

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 578.833.25.083.33.(470.1/6)

Козлова А.А.¹, Бутенко А.М.¹, Ларичев В.Ф.¹, Вашкова В.В.¹, Сайфуллин М.А.², Азарян А.Р.³,
Гришанова А.П.³, Иващенко Е.И.³, Гушин В.А.¹, Щетинин А.М.¹, Никифорова М.А.¹,
Климентов А.С.^{1,4}, Прилипов А.Г.¹, Альховский С.В.¹.

РЕЗУЛЬТАТЫ ВИРУСОЛОГИЧЕСКОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ КЛИНИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ ОТ БОЛЬНЫХ ОСТРЫМИ ЛИХОРАДОЧНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ НЕЯСНОЙ ЭТИОЛОГИИ

¹ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени Н. Ф. Гамалеи», подразделение «Институт вирусологии имени Д.И. Ивановского» Минздрава России, 123098, г. Москва, Россия, ул. Гамалеи, д. 18;

²ГБУЗ «Инфекционная клиническая больница № 1» Департамента здравоохранения города Москвы, 125367, г. Москва, Россия, Волоколамское шоссе д.63;

³ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Астраханской области», 414024, Астраханская область, г. Астрахань, Россия, ул. Н. Островского/Кирова д.122/89;

⁴ФГБНУ «Федеральный научный центр исследования и разработки иммунобиологических препаратов имени М.П. Чумакова РАН», 108819, Москва, Россия, пос. Московский, п. Института полиомиелита, двлд. 8, стр. 1

В 2012-2018 гг. в опытах интрацеребрального заражения новорожденных белых мышей было обследовано 243 пробы крови, сывороток крови, мочи и слюны больных острыми лихорадочными заболеваниями, госпитализированными в лечебные учреждения Астрахани, Астраханской области и Инфекционную больницу № 1 г. Москвы. В результате было выделено 8 штаммов вируса денге 1 от пациентов, инфицированных в Таиланде (7 штаммов) и Вьетнаме (1 штамм); восемь штаммов вируса денге 2 от больных, заразившихся в Таиланде (5 штаммов), Индонезии (2 штамма) и на Мальдивских островах (1 штамм); по одному штамму вируса денге 3 и Чикунгунья (азиатский генотип от пациентов, госпитализированных после возвращения в Москву из поездок на Филиппины; 2 штамма вируса Зика азиатского генотипа от больных, посетивших Доминиканскую Республику; 6 штаммов вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки генотипа Европа 1 и 1 штамм вируса Западного Нила генотипа 1a от больных – жителей Астраханской области.

Ключевые слова: острые лихорадочные заболевания; вирусологическое обследование больных; Крымская-Конго геморрагическая лихорадка; лихорадки Западного Нила, денге, Чикунгунья.

Для цитирования: Козлова А.А., Бутенко А.М., Ларичев В.Ф., Вашкова В.В., Сайфуллин М.А., Азарян А.Р., Гришанова А.П., Иващенко Е.И., Гушин В.А., Щетинин А.М., Никифорова М.А., Климентов А.С., Прилипов А.Г., Альховский С.В. Результаты вирусологического обследования клинических материалов от больных острыми лихорадочными заболеваниями неясной этиологии. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2018; 23(6): 286-293. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1560-9529-2018-23-6-286-293>.

Kozlova A.A.¹, Butenko A.M.¹, Larichev V.F.¹, Vashkova V.V.¹, Saifullin M.A.², Azarian R.A.³, Grishanova A.P.³,
Ivashchenko E.I.³, Gushin V.A.¹, Shchetinin A.M.¹, Nikiforova M.A.¹, Klimentov A.S.^{1,4}, Prilipov A.G.¹, Alkhovsky S.V.¹

RESULTS OF VIROLOGICAL EXAMINATION OF THE CLINICAL MATERIALS COLLECTED FROM PATIENTS WITH ACUTE FEBRILE INFECTIONS UNKNOWN ORIGIN

¹N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, the D. I. Ivanovsky Institute of Virology, of the Ministry of Health of the Russian Federation, 18 Gamaleya str., 123098, Moscow, Russian Federation, e-mail: arboelisa@mail.ru;

²Municipal Infectious Diseases Hospital No. 1, Moscow, 63 Volokolamskoye Shosse, 125310, Moscow, Russian Federation, e-mail: ikb1@zdrav.mos.ru

³Center of Hygiene and Epidemiology in the Astrakhan region, 122/89, N. Ostrovskogo/Kirova str., 414024, Astrakhan, e-mail: astrfguz@yandex.ru;

⁴«Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-biological Products of Russian Academy of Sciences» pos. Moskovskiy, p. Instituta poliomiellita, dvld. 8, str. 1, Moscow, 108819, Russian Federation, e-mail: sue_polio@chumakovs.ru

In 2012-2018, 243 samples of blood, serum, urine and saliva of patients with acute febrile diseases hospitalized in medical institutions of Astrakhan, Astrakhan Region and Infectious Diseases Hospital №1 of Moscow were examined in experiments on intracerebral inoculation of newborn white mice. As a result, 8 strains of dengue 1 virus were isolated from patients infected in Thailand (7 strains) and Vietnam (1 strain); eight strains of dengue 2 virus from patients infected in Thailand (5 strains), Indonesia (2 strains) and the Maldives (1 strain); one strain of dengue 3 and one strain of Chikungunya virus (Asian genotype) from patients hospitalized after returning to Moscow from trips to the Philippines; 2 strains of Zika virus (Asian genotype) from patients visiting the Dominican Republic; 6 strains of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus genotype Europe 1 and one West Nile virus strain of genotype 1a from patients of the Astrakhan region.

Key words: acute febrile infections; virological examination of patients; Crimean-Congo hemorrhagic fever; West Nile, Dengue, Chikungunya fevers.

Для корреспонденции: Козлова Алина Александровна, науч. сотр. лаб. биологии и индикации арбовирусов ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, подразделение «Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского», E-mail: arboelisa@mail.ru

For citation: Kozlova A.A., Butenko A.M., Larichev V.F., Vashkova V.V., Saifullin M.A., Azarian R.A., Grishanova, A.P., Ivashchenko E.I., Guschin V.A., Shchetinin A.M., Nikiforova M.A., Klimentov A.S., Prilipov A.G., Alkhovsky S.V. Results of virological examination of the clinical materials collected from patients with acute febrile infections unknown origin. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni (Epidemiology and Infectious Diseases Russian Journal)*. 2018; 23(6): 286-293. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1560-9529-2018-23-6-286-293>.

For correspondence: *Alina Aleksandrovna Kozlova*, research virologist, Laboratory of biology and detection of arboviruses, N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, the D. I. Ivanovsky Institute of Virology, Gamaleya str., Moscow, 123098, Russian. e-mail: arboelisa@mail.ru

Information about authors:

Kozlova A.A., <http://orcid.org/0000-0003-2749-3258>
Butenko A.M., <http://orcid.org/0000-0001-6152-5685>
Larichev V.F., <http://orcid.org/0000-0001-8262-5650>
Saifullin M.A., <http://orcid.org/0000-0003-1058-3193>
Alkhovsky S.V., <http://orcid.org/0000-0001-6913-5841>

Shchetinin A.M., <http://orcid.org/0000-0003-1842-3899>
Nikiforova M.A., <http://orcid.org/0000-0001-5823-6508>
Prilipov A.G., <http://orcid.org/16-0000-0001-8755-1419>
Guschin V.A., <http://orcid.org/0000-0002-9397-3762>

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

Received 17.01.2019

Accepted 12.02.2019

Введение

Вирусологическое обследование больных острыми лихорадочными заболеваниями (в том числе арбовирусными инфекциями) является важным элементом расшифровки их этиологии. Неотъемлемое значение в этом процессе имеют результаты филогенетического анализа и идентификации выделенных штаммов. При отсутствии патогномичной симптоматики диагностика подобных заболеваний основывается, главным образом, на результатах применения вирусологических, молекулярно-генетических и серологических методов обследования пациентов.

Материалы и методы

Методом заражения новорожденных белых мышей (нбм), а в некоторых случаях культуры клеток VERO E6 (с последующей инокуляцией нбм пробами культуральной жидкости инфицированных клеток) в 2012-2018 гг. были обследованы следующие материалы: 176 сывороток крови больных острыми сезонными вирусными заболеваниями, полученные 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 Азии, Юго-Восточной Азии, Южной Америки и Мексики. Всего 243 пробы от 235 больных (см. таблицу).

В настоящей статье приводятся констатирующие данные по генотипированию выделенных штаммов вирусов без описания использованных молекулярно-генетических методов и детализации результатов их филогенетического анализа, которые будут представлены в отдельных публикациях.

Результаты

Выделение и идентификация выделенных штаммов

Вирус денге 1, штамм Ш 2012. Пациент заболел и был госпитализирован 08.11.2010 г. в день возвращения из Таиланда. Проба крови, взятая на 2-е сут после начала заболевания, хранилась в течение двух лет при температуре -70 °С.

После первичного заражения 7 нбм 04.12.2012 г. 3 из них заболели через 10 сут. На уровне 2-го пассажа на 7-е сут после заражения заболели 10 из 10 инфицированных нбм. Титр антигена штамма Ш 2012, приготовленного из мозговой ткани инфицированных мышей при тестировании методом ИФА с поливалентным иммуноглобулином, содержащим антитела к четырем вирусам денге, 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 Госколлекции вирусов под номером 1256/2.

Вирус Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ), штамм Аст 133. Больной – житель села Ясан-Сокан 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-е сут заболевания, 05.12.2012 г. были заражены 9 нбм, 5 из которых заболели на 8-е сут. К третьему пассажу инкубационный период сократился до 5 сут.

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

Распределение обследованных проб клинических материалов по территориям заражения пациентов

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

установлена его принадлежность к генотипу Европа 1 вируса КГЛ. Гомология по L сегменту с прототипным штаммом вируса КГЛ «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 г. в Астраханском ЦГиЭ обнаружены специфические IgM-антитела и РНК вируса КГЛ.

Штамм депонирован 16 апреля 2014 г. в Государственную коллекцию вирусов под номером 1241/2.

Вирус денге 2, штамм 3 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 сут после первичного заражения (06.12.2012 г.) заболели 7 из 12 инфицированных нбм, после первого пассажа – 8 из восьми. Инкубационный период заболевания на уровне 1-го и 2-го пассажей составлял 7-8 сут. В сыворотке крови больного, взятой на 5-е сут болезни, обнаружены IgM-антитела к вирусам денге в титре более или равно 1:800. Мозговой антиген штамма 3 2012 при постановке методом ИФА с поливалентным иммуноглобулином, содержащем 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. Штамм был депонирован в Госколлекцию вирусов 24 апреля 2017 г. под номером 1255/2.

Вирус денге 2, штамм С 2012. Штамм выделен из сыворотки крови, взятой у больной 22.11.2012 г. на 2-е сут заболевания после возвращения из Индонезии и госпитализации в ИКБ № 1 г. Москвы 24 ноября 2011 г. Через 11 сут после первичного заражения 06.12.2012 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 г. под номером 1254/2.

Вирус ККГЛ, штамм Аст 149. Выделен от больного, проживающего в селе Килинчи Приволжского района Астраханской области. Пробой сыворотки, взятой 05.05.2012 г. на 4-е сут после начала заболевания, 06.12.2012 г. было заражено 12 нбм, 10 из которых заболели на 8-е сут после заражения, одна – на 11-е сут. При следующем пассаже заболело 3 нбм из 13 на 8-е сут. К третьему пассажу инкубационный период сократился до 6 сут. Активность антигена штамма Аст 149, приготовленного из мозговой ткани инфицированных нбм, на уровне третьего пассажа при испытании в ИФА-тест системе с иммуноглобулином к 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» (г. Астрахань, 1967 г.) и штаммом «Кашманов» (г. Ростов-на-Дону, 1967 г.) составляет, соответственно, 98,3% и 98,6%; по M сегменту – 97,9% и 94,6%, соответственно; по S сегменту – 98,7% и 98,9%, соответственно.

В сыворотке крови от 05.05.2012 г. (4-е сут болезни) в Астраханском ЦГиЭ методом ОТ-ПЦР обнаружена РНК вируса КГЛ, в пробе от 10.05.2012 г. (на 9-е сут болезни) – специфические IgM-антитела. Штамм Аст 149 депонирован в Государственную коллекцию вирусов 16 апреля 2014 г. под номером 1242/2.

Вирус ККГЛ, штамм Аст 199. Больная, проживающая в г. Астрахани, заболела 02.06.2012 г. Госпитализирована в Областную инфекционную клиническую больницу им. А.М. Ничоги.

Сывороткой крови, взятой у нее 06.06.2012 г. на 6-е сут заболевания, 06.12.2012 г. было заражено 8 нбм. Все они заболели через 7-8 сут после заражения. К третьему пассажу инкубационный период установился на уровне 5 сут. 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 Европа 1 вируса КГЛ. По результатам секвенирования его гомология по L сегменту со штаммом «Дроздов» (г. Астрахань, 1967 г.) составляет 98%, со штаммом «Кашманов» (г. Ростов-на-Дону, 1968 г.) – 99%, по M сегменту со штаммом «Дроздов» – 99%, по S сегменту со штаммом «Кашманов» – 99%. В сыворотке крови больного от 06.06.2012 (6-е сут заболевания) методом ОТ-ПЦР в Астраханском ЦГиЭ обнаружена РНК вируса КГЛ, в пробе от 14.06.2015 г. (на 8-е сут) – специфические IgM антитела. Штамм Аст 199 депонирован в Государственную коллекцию вирусов 16 апреля 2014 г. 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-е сут заболевания в Областной инфекционной клинической больнице им. А.М. Ничоги. Из четырех нбм, зараженных этой пробой 06.12.2012 г., одна заболела на 8-е сут. При последующем пассаже из 6 нбм три заболели на 7-е сут, 3 – на 10-е сут. 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 А.С. Климентовым установлена принадлежность Аст 137 к генотипу Европа 1 вируса ККГЛ. Его гомология по L сегменту с прототипным штаммом «Дроздов» (г. Астрахань, 1967 г.) и штаммом «Кашманов» (Ростов-на-Дону, 1967 г.) составляет, соответственно, 98,3% и 98,6%; по M сегменту – 97,9% и 94,4%; соответственно, по S сегменту – 98,8% и 99,0%, соответственно (А.С. Климентов). В сыворотке крови больного, взятой 3 мая 2012 г. (на 12-е сут заболевания), в Астраханском ЦГиЭ обнаружены специфические IgM антитела к вирусу КГЛ при отсутствии их на 6-е сут заболевания. В обеих пробах методом ОТ-ПЦР выявлена специфическая вирусная РНК.

Вирус денге 1, штамм M2013. Больной прибыл в Москву из Таиланда, заболел 27.03.2013 г., 28.03.2013 г. госпитализирован в ИКБ № 1 г. Москвы. На 3-и сут взята кровь для вирусологиче-

ского обследования. После первичного заражения 26.06.2013 г. из 9 нбм 6 заболели на 9-е сут, 3 – на 12-е сут. При первом пассаже все 11 нбм заболели через 11-13 сут после инфицирования. Инкубационный период на уровне 2-го пассажа составлял 11 сут. При постановке методом ИФА титр антигена штамма М 2013 с поливалентным иммуноглобулином, содержащем антитела ко всем четырем вирусам денге, составлял 1:3200. В сыворотке крови пациента, взятой на 7-е сут заболевания, методом ИФА обнаружены IgM антитела к вирусам денге в титре более 1: 800. В результате секвенирования полноразмерного генома штамма М 2013 С.В. Альховским установлена его принадлежность к вирусу денге 1 и 99% идентичность со штаммами денге 1, изолированными в Юго-Восточной Азии (Таиланд, Сингапур, Япония). Штамм депонирован в Госколлекцию вирусов 24 апреля 2017 г. под номером 1257/2.

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 22.11.2013 г., были заражены 9 нбм. Все они заболели в период с 6 по 10 сут после инокуляции. На уровне 1-го и 2-го пассажей инкубационный период заболевания сократился до 3-х сут. 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 1:16 000. По результатам анализа участка РНК штамма Аст 212 протяженностью 10 309 нуклеотидов (94% полнотеломной последовательности), А. С. Климентовым установлена принадлежность Аст 212 к генотипу 1a вируса Западного Нила. Гомология Аст 212 с двумя астраханскими штаммами (Аст 901 и Аст 986), выделенными в 1999 и 2000 гг. также из крови больных людей, составляет 99%. Штамм Аст 212 депонирован 14.04.2014 г. в Государственную коллекцию вирусов под номером 1240/2.

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». После первичного заражения 20.02.2017 г. пробой крови больного, взятой на 2-е сут болезни, 4 из 8 нбм заболели на 9-е и 11-е сут. К третьему пассажу инкубационный период сократился до 6 сут. 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 г. Москвы. Кровью, взятой 2-е сут болезни, 20.02.2017 г. были заражены 10 нбм, 6 из которых заболели через 8-10 сут. К третьему пассажиру инкубационный период сократился до 7 сут. В сыворотