и 94,6%; по S сегменту 98,7 и 98,9%. В сыворотке крови от 05.05.2012 г. (4-й день болезни) в Астраханском ЦГиЭ методом ОТ-ПЦР обнаружена РНК вируса КГЛ, в пробе от 10.05.2012 г. (на 9 день болезни) - специфические IgM антитела. Штамм Аст 149 депонирован в Государственную коллекцию вирусов 16 апреля 2014 года под номером 1242/2.

Вирус ККГЛ, штамм Аст 199. Больная, проживающая в г. Астрахани, заболела 02.06.2012 года. Госпитализирована в Областную инфекционную клиническую больницу им. А. М. Ничоги. Сывороткой крови, взятой у нее 06.06. 2012 г. на 6-й день заболевания 6.12.12 г., было заражено 8 нбм. Все они заболели через 7-8 дней заражения. К третьему пассажу инкубационный период установился на уровне 5 дней.

Активность антигена штамма Аст 199 , приготовленного из мозговой ткани инфицированных нбм, при постановке в ИФА - тест системе с иммуноглобулином к штамму Уз-148 вируса ККГЛ составляла 1:12800. По результатам секвенирования вирусного генома А. С. Климентовым установлена принадлежность штамма Аст 199 к генотипу 1 вируса КГЛ. По результатам секвенирования его гомология по L сегменту со штаммом «Кашманов» (Астрахань, 1967 год) составляет 98%, со штаммом "Кашманов" (Ростов-на-Дону, 1968 год) 99%, по M сегменту со штаммом «Дроздов» 99%, по S сегменту со штаммом «Кашманов» 99%.

В сыворотке крови больного от 06.06.2012 г. (6-ой день заболевания) методом ОТ-ПЦР в Астраханском ЦГиЭ обнаружена РНК вируса КГЛ, в пробе от 14.06.2015 г. (на 8 день) специфические IgM антитела.

Штамм Аст 199 депонирован в Государственную коллекцию вирусов 16 апреля 2014 года под номером 1243/2.

Вирус ККГЛ, штамм Аст 137. Выделен из сыворотки крови больного - жителя поселка Комсомольский Красноярского района Астраханской области, взятой 28.06.2012 г. на 6 день заболевания в Областной инфекционной клинической больнице им. А. М. Ничоги. Из 4-х нбм, зараженных этой пробой 6.12.12 г., заболела одна нбм на 8 день. При последующем пассаже из 6 нбм три заболели на 7 день, 3 на 10-й день. Реизоляция штамма из исходного материала оказалась успешной.

Активность антигена штамма Аст 137, приготовленного из мозговой ткани инфицированных нбм, при испытании в ИФА-тест системе с иммуноглобулином к штамму УЗ-148 вируса КГЛ составляла 1:6400. По результатам секвенирования генома установлена принадлежность Аст 137 к генотипу Европа 1 вируса ККГЛ. Его гомология по L сегменту с прототипным штаммом «Дроздов» (Астрахань, 1967 год) и штаммом «Кашманов» (Ростов-на-Дону, 1967 год) составляет соответственно 98,3 и 98,6%; по M сегменту - соответственно 97,9 и 94,4%; по S сегменту - 98,8 и 99,0% (А. С. Климентов). В сыворотке крови больного, взятой 3 мая 2012 года (на 12-й день заболевания), в Астраханском ЦГиЭ обнаружены специфические IgM антитела к вирусу КГЛ при отсутствии их на 6-й день заболевания. В обеих пробах методом ОТ-ПЦР выявлена специфическая вирусная РНК.

Вирус Западного Нила, штамм Аст 212. Больная, проживающая в г. Астрахани, заболела 23.08.2013 г. Госпитализирована в Областную инфекционную больницу им. А. М. Ничоги с предварительным диагнозом «вирусная инфекция неясной этиологии». Сывороткой крови, взятой на 3-й день болезни 22.11.13 года были заражены 9 нбм. Все они заболели в период с 6 по 10 дни после инокуляции. На уровне 1-го и 2-го пассажей инкубационный период заболевания сократился до 3-х дней. Реизоляция штамма из исходной пробы сыворотки оказалась успешной. Активность антигена штамма Аст 212, приготовленного из мозговой ткани инфицированных нбм, при испытании в ИФА-тест системе с иммуноглобулином к штамму 986 вируса Западного Нила составляла 1:16000.

По результатам анализа участка РНК штамма Аст 212 протяженностью 10309 нуклеотидов (94% полногеномной последовательности), А. С. Климентовым установлена его принадлежность к генотипу 1а вируса Западного Нила. Гомология Аст 212 с двумя астраханскими штаммами (Аст 901 и Аст 986), выделенными в 1999 и 2000 годах так же из крови больных людей, составляет 99%. Штамм Аст 212 депонирован 14 апреля 2014 года в Государственную коллекцию вирусов под номером 1240/2.

Вирус денге 1, штамм M2013. Больной прибыл в Москву из Таиланда, заболел 27.03.2013 г., 28.03 госпитализирован в ИКБ №1 г. Москвы. На третий день взята кровь для вирусологического обследования. После первичного заражения 26.06.2013 г. из 9 нбм 6 заболели на 9 день, 3 на 12-й день. При первом пассаже все 11 нбм заболели через 11-13 дни после инфицирования. Инкубационный период на уровне 2-го пассажа составлял 11 дней. При постановке методом ИФА титр антигена штамма М 2013 с поливалентным иммуноглобулином, содержащим антитела ко всем четырем вирусам денге, составлял 1:3200.

В сыворотке крови пациента, взятой на 7 день заболевания, методом ИФА обнаружены IgM антитела к вирусу денге в титре более 1: 800.

В результате секвенирования полноразмерного генома штамма М 2013 С. В. Альховским установлена его принадлежность к прототипному вирусу денге 1 и 99% идентичность со штаммами денге 1, изолированными в Юго-Восточной Азии (Тайланд, Сингапур, Япония). Штамм депонирован в Госколлекцию вирусов 24 апреля 2017 года под номером 1257/2.

Вирус денге 2, штамм Gai 2017. Пациент заболел 28.10.2016 г. после возвращения из Индонезии, госпитализирован в ИКБ №1 города Москвы с диагнозом лихорадка неясной этиологии. Кровь была взята на 4 день после начала болезни. После первичного заражения 20.02.2017 г. пробой крови больного, взятой на 2 день болезни, 4 из 8 нбм заболели на 9 и 11 дни. К третьему пассажу инкубационный период сократился до 6 дней. При обследовании сыворотки крови от 31.10.2017 г. обнаружены IgM к вирусам

денге в титре 1:200. По данным лаборатории механизмов популяционной изменчивости патогенных микроорганизмов установлена принадлежность штамма Gai 2017 к вирусу денге 2.

Вирус денге 1, штамм RST 2017. Пациент заболел 10. 01. 2017 г. после посещения Таиланда. Был госпитализирован в ИКБ №1 города Москвы. Кровью, взятой на второй день болезни, 20.02.17 г. были заражены 10 нбм, шесть из которых заболели через 8-10 дней. К 3-ему пассажу инкубационный период сократился до 7 дней. В сыворотке крови, взятой на 10 день после начала болезни, IgM к вирусам денге выявлялись в титре более 1:800. По данным лаборатории механизмов популяционной изменчивости патогенных микроорганизмов штамм RST 2017 идентифицирован как вирус денге 1.

Вирус Зика, штамм Z2017. Пациентка заболела 25. 08. 2016 г. после возвращения в Москву из Доминиканской республики, госпитализирована в ИКБ №1 г. Москвы. Срок беременности составлял 20 недель. Кровь для вирусологического обследования была взята на 5 день болезни. После первичного заражения 22.02.2017 г. все 10 нбм заболели через 12 дней. На уровне 1-4 пассажей инкубационный период заболевания составил 9-15 дней, на 5 пассаже 7-11 дней, на 7-ом пассаже 8 дней, на 8-9 пассажах 5-7 дней при 100% летальности. По результатам ОТ-ПЦР (Л. С. Карань, Центральный НИИ Эпидемиологии, Москва) в исходной пробе крови больной, использованной для заражения нбм, обнаружена РНК вируса Зика. Методом ИФА в сыворотках крови, взятых на 5 и 14 дни заболевания были обнаружены IgM антитела к вирусу Зика в титрах соответственно 1:1600 и 1:6400 при отсутствии IgG в первой пробе. Результаты серологического обследования через 4,5 месяца после начала заболевания: на IgM отрицательный, на IgG 1:1600. В пуповинной крови ребенка, родившегося в январе 2017 года, выявлены специфические IgG (1:1600) при отсутствии IgM. Полноразмерный геном штамма Z 2017 (азиатский генотипа вируса Зика), секвенированный в лаборатории молекулярной генетики, депонирован в ГенБанке под номером MF 664436.

Вирус Зика, штамм EG 2017. Больной находился в Доминиканской республике в августе 2016 года. Заболел 21 августа после возвращения в Москву. Госпитализирован в ИКБ №1 г. Москвы. Пробы мочи и слюны для вирусологического обследования были взяты на 6 день болезни. Результаты заражения нбм (06.03.17 г.) этими материалами оказались отрицательными. В культуре клеток Vero E6 после заражения пробой слюны больного EG наблюдался выраженный цитопатогенный эффект. Пробой культуральной жидкости 6.04.2017 г. были заражены 14 нбм, 11 из которых заболели через 8, 11, 12 и 15 дней. Инкубационный период заболевания на уровне 2-го пассажа составлял 9-15 дней (заболели 8 из 11 инфицированных нбм), на уровне 7-го пассажа - 6-8 дней (заболели все 9 нбм). По данным ОТ-ПЦР с использованием набора реагентов « Амплисенс Zika-virus - Fe» Л. С. Карань (Центральный НИИ эпидемиологии, г. Москва) установлено наличие РНК вируса Зика в пробах крови, мочи и слюны, которыми были заражены нбм. В результате обследования методом ОТ-ПЦР культуральной жидкости клеток VERO E6, зараженных слюной больного EG, так же обнаружена высокая концентрация РНК азиатского генотипа вируса Зика (А. Г. Прилипов). В сыворотках крови пациента, взятых на 6 и 11 дни заболевания выявлены специфические IgM (в титрах 1:3200 и 1:12800 соответственно) и IgG (1:6400 и 1:6400) к вирусу Зика. Результаты обследования через 4,5 месяца после начала заболевания : на IgM - отрицательный, на IgG - 1:6400.

Вирус денге 3, штамм GR 2016. Пациент заболел 24.11.16 г. после возвращения из поездки на Филиппины. Госпитализирован в ИКБ № 1 г.Москвы. Кровь для вирусологического обследования была взята на 2 день болезни. После первичного заражения 14.07.17 г. заболели все 14 нбм в период с 8 по 11 день. На уровне 4-го пассажа инкубационный период сократился до 7-9 дней. При обследовании сыворотки крови на 2-ой день заболевания IgM антитела к вирусам денге отсутствовали. Вирус был генотипирован в лаборатории молекулярной генетики как денге 3 по участку от 400 до 2470 н.о.

Вирус Чикунгунья, штамм МТ 2018. Пациентка прибыла из Индонезии 18.02.17 г. Заболела 21.02.17 г. Госпитализирована в ИКБ № 1 г. Москвы с диагнозом ОРВИ и укусом обезьяны в анамнезе. Кровью, взятой на 8 день после начала заболевания, 26.01.18 г. было заражено 13 нбм. Семь из них заболели в период с 4 по 10 день после инфицирования. К третьему пассажиру инкубационный период сократился до 3-х дней, летальность составляла 100%. В лаборатории механизмов популяционной изменчивости патогенных микроорганизмов установлена принадлежность штамма МТ 2017 к азиатскому генотипу вируса Чикунгунья.

Вирус ККГЛ, штамм Аст 89. Житель Камызякского района Астраханской области заболел 26.05.2017 г. Был госпитализирован в Областную инфекционную клиническую больницу имени А. М. Ничоги. Пробой крови, взятой на 7 день болезни, были заражены 29.03.2018 г. 14 нбм, все из которых заболели через 8-11 дней. При последующих трех пассажах инкубационный период заболевания сократился до 6 дней. В вирусологической лаборатории ЦГиЭ Астраханской области в сыворотке крови этого пациента были обнаружены IgM антитела к вирусу ККГЛ.

В лаборатории механизмов популяционной изменчивости патогенных микроорганизмов штамм был идентифицирован как генотип Европа 1 вируса ККГЛ, наиболее близкий трем другим астраханским штаммам, выделенным от больных ККГЛ в предыдущие годы.

Вирус ККГЛ, штамм Аст 93. Житель Красноярского района Астраханской области заболел 02.06.2017 г. Был госпитализирован в Областную инфекционную клиническую больницу имени А. М. Ничоги. После заражения 29.03.2018 г. пробой сыворотки крови больного, взятой на 7 день болезни, через 8 -11 дней заболели 9 из 9 зараженных нбм. При последующих трех пассажах инкубационный период заболевания сократился до 6 дней. В вирусологической лаборатории ЦГиЭ Астраханской области в сыворотке крови этого пациента были обнаружены IgM антитела к вирусу ККГЛ.

В лаборатории механизмов популяционной изменчивости патогенных микроорганизмов штамм был генотипирован как генотип Европа 1 вируса ККГЛ, наиболее близкий трем другим астраханским штаммам, выделенным от больных ККГЛ в предыдущие годы.

Вирус денге 1, штамм FED2018. Пациент заболел 31.05.2017 г. после возвращения из Таиланда. В этот же день поступил в ИКБ № 1 г.Москвы с предварительным диагнозом лихорадка неясной этиологии. 31 мая была взята кровь для вирусологического обследования. Через 10 дней после первичного заражения 13.04.2018 г. заболели все 11 инфицированных нбм. В сыворотке крови пациента итР IgM к вирусам денге на 7 день болезни составлял 1:800. Сотрудниками лаборатории механизмов популяционной изменчивости патогенных микроорганизмов по данным секвенирования генома штамм FED 2017 идентифицирован как вирус денге 1.

Вирус денге 1, штамм KON 2018. Пациентка прибыла в Москву из Таиланда. Заболела 29.07.2017 г. Госпитализирована в ИКБ № 1 г. Москвы 31 июля. После заражения 13.04.2018 г. кровью больной, взятой на 3 день заболевания, все 7 инфицированных нбм заболели на 10 день. В лаборатории механизмов популяционной изменчивости патогенных микроорганизмов по данным секвенирования генома установлена принадлежность штамма KON 2017 к вирусу денге 1.

Вирус денге 2, штамм POP 2018. Пациент заболел 20.05.2017 года после возвращения из Таиланда, 21.05.17 г. был госпитализирован в ИКБ № 1 г. Москвы. После заражения 16.04.18 г. кровью, взятой на 2 день болезни, через 9-12 дней заболели все 12 инфицированных нбм, при первом пассаже на 8 день - 7 из семи нбм. В лаборатории механизмов популяционной изменчивости патогенных микроорганизмов штамм был генотипирован как вирус денге 2.

Вирус денге 1, штамм LV 2018. Пациентка заболела 22.03.2017 г. после возвращения из Таиланда. Находилась на стационарном лечении в ИКБ №1 г. Москвы 26 и 27 марта. Кровью, взятой на 5 день болезни, 18.04.2018 г. были заражены 14 нбм, 2 из которых заболели на 7 день после инокуляции. В тот же

день при обследовании методом ИФА у больной обнаружены IgM антитела к вирусам денге в титре 1:100. В лаборатории механизмов популяционной изменчивости патогенных микроорганизмов при секвенировании генома штамма LV2017 установлена его принадлежность к вирусу денге 1.

Вирус денге 1, штамм ZN 2018. После возвращения в Москву из Таиланда заболела 29.03.2017 г. Госпитализирована в ИКБ № 1 г. Москвы 30.03.17 г. с предварительным диагнозом лихорадка денге. Пробой крови, взятой на 2 день болезни 18.04.2018 г., были заражены 10 нбм, 4 из которых заболели через 10 дней. При следующем пассаже на 8 день заболели все 13 инфицированных нбм.

По данным секвенирования генома штамм ZN 2017, выполненного в лаборатории механизмов популяционной изменчивости патогенных микроорганизмов штамм ZN 2017 был идентифицирован как вирус денге 1.

Вирус денге 2, штамм DM 2018. Больная прибыла в Москву из Таиланда. Заболела 21.05.2018 г. Госпитализирована в ИКБ № 1 г.Москвы с диагнозом лихорадка неясной этиологии. Кровью, взятой на 3 день болезни 01.06.2018 г. было заражено 9 нбм, одна из которых заболела на 9 день. При первом пассаже через 6 - 9 дней заболели все 11 из 11 зараженных нбм. В третьем пассаже заболели 13 нбм на 7 день после инокуляции. В лаборатории механизмов популяционной изменчивости патогенных микроорганизмов штамм был генотипирован как вирус денге 2.

Вирус денге 2, штамм BG 2018. Пациентка заболела 13.03.2017 г. после возвращения с Мальдивских островов. Госпитализирована в ИКБ № 1 г.Москвы 14.03.2017 г. с диагнозом острая респираторная вирусная инфекция (ОРВИ). Пробой крови, взятой на 2 день болезни, 13.06.18. было заражено 12 нбм, 2 их которых заболели через 4 дня. При первом пассаже на 4 день умерли 3 нбм из 5 зараженных. В сыворотке крови, взятой на 10 день болезни, обнаружены IgM антитела к вирусам денге в титре более 1:800. В лаборатории механизмов популяционной изменчивости патогенных микроорганизмов штамм BG 2017 генотипирован как вирус денге 2.

Вирус денге 1, штамм YN2018. Пациентка заболела 21.05.2018 г. после возвращения из Вьетнама. Госпитализирована в ИКБ № 1 г.Москвы 26.05.2018 г. с диагнозом лихорадка неясной этиологии. Пробой крови, взятой на 5 день болезни 22.06.18 было заражено 9 нбм, 2 из которых заболели через 14 дней, при первом пассаже 5 из 14 нбм заболели на 12 день. При обследовании сыворотки крови больной от 30.05.2018 г. обнаружены IgM антитела к вирусам денге в титре более 1:800.

В результате исследований, выполненных в лаборатории механизмов популяционной изменчивости патогенных микроорганизмов, штамм YN2018 был генотипирован как вирус денге 1

Вирус денге 2, штамм NK 2018. Пациент заболел после возвращения из Таиланда 01.06.2018 г. 02.06.2018 г. госпитализирован в ИКБ № 1 г.Москвы с предварительным диагнозом лихорадка неясной этиологии. Пробой крови, взятой на 2 день болезни 22.06.2018 г., были заражены 11 нбм, 2 из которых заболели через 11 дней. В сыворотке крови пациента от 07.06.2018 г. обнаружены IgM антитела к вирусу денге в титре более 1:800. В лаборатории механизмов популяционной изменчивости патогенных микроорганизмов штамм генотипирован как вирус денге 2.

Вирус денге 2, штамм ST 2018. Пациент заболел 17.06.2018 г., 19.06.18 госпитализирован в ИКБ № 1 г. Москвы с предварительным диагнозом ОРВИ. Пробой крови, взятой на 3 день болезни 22.06.2018 г. были заражены 14 нбм, 12 из которых заболели через 5-7 дней. В сыворотке крови от 25.06.18 (на 9-ый день болезни) методом ИФА обнаружены IgM антитела к вирусу денге в титре более 1:800. В лаборатории механизмов популяционной изменчивости патогенных микроорганизмов штамм был генотипирован как вирус денге 2.

Заключение. В течение 7 лет (с 2012 по 2018 гг.) методом заражения нбм было обследовано 243 клинические пробы от 235 больных с подозрением на арбовирусные инфекции: 176 сывороток крови было получено из Астраханской области, 24 пробы крови от лиц, возвратившихся с отдыха из Таиланда, 11 проб крови из Индонезии, 4 пробы крови из Вьетнама, 2 пробы крови из

Мальдивской республики, 1 проба крови из Республики Филиппины, 1 проба крови из Малайзии, 1 проба крови и 1 проба мочи из Бангладеша, 8 проб крови, 4 пробы мочи, 2 пробы слюны из Доминиканской республики, 1 проба крови с Антильских островов, 2 пробы крови из Венесуэлы, 1 проба крови из Кооперативной Республики Гайяна, 2 пробы крови и 1 проба мочи из Мексики и 1 проба крови из Республики Фиджи. Все перечисленные регионы и страны являются эндемичными по ЛЗН и другим эпидемиологически значимым заболеваниям, передающимися комарами. В результате проведенной работы было выделено 27 штаммов арбовирусов (11,1% от числа обследованных проб), в том числе 6 штаммов вируса ККГЛ (генотип Европа 1) и 1 штамм вируса ЗН (генотип 1a) от больных-жителей Астраханской области, 8 штаммов вируса денге 1, 8 штаммов вируса денге 2, 1 штамм вируса денге 3, 2 штамма вирус Зика (азиатского генотипа), 1 штамм вируса Чикунгунья (азиатского генотипа) от больных, побывавших в тропических странах, где наряду с эпидемиями и эпидемическими вспышками лихорадок денге, Зика и Чикунгунья регистрируются спорадические случаи ЛЗН, однако, отрицательные результаты нашего исследования, очевидно, свидетельствуют о низкой активности циркуляции вируса ЗН в тропических регионах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Актуальность проблемы арбовирусных инфекций определяется их глобальным распространением, масштабами эпидемий и эпизоотий, тяжестью клинических проявлений, высокой летальностью, отсутствием этиотропных средств лечения, ограниченным ассортиментом имеющихся вакцин и диагностических тест-систем, открытием новых патогенных агентов и ассоциированных с ними неизвестных нозологических форм заболеваний. Особое внимание в настоящее время привлекает процесс распространения многих арбовирусов на неэндемичные территории мира в результате их интродукции из эндемичных регионов.

Ареал вируса ЗН, по сравнению с прочими арбовирусами, не имеет аналогов и охватывает Африку, эндемичные регионы Европы, Центральную, Южную, Юго-Восточную Азию, Ближний Восток, Океанию, Австралию, большую часть территории США, южные провинции Канады, Центральную и Южную Америку. При различных эпидемических вспышках и эпидемиях показатели летальности при ЛЗН варьировали от 4 до 14%.

Вирус ЗН впервые в СССР был выделен из преимаго клещей *Nyalomma marginatum*, собранных в 1963 г. в Астраханской области. В 1967 г. в результате вирусологического и серологического обследования больных острыми лихорадочными заболеваниями было верифицировано 11 случаев ЛЗН. В 1999 г. первая эпидемическая вспышка ЛЗН наблюдались в южном регионе Европейской части России, где было зарегистрировано 560 лабораторно подтвержденных случаев. Следующая значительная вспышка была зарегистрирована в 2010 году. В 2000 г. случаи ЛЗН были выявлены в Ростовской области, затем в Воронежской и Саратовской, в 2012 г. Липецкой, Самарской и Белгородской и Тульской областях.

Актуальное значение приобрели исследования, направленные на мониторинг циркуляции вируса ЗН в эндемичных регионах страны и

сопредельных территориях с целью определения современного ареала этой инфекции.

При выполнении диссертации предусматривалась необходимость решения ряда методологических аспектов, важных для интерпретации результатов серологических исследований. Первый связан с наличием перекрестных антигенных связей, выявляемых между родственными флавивирусами. По этой причине, сыворотки жителей регионов, эндемичных по клещевому энцефалиту (в случае положительных результатов ИФА-IgG с антигеном вируса ЗН) были обследованы параллельно методом ИФА-IgG с антигенами вирусов ЗН и клещевого энцефалита, а также в реакции нейтрализации для определения специфичности антител. Второй аспект заключался в необходимости изучения персистенции специфических IgM, IgG и нейтрализующих антител у больных ЛЗН и реконвалесцентов, перенесших это заболевание, с целью определения пригодности этих методов ИФА для выявления ранних и анамнестических антител к вирусу ЗН.

Представлялось целесообразным проведение вирусологического обследования клинических материалов, собранных от больных лихорадочными заболеваниями неясной этиологии в Астраханской области и пациентов, возвратившихся в Москву из эндемичных по ЛЗН регионов мира для получения дополнительной информации об ареале вируса ЗН, выявления эпидемиологической активности других арбовирусных агентов, идентификации и филогенетического анализа выделенных штаммов.

Впервые с применением трех альтернативных методов (ИФА-IgG, ИФА-IgM и реакции нейтрализации) проведены широкие (включающие 6341 сывороток крови доноров) серологические исследования, направленные на изучение циркуляции вируса ЗН в Европейской части России общей площадью 907,3 км² с населением более 49 млн. человек. Полученные данные в сочетании со статистикой заболеваемости свидетельствуют об активности очагов ЛЗН в Южном, Северо-Кавказском, Приволжском (Саратовская область) и Центральном округах ((лесостепная зона) и Тульская область (зона лиственных

лесов). Результаты обследования сывороток доноров из Калужской, Рязанской, Тверской, Вологодской областей и Татарстана оказались отрицательными. Установлено, что современная северная граница ареала вируса Западного Нила находится, на широте Тульской области, где впервые в результате серологического обследования 132 больных острыми сезонными лихорадочными заболеваниями впервые были верифицированы 4 случая ЛЗН.

Подтвержден факт отсутствия специфических IgM антител у реконвалесцентов, обследованных через 243-358 дней после начала заболевания ЛЗН, при сохранении IgG антител в 88,5% случаев и нейтрализующих антител в 91,7%. Эти данные подтверждают адекватность принятых в РФ критериев и тактики серологической диагностики ЛЗН, основанной на применении метода ИФА-IgM и целесообразность параллельного применения методов ИФА-IgG и реакции нейтрализации для проведения сероэпидемиологических исследований.

В результате обследования клинических материалов, собранных от лихорадящих больных в Астраханской области и пациентов, возвратившихся в Москву из тропических стран, эндемичных по ЛЗН, был выделен и идентифицирован один штамм вируса ЗН, 6 штаммов вируса ККГЛ, 17 штаммов вируса денге, 2 штамма вируса Зика и один штамм вируса Чикунгунья. Отрицательные результаты выделения вируса ЗН от больных, заразившихся в тропических странах, свидетельствуют о низкой активности его циркуляции в этих регионах.

Данные по идентификации штаммов вирусов денге, выделенных от больных, инфицированных в странах Юго-Восточной Азии, указывают на доминирующую циркуляцию вирусов денге 1 и 2, что совпадает с результатами зарубежных исследований. Выделение шести штаммов вируса ККГЛ генотипа Европа 1 и штамма вируса Западного Нила генотипа 1a подтверждают факт стабильности генетических популяций этих вирусов в Астраханской области на протяжении пятидесяти с лишним лет.

ВЫВОДЫ

1. Результаты проведенных сероэпидемиологических исследований свидетельствуют об активности очагов ЛЗН в Южном федеральном округе (Краснодарский край и Астраханская область), Приволжском округе (Саратовская область) и Центральном округе ((лесостепная зона) и Тульская область (зона лиственных лесов), что коррелирует с показателями заболеваемости ЛЗН и указывают на расширение очагов этой инфекции на территории Европейской части России. Наиболее активные и стабильные очаги ЛЗН расположены в Астраханской, Волгоградской, Ростовской областях и Краснодарском крае.

2. С использованием методов ИФА-IgM, ИФА-IgG и реакции нейтрализации 4 случая ЛЗН были впервые верифицированы в Тульской области. Тем самым установлена современная северная граница ареала этой инфекции в Российской Федерации. Не получено доказательств циркуляции вируса ЗН в Калужской, Рязанской, Московской, Тверской, Вологодской, Ульяновской областях и Республике Татарстан.

3. Учитывая наличие перекрестных антигенных связей между вирусами ЗН и клещевого энцефалита, выявляемых методом ИФА-IgG, сыворотки жителей регионов, эндемичных по клещевому энцефалиту, необходимо параллельно обследовать на антитела к этим вирусам как в ИФА-IgG, так и в реакции нейтрализации с целью корректной интерпретации результатов.

4. Специфические IgM антитела, присутствующие в сыворотках крови у всех обследованных больных ЛЗН на 3-18 дни заболевания, не обнаруживаются в период поздней реконвалесценции при сохранении IgG и нейтрализующих антител, что подтверждает пригодность методов ИФА-IgM для экспресс-диагностики ЛЗН в ранний период болезни, а ИФА-IgG и реакции нейтрализации для проведения сероэпидемиологических исследований.

5. В результате вирусологического обследования клинических материалов от больных острыми лихорадочными заболеваниями с целью получения

дополнительной информации о распространении вируса ЗН был выделен 1 штамм вируса ЗН, 6 штаммов вируса ККГЛ (Астраханская область), 17 штаммов вирусов денге, 1 штамм вируса Чикунгунья, 2 штамма вируса Зика от пациентов, возвратившихся в Москву после посещения тропических стран, где регистрируются спорадические случаи ЛЗН. Эти данные подтверждают сведения о низкой активности циркуляции вируса ЗН в тропических регионах Южной Америки и Юго-Восточной Азии. Результаты идентификации штаммов вирусов денге указывают на доминирующую циркуляцию вирусов денге 1 и 2 в странах Юго-Восточной Азии. Выделение штаммов вирусов ККГЛ генотипа Европа 1 и ЗН генотипа 1a свидетельствуют о стабильности генетических популяций этих вирусов в Астраханской области на протяжении пятидесяти с лишним лет.

Список сокращений

АД - артериальное давление

БСА - бычий сывороточный альбумин

Вирус ЗН – вирус Западного Нила

ГЛПС - геморрагическая лихорадка с почечным синдромом

ДИ - доверительный интервал

ИАЖ - иммунная асцитная жидкость

ИФА (ELISA) - иммуно-ферментный анализ

К+ - положительный контроль

К- - отрицательный контроль

КББ - карбонатно-бикарбонатный буфер

ККГЛ - Крымская-Конго геморрагическая лихорадка.

КЭ - клещевой энцефалит

ЛЗН - лихорадка Западного Нила

МФА - метод флуоресцирующих антител

нбм - новорожденная белая мышь

ОРВИ - острая респираторная вирусная инфекция

ОТ-ПЦР - полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией

ПЦР - полимеразная цепная реакция

РМАЛ - реакция микроагглютинации

РН - реакция нейтрализации

РНК - рибонуклеиновая кислота

САА - сахарозо-ацетоновый антиген

СМЖ - спинно-мозговая жидкость

УЗИ - ультразвуковое исследование

ФБР-т - фосфатно-буферный раствор с твин-20

ФСБ - фосфатно-солевой буфер

ЦПД – цитопатическое действие

ЦНС - центральная нервная система

ЧСС - частота сердечных сокращений

ЭКГ - электро-кардиограмма

ЭОС - электрическая ось сердца

IgG - иммуноглобулины класса G

IgM - иммуноглобулины класса M

MAC-ELISA - метод захвата IgM в ИФА

Список литературы

1. Айдинов Т. Г. Лабораторная диагностика природно-очаговых вирусных инфекций в Ростовской области / Айдинов Т. Г., Швагер М. М., Говорухина М. В., Мазрухо Т. В., Зыкова Т. А., Асмолова Н. Ю. Кудря Е. В., Рыжков В. Ю. // Матер. расш. пленума пробл. комис. «Арбовирусы» и науч.-практич. конф. «Арбовирусы и арбовирусные инфекции», Астрахань, 17-20 октября 2006, - Москва, 2007. - С. 122-124.
2. Брок Й. Приготовление конъюгированных антигенов / Под редакцией Г. Фримеля // Иммунологические методы. - Москва: Медицина, 1987. - С. 427-442.
3. Брудный Р. А. Распространение арбовирусов и вируса ГЛПС в Краснодарском крае / Брудный Р. А., О. М. Пиликова, Ю. В. Рубахова, Д. К. Львов // Сб. научн. трудов: вопросы риккетсиологии и вирусологии. - Астраханская государственная медицинской академии. - Астрахань, 1996. - С. 68-83.
4. Бутенко А. М. Выделение вируса лихорадки Западного Нила из клещей *Hyalomma plumbeum plumbeum* Panz. в Астраханской области и изучение его свойств: дисс. ... канд. биол. наук. - Москва, 1966.
5. Бутенко А. М. Лихорадка Западного Нила // РЭТ инфо. - 2004. - №2. - С. 45.
6. Бутенко А. М. Современное состояние проблемы Крымской геморрагической лихорадки, лихорадки Западного Нила и других арбовирусных инфекций в РФ // В кн.: Материалы научной конференции: Изучение эволюции вирусов в рамках проблем биобезопасности и социально значимых инфекций, Москва, 24 февраля 2011. - Москва, 2011. - С. 175-189
7. Бутенко А. М. Лихорадка Западного Нила / Бутенко А. М., Е. В. Лещинская, Д. К. Львов // В кн. «Эволюция инфекционных болезней в XX веке». - Москва: Медицина, 2003. - С. 404-411.
8. Бутенко А. М. Лихорадка Западного Нила в Тульской области / Бутенко А. М., Козлова А. А., Ларичев В. Ф., Дзагурова Т. К., Пантюхова Р. А.,

Важенкова Н. С., Карлова В. М., Василькова О. И. // Эпидемиология и инфекционные болезни. - Москва: Медицина, 2014. - №2. - С. 20-25.

9. Бутенко А. М. Актуальные вопросы изучения лихорадки Западного Нила, лихорадки денге и других завозных тропических арбовирусных инфекций в Российской Федерации/ Научн. конф. Проблемной комиссии «Арбовирусы и другие вирусы зоонозов». Эпидемиология и инфекционные болезни. - Москва: Медицина, 2014. - №3. - С. 58-61.

10. Бутенко А. М. Новые данные об изучении инфекции Западного Нила в СССР (в Астраханской области) / Бутенко А. М., Чумаков М. П., Башкирцев В. Н., Ткаченко Е. А., Рубин С. Г., Столбов Д. Н. // Матер. XV научн. сессии Института полиомиелита и вирусных энцефалитов 21-25 октября 1968 года. Выпуск 3. Клещевой энцефалит, геморрагические лихорадки и комариные арбовирусные инфекции. - Москва, 1968. - С. 68-69.

11. Бутеса Б. К. Неврологические проявления лихорадки Западного Нила в Закарпатской области Украинской ССР / Бутеса Б. К., Тирак Я. А., Король М. Я., Игнатович И. И., Витвитский А. А. // Журнал неврологии и психиатрии. - Москва, 1989. - №89. - С. 29-30.

12. Василенко Н.Ф. Распространение арбовирусов на территории Ставропольского края / Василенко Н. Ф., Байер А. П., Чумакова И. В. и соавт. // Матер. расш. пленума пробл. комис. «Арбовирусы» и науч.-практиче. конф. «Арбовирусы и арбовирусные инфекции», Астрахань, 17-20 октября 2006, - Москва, 2007. - С. 165-168.

13. Воинов И. Н. Арбовирусные инфекции в Белоруссии / Воинов И. Н., Рытик П. Г., Григорьев А. М. и соавт. // Тезисы конф. Вирусы и вирусные инфекции человека. - Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов, Москва, 1981. - С. 86-87.

14. Гайдамович С. Я. Выделение арбовирусов из группы А и Б в Азербайджане / Гайдамович С. Я., Никифорова Л. П., Громашевский В. Л. и соавт. // Матер. 15-й науч. сессия ИПВЭ АМН СССР. – Москва. – 1968. – Вып.3. – С. 165.

15. Гайдамович С.Я. Выделение вируса Западного Нила от черных дроздов и поползней / Гайдамович С.Я., Никифоров Л.П., Червонский В.И. и соавт. // В кн.: Тез. докл. 5-го симпозиума по изучению роли перелетных птиц в распространении арбовирусов. - Новосибирск, 1969. - С.26-26.

16. Клименко И. С. Молекулярно-биологическая и вирусологическая характеристика вирусов москитных лихорадок и создание тест-систем для диагностики этих инфекций: дисс. ... канд. биол.наук. - Москва, 2009. - С. 45-48.

17. Колобухина Л. В. Лихорадка Западного Нила / Колобухина Л. В., Львов Д. К. // Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных / под ред. Д.К. Львова. - М.: ООО «Издательство «Медицинское информационное агенство», 2013. - С. 721-730.

18. Ларичев В. Ф. Показатели специфических антител у реконвалесцентов, перенесших лихорадку Западного Нила / Ларичев В. Ф., Бутенко А. М., Русакова Н. В., Шишкина Л. В., Жуков А. Н., Шишкина Е. О., Львов Д. К. // Вопросы вирусологии. -Москва: Медицина, 2002. -№47. - Iss. 6. - С. 11-13.

19. Лещинская Е. В. Клиническая картина лихорадки Западного Нила в Астраханской области / Лещинская Е. В., Башкирцев В. Н., Богомолов Б. П. Шатилова Н. Н., Мартыненко И. Н., Корнилова А. А. и соавт. // В кн.: Материалы научной сессии Института полиомиелита и вирусных энцефалитов АМН СССР/ под ред. Чумакова М. П. - М.; 1968. - № 3. - С. 228-230.

20. Локтев В. Б.. Флавивирuсы как новые и возвращающиеся патогенны. Матер. расш. пленума пробл. комис. «Арбовирусы» и науч.-практич. конф. «Арбовирусы и арбовирусные инфекции», Астрахань, 17-20 октября 2006, - Москва, 2007. - С. 14-24.

21. Львов Д. К. Лихорадка Западного Нила. Вопросы вирусологии. - Москва, 2000. – №2. – С.4-9.

22. Львов Д.К. Выделение вируса лихорадки ЗН от больных людей в период эпидемической вспышки в Волгоградской и Астраханской областях/

Львов Д.К., Бутенко А.М., Вышемирский О.И. и соавт. // Вопросы вирусологии. – Москва, 2000. – № 3. – С. 9-12.

23. Львов Д. К. Атлас распространения природно-очаговых вирусных инфекций на территории Российской Федерации / Львов Д. К., Дерябин П. Г., Аристова В. А., Бутенко А.М., Галкина И.В. и соавт.// НПГ ТМГ МЗ РФ, Москва, 2001. - С. 192.

24. Львов Д. К. Флавивиролы / Львов Д. К. Дерябин П. Г., Альховский С. В.//Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных. – М.: Медицинское информационное агенство. – 2013. – С. 340-344.

25. Львов Д. К. Арбовирусы и арбовирусные инфекции / Львов, Д. К., Клименко С. М., Гайдамович С. Я. // М. : Медицина, 1989. - С. 3-6.

26. Львов Д. К. Серологический мониторинг арбовирусных инфекций в дельте реки Кубань (данные 2006-2007 гг.) / Львов Д. К., Щелканов М. Ю., Колобухина Л.В. и соавт. // Вопросы вирусологии. - Москва, 2008. - №4. - С.30-35.

27. Ляпин М. Н. Прогнозирование и выявление циркуляции арбовирусов в Саратовской области / Ляпин М. Н., Ерников Н. М., Малюкова Т. А. и соавторы. // Вопросы риккетсиологии и вирусологии. Сборн. научн. трудов.- Астраханская мед. академия, 1998. - С. 89-93.

28. Мероприятия по борьбе с лихорадкой Западного Нила на территории Российской Федерации. Эпидемиологический надзор, диагностика, клиника, лечение и профилактика. Метод. рек. МЗ РФ, Департамент ГСЭН, Волгоградский НИПИ. - Волгоград: ГУ «Издатель». – 2002. – С.40.

29. Методические рекомендации «Система оказания методической помощи больным лихорадкой Западного Нила». - Минздравсоцразвития, Москва, 2005. - 19 с.

30. Мирзоева Н. М. Некоторые клинические и эпидемиологические особенности лихорадки Западного Нила в Азербайджане / Мирзоева Н. М., Султанова З. Д., Имамалиева Г. М. и соав. // В сборн. «Экология вирусов». Материалы 10 симпозиума. - Баку, 1976. - С. 25-28.

31. Москвитина Э. А. Лихорадка Западного нила в Ростовской области / Москвитина Э. А., Забадша М. В., Ломов Ю. М. и соавт. // Матер. расш. пленума пробл. комис. «Арбовирусы» и науч.-практич. конф. «Арбовирусы и арбовирусные инфекции», Астрахань, 17-20 октября 2006, - Москва, 2007. - С. 124-125.

32. Организация эколого-эпидемиологического мониторинга территории Российской Федерации с целью противоэпидемической защиты населения и войск / Под редакцией академика РАМН Львова Д.К. // Методические рекомендации. Раздел 2.1.1. - Москва, 1995.- С. 28-34.

33. Петров В. А. Лечение больных лихорадкой Западного Нила / Петров В. А. // Матер. расш. пленума пробл. комис. «Арбовирусы» и науч.-практич. конф. «Арбовирусы и арбовирусные инфекции», Астрахань, 17-20 октября 2006, - Москва, 2007. - с. 204-206.

34. Пиликова О. М. Изучение циркуляции арбовирусов на территории, курируемой Причерноморской противочумной станцией / Пиликова О. М., Юничева Ю. В., Ларичев В. Ф. // Матер. расш. пленума пробл. комис. «Арбовирусы» и науч.-практич. конф. «Арбовирусы и арбовирусные инфекции», Астрахань, 17-20 октября 2006, - Москва, 2007. - стр. 152-155.

35. Приготовление антигенов арбовирусов для серологических реакций / Ред. Д.К. Львов. // Методические рекомендации. Организация эколого-эпидемиологического мониторинга территории Российской Федерации с целью противоэпидемической защиты населения и войск.- М. – 1993. – С. 36-40.

36. Приготовление иммунных сывороток и иммунных асцитных жидкостей белых мышей и крыс / Ред. Д.К. Львов // Методические рекомендации. Организация эколого-эпидемиологического мониторинга территории Российской Федерации с целью противоэпидемической защиты населения и войск.-М. - 1995. - С. 40-43.

37. Росицкий Б. Экспедиция чехословацких паразитологов в Албанию / Росицкий Б. // Зоологический журнал.-Институт паразитологии Чехословацкой АН, Прага,1960. - №39. - С. 6.

38. Руководство по тропическим болезням / Лысенко А. Я. // Москва: Медицина, 1983. - С. 319-320.

39. Смирнов А. В. Патоморфологические изменения центральной нервной системы при экспериментальном моделировании лихорадки Западного Нила / . Смирнов А. В., Бутенко А. М., Шмидт М. В., Глухов В. А., Хуторецкая Н. В., Ларичев В. Ф. // Монография. - Волгоград: ВолгГМУ. - 2012. - С. 24.

40. Стриханов С. Н. Выявление заболеваемости лихорадкой Западного Нила в Краснодарском крае / Стриханов С. Н., Бутенко А. М., Мкртчян М. О., Борданов В. Н., Гайдамович С. Я., Ларичев В. Ф., Шишкина Е. О. // Инфекционные болезни на рубеже 21 века. Материалы научно-практической конференции. - Москва, 24-26 мая 2000 года, - М., 2000. - С.52-53.

41. Стэнтон Г. Медико-биологическая статистика / Стэнтон Г. // Москва: Практика, 1999. - С.323 - 338.

42. Черкасский Б. М. Частная эпидемиология, том 2. Москва 2002. - с. 46.

43. Чумаков М. П. Изоляция штаммов вируса Западного Нила из клещей *Nyalomma plumbeum plumbeum* Panz / Чумаков М. П., Беляева А. П., Бутенко А. М., Мартыанова Л. И. // Труды института полиомиелита и вирусных энцефалитов академии медицинских наук СССР. - Москва, 1968.- С.365-372.

44. Федорова М. В. Комары (Diptera, Culicidae) - переносчики вируса Западного Нила на территории России / Федорова М. В. // Матер. расш. пленума пробл. комис. «Арбовирусы» и науч.-практич. конф. «Арбовирусы и арбовирусные инфекции», Астрахань, 17-20 октября 2006, - Москва, 2007. - С. 168-174.

45. Шишкина Е. А. Серологическая диагностика лихорадки Западного Нила. / Шишкина Е. А. // дисс. ... канд. мед. наук. - Москва, 2003. - С. 40.

46. Щербакова С. А. Экологические и эпидемиологические аспекты циркуляции арбовирусов на территории Саратовской области / Щербакова С. А., Билько Е. А., Найденова Е. В. и соавт. // Матер. расш. пленума пробл. комис. «Арбовирусы» и науч.-практиче. конф. «Арбовирусы и арбовирусные инфекции», Астрахань, 17-20 октября 2006, - Москва, 2007. - стр. 150-151.

47. Эпидемиологический надзор за лихорадкой Западного Нила в Астраханской области, специфическая диагностика заболевания, меры общественной и личной профилактики / Под ред. Ковтунова А. И. // Метод. указания, Центр госсанэпиднадзора в Астраханской области. - Астрахань. - 2000. - 19 с.

48. Abutarbush S. M. West Nile virus infection in horses in Jordan: clinical cases, seroprevalence and risk factors / Abutarbush S. M., Al-Majali A. M. // *Transboundary and emerging diseases*. - 2014. - Vol. 6. - P. 1-6.

49. Ahmadnejad F. Spread of West Nile virus in Iran: a cross-sectional serosurvey in equines, 2008–2009 / Ahmadnejad F., Otarod V., Fallah M. H., et al. // *Epidemiology and Infection*. - 2011. - Vol.139. - №.10. - P. 1587–1593.

50. Anis E. West Nile fever in Israel: the reemergence of an endemic disease / Anis E., Grotto I., Mendelson E., et al. // *Journal of Infection*. - 2014. - Vol. 68. - №2. - P.170–175.

51. Baba M. Evidence of arbovirus co-infection in suspected febrile malaria and typhoid patients in Nigeria / Baba M., Logue C. H., Oderinde B., et al. // *Journal of Infection in Developing Countries*. - 2013. - Vol.7. - № 1. - P. 51–59.

52. Bakonyi T. Explosive spread of a neuroinvasive lineage 2 West Nile virus in Central Europe, 2008/2009 / Bakonyi T., Ferenczi E., Erdélyi K., et al. // *Veterinary Microbiology*. - 2013/ - Vol.165. - № 1-2. - P. 61–70.

53. Bakonyi T. Novel flavivirus or new lineage of West Nile virus, central Europe / Bakonyi T., Hubalek Z., Rudolf I., Nowotny N. // *Emerging Infectious Diseases*. - 2005. - Vol.11. - P. 225–231.

54. Balakrishnan A. Complete genome sequence of West Nile virus isolated from Alappuzha district, Kerala, India / Balakrishnan A., Butte D. K., Jadhav S. M. // *Genome Announcements*. - 2013. - Vol. 1. - № 3. - doi: 10.1128/genomeA.00230-13.

55. Bardos V. Neutralising antibodies against some neurotropic viruses determined in human sera in Albania / Bardos V., Adamcova J., Dedei S., Rosick B., Imkova A. // *Journal of Hygiene, Epidemiology, Microbiology and Immunology*. - Prague, 1959. - №3. - P. 277-282.

56. Barrera R. Short report: first isolation of West Nile virus in the Caribbean / Barrera R., Hunsperger E., Muñoz-Jordán J. L., et al. // *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. - 2008. - Vol.78. - № 4. - P.666–668.

57. Barzon L. Large human outbreak of West Nile virus infection in north-eastern Italy in 2012 / Barzon L., Pacenti M., Franchin E., et al. // *Viruses*. - 2013. Vol.5. - № 11. - P. 2825–2839.

58. Barzon L. Whole genome sequencing and phylogenetic analysis of West Nile virus lineage 1 and lineage 2 from human cases of infection, Italy, August 2013 / Barzon L., Pacenti M., Franchin E., et al. // *Eurosurveillance*. - 2013. - Vol. 18. - Iss. 38. - Volume 18, Issue 38, 19/Sep/2013.

59. Batieha A. Seroprevalence of West Nile, Rift Valley, and sandfly arboviruses in Hashimiah, Jordan / Batieha A., Saliba E. K., Graham R., Mohareb E., Hijazi Y., Wijeyaratne P. // *Emerging Infectious Diseases*. - 2000. - 6. - № 4. - P. 358–362.

60. Beatty M. E. Mosquitoborne infections after Hurricane Jeanne, Haiti, 2004 / Beatty M. E., Hunsperger E., Long E., et al. // *Emerging Infectious Diseases*. - 2007. - Vol. 13. - № 2. - P. 308–310.

61. Berncopf H. Isolation of West Nile virus in Israel / Berncopf H., Levin S., Nerson R. // *Journal of Infectious Diseases*. - 1953. - Vol. 93. - №3. - P. 207-218.

62. Bondre V. P., Jadi R. S., Mishra A. C., Yergolkar P. N., Arankalle V. A. West Nile virus isolates from India: evidence for a distinct genetic lineage / Bondre V. P., Jadi R. S., Mishra A. C., Yergolkar P. N., Arankalle V. A. // *Journal of General Virology*. - 2007. - 88. - № 3. -P. 875–884.

63. Calisher C.H. Serodiagnosis of La Cross Virus infections in humans by detections of immunoglobulin M class antibodies / Calisher C.H., Petzman C.I., Muih D.J., Parsons M.A. // *Journal of Clinical Microbiology*. - 1986. - V.23. - P. 667-671.

64. Calistri P. Epidemiology of West Nile in Europe and in the Mediterranean basin / Calistri P., Giovannini A., Hubalek Z., et al. // *The Open Virology Journal*. - 2010. - № 4. - P. 29–37.

65. Cao L. Detection of West Nile Virus Infection in Viral Encephalitis Cases, China / Cao L., Fu S., Lu Z., Tang C., Gao X. , Li X., Lei W., He Y., Li M., Cao Y., Wang H., Liang G. // *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*.- 2018. - № 9. - <https://doi.org/10.1089/vbz.2018.2275>

66. Chaintoutis S.C. Evaluation of Cross-Protection of a Lineage 1 West Nile Virus Inactivated Vaccine against Natural Infections from a Virulent Lineage 2 Strain in Horses, under Field Conditions / Chaintoutis S.C, Diakakis N, Papanastassopoulou M, Banos G, Dovas C.I. // *Clinical and Vaccine Immunology*. - doi: 10.1128/CVI.00302-15. Epub 2015 Jul 15. - 2015. - Vol. 22, № 9. - P. 1040-1049.

67. Chancey C. The Global Ecology and Epidemiology of West Nile Virus. *BioMed Research International* / Chancey C., Grinev A., Volkova E., Rios M. // Vol. 2015. - <http://dx.doi.org/10.1155/2015/376230>.

68. Chinikar S. Detection of West Nile virus genome and specific antibodies in Iranian encephalitis patients / Chinikar S., Javadi A., Ataei B., et al. // *Epidemiology and Infection*.- 2012. Vol.140, №8. - P. 1525–1529.

69. Davis B.S., Chang G.J., Cropp B., Roehrig J.T., Martin D.A., Mitchell C.J., Bowen R., Bunning M.L. West Nile virus recombinant DNA vaccine protects mouse and horse from virus challenge and expresses in vitro a noninfectious recombinant antigen that can be used in enzyme-linked immunosorbent assays / . Davis B.S., Chang G.J., Cropp B., Roehrig J.T., Martin D.A., Mitchell C.J., Bowen R., Bunning M.L. // *Journal of Virology*. - 2001. - Vol.75. - P.4040–4047.

70. Diaz L. A. West Nile virus in birds, Argentina / Diaz L. A., Komar N., Visintin A., et al. // *Emerging Infectious Diseases*. - 2008. - Vol. 14, № 4. - P. 689–691.

71. Dupuis A. P. Serologic evidence of West Nile virus transmission, Jamaica, West Indies / Dupuis A. P., Marra P. P., Kramer L. D. // *Emerging Infectious Diseases*. - 2003. - Vol. 9, № 7. - P. 860–863.

72. Dupuis A. P. Short report: serologic evidence for West Nile virus transmission in Puerto Rico and Cuba / Dupuis A. P., Marra P. P., Reitsma R., Jones

M. J., Louie K. L., Kramer L. D. // *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. - 2005. Vol. 73, № 2. - P. 474–476.

73. El Rhaffouli H. Serologic evidence of West Nile Virus infection among humans, Morocco / El Rhaffouli H., El Harrak M., Lotfi C., et al. // *Emerging Infectious Diseases*. - 2012. Vol. 18, № 5. - P. 880–881.

74. Elizondo-Quiroga D. West Nile virus isolation in human and mosquitoes, Mexico / Elizondo-Quiroga D., Davis C. T., Fernandez-Salas I., et al. // *Emerging Infectious Diseases*. - 2005. Vol. 11, № 9. - P. 1449–1452.

75. Ergunay K. Seroprevalence of West Nile virus and tick-borne encephalitis virus in Southeastern Turkey: first evidence for tick-borne encephalitis virus infections / Ergunay K., Ozer N., Us D., et al. // *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*. - 2007. - Vol.7, № 2. - P. 157–161.

76. Estrada-Franco J. G. West Nile virus in Mexico: evidence of widespread circulation since July 2002 / Estrada-Franco J. G., Navarro-Lopez R., Beasley D. W. C., et al. // *Emerging Infectious Diseases*. - 2003.- Vol. 9, № 12. - P. 1604–1607.

77. Fall A. G. West Nile virus transmission in sentinel chickens and potential mosquito vectors, Senegal River Delta, 2008-2009 / Fall A. G., Diaïté A., Seck M. T., et al. // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. - 2013. - Vol. 10, № 10. - P. 4718–4727.

78. Fassil H. Epidemiological aspects of West Nile virus infection in Morocco / Fassil H., El Harrak M., Marié J.-L. // *Medecine et sante tropicales*. - 2012. - Vol. 22, № 2. - P. 123–125.

79. Faulde M. K. Sentinel site-enhanced near-real time surveillance documenting West Nile virus circulation in two *Culex* mosquito species indicating different transmission characteristics, Djibouti City, Djibouti / Faulde M. K., Spiesberger M., Abbas B. // *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*. - 2012. - Vol. 42, № 2. - P. 461–474.

80. Filipe A.R. Isolation in Portugal of West Nile virus from *Anopheles maculipennis* mosquitoes / Filipe A.R. // *Acta Virologica*. - 1972.- № 16. -P. 361.

81. Filipe A.R. Arboviruses in the Iberian Peninsula / . Filipe A.R., De Andrade H.R. // *Acta Virologica*. - 1990. № 34. - P. 382-391
82. Flatau E. West Nile fever encephalitis / Flatau E., Kohn D., Daher O., Varsano N. / *Israel Journal of Medical Sciences*. - 1981. - Vol. 17, № 11. - P. 1057–1059.
83. Forshey B. M. Arboviral etiologies of acute febrile illnesses in Western South America, 2000–2007 / Forshey B. M., Guevara C., Laguna-Torres V. A., et al. // *PLoS Neglected Tropical Diseases*. - 2010. № 4. - <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000787>
84. Frost M. J. Characterization of virulent West Nile virus Kunjin strain, Australia, 2011 / Frost M. J., Zhang J., Edmonds J. H., et al. // *Emerging Infectious Diseases*. - 2012. - Vol. 18, № 5. - P.792–800.
85. Gallian P. Seroprevalence of West Nile virus in blood donors at Hôtel Dieu de France, Beirut, Lebanon / Gallian P., de Micco P., Ghorra P. // *Transfusion*. - 2010. - Vol. 50, № 5. - P. 1156–1158.
86. George S. Isolation of West Nile virus from the brains of children who had died of encephalitis / S., Gourie-Devi M., Rao J. A., Prasad S. R., Pavri K. M. // *Bulletin of the World Health Organization*. - 1984. - Vol. 62, № 6. - P. 879–882.
87. Gomez J. A. *Journal of Clinical Microbiology*. Fatal West Nile Virus Encephalitis in a Heart Transplant Recipient / Gomez J. A., Waggoner J. J., Itoh M., Hollander S. A, Gutierrez K. M., Budvytiene I, Niaz Banaei N., Pinsky B. A.// *Journal of clinical microbiology*. - 2015. - Vol. 53, № 8. - P. 2749 - 2752.
88. Hannoun C. Epidemiology of West nile infection in South France. In: *Arboviruses of the California Complex and Bunyawwera Group* / Hannoun C., Parthier R., Corniou B. // Public House SAS, Bratislava, - 1969, - P. 379-387.
89. Hayes C. G. West Nile virus in Pakistan. 1. Sero-epidemiological studies in Punjab Province / Hayes C. G., Baqar S., Ahmed T., Chowdhry M. A., Reisen W. K. // *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. - 1982. - Vol. 76, № 4. - P. 431–436.

90. Hayes E. B. Epidemiology and transmission dynamics of West Nile virus disease / Hayes E. B., Komar N., Nasci R. S. et al. // *Emerging infectious diseases*. - 2005. - Vol. 11, №8, - P. 1167-1173
91. Hobson-Peters J. Detection of antibodies to West Nile virus in horses, Costa Rica, 2004 / Hobson-Peters J., Arévalo C., Cheah W. Y., et al. // *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*. - 2011. - Vol. 11, № 8. - P. 1081–1084. - doi:10.1089/vbz.2010.0198.
92. http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/west_nile_fever/West-Nile-fever-maps/Pages/historical-data.aspx.
93. <https://ecdc.europa.eu/en/news-events/epidemiological-update-west-nile-virus-transmission-season-europe-2015>.
94. <https://ecdc.europa.eu/en/news-events/epidemiological-update-west-nile-virus-transmission-season-europe-2016>.
95. <https://ecdc.europa.eu/en/news-events/epidemiological-update-west-nile-virus-transmission-season-europe-2017>.
96. <https://ecdc.europa.eu/en/news-events/epidemiological-update-west-nile-virus-transmission-season-europe-2018>
97. <https://ecdc.europa.eu/en/publications-data/table-transmission-west-nile-fever-may-november-2014-table-cases-2014>.
98. <https://www.cdc.gov/westnile/statsmaps/cumMapsData.html>
99. Hubalek Z. and Halouzka J.. West Nile fever – a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. *Emerging Infectious Diseases*, 1999, V. 5, № 5, p. 643-656.
100. Hubalek Z. Arthropod-borne viruses of vertebrates in Europe / Hubalek Z., Halouzka J. // *Acta Scientiarum Naturalium Brno*. - 1996. - Vol. 30. - № 4-5. - P. 1-95.
101. Hubalek Z. West Nile virus investigations in South Moravia, Czechland / Hubalek Z., Savage H. M., Halouzka J., Juricova Z., Sanogo Y. O., Lusk S. // *Viral Immunology*. – 2000. – Vol. 13, №4. – P.427-433.
102. Hugo C. Osório. Alves Mosquito Surveillance for Prevention and Control of Emerging Mosquito-Borne Diseases in Portugal - 2008-2014 / C. Osório, Líbia Zé-

Zé, Fátima Amaro, and Maria J. // International journal of environmental research and public health. - 2014. № 11. - P. 11583-11596.

103. Human West Nile virus surveillance—Connecticut, New Jersey, and New York, 2000 / Cartter M., Nelson R., Mayo D., Wilcox L. // JAMA The Journal of the American Medical Association. - 2001. - Vol. 50, № 14. - P. 265–268.

104. Hunsperger E. A. West Nile virus from blood donors, vertebrates, and mosquitoes, Puerto Rico, 2007 / Hunsperger E. A., McElroy K. L., Bessoff K., Colón C., Barrera R., Muñoz-Jordán J. L. // Emerging Infectious Diseases. - 2009. - Vol.15, № 8. - P.1298–1300..

105. International Catalogue of Arboviruses, The American Society of Tropical Medicine and Hygiene / Eds. N. Karabatsos // - San-Antonio,1985. - P. 1093.

106. Iyer A. V. A Review of Vaccine Approaches for West Nile Virus / Iyer A. V. and Kousoulas K.G. // International Journal of Environmental Research and Public Health. - 2013. - №10. - P. 4200-4223.

107. Jentes E. S. Acute arboviral infections in Guinea, West Africa, 2006 / Jentes E. S., Robinson J., Johnson B. W., et al. // The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. - 2010. - Vol. 83, № 2, - P. 388–394.

108. Jupp P. G. The ecology of West Nile virus in South Africa and the occurrence of outbreaks in humans / Jupp P. G. // Annals of the New York Academy of Sciences. - 2001. - Vol. 951. - P.143–152.

109. Kalaycioglu H. Emergence of West Nile virus infections in humans in Turkey, 2010 to 2011/ Kalaycioglu H., Korukluoglu G., Ozkul A., et al. // Eurosurveillance. - 2012. - Vol. 17, № 21. - Volume 17, Issue 21, 24/May/2012.

110. Khan E, Barr K. L., Farooqi J. Q., Prakoso D, Abbas A, Khan Z.Y., Ashi S, Imtiaz K, Aziz Z, Malik F, Lednicky J. A., Long M. T. Human West Nile Virus Disease Outbreak in Pakistan, 2015-2016. Front. Public Health, 27 February 2018. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2018.00020>.

111. Komar N. West Nile virus activity in Latin America and the Caribbean / Komar N., Clark G. G. // Revista Panamericana de Salud Publica. - 2006. - Vol.19, № 2. - P. 112–117.

112. Kopel E. Surveillance of West Nile virus disease, Tel Aviv district, Israel, 2005 to 2010 / Kopel E., Amitai Z., Bin H., Shulman L. M., Mendelson E., Shefer R. // *Eurosurveillance*. - 2011. - Vol. 16, № 25. - 2011;16(25):pii=19894.

113. Lan D. L. Serological evidence of West Nile virus in dogs and cats in China. / Lan D. L., Wang C. S., Deng B., et al. // *Epidemiology and Infection*. - 2013. - Vol. 141, № 3. - P. 596–600.

114. Lan D. Serological evidence of West Nile virus in dogs and cats in China / Lan D., Ji W., Yu D., Chu W., Wang C., Yang Z., Hua X. // *Archives of Virology*. - 2011. - Vol.156, № 5. - P. 893–895.

115. Larrieu S. Case report: a fatal neuroinvasive West Nile virus infection in a traveler returning from Madagascar: clinical, epidemiological and veterinary investigations / Larrieu S., Cardinale E., Ocquidant P., et al. // *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. - 2013. - Vol. 89, № 2. - P. 211–213.

116. Leventhal A. West Nile fever in Israel - past and present / . Leventhal A., Karsenty E. // *Harefuah*. - 2001. - Vol. 140, № 8. - P. 723-727

117. Li X. L. West nile virus infection in Xinjiang, China / Li X. L., Fu S. H., Liu W. B., et al. // *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*. - 2013. - Vol.13, № 2. - P. 131–133.

118. Lohitharajah L. Emergence of human West Nile Virus infection in Sri Lanka / Lohitharajah L., Malavige G. N., Chua A. J. S, Ng M. L., Arambepola C., Chang T. // *BMC Infectious Diseases*. - 2015.- <https://doi.org/10.1186/s12879-015-1040-7>

119. Mackenzie J. S. Arboviruses causing human disease in the Australasian zoogeographic region / Mackenzie J. S., Lindsay M. D., Coelen R. J., Broom A. K., Hall R. A., Smith D. W. // *Archives of Virology*. - 1994. - Vol.136, № 3-4. - P. 447–467.

120. Maillo B. M. Importation of West Nile virus infection from Nicaragua to Spain / Maillo B. M., López-Vélez R., Norman F., de Ory F., Sanchez-Seco M. P., Fedele C. G. // *Emerging Infectious Diseases*. - 2008. - Vol. 14, № 7. - P. 1171–1173. - doi: 10.3201/eid1407.071496

121. Mann R. A. Molecular Epidemiology and Evolution of West Nile Virus in North America / Mann R. A., Fegan M., O'Riley K., Motha J., Warner S. // International Journal of Environmental Research and Public Health. - 2013. - Vol.10, № 10. - P. 5111–5129.

122. Marka A. West Nile Virus State of the Art Report of MALWEST Project / Marka A., Diamantidis A., Papa A., Valiakos G., Chaintoutis S. C., Doukas D, Tserkezou P., Giannakopoulos A., Papaspyropoulos K., Patsoula E, Badieritakis E, Baka A., Tseroni M., Pervanidou D., Papadopoulos N. T., Koliopoulos G., Tontis D., Dovas C. I., Billinis C., Tsakris A., Kremastinou J., Hadjichristodoulou C. // International Journal of Environmental Research and Public Health. - 2013. - Vol. 10, № 12. - P. 6534–6610.

123. Marlina S. Seroprevalence screening for the West Nile virus in Malaysia's Orang Asli population / Marlina S, Radzi SF, Lani R, Sieng KC, Rahim NF, Hassan H, Li-Yen C, AbuBakar S, Zandi K. // Parasites & Vectors. - 2014. - Vol. 17, № 7. - P. 597.

124. Martins L.C. First isolation of West Nile virus in Brazil / Martins L.C., Silva E.V.P.D., Casseb L.M.N., Silva S.P.D., Cruz A.C.R., Pantoja J.A.S., Medeiros D.B.A., Martins Filho A.J., Cruz E.D.R.M.D., Araújo M.T.F., Cardoso J.F., Cunha M.A.C.R.D., Almada G.L., Romano A.P.M., Santos M.G.D.P., Rodrigues G.A.P., Chiang J.O., Quaresma J.A.S., Carvalho V.L., Vasconcelos P.F.D.C. // Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. - 2019. - Vol. 114. - <http://www.scielo.br/pdf/mioc/v114/1678-8060-mioc-114-e180332.pdf>.

125. Meço O. West Nile arbovirus antibodies with hemagglutination inhibition (HI) in residents of Southeast Anatolia / Meço O. // Mikrobiyoloji Bulteni. - 1977. - Vol. 11, № 1. - P. 3–17.

126. Meegan J.M. Enzyme immunoassay / Meegan J.M., LeDuc J.W. // In: Manual of hemorrhagic fever with renal syndrome. WHO Collaborating center for virus Reference and Research (HFRRS). Institute for viral Diseases, Korea University, Seoul (Ho Wang Lee, J.M. Dalrymple, eds.). – 1989. – P. 83-87.

127. Melandri V. Serological detection of West Nile virus in horses and chicken from Pantanal, Brazil / Melandri V., Guimaraes A. E., Komar N., et al. // *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz.* - 2012. - Vol. 107, № 8. - P. 1073–1075.

128. Melnick J. L. Isolation from human sera in Egypt of a virus apparently identical to West Nile virus / Melnick J. L., Paul J. R., Riordan J. T., Barnett V. H., Goldblum N., Zabin E. // *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine.* - 1951. - Vol. 77, № 4. - P. 661–665.

129. Merdić E. West Nile virus outbreak in humans in Croatia, 2012. / Merdić E., Perić L., Pandak N., et al. // *Collegium Antropologicum.* - 2013. - Vol. 37, № 3. - P. 943–947.

130. Morvan J. Prevalence of antibodies to West Nile virus in youngsters from 5 to 20 years old in Madagascar / Morvan J., Chin L. H., Fontenille D. et al. // *Bull Soc. Pathol. Exot.* – 1991. – Vol. 84, №3. – P. 225-234.

131. Morales M. A. West Nile virus isolation from equines in Argentina, 2006 / Barrandeguy M., Fabbri C., Garcia J. B., Vissani A., Trono K., Gutierrez G., Pigretti S., Menchaca H., Garrido N., Taylor N., Fernandez F., Levis S., Enría D. // *Emerging Infectious Diseases.* - 2006. - Vol. 12, № 10 - P. 1559-1561.

132. Morales-Betoulle M. E. West Nile virus ecology in a tropical ecosystem in Guatemala / Morales-Betoulle M. E., Komar N., Panella N. A., et al. // *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.* - 2013. - Vol. 88, № 1. - P. 116–126. - doi: 10.4269/ajtmh.2012.12-0276

133. Mostashari F. Epidemic West Nile encephalitis, New York, 1999: results of a household-based seroepidemiological survey / Mostashari F., Bunning M. L., Kitsutani P. T., et al. // *The Lancet.* - 2001. - Vol. 358, № 9278. - P. 261–264.

134. Mazzei M. West Nile seroprevalence study in Bolivian horses, 2011/ Mazzei M., Savini G., Annapia D. G., et al. // *Vector-Borne and Zoonotic Diseases.* - 2013. - Vol. 13, № 12. - P. 894–896.- doi: 10.1089/vbz.2013.1323.

135. Murray K. O. Persistence of Detectable Immunoglobulin M Antibodies Up to 8 Years After Infection with West Nile Virus / Murray K. O., Melissa N. Garcia

M. N., Chris Yan C., Rodion G. R. // *The American Journal Tropical Medicine Hygiene*. - 2013. Vol. 89, № 5. - P. 996–1000.

136. Ng T. Equine vaccine for West Nile virus / Ng T., Hathaway D., Jennings N., Champ D., Chiang Y.W., Chu H.J. // *Developments in biologicals (Basel)*. - 2003. - № 114. - P. 221–227.

137. Ometto T. West Nile virus surveillance, Brazil, 2008–2010/ Ometto T., Durigon E. L., de Araujo J., et al. // *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. - 2013. - 107, № 11. - P. 723–730.

138. Orba Y. First isolation of West Nile virus in Zambia from mosquitoes / Orba Y., Hang'ombe B. M., Mweene A. S., Wada Y., Anindita P. D., Phongphaew W., Qiu Y., Kajihara M., Mori-Kajihara A., Eto Y., Sasaki M., Hall W. W., Eshita Y., Sawa H. // *Transboundary and emerging diseases*. - 2018. - Vol. 65, Iss. 4. - P. 933-938.

139. Özer N. West Nile virus studies in the Sanliurfa Province of Turkey / Özer N., Ergünay K., Simsek F., et al. // *Journal of Vector Ecology*. - 2007. Vol. 32, № 2. - P. 202–206.

140. Ozkul A. Serological evidence of West Nile Virus (WNV) in mammalian species in Turkey / Ozkul A., Yildirim Y., Pinar D., Akcali A., Yilmaz V., Colak D. // *Epidemiology & Infection*. - 2006. - 134, № 4. - P. 826–829.

141. Papa A. West Nile virus IgM and IgG antibodies three years post-infection / Papa A., Anastasiadou A., Delianidou M. // *Hippokratia*. - 2015. - Vol. 19, №1. - P.34-36.

142. Papa A. Detection of West Nile virus lineage 2 in culex mosquitoes, Greece, 2012 / Papa A., Papadopoulou E., Gavana E., Kalaitzopoulou S., Mourelatos S. // *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*. - 2013. - Vol. 13, № 9. - P.682–684.

143. Pauvolid-Correa A. Serological evidence of widespread circulation of West Nile virus and other flaviviruses in equines of the Pantanal, Brazil / Pauvolid-Correa A., Campos Z., Juliano R., Velez J., Nogueira R. M., Komar N. // *PLoS Neglected Tropical Diseases*. - 2014. - 8e2706 Epub.

144. Pauvolid-Corrêa A. Neutralising antibodies for West Nile virus in horses from Brazilian Pantanal / Pauvolid-Corrêa A., Morales M. A., Levis S., et al. // *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz.* - 2011. - Vol.106, № 4. - P. 467–474.

145. Pem-Novosel I. First outbreak of West Nile virus neuroinvasive disease in humans, Croatia, 2012 / Pem-Novosel I., Vilibic-Cavlek T., Gjenero-Margan I., et al. // *Vector-Borne and Zoonotic Diseases.* - 2014. - Vol. 14, № 1. - P. 82–84.

146. Popovic N. Outbreak of West Nile virus infection among humans in Serbia / Popovic N., Milosevic B., Urosevic A., et al. // *Eurosurveillance.* - 2013. - Vol. 18, № 43. - P.252.

147. Prow N. A. The changing epidemiology of Kunjin virus in Australia / Prow N. A. // *International Journal of Environmental Research and Public Health.* - 2013. - Vol. 10, № 12. - P. 6255–6272.

148. Public Health Agency of Canada. Summary of Human Surveillance Table: 2013. - http://www.phac-aspc.gc.ca/wnv-vwn/mon-hmnsurv-archive-eng.php#a2008_12.

149. Pupo M. West Nile virus infection in humans and horses, Cuba / Pupo M., Guzmán M. G., Fernández R., et al. // *Emerging Infectious Diseases.* - 2006. - Vol.12, № 6. - P. 1022–1024

150. Rao T. R. Immunological surveys of arbovirus infections in South-East Asia, with special reference to dengue, chikungunya, and Kyasanur Forest disease / Rao T. R. // *Bulletin of the World Health Organization.* - 1971. - Vol. 44, № 5. - P. 585–591.

151. Rios-Ibarra C. Fatal human case of West Nile virus disease, Mexico, 2009 / Rios-Ibarra C., Blitvich B. J., Farfan-Ale J., et al. // *Emerging Infectious Diseases.* - 2010. - Vol.16, № 4. - P. 741–743.

152. Rizzo C. Epidemiological surveillance of West Nile neuroinvasive diseases in Italy, 2008 to 2011/ Rizzo C., Salcuni P., Nicoletti L., et al. // *Eurosurveillance.* - 2012. - Vol. 17, № 20. - [Euro Surveill. 2012;17\(20\):pii=20172](http://dx.doi.org/10.2807/1564-5618.2012.1720pii=20172)

153. Roehring J. T. Persistence of viral-reactive serum immunoglobulin M antibody in confirmed West Nile virus encephalitis cases / Roehring J. T., Nash D.,

Maldin B., Labowitz A. et al. // *Emerging Infectious Diseases*. - 2003. - Vol. 9, № 3. - P. 376-379.

154. Roth D. West Nile Virus range expansion into British Columbia / Roth D., Henry B., Mak S., et al. // *Emerging Infectious Diseases*. - 2010. - Vol.16, № 8. - P. 1251–1258.

155. Russell R. C. Arboviruses associated with human disease in Australia / Russell R. C., Dwyer D. E. // *Microbes and Infection*. - 2000. - Vol. 2, № 14. - P. 1693–1704.

156. Seawright G.L. Microculture neutralization test for California group arboviruses / Seawright G.L., Harding C., Thomas F.C., Hanson R. P. // *Applied Microbiology*– 1974 – V.28. – P. 802-806.

157. Shukla J. Molecular detection and characterization of West Nile virus associated with multifocal retinitis in patients from Southern India / Shukla J., Saxena D., Rathinam S., et al. // *International Journal of Infectious Diseases*. - 2012. - Vol. 16, № 1. - P. 53–59.

158. Silva J. R. Serologic survey of West Nile virus in horses from Central-West, Northeast and Southeast Brazil / Silva J. R., Medeiros L. C., Reis V. P., Chávez J. H. , Munhoz T. D., Borges G. P., Soares O. A. B., Campos C. H. C., Machado R. Z., Baldani C. D., Silva M. L. C. R., Faria J. L. M., Silva E. E., Figueiredo L. T. M. // *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. - 2013. - Vol.108, № 7. - P. 921–923.

159. Siger L. Assessment of the efficacy of a single dose of a recombinant vaccine against West Nile virus in response to natural challenge with West Nile virus-infected mosquitoes in horses / Siger L., Bowen R.A., Karaca K., Murray M.J., Gordy P.W., Loosmore S.M., Audonnet J.C., Nordgren R.M., Minke J.M. // *American Journal of Veterinary Research*. - 2004. - Vol. 65, № 11. - P. 1459-1462.

160. Smithburn K. C. A neurotropic virus isolated from the blood of a native of Uganda / Smithburn K. C., Huges T. P., Burke A. W., Paul J. H. // *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* – 1940. – Vol. 20. - P. 471-492.

161. Smithburn K. C. Neutralizing antibodies against certain viruses in the sera of residents of India / . Smithburn K. C., Kerr J. A., Gatne P. B. // *The Journal of Immunology*. - 1954. - Vol.72, № 4. - P. 248–257.

162. Soliman A. Studies on West Nile virus infection in Egypt / ., Mohareb E., Salman D., et al. // *Journal of Infection and Public Health*. - 2010. - Vol. 3, № 2. - P. 54–59.

163. Sugamata M. Seroepidemiological study of infection with West Nile virus in Karachi, Pakistan, in 1983 and 1985 / Sugamata M., Ahmed A., Miura T., et al. // *Journal of Medical Virology*. - 1988. - Vol. 26, № 3. - P. 243–247.

164. Tardei G. Evaluation of Immunoglobulin M (IgM) and IgG EnzymeImmunoassays in Serologic Diagnosis of West Nile Virus Infection / Tardei G., Ruta S., Chitu V., Rossi C., Tsai T. F., Cernescu C. // *Journal of Clinical Microbiology*. - 2000. - Vol. 38, № 6. - P. 2232-2239.

165. Taylor R. M. A study of the ecology of West Nile virus in Egypt / Taylor R. M., Work T. H., Hurlbut H. S., Rizk F. // *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. – 1956. – Vol. 5. – p. 579-620.

166. Tilley P. A. West Nile detection and commercial assay / Tilley P. A. G., Zachary G. A., Walle R., Schnee P. F. // *Emerging Infectious Diseases*. - 2005. - Vol. 1, № 7. - P. 1154-1155.

167. Venter M. Fatal neurologic disease and abortion in mare infected with lineage 1 West Nile virus, South Africa / Venter M., Human S., Van Niekerk S., Williams J., van Eeden C., Freeman F. // *Emerging Infectious Diseases*. - 2011. - Vol. 17, № 8. - P. 1534–1536.

168. Verani P. Arboviruses in Italy / Verani P., Balducci M., Lopes M. C. In: Kurstak E., editor // *Arctic and tropical arboviruses*. New York; Academic Press. - 1999, - P. 101-21.

169. Vieira M. A. C. West Nile Virus Encephalitis: The First Human Case Recorded in Brazil / Vieira M. A. C. Romano A. P. M., Borba A. S., Silva E. V. P., Chiang J.O., Eulálio K. D., Azevedo R. S. S., Rodrigues S. G., Almeida-Neto W. S.,

Vasconcelos P. F. C. // *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. - 2015. - Vol. 93, № 2. - P. 377–379.

170. Watts D. M. Efficacy and Durability of a Recombinant Subunit West Nile Vaccine Candidate in Protecting Hamsters from West Nile Encephalitis Vaccine / Watts D. M., Tesh R. B., Siirin M., Travassos da Rosa A. , Newman P. C., Clements D. E., Ogata S. , Collier Beth-Ann, Weeks-Levy C., Lieberman M. M. // *Vaccine*. - 2007. - Vol. 25, Iss.15. - P. 2913-2918.

171. Weinberger M., Pitlik S. D., Gandacu D., et al. West Nile fever outbreak, Israel, 2000: epidemiologic aspects / Weinberger M., Pitlik S. D., Gandacu D., et al. // *Emerging Infectious Diseases*. - 2001. - Vol. 7, № 4. - P. 686–691.

172. Yang J.S. Induction of potent th1-type immune responses from a novel DNA vaccine for West Nile virus New York isolate (WNV-NY1999) / Yang J.S., Kim J.J., Hwang D., Choo A.Y., Dang K., Maguire H., Kudchodkar S., Ramanathan M.P., Weiner D.B. // *The Journal of Infectious Diseases*. - 2001. - Vol. 184. - P. 809–816.

Приложение 1



Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского
ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России

Государственная Коллекция Вирусов

123098, Москва, ул. Гамалеи, 16
Тел.: (499) 1903060, (499) 2777820 Факс.: (499) 2777819
<http://www.viruscollection.ru> E-mail: info@viruscollection.ru

УДОСТОВЕРЕНИЕ

Настоящее удостоверение выдано в том, что в Государственную коллекцию вирусов 24 апреля 2017г. депонирован вирус Денге 1, штамм «М 2013». Семейство Flaviviridae, род Flavivirus.

Штамму присвоен номер в Государственной коллекции вирусов: **1257/2**

Родословная штамма (место, год выделения штамма): получен в лаборатории биологии и индикации арбовирусов ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России 26.06.2013г, в результате заражения в мозг новорожденных мышей сывороткой крови больного прибывшего из Таиланда, поступившей из инфекционной КБ №1. 5-й пассаж.

Штамм предназначен для филогенетических, вирусологических и серологических исследований.

Авторы штамма:

- сотрудники ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России:

А.М. Бутенко, В.Ф. Ларичев, А.А. Козлова, Н.В. Хуторецкая, С.В. Альховский.

- сотрудники ГБУЗ «Инфекционная клиническая больница №1» Департамента здравоохранения г. Москвы: М.А. Сайфуллин.

Директор
Института вирусологии им. Д.И. Ивановского
ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России
Профессор, д.б.н.



А.В. Пронин

Руководитель
Государственной коллекции вирусов
Профессор, д.м.н.

П.Г. Дерябин



Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского
ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России

Государственная Коллекция Вирусов

123098, Москва, ул. Гамалеи, 16
Тел.: (499) 1903060, (499) 2777820 Факс.: (499) 2777819
http://www.viruscollection.ru E-mail: info@viruscollection.ru

УДОСТОВЕРЕНИЕ

Настоящее удостоверение выдано в том, что в Государственную коллекцию вирусов 24 апреля 2017г. депонирован вирус Денге 2, штамм «С 2012». Семейство Flaviviridae, род Flavivirus.

Штамму присвоен номер в Государственной коллекции вирусов: **1254/2**

Родословная штамма (место, год выделения штамма): получен в лаборатории биологии и индикации арбовирусов ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России 17.12.2012г, в результате заражения в мозг новорожденных мышей сывороткой крови больной прибывшей из Индонезии, поступившей из инфекционной КБ №1. 3-й пассаж.

Штамм предназначен для филогенетических, вирусологических и серологических исследований.

Авторы штамма:

- сотрудники ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России:

А.М. Бутенко, В.Ф. Ларичев, А.А. Козлова, Н.В. Хуторецкая, А.Г. Прилипов

- сотрудники ГБУЗ «Инфекционная клиническая больница №1» Департамента здравоохранения г. Москвы: М.А. Сайфуллин.

Директор
Института вирусологии им. Д.И. Ивановского
ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России
Профессор, д.б.н.



А.В. Пронин

Руководитель
Государственной коллекции вирусов
Профессор, д.м.н.

П.Г. Дерябин



Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского
ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России

Государственная Коллекция Вирусов

123098, Москва, ул. Гамалеи, 16
Тел.: (499) 1903060, (499) 2777820 Факс.: (499) 2777819
<http://www.viruscollection.ru> E-mail: info@viruscollection.ru

УДОСТОВЕРЕНИЕ

Настоящее удостоверение выдано в том, что в Государственную коллекцию вирусов 24 апреля 2017г. депонирован вирус Денге 2, штамм «З 2012». Семейство Flaviviridae, род Flavivirus.

Штамму присвоен номер в Государственной коллекции вирусов: **1255/2**

Родословная штамма (место, год выделения штамма): получен в лаборатории биологии и индикации арбовирусов ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России 14.12.2012г, в результате заражения в мозг новорожденных мышей сывороткой крови больного прибывшего из Индонезии, поступившей из инфекционной КБ №1. 3-й пассаж.

Штамм предназначен для филогенетических, вирусологических и серологических исследований.

Авторы штамма:

- сотрудники ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России:

А.М. Бутенко, В.Ф. Ларичев, А.А. Козлова, Н.В. Хуторецкая, А.Г. Прилипов

- сотрудники ГБУЗ «Инфекционная клиническая больница №1» Департамента здравоохранения г. Москвы: М.А. Сайфуллин.

Директор
Института вирусологии им. Д.И. Ивановского
ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России
Профессор, д.б.н.



А.В. Пронин

Руководитель
Государственной коллекции вирусов
Профессор, д.м.н.

П.Г. Дерябин



Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского
ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России

Государственная Коллекция Вирусов

123098, Москва, ул. Гамалеи, 16
Тел.: (499) 1903060, (499) 2777820 Факс.: (499) 2777819
http://www.viruscollection.ru E-mail: info@viruscollection.ru

УДОСТОВЕРЕНИЕ

Настоящее удостоверение выдано в том, что в Государственную коллекцию вирусов 24 апреля 2017г. депонирован вирус Денге 1, штамм «Ш 2012». Семейство Flaviviridae, род Flavivirus.

Штамму присвоен номер в Государственной коллекции вирусов: **1256/2**

Родословная штамма (место, год выделения штамма): получен в лаборатории биологии и индикации арбовирусов ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России 13.12.2012г, в результате заражения в мозг новорожденных мышей сывороткой крови больного прибывшего из Тайланда, поступившей из инфекционной КБ №1. 3-й пассаж.

Штамм предназначен для филогенетических, вирусологических и серологических исследований.

Авторы штамма:

- сотрудники ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России:

А.М. Бутенко, В.Ф. Ларичев, А.А. Козлова, Н.В. Хуторецкая, А.Г. Прилипов

- сотрудники ГБУЗ «Инфекционная клиническая больница №1» Департамента здравоохранения г. Москвы: М.А. Сайфуллин.

Директор
Института вирусологии им. Д.И. Ивановского
ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России
Профессор, д.б.н.



А.В. Пронин

Руководитель
Государственной коллекции вирусов
Профессор, д.м.н.

П.Г. Дерябин

ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава России



Государственная Коллекция Вирусов

123098, Москва, ул. Гамалеи, 16
Тел.: (499) 1903060, (499) 2777820 Факс.: (499) 2777819
http://www.viruscollection.ru E-mail: info@viruscollection.ru

УДОСТОВЕРЕНИЕ

Настоящее удостоверение выдано в том, что в Государственную коллекцию вирусов 16 апреля 2014г. депонирован оригинальный авторский штамм «Астр 199» вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки, выделенный из сыворотки крови больной (г. Астрахань) с 3^{го} пассажира на новорожденных белых мышах в 2012г.

Штамму присвоен номер депонента в Государственной коллекции вирусов: **1243/2**

В результате секвенирования генома гомология по L сегменту со штаммом «Дроздов» (Астрахань, 1967г.) составляет 98%, со штаммом «Кашманов» (Ростов-на-Дону, 1968г.) – 99%, по M сегменту со штаммом «Дроздов» - 99%, по S сегменту со штаммом «Кашманов» -99%.

Авторами штамма являются:

Сотрудники лаборатории биологии и индикации арбовирусов ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава России: Бутенко А.М., Ларичев В.Ф., Хуторецкая Н.В., Кузнецова Н.В., Козлова А.А., Климентов А.С.

Сотрудники лаборатории биохимии вирусов ИПЭВ им. Чумакова: Гмыль А.П.

Сотрудники вирусологической лаборатории ЦГиЭ в Астраханской области: Азарян А.Р., Гришанова А.П.

Директор
ФГБУ "НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского"
Минздрава России
Академик РАН



Д.К. Львов

Руководитель
Государственной коллекции вирусов
Профессор, Д.М.Н.

П.Г. Дерябин

ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава России



Государственная Коллекция Вирусов

123098, Москва, ул. Гамалеи, 16
 Тел.: (499) 1903060, (499) 2777820 Факс.: (499) 2777819
<http://www.viruscollection.ru> E-mail: info@viruscollection.ru

УДОСТОВЕРЕНИЕ

Настоящее удостоверение выдано в том, что в Государственную коллекцию вирусов 16 апреля 2014г. депонирован оригинальный авторский штамм «Астр 149» вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки, выделенный из сыворотки крови больной (г. Астрахань) с 3^{го} пассажира на новорожденных белых мышах в 2012г.

Штамму присвоен номер депонента в Государственной коллекции вирусов: **1242/2**

В результате секвенирования генома гомология по L сегменту со штаммом «Дроздов» (Астрахань, 1967г.) составляет 98%, со штаммом «Кашманов» (Ростов-на-Дону, 1968г.) – 99%, по M сегменту со штаммом «Дроздов» - 99%.

Авторами штамма являются:

Сотрудники лаборатории биологии и индикации арбовирусов ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава России: Бутенко А.М., Ларичев В.Ф., Хуторецкая Н.В., Кузнецова Н.В., Козлова А.А., Климентов А.С.

Сотрудники лаборатории биохимии вирусов ИПЭВ им. Чумакова: Гмыль А.П.

Сотрудники вирусологической лаборатории ЦГиЭ в Астраханской области: Азарян А.Р., Гришанова А.П.

Директор
 ФГБУ "НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского"
 Минздрава России
 Академик РАН



Д.К. Львов

Руководитель
 Государственной коллекции вирусов
 Профессор, Д.М.Н.

П.Г. Дерябин

ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава России



Государственная Коллекция Вирусов

123098, Москва, ул. Гамалеи, 16
Тел.: (499) 1903060, (499) 2777820 Факс.: (499) 2777819
<http://www.viruscollection.ru> E-mail: info@viruscollection.ru

УДОСТОВЕРЕНИЕ

Настоящее удостоверение выдано в том, что в Государственную коллекцию вирусов 16 апреля 2014г. депонирован оригинальный авторский штамм «Астр 133» вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки, выделенный из сыворотки крови больной (г. Астрахань) с 2^{го} пассажа на новорожденных белых мышках в 2012г.

Штамму присвоен номер депонента в Государственной коллекции вирусов: **1241/2**

В результате секвенирования генома гомология по L сегменту со штаммом «Дроздов» (Астрахань, 1967г.) составляет 98%, со штаммом «Кашманов» (Ростов-на-Дону, 1968г.) – 99%, по M сегменту со штаммом «Дроздов» - 98%, по S сегменту со штаммом «Дроздов» составляет 98%, со штаммом «Кашманов» - 99%.

Авторами штамма являются:

Сотрудники лаборатории биологии и индикации арбовирусов ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава России: Бутенко А.М., Ларичев В.Ф., Хуторецкая Н.В., Кузнецова Н.В., Козлова А.А., Климентов А.С.

Сотрудники лаборатории биохимии вирусов ИПЭВ им. Чумакова: Гмыль А.П.

Сотрудники вирусологической лаборатории ЦГиЭ в Астраханской области: Азарян А.Р., Гришанова А.П.

Директор
ФГБУ "НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского"
Минздрава России
Академик РАН

Руководитель
Государственной коллекции вирусов
Профессор, Д.М.Н.



Д.К. Львов

П.Г. Дерябин

ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава России



Государственная Коллекция Вирусов

123098, Москва, ул. Гамалеи, 16
Тел.: (499) 1903060, (499) 2777820 Факс.: (499) 2777819
<http://www.viruscollection.ru> E-mail: info@viruscollection.ru

УДОСТОВЕРЕНИЕ

Настоящее удостоверение выдано в том, что в Государственную коллекцию вирусов 16 апреля 2014г. депонирован оригинальный авторский штамм «Астр 212» вируса Западного Нила, выделенный из сыворотки крови больной (г. Астрахань) с 1^{го} пассажа на новорожденных белых мышях в 2013г.

Штамму присвоен номер депонента в Государственной коллекции вирусов: **1240/2**

Штамм имеет 99% идентичность со штаммами Ast99-901 и Ast-986: 51 и71 замена соответственно. Имеет идентичность 98% со штаммом 1048813, Индия, 2001г.

Авторами штамма являются:

Сотрудники лаборатории биологии и индикации арбовирусов ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава России: Бутенко А.М., Ларичев В.Ф., Хуторецкая Н.В., Кузнецова Н.В., Козлова А.А., Климентов А.С.

Сотрудники лаборатории биохимии вирусов ИПЭВ им. Чумакова: Гмыль А.П.

Сотрудники Областной инфекционной больницы г. Астрахани: Неталиева С.Ж., Бабаева М.А.

Директор
ФГБУ "НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского"
Минздрава России
Академик РАН



Д.К. Львов

Руководитель
Государственной коллекции вирусов
Профессор, Д.М.Н.

П.Г. Дерябин

Приложение 2



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
(РОСЗДРАВНАДЗОР)

**РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
НА МЕДИЦИНСКОЕ ИЗДЕЛИЕ**

от 26 ноября 2018 года № РЗН 2018/7810

На медицинское изделие
Набор реагентов для дифференциального определения IgM-антител к вирусам Зика, денге, Западного Нила и Чикунгуния в сыворотке крови человека методом иммуноферментного анализа "ИФА-IgM Зика, денге, ЗН, Чик" по ТУ 21.10.60-064-01894956-2017

Настоящее регистрационное удостоверение выдано
Федеральное государственное бюджетное учреждение "Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ "НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи" Минздрава России), Россия, 123098, Москва, ул. Гамалеи, д. 18

Производитель
Федеральное государственное бюджетное учреждение "Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ "НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи" Минздрава России), Россия, 123098, Москва, ул. Гамалеи, д. 18

Место производства медицинского изделия
Филиал "Медгамал" ФГБУ "НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи" Минздрава России, 123098, Россия, Москва, ул. Гамалеи, д. 25

Номер регистрационного досье № РД-20654/77369 от 11.01.2018

Вид медицинского изделия **349500**

Класс потенциального риска применения медицинского изделия **26**

Код Общероссийского классификатора продукции по видам экономической деятельности **21.20.23.110**

Настоящее регистрационное удостоверение имеет приложение на 1 листе приказом Росздравнадзора от 26 ноября 2018 года № 7984 допущено к обращению на территории Российской Федерации.

Руководитель Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения


М.А. Мурашко
0037922

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
(РОСЗДРАВНАДЗОР)

**ПРИЛОЖЕНИЕ
К РЕГИСТРАЦИОННОМУ УДОСТОВЕРЕНИЮ
НА МЕДИЦИНСКОЕ ИЗДЕЛИЕ**

от 26 ноября 2018 года № РЗН 2018/7810

Лист 1

На медицинское изделие

Набор реагентов для дифференциального определения IgM-антител к вирусам Зика, денге, Западного Нила и Чикунгунья в сыворотке крови человека методом иммуноферментного анализа "ИФА-IgM Зика, денге, ЗН, Чик" по ТУ 21.10.60-064-01894956-2017:

1. Набор реагентов в составе:

- планшет разборный 96-луночный "Иммуносорбент" - 2 шт.;
 - положительный контрольный образец инактивированный "K^{+(Зика)}М" - 1 пробирка (0.1 мл);
 - положительный контрольный образец инактивированный "K^{+(денге)}М" - 1 пробирка (0.1 мл);
 - положительный контрольный образец инактивированный "K^{+(ЗН)}М" - 1 пробирка (0.1 мл);
 - положительный контрольный образец инактивированный "K^{+(Чик)}М" - 1 пробирка (0.1 мл);
 - отрицательный контрольный образец инактивированный "K~М" - 1 пробирка (0.4 мл);
 - специфический антиген "АГ_{Зика}" - 1 пробирка (0.1 мл);
 - специфический антиген "АГ_{денге}" - 1 пробирка (0.1 мл);
 - специфический антиген "АГ_{ЗН}" - 1 пробирка (0.1 мл);
 - специфический антиген "АГ_{Чикунг}" - 1 пробирка (0.1 мл);
 - контрольный антиген "АГ N" - 1 пробирка (0.4 мл);
 - конъюгат Зика - 1 пробирка (0.1 мл);
 - конъюгат денге - 1 пробирка (0.1 мл);
 - конъюгат ЗН - 1 пробирка (0.1 мл);
 - конъюгат Чикунгунья - 1 пробирка (0.1 мл);
 - концентрат промывочного буфера (x50) - 1 флакон (20 мл);
 - концентрат ИФА буфера (x10) - 1 флакон (10 мл);
 - раствор для разведения хромогена (Раствор В) - 1 флакон (20 мл);
 - хромоген (Раствор А) - 1 пробирка (5 мл);
 - стоп-реагент - 1 флакон (20 мл).
2. Инструкция по применению - 1 шт.
3. Паспорт - 1 шт.
4. Пленка для заклеивания планшета - 2 шт.

Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере здравоохранения



М.А. Мурашко

0049526