

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 616.98:578.833.25]-078.33

Акиншина Ю.А.¹, Ларичев В.Ф.², Марданлы С.Г.¹, Бутенко А.М.², Хуторецкая Н.В.², Сайфуллин М.А.³

ПРИМЕНЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНЫХ ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ЛИХОРАДКИ ДЕНГЕ

¹ЗАО «ЭКОлаб», 142530, Московская обл., Электрогорск, ул. Буденного, 1; ²ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи», «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава России, 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, 18;

³ГБУЗ «Инфекционная клиническая больница № 1» ДЗМ, 123367, Москва, Волоколамское шоссе, д. 63

В результате применения экспериментальных тест-систем ИФА-IgM-денге, ИФА-IgM-ЗН и ИФА-IgM-КЭ при обследовании сывороток крови больных лихорадкой Денге (ЛД), лихорадкой Западного Нила (ЛЗН) и клещевым энцефалитом (КЭ) установлена возможность четкой дифференциальной диагностики этих родственных флавивирусных инфекций. Применение ИФА-IgG тест-систем не обеспечивает такой возможности по причине выраженных перекрестных реакций группоспецифических IgG-антител.

В статье приводятся данные о динамике IgM- и IgG-антител у больных лихорадкой Денге. Обнаружение специфических IgG в первые дни заболевания может указывать на вторичный характер инфицирования и возможность развития геморрагического синдрома.

Ключевые слова: лихорадка Денге; ИФА-IgM; ИФА-IgG; дифференциальная серологическая диагностика; динамика IgM- и IgG-антител.

Для цитирования: Эпидемиология и инфекционные болезни. 2015; 20 (4): 8–12.

Akinshina Yu. A.¹, Larichev V. F.², Mardanly S. G.¹, Butenko A. M.², Khutoretskaya N. V.², Saifullin M. A.³

APPLICATION OF IMMUNOASSAY SYSTEMS FOR DIAGNOSIS OF DENGUE FEVER

IZAO "ECOLab", 1, Budennogo Str., Electrogorsk, Moscow Region, Russian Federation, 142530;

2 D. I. Ivanovsky Institute of Virology, 16, Gamalei Str., Moscow, Russian Federation Russian, 123098

3 Infectious Clinical Hospital №1, 63, Volokolamskoye Sh., Moscow, Russian Federation, 123367

As a result of the application of experimental test systems "ELISA-IgM-dengue", "ELISA-IgM-WN" and "ELISA-IgM-TBE" when examining sera from patients with dengue fever (DF), West Nile fever (WNF) and tick-borne encephalitis (TBE) there was established the possibility of a clear differential diagnosis of these related flavivirus infections. Application of the ELISA-IgG test systems fail to provide such an opportunity due to cause of pronounced cross-reactions of group-IgG antibodies. In the article there are presented data on dynamics of IgM and IgG antibodies in patients with dengue fever. Detection of specific IgG in the first days of the disease may indicate to a secondary nature of infection and the possibility of the development of hemorrhagic syndrome.

Key words: dengue fever; ELISA-IgM; ELISA-IgG; a differential serological diagnosis; the dynamics of IgM and IgG antibodies

For citation: Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni. 2015; 20(4): 8–12. (In Russ.)

За последние 10 лет заболеваемость лихорадкой Денге (ЛД) выросла примерно в 30 раз. Среди 2,5 млрд человек, проживающих в эндемичных районах мира, ежегодно регистрируется до 100 млн больных классической формой этого заболевания и 500 тыс. больных ЛД с геморрагическим синдромом (ГЛД) [1].

В связи с развитием массового туризма участились случаи завоза этого заболевания на эндемичные территории, в том числе и в РФ [2]. За последние годы среди больных, госпитализированных в Инфекционную клиническую больницу № 1 нами верифицировано 157 случаев ЛД [3]. Имеется информация о случаях ЛД в Тюмени, Санкт-Петербурге, Новосибирске, Омске, Хабаровске и

Приморском крае [4, 5]. Эти данные указывают на необходимость создания отечественных ИФА тест-систем для ранней диагностики ЛД. Метод ИФА-IgM при обследовании пациентов в острый период ЛД является основным в серологической экспресс-диагностике и позволяет проводить дифференциальную диагностику родственных флавивирусных инфекций [6, 7].

Согласно основной версии, ГЛД развивается вследствие последовательного инфицирования гетерологичными вирусами Денге или обуславливается присутствием в крови больного анамнестических антител к другим флавивирусам, например желтой лихорадки (ЖЛ), лихорадки Западного Нила (ЛЗН), японского энцефалита (ЯЭ) и др. [8, 9]. В подобных случаях группоспецифические IgG-антитела могут быть обнаружены начиная с острого периода болезни, что является важным маркером возможного развития ГЛД [9, 10].

Цель исследования заключалась в определении

Для корреспонденции: Акиншина Юлия Александровна, науч. сотр.; микробиолог отдела перспективных разработок ЗАО «ЭКОлаб», 142530, Московская область, Электрогорск, ул. Буденного, 1. E-mail: akinshina.opr@mail.ru

эффективности использования наших экспериментальных ИФА-тест-систем для диагностики ЛД и дифференциации этого заболевания от других flavivirusных инфекций.

Материалы и методы

Сыворотки крови больных ЛД, КЭ, ЛЗН. Сыворотки больных КЭ получены из ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Вологодской области»; сыворотки крови от больных ЛЗН – из вирусологической лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Астраханской области», Астрахань; сыворотки больных ЛД – из Инфекционной клинической больницы № 1, Москва. Выражаем благодарность сотрудникам этих учреждений за предоставление материалов.

Метод ИФА-IgM. Определение специфических IgM-антител к вирусам Денге, ЗН, КЭ проводили методом MAC-ELISA [2]. В каждом опыте использовали специфические или нормальные (контрольные) антигены, а также контрольные, позитивные на IgM-антитела, сыворотки больных. Реакцию считали положительной, если отношение экстинкции опытных и контрольных образцов составляло не менее 3,0 (при оптической плотности (ОП) не ниже 0,3 для опытных образцов и не выше 0,1 в контроле).

Метод ИФА-IgG. Определение специфических IgG-антител к вирусам Денге, ЗН, КЭ проводили методом ИФА-IgG [11] в 96-луночных полистироловых планшетах с сорбированными поликлональными мышинными противовирусными антителами IgG. Остальные реагенты вносили в следующей последовательности: блокирующий раствор 1% бычьего сывороточного альбумина, специфичный вирусный антиген (или нормальный контрольный антиген), обследуемые сыворотки и мышинные антитела иммуноглобулином IgG человека, меченные пероксидазой хрена. Реакцию учитывали также как при постановке MAC-ELISA.

Статистические методы. Статистическую обработку результатов исследований проводили по стандартным методикам (Прохоров Ю.В., 1973; Тутубалин В.Н., 1992; Ширяев А.Н., 1989). Среднее

геометрическое титров (M_x) и среднеквадратического отклонения (σ_x) рассчитывали по формулам:

$$\sigma_x = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - M_x)^2}{n-1}}; M_x = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n},$$

где x_1, x_2, \dots, x_n – это n реализаций случайной величины X .

Поскольку титры специфических антител, выявляемых у больных методом ИФА, не подчиняются нормальному (гауссовому) распределению, для непараметрической оценки достоверности различий двух статистических выборок использовали метод Манна–Уитни. Уровень значимости был принят $p \leq 0,05$.

Математическая и статистическая обработка результатов проводилась при помощи программ Microsoft Office Excel 2003 и Microsoft Office Access 2003.

Результаты исследования

В MAC-ELISA были обследованы сыворотки крови больных, содержащие специфические IgM антитела: 117 образцов от 110 больных ЛД и по 24 сыворотки больных КЭ и ЛЗН для определения возможности дифференциальной диагностики этих инфекций.

При исследовании сывороток в гомологичных тест-системах специфические антитела выявлялись в 100% случаев.

В тест-системе ИФА-IgM-денге слабopоложительной оказалась только одна сыворотка от больного ЛЗН (4,2%). В тест-системе ИФА-IgM-КЭ среди гетерологичных сывороток крови положительными оказалось 2 образца от больных ЛЗН (8,3%) и слабopоложительными 2 сыворотки больных ЛД (1,7%). Результаты тестирования сывороток в тест-системе ИФА-IgM-ЗН оказались следующими: 4 слабopоложительных пробы больных ЛД (3,4%) и 2 слабopоложительных пробы больных КЭ (8,3%) (табл. 1).

Эти данные свидетельствуют о возможности использования метода ИФА-IgM для дифференциальной диагностики flavivirusных заболеваний с использованием качественной и количественной оценки результатов.

Таблица 1

Данные исследования сывороток крови больных ЛД, КЭ и ЛЗН в ИФА-IgM в гомологичных и гетерологичных тест-системах

Категория сывороток	Тест-система								
	ИФА-IgM-денге			ИФА-IgM-КЭ			ИФА-IgM-ЗН		
	исследованные сыворотки больных								
	ЛД (n = 117)	КЭ (n = 24)	ЛЗН (n = 24)	ЛД (n = 117)	КЭ (n = 24)	ЛЗН (n = 24)	ЛД (n = 117)	КЭ (n = 24)	ЛЗН (n = 24)
Положительные	117	–	–	–	24	2	–	–	24
Слабopоложительные	–	–	1	2	–	–	4	2	–
Отрицательные	–	24	23	115	–	22	113	22	–

Таблица 2

Данные исследования в ИФА-IgM сывороток крови больных ЛД

Дни от начала заболевания	Число положительных сывороток крови больных ЛД	Средние значения титров	
		log±σ	абс.
1–3-й	12	7,4±1,0	1:167
4–6-й	34	10,6±1,8	1:1609
7–9-й	50	11,5±1,6	1:2862
10–25-й	21	12,2±1,2	1:4781
Всего	117	10,4±1,4	1:2355

Таблица 3

Данные исследования в ИФА-IgG сывороток крови больных ЛД

Дни от начала заболевания	Число обследованных сывороток крови больных ЛД	Положительные результаты по IgG		Средние значения титров	
		%	абс.	log±σ	абс.
1–3-й	12	8,3	1	6,6	1:100
4–6-й	34	17,6	6	8,9±1,4	1:717
7–9-й	50	34,0	17	10,2±1,6	1:1913
10–25-й	21	100,0	21	11,7±1,0	1:4210
Всего	117	38,5	45	9,3±1,0	1:1735

Средние геометрические значения титров антител IgM в сыворотках больных ЛД составляли $7,4 \pm 1,0 \log_2$ (1:167) на 1–3-й день ($p < 0,001$), резко возрастая до $10,6 \pm 1,8 \log_2$ (1:1609) к концу первой недели ($p < 0,04$). После 10-го дня от начала заболевания этот показатель оказался выше, чем на 7–9-й день, и составил $12,2 \pm 1,2 \log_2$ (1:4781) ($p < 0,02$). В этот период в 11 из 21 образца были получены высокие значения титров IgM 1:1600–1:12 800. Наиболее демонстративной выглядит практически троекратная разница в титрах при обследовании сывороток крови, взятых на 4–6-й и 10–25-й день заболевания ($p < 0,002$). Средний показатель титров 1: 4781 сохраняется до конца месяца, на более высоком уровне ($p < 0,01$ и $p < 0,005$), чем на 4–6-й и 7–0-й день (табл. 2).

При обследовании парных сывороток от 7 больных, у 4 наблюдалась выраженная сероконверсия антител от 1:100 до 1:800 (7-й день); 1:1600 (9-й день); 1:1600 (10-й день) и 1:6400 (19-й день). В двух случаях обнаружены устойчивые титры IgM, в одном – незначительное снижение титров.

В тест-системе ИФА-денге-IgG были протестированы те же 117 сывороток. Специфические IgG в периоды на 1–3, 4–6, 7–9-й и 10–25-й дни от начала заболевания были обнаружены соответственно в 8,3; 17,6; 34 и 100% случаев. Средние геометрические значения титров IgG в эти сроки составляли $6,6 \log_2$ (1: 100); $8,9 \pm 1,4 \log_2$ (1:717); $10,2 \pm 1,6 \log_2$ (1:1913) и $11,7 \pm 1,0 \log_2$ (1:4210). Титры IgG на 10–25-й день от начала заболевания оказались достоверно выше, чем на 4–6 и 7–9-й дни ($p < 0,001$), достигая у некоторых пациентов значений 1:12 800 и 1:25 600, Положитель-

ный результат обследования одного больного на 3-й день болезни, возможно, связан со вторичной инфекцией Денге либо с присутствием анамнестических антител к гетерологичному флавивирусу (табл. 3).

Отсутствие IgG в острой фазе заболевания обычно является признаком первичной инфекции Денге. Обнаружение специфических IgG в крови на 3-й день болезни может указывать на возможность развития ГЛД.

Сопоставление значений ОП (для разведения 1:100) с титрами IgG-антител к вирусам денге, ЗН, КЭ указывает на прямую зависимость этих величин. Так, ОП 0,5 соответствует титру антител 1:200; ОП 0,6–0,7 – титрам 1:400–1:800; при ОП 1,7–2,2 титры IgG-антител достигают значений 1:12 800, 1:25 600, 1:51 200. Установленная корреляция определяет возможность использования значения ОП для количественной оценки концентрации специфических IgG-антител в сыворотках крови больных ЛД, ЛЗН и КЭ (рис. 1).

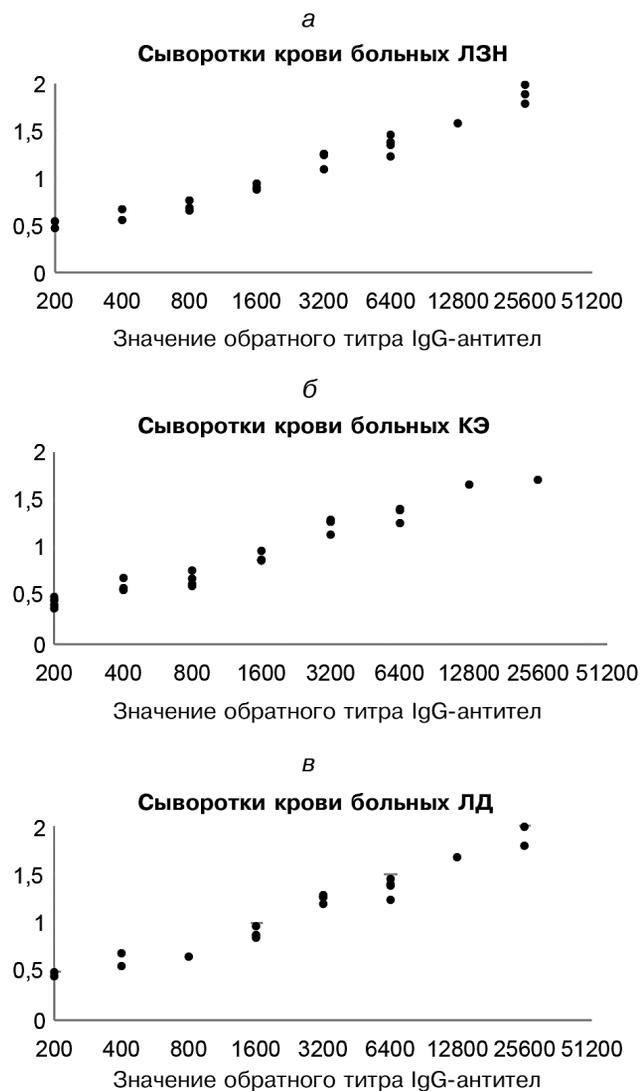


Рис. 1. Зависимость оптической плотности (ОП) образцов сывороток крови больных ЛЗН (а), КЭ (б), ЛД (в) в разведении 1:100 от титра антител в гомологичных тест-системах.

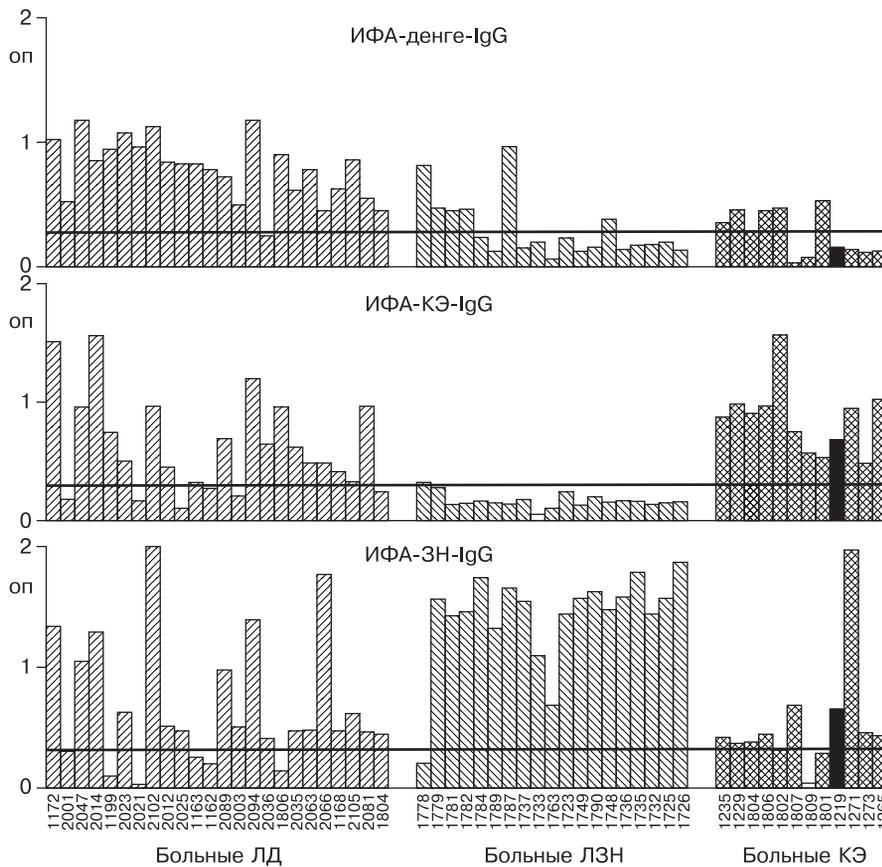


Рис. 2. ОП сывороток крови больных Денге, ЛЗН и КЭ в гомологичных и гетерологичных тест-системах ИФА-IgG. Линия тренда отображает значение ОП 0,3, выше которого сыворотки считаются положительными.

Для определения дифференциальной способности тест-систем ИФА-IgG-денге, ИФА-IgG-КЭ и ИФА-IgG-ЗН мы обследовали образцы сывороток крови больных ЛД ($n = 24$), КЭ ($n = 12$) и ЛЗН ($n = 19$), содержащие специфические IgG-антитела, выявляемые в гомологичных и гетерологичных тест-системах.

В тест-системе ИФА-IgG-денге положительными оказались 6 (31,6%) сывороток больных ЛЗН и 4 (33,3%) сыворотки больных КЭ. Слабоположительными – по 2 сыворотки из гетерологичных групп.

При обследовании тех же образцов в тест-системе ИФА-IgG-КЭ положительными оказались 16 (66,7%) сывороток от больных ЛД и слабоположительными 2 сыворотки больных ЛД и 1 образец от больного КЭ (8,3% в обоих случаях).

В результате тестирования в тест-системе ИФА-IgG-ЗН обнаружено 18 положительных сывороток крови от больных ЛД и 9 сывороток больных КЭ (75% в обоих случаях) и 1 слабоположительная проба больного ЛД (4,2%).

В большинстве случаев количество сывороток, выявляемых в гомологичной тест-системе, преобладает над числом сывороток, выявляемых в гетерологичных тест-системах. Особенно это касается сывороток от реконвалесцентов ЗН и КЭ, однако в гетерологичных тест-системах они нередко учиты-

ваются как положительные и слабоположительные. Например, в тест-системе ИФА-денге-IgG среди гетерологичных образцов положительными и слабоположительными оказались 45% сывороток, в тест-системе ИФА-КЭ-IgG этот показатель составил 44,2%, а в ИФА-ЗН-IgG – 77,8% (рис. 2).

Метод ИФА-IgG практически не пригоден для дифференциальной диагностики флавивирусных инфекций по причине выраженного перекрестного взаимодействия гетерологичных IgG-антител. Например, сыворотка больного КЭ (№ 1271/черный столбец) наиболее активно реагировала в тест-системе ИФА-ЗН-IgG. Подобные результаты наблюдались и при обследовании ряда сывороток от больных ЛД в тест-системе ИФА-ЗН-IgG.

Результаты исследований, представленные в настоящей статье, совпадают с аналогичными данными других авторов [12–15] и свидетельствуют о высокой специфичности IgM-антител при обследовании больных ЛД, ЛЗН, КЭ и других родственных флавивирусных инфекций, что позволяет с успехом использовать метод ИФА-IgM

(MAC-ELISA) для их дифференциальной серологической диагностики. При наличии перекрестных реакций, выявляемых у ряда больных в тест-системах ИФА-IgM-денге, ИФА-IgM-ЗН и ИФА-IgM-КЭ, адекватный вывод об этиологическом значении этих вирусов может быть сделан на основании сравнения титров антител, выявляемых антигенами гомологичных или гетерологичных вирусов, а также по показателям ОП обследуемых сывороток.

Таким образом, применение тест-систем ИФА-IgG, как правило, не обеспечивает дифференцирующего результата. На основании обследования значительного числа сывороток крови больных ЛД, а также других флавивирусных инфекций в ИФА-IgM тест-системах, разработанных в лаборатории биологии и индикации флавивирусов, можно сделать вывод об их специфичности, чувствительности и пригодности для диагностики лихорадки денге.

ЛИТЕРАТУРА

1. Dengue and severe dengue: Fact Sheet No 117. Geneva: World Health Organization (WHO); 2012. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/index.html> (cited March 4, 2013).
2. Ларичев В.Ф., Сайфуллин М.А., Акиншина Ю.А., Хуторецкая Н.В., Бутенко А.М. Завозные случаи арбовирусных инфекций в Российской Федерации. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2012; 1: 35–9.

3. Сайфуллин М.А., Ларичев В.Ф., Бутенко А.М., Малышев Н.А. Завозные случаи арбовирусных лихорадок в Москве. В кн.: *Материалы 8 научно-практической конференции «Инфекционные болезни и антимикробные средства»*. М.; 2010: 54–5.
4. Попов А.Ф., Симакова А.И., Киряков В.Ю., Петухова С.А., Дадалова О.Б., Сокотун С.А., Шаповаленко А.М. Лихорадка денге в Приморском крае. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2014; 4: 45–6.
5. Сафонов А.Д. Случай завоза геморрагической лихорадки денге в Омске. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2012; 1: 49–51.
6. Malavige G.N., Fernando S., Fernando D.J., Seneviratne S.L. Dengue viral infections. *Postgrad Med. J.* 2004; 80 (948): 588–601.
7. Martin D.A., Muth D.J., Brown T., Johnson A.J., Karabatsos N., Roehrig J.T. Standardization of immunoglobulin M capture enzyme-linked immunosorbent assays for routine diagnosis of arboviral infections. *Clin. Microbiol.* 2000; 38: 1823–36.
8. Guzman J.R., Kron M.A. Threat of dengue haemorrhagic fever after yellow fever vaccination. *Lancet*. 1997; 9068: 1841.
9. Mungrue K.I. The laboratory diagnosis of dengue virus infection, a review. *Adv. Lab. Med. Int.* 2014; 4 (1): 1–8.
10. WHO. Dengue: Guidelines for Diagnosis, Treatment, Prevention and Control. New ed. 2009.
11. Meegan J.M., LeDuc J.W. Enzyme immunoassay. In: *Manual of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome* / Eds Ho Wang Lee, J.M. Dalrymple. Korea, Seoul; 1989: 83–7.
12. Bundo K., Igarashi A. Antibody-capture ELISA for detection of immunoglobulin M antibodies in sera from Japanese encephalitis and dengue hemorrhagic fever patients. *J. Virol. Meth.* 1985; 11 (1): 15–22.
13. Martin D.A., Biggerstaff B.J., Allen B., Johnson A.J., Lanciotti R.S., Roehrig J.T. Use of immunoglobulin M cross-reactions in differential diagnosis of human flaviviral encephalitis infections in the United States. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2002; 9 (3): 544–9.
14. Dobler G., Jelinek T., Frosner G., Nothdurft H. D., Losher T. Serological cross reactions against TBE virus, yellow fever virus and West Nile Virus in patients with acute dengue fever. In: *Fifth International Conference on Travel Medicine*. Geneva; 1997.
15. Miagostovich M.P., Nogueira R.M., dos Santos F.B., Schatzmayr H.G., Araújo E.S., Vorndam V. Evaluation of an IgG enzyme-linked immunosorbent assay for dengue diagnosis. *J. Clin. Virol.* 1999; 14 (3): 183–9.
- in Primorsky Krai. *Meditinskaya parazitologiya i parazitarnye bolezni*. 2014; 4: 45–6. (in Russian)
5. Safonov A.D. The case of the importation of hemorrhagic fever Omsk. *Epidemiolgiya i infeksionnye bolezni*. 2012; 1: 49–51. (in Russian)
6. Malavige G.N., Fernando S., Fernando D.J., Seneviratne S.L. Dengue viral infections. *Postgrad Med. J.* 2004; 80 (948): 588–601.
7. Martin D.A., Muth D.J., Brown T., Johnson A.J., Karabatsos N., Roehrig J.T. Standardization of immunoglobulin M capture enzyme-linked immunosorbent assays for routine diagnosis of arboviral infections. *Clin. Microbiol.* 2000; 38: 1823–36.
8. Guzman J.R., Kron M.A. Threat of dengue haemorrhagic fever after yellow fever vaccination. *Lancet*. 1997; 9068: 1841.
9. Mungrue K.I. The laboratory diagnosis of dengue virus infection, a review. *Adv. Lab. Med. Int.* 2014; 4 (1): 1–8.
10. WHO. Dengue: Guidelines for Diagnosis, Treatment, Prevention and Control. New ed. 2009.
11. Meegan J.M., LeDuc J.W. Enzyme immunoassay. In: *Manual of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome* / Eds Ho Wang Lee, J.M. Dalrymple. Korea, Seoul; 1989: 83–7.
12. Bundo K., Igarashi A. Antibody-capture ELISA for detection of immunoglobulin M antibodies in sera from Japanese encephalitis and dengue hemorrhagic fever patients. *J. Virol. Meth.* 1985; 11 (1): 15–22.
13. Martin D.A., Biggerstaff B.J., Allen B., Johnson A.J., Lanciotti R.S., Roehrig J.T. Use of immunoglobulin M cross-reactions in differential diagnosis of human flaviviral encephalitis infections in the United States. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2002; 9 (3): 544–9.
14. Dobler G., Jelinek T., Frosner G., Nothdurft H. D., Losher T. Serological cross reactions against TBE virus, yellow fever virus and West Nile Virus in patients with acute dengue fever. In: *Fifth International Conference on Travel Medicine*. Geneva; 1997.
15. Miagostovich M.P., Nogueira R.M., dos Santos F.B., Schatzmayr H.G., Araújo E.S., Vorndam V. Evaluation of an IgG enzyme-linked immunosorbent assay for dengue diagnosis. *J. Clin. Virol.* 1999; 14 (3): 183–9.

Received 15.05.15

Сведения об авторах:

Ларичев Виктор Филиппович, канд. мед. наук, вед. науч. сотр. ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи», «НИИ вирусологии им. Д.И. Иванова» Минздрава России, e-mail: arboelisa@mail.ru; **Козлова Алина Александровна**, науч. сотр. ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи», «НИИ вирусологии им. Д.И. Иванова» Минздрава России, e-mail: arboelisa@mail.ru; **Сайфуллин Мухамад Абдулфаритович**, врач-инфекционист, зав. отд-нием ГБУЗ «Инфекционная клиническая больница № 1» ДЗМ, e-mail: dr_saifullin@mail.ru; **Марданлы Сейфаддин Гашимович**, канд. мед. наук, директор по науке ЗАО «ЭКОлаб», e-mail: ekolab-sekretar@mail.ru; **Бутенко Александр Михайлович**, доктор биол. наук, проф., руководитель лаб. индикации арбовирусов ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи», «НИИ вирусологии им. Д.И. Иванова» Минздрава России, e-mail: arboelisa@mail.ru

Поступила 15.05.15

REFERENCES

1. Dengue and severe dengue: Fact Sheet No 117. Geneva: World Health Organization (WHO); 2012. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/index.html> (cited March 4, 2013).
2. Larichev V.F., Sayfullin M.A., Akinshina Yu.A., Khutoretskaya N.V., Butenko A.M. Imported cases of arbovirus infections in the Russian Federation. *Epidemiolgiya i infeksionnye bolezni*. 2012; 1: 35–9. (in Russian)
3. Sayfullin M.A., Larichev V.F., Butenko A.M., Malyshev N.A. Imported cases of arboviral fevers in Moscow. [Zavoznye sluchai arbovirusnykh likhoradok v Moskve]. In: *Proceedings of the 8th International Symposium "Infectious Diseases and Antimicrobial Agents"*. Moscow; 2010. (in Russian)
4. Popov A.F., Simakova A.I., Kiryakov V.Yu., Petukhova S.A., Dadalova O.B., Sokotun S.A., Shapovalenko A.M. Dengue fever