

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012

УДК 616.98:578.833.25]-036.2(470)

С. А. Берилло, О. К. Демина, В. А. Терновой, А. Н. Шиков, Е. И. Сергеева, А. В. Демина,  
Н. Е. Костина, А. В. Винокурова, В. Н. Михеев, А. П. Агафонов, А. Н. Сергеев

## СЛУЧАИ ЛИХОРАДКИ ДЕНГЕ НА ТЕРРИТОРИИ РФ В 2010—2011 гг. СРЕДИ ТУРИСТОВ, ВЕРНУВШИХСЯ ИЗ ЮГО-ВОСТОЧНОЙ АЗИИ

ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии "Вектор", п. Кольцово, Новосибирская область, 630559

В ходе исследования методом иммунохроматографии и иммуноферментного анализа у 6 из 10 туристов с клиническими признаками лихорадки денге, вернувшихся из Юго-Восточной Азии в 2010—2011 гг., был обнаружен NSI-антиген вируса денге, а также IgM и IgG к вирусу денге. Анализ соотношения титров иммуноглобулинов M и G показал, что 5 туристов лихорадкой денге заболели впервые, а 1 — повторно, что является фактором риска развития тяжелых осложнений.

Таким образом, своевременная лабораторная диагностика, основанная как на выявлении NSI-антигена вируса денге, так и на определении соотношения иммуноглобулинов классов M и G, не только помогает провести дифференциальный диагноз, но и спасти жизнь пациенту, так как для повторного заболевания лихорадкой денге в случае отсутствия лечебных мероприятий характерно быстрое прогрессирование с развитием тяжелых осложнений, не совместимых с жизнью.

При наличии лихорадки у туристов, вернувшихся из стран, эндемичных по геморрагическим лихорадкам, дифференциальный диагноз рекомендуется проводить с лихорадкой денге, что подтверждают проведенные в данной работе исследования.

Ключевые слова: Юго-Восточная Азия, туристы, лихорадка денге, диагностика

S. A. Berillo, O. K. Demina, V. A. Ternovoy, A. N. Shikov, E. I. Sergeeva, A. V. Demina, N. E. Kostina, A. V. Vinokurova,  
V. N. Mikheev, A. P. Agafonov, A. N. Sergeev

DENGUE FEVER IN THE RUSSIAN FEDERATION IN TRAVELERS, RETURNING FROM SOUTHEAST ASIA IN 2010—2011  
National Research Centre of Virology and Biotechnology "Vector"

Federal State Institution of Science "State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector" of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, Koltsovo, Novosibirsk region, 630559, Russia

The aim of the work was the study of serum from patients with suspected dengue fever by both enzyme immunoassay and immunochromatography. Markers of dengue fever were detected in 6 of 10 travelers returning from Southeast Asia. Analysis of the of immunoglobulin M and G antibody titers ratio (IgG/IgM) showed that the five travelers were infected with dengue fever virus for the first time. At the same moment one of patients was infected with dengue virus repeatedly that is a risk factor for severe complications. Thus, early laboratory diagnosis of dengue based on the detection of NSI=antigen and IgG/IgM ratio has been shown not only to help in making a differential diagnosis, but also in saving the life of the patient, because the dengue fever is characterized by rapid progression to the development of severe complications which are not compatible with life.

In cases of fever in travelers which have been coming back from countries where hemorrhagic fever is endemic, we propose to make a differential diagnosis with dengue fever that was confirmed by our study.

Key words: Southeast Asia, travelers, dengue fever, diagnosis

Лихорадка денге — это вирусное заболевание, передающееся человеку через укус комаров преимущественно вида *Aedes aegypti*. Возбудители лихорадки денге входят в семейство *Flaviviridae*, род *Flavivirus*. Существует 4 субтипа вируса денге. Болезнь является эндемичной более чем для 100 стран Африки, Америки, Восточного Средиземноморья, Юго-Восточной Азии и Западной части Тихого океана. По последним оценкам, ежегодно в мире может происходить от 50 до 100 млн случаев инфицирования вирусом денге [2, 13]. Летальность при заболевании с геморрагическим синдромом достигает 2,5%. Без надлежащего лечения показатели летальности могут превышать 20% [13].

В странах Юго-Восточной Азии и Западной части Тихого океана около 1,8 млрд (более 70% населения)

человек подвержены риску заболевания лихорадкой денге. Лихорадка денге — одна из наиболее важных проблем здравоохранения в Индонезии, Мьянме, Шри-Ланке, Таиланде и Тимор-Лешти в связи с широким распространением в этих странах комаров *Aedes aegypti* как в городской, так и в сельской местности [15]. Лихорадка денге является ведущей причиной госпитализации и смерти детей в Юго-Восточной Азии [13].

В связи с обострением эпидемиологической обстановки по лихорадке денге в мире и увеличением числа российских граждан, посещающих страны, не благополучные по этой инфекции, увеличивается риск завоза возбудителя из эндемичных стран на территорию РФ.

Целью работы явилось исследование образцов крови туристов, вернувшихся из стран Юго-Восточной Азии с клинической картиной лихорадки денге, на наличие NSI-антигена вируса денге, а также иммуноглобулинов классов M и G к вирусу денге.

Для корреспонденции: Берилло Саня Александровна, аспирант, мл. науч. сотр. отдела "Коллекция микроорганизмов", e-mail:berillo@vector.nsc.ru

## Материалы и методы

Согласно приказу Роспотребнадзора от 17 марта 2008 г. № 88 "О мерах по совершенствованию мониторинга за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней", в ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор" из федеральных государственных учреждений здравоохранения Центр гигиены и эпидемиологии (ФГУЗ ЦГиЭ) в Томской и Воронежской областях в апреле—мае 2010 г. поступили образцы крови от трех туристов, вернувшихся из Таиланда и Индонезии с клинической картиной лихорадки денге. В марте—октябре 2011 г. из ФГУЗ ЦГиЭ в Омской, Новосибирской областях и из ФГУЗ ЦГиЭ в Республике Саха (Якутия) поступили образцы крови от семи туристов, вернувшихся из Таиланда с клинической картиной лихорадки денге. Информированные согласия от участников исследования были получены в учреждениях здравоохранения, из которых поступили образцы крови. Материал был доставлен в ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор" с соблюдением требований СП 1.2.036-95 "Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов 1—4-й групп патогенности". В ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор" образцы хранились при температуре -70°C.

Для выявления NS1-антигена вируса денге и иммуноглобулинов классов М и G была использована экспресс тест-система SD BIOLINE Dengue NS1 Ag + Ab Combo Test ("Standard Diagnostics, INC", Корея) на основе метода иммунохроматографии.

Для количественного определения иммуноглобулинов классов М и G к вирусу денге была использована тест-система ImmunoComb® II Dengue IgM/IgG Bispot ("Orgenics Ltd", Израиль) на основе метода иммуноферментного анализа.

Для определения первичного или повторного заражения вирусом денге вычисляли показатель соотношения титров IgM и IgG в образцах крови, забранных в лихорадочный период. В качестве контрольного значения показателя соотношения титров IgM и IgG выбрано значение 1,8, согласно данным литературы [8, 9, 12]. Превышение данного показателя свидетельствовало о первичной инфекции. Соотношение титров IgM и IgG менее 1,8 расценивалось как повторная инфекция.

Выделение РНК из 100 мкл образца крови проводили с использованием набора реагентов Рибо-сорб (ЦНИИЭ, Россия) [1]; реакцию обратной транскрип-

ции — с использованием набора реагентов Реверта-Л (ЦНИИЭ, Россия) [1].

В качестве дифференциальной диагностики лихорадки денге, рекомендованной Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ), все образцы крови были исследованы на наличие вирусов Ласса, Мачупо, Хунин, Марбург, Эбола лабораторными вариантами ПЦР тест-систем, разработанных в ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор". Образцы исследовали также на наличие вирусов лихорадки Западного Нила, японского энцефалита, клещевого энцефалита, Лангат, Повассан, Омской геморрагической лихорадки методом ПЦР с использованием наборов АмплиСенс Flavivirus-EPh производства ЦНИИЭ, Россия.

Кроме этого, были проанализированы краткие выписки из историй болезни по степени тяжести, исходу заболевания, а также клиническим проявлениям болезни, данным общего анализа крови и биохимического анализа крови заболевших.

## Результаты и обсуждение

Исследование клинических образцов методом ПЦР не установило наличия в них генетического материала (вирусной РНК) вирусов Марбург, Эбола, Ласса, Хунин, Мачупо, лихорадки Западного Нила, японского энцефалита, клещевого энцефалита, Лангат, Повассан, Омской геморрагической лихорадки.

В 6 из 10 образцов сыворотки крови методом иммунохроматографии был выявлен NS1-антиген вируса денге и иммуноглобулины классов М и G (см. таблицу).

В дальнейшем данные образцы были проанализированы методом иммуноферментного анализа для количественного определения титров антител. В сыворотке крови 5 пациентов соотношение титров IgM и IgG находилось в диапазоне от 2 до 16, что свидетельствует о первичном инфицировании. У одного пациента в лихорадочный период заболевания показатель соотношения титров IgM и IgG был меньше контрольного примерно в 7 раз, что указывает на повторное заболевание лихорадкой денге.

Все 6 пациентов находились на лечении в инфекционных клинических больницах. Состояние 4 заболевших оценивалось как средней степени тяжести, состояние 2 — как тяжелое. Исход заболевания во всех случаях был благоприятным. Из анамнеза известно, что у всех заболевших были отмечены сле-

## Результаты исследования образцов крови больных лихорадкой денге

Место проживания	Пол больного	Дата поступления образцов	Наличие NS1-антигена в крови*	Титр антител в крови		Соотношение титров IgM и IgG
				IgM	IgG	
Воронеж	М	Май 2010 г.	+	1:64	1:4	16
Томск	Ж	Май 2010 г.	+	1:128	1:64	2
Томск	М	Май 2010 г.	+	1:128	1:8	16
Омск	М	Апрель 2011 г.	+	1:32	1:128	0,25
Новосибирск	М	Май 2011 г.	+	1:256	1:64	4
Новосибирск	Ж	Июнь 2011 г.	+	1:128	1:32	4

Примечание. NS1-антиген, IgM и IgG были выявлены методом иммунохроматографии. Титры IgM и IgG определялись методом иммуноферментного анализа.

дующие проявления заболевания: фебрильная температура, головная боль, артралгия, миалгия, слабость. У 3 пациентов при осмотре на коже туловища и конечностей была обнаружена геморрагическая сыпь. В анализе крови у всех пациентов нарастала лейкопения с тромбоцитопенией, отмечалось повышение печеночных трансаминаз. У пациента из Омска наблюдалась атромбоцитемия.

По данным Регионального бюро ВОЗ для Юго-Восточной Азии, в 2010 г. в Индонезии было зарегистрировано 80 065 случаев лихорадки денге, в Таиланде — 57 948 [16]. В Индонезии пик заболеваемости приходится на январь—февраль, в то время как в Таиланде большинство случаев регистрируются в июле—сентябре. Это связано с периодом дождей и развитием благоприятных условий для размножения комаров-переносчиков [17].

Большинство завозных случаев заболевания лихорадкой денге в Европе регистрируется среди путешественников, вернувшихся из Юго-Восточной Азии, далее следуют Латинская Америка, Индия, страны Карибского бассейна и Африка [6, 7].

Лихорадка денге имеет широкий спектр клинических проявлений, часто с непредсказуемым течением и исходом [10]. Для заболевания характерно быстрое прогрессирование с развитием тяжелых осложнений, не совместимых с жизнью. Из осложнений наиболее часто встречаются серьезные желудочно-кишечные кровотечения, полиорганная недостаточность, ДВС-синдром и шок, реже — острая печеночная и почечная недостаточность, энцефалопатия, кардиомиопатия [15]. В свою очередь своевременные мероприятия по проведению симптоматического лечения таких больных позволяют эффективно снизить риск развития осложнений [13].

В течение 10 дней с момента начала клинических проявлений заболевания в крови пациентов определяется неструктурный протеин 1 (NS1) вируса денге. Лабораторная диагностика, основанная на выявлении данного антигена, позволяет диагностировать лихорадку денге на ранних сроках, когда IgM в крови еще не выявляются [15].

У всех госпитализированных пациентов, взятых в наше исследование, были отмечены клинические проявления, характерные для лихорадки денге в фебрильном периоде [15]. При исследовании образцов крови у 6 пациентов был выявлен NS1-антиген вируса денге, который указывает на репликацию вируса в организме больного и подтверждает острый период заболевания (см. таблицу). На основе полученных результатов была проведена симптоматическая терапия, направленная на предупреждение развития возможных осложнений.

Анализ соотношения титров антител к вирусу денге показывает, что у 5 пациентов титры IgM превышают титры IgG в 2—16 раз. Это свидетельствует о первичном заражении, так как при первом инфицировании лихорадкой денге у неиммунизированных пациентов развивается первичный гуморальный ответ, который характеризуется нарастанием специфических IgM уже на 3-й день после начала заболева-

ния. В низких титрах IgG обычно обнаруживаются только к концу 1-й недели заболевания и остаются на таком уровне, как правило, в течение всей жизни. В большинстве случаев первое заражение не приводит к тяжелому течению заболевания и летальному исходу [15].

Первичная инфекция оставляет пожизненный иммунитет к заражению тем субтипом вируса денге, который вызвал заболевание, а также защищает на 2—3 мес от заражения любым другим субтипом вируса денге [4].

У 1 пациента из 6 титр IgG превышал титр IgM в 4 раза (см. таблицу), что, вероятнее всего, свидетельствует о повторном заболевании лихорадкой денге, так как во время повторного инфицирования вирусом денге другого субтипа титры антител нарастают быстрее в основном за счет IgG. Титр IgM во время повторной инфекции, вызванной другим субтипом, значительно ниже, чем при первой встрече с возбудителем [2]. Данное наблюдение является важным прогностическим признаком, так как повторное инфицирование вирусом денге является фактором риска развития тяжелых осложнений и летального исхода [3, 5, 11]. В этом случае своевременное лечение данного пациента играет крайне важную роль.

## Заключение

Таким образом, в процессе исследования ни у одного из 10 пациентов с клинической картиной лихорадки денге, вернувшихся из стран Юго-Восточной Азии, не был обнаружен генетический материал вирусов Марбург, Эбола, Ласса, Хунин, Мачупо, лихорадки Западного Нила, японского энцефалита, клещевого энцефалита, Лангат, Повассан, Омской геморрагической лихорадки.

У 6 из 10 пациентов были обнаружены NS1-антиген вируса денге, а также IgM и IgG к вирусу денге, что позволило установить причину заболевания на ранней стадии и провести своевременные лечебные мероприятия, в результате которых у всех пациентов заболевание завершилось выздоровлением без развития осложнений. Кроме того, в ходе анализа соотношения титров антител было установлено, что один из заболевших ранее уже перенес данное заболевание и соответственно имеет высокий риск развития осложнений.

Своевременная лабораторная диагностика, основанная как на выявлении NS1-антигена вируса денге, так и на определении соотношения иммуноглобулинов классов M и G, является необходимой процедурой не только для подтверждения диагноза лихорадки денге, но и для определения больных, имеющих высокий риск развития осложнений, не совместимых с жизнью. Также необходимо отметить, что при обращении пациентов, вернувшихся из стран, эндемичных по геморрагическим лихорадкам, с признаками острого инфекционного заболевания необходимо проводить дифференциальный диагноз с лихорадкой денге, что подтверждают проведенные в данной работе исследования.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Каталог продукции ООО "ИнтерЛабСервис" // Сайт ИЛС. URL: <http://www.interlabservice.ru/catalog/reagents/index.php?sid=678>
2. Chantana S., Anantapreecha S., Nuegoonpipat A. et al. Analysis of specific IgM responses in secondary dengue virus infections: levels and positive rates in comparison with primary infections // J. Clin. Virol. — 2004. — Vol. 31. — P. 185—189.
3. Guzman M. G. Effect of age on outcome of secondary dengue 2 infections // Intern. J. Infect. Dis. — 2002. — Vol. 6. — P. 118—124.
4. Halstead S. B. Etiologies of the experimental dengues of Siler and Simmons // Am. J. Trop. Med. Hyg. — 1974. — Vol. 23. — P. 974—982.
5. Halstead S. B. Pathophysiology and pathogenesis of dengue haemorrhagic fever // Monograph on Dengue/Dengue Haemorrhagic Fever / Ed. P. Thongchareon. — New Delhi, 1993. — P. 80—103.
6. Innis B. An enzyme-linked immunosorbent assay to characterize dengue infections where dengue and Japanese encephalitis co-circulate // Am. J. Trop. Med. Hyg. — 1989. — Vol. 40. — P. 418—427.
7. Jelinek T. Trends in the epidemiology of dengue fever and their relevance for importation to Europe // Euro Surveill. 2009; 14 (25): pii = 19250. URL: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19250>.
8. Kuno G., Gomez I., Gubler D. J. An ELISA procedure for the diagnosis of dengue infections // J. Virol. Meth. — 1991. — Vol. 33. — P. 101—113.
9. PAHO. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever in the Americas: Guidelines for Prevention and Control. (Scientific Publication N 548). — Washington, 1994.
10. Runge-Ranzinger S., Horstreck O., Marx M., Kroeger A. What does dengue disease surveillance contribute to predicting and detecting outbreaks and describing trends? // Trop. Med. Int. Hlth. — Vol. 13. — P. 1022—1041.
11. Sangkawibha N. Risk factors in dengue shock syndrome: a prospective epidemiologic study in Rayong, Thailand. I. The 1980 outbreak // Am. J. Epidemiol. — 1984. — Vol. 120. — P. 653—669.
12. Shu Pei-Yun, Chen Li-Kuang, Chang Shu-Fen. Comparison of a capture immunoglobulin M (IgM) and IgG ELISA and non-structural protein NS1 serotype-specific IgG ELISA for differentiation of primary and secondary dengue virus infections // Clin. Diagn. Lab. Immunol. — 2003. — Vol. 10. — P. 622—630.
13. WHO. Dengue and dengue haemorrhagic fever // Factsheet No 117, revised январь 2012. Geneva. World Health Organization, 2012. URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/>.
14. WHO. Dengue Haemorrhagic Fever: Diagnosis, Treatment, Prevention and Control. — 2nd Ed. Geneva, 1997.
15. World Health Organization. Dengue: Guidelines for Diagnosis, Treatment, Prevention and Control. — New Ed. — , 2009.
16. WHO/SEARO. Situation update of dengue in the SEA Region, 2010 // World Health Organization Regional Office for South-East Asia, 2011. URL: <http://www.searo.who.int/en/Section10/Section332.htm>
17. WHO/SEAR. Trend of Dengue case and CFR in SEAR Countries // World Health Organization Regional Office for South-East Asia, 2011. URL: [http://www.searo.who.int/en/Section10/Section332/Section2277\\_11964.htm](http://www.searo.who.int/en/Section10/Section332/Section2277_11964.htm)

Поступила 18.04.12

## Сведения об авторах:

**Демина Ольга Константиновна**, науч. сотр. отдела "Коллекция микроорганизмов", ФБУН Государственный НЦ вирусологии и биотехнологии "Вектор", e-mail: demina@vector.nsc.ru; **Терновой Владимир Александрович**, канд. биол. наук, зав. лаб. молекулярной эпидемиологии особо опасных инфекций, ФБУН Государственный НЦ вирусологии и биотехнологии "Вектор", e-mail: tern@vector.nsc.ru; **Шиков Андрей Николаевич**, науч. сотр. отд. "Коллекция микроорганизмов", ФБУН Государственный НЦ вирусологии и биотехнологии "Вектор", e-mail: shikov\_nsk@mail.ru; **Сергеева Елена Игоревна**, науч. сотр. отд. "Коллекция микроорганизмов", ФБУН Государственный НЦ вирусологии и биотехнологии "Вектор", e-mail: esergeeva@vector.nsc.ru; **Демина Анна Владимировна**, мл. науч. сотр. лаб. молекулярной эпидемиологии особо опасных инфекций, ФБУН Государственный НЦ вирусологии и биотехнологии "Вектор"; **Костина Нина Егоровна**, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. отд. "Коллекция микроорганизмов", ФБУН Государственный НЦ вирусологии и биотехнологии "Вектор", e-mail: nekostina@vector.nsc.ru; **Винокурова Анна Вячеславовна**, мл. науч. сотр. отд. "Коллекция микроорганизмов", ФБУН Государственный НЦ вирусологии и биотехнологии "Вектор", e-mail: vinokurova\_av@vector.nsc.ru; **Михеев Валерий Николаевич**, канд. мед. наук, зам. генерального директора по научной и эпидемиологической работе, ФБУН Государственный НЦ вирусологии и биотехнологии "Вектор", e-mail: vn\_mikheev@vector.nsc.ru; **Агафонов Александр Петрович**, доктор биол. наук, зам. генерального директора по научной работе, ФБУН Государственный НЦ вирусологии и биотехнологии "Вектор", e-mail: agafovov@vector.nsc.ru; **Сергеев Александр Николаевич**, доктор мед. наук, проф., генеральный директор ФБУН Государственный НЦ вирусологии и биотехнологии "Вектор", e-mail: an\_sergeev@vector.nsc.ru.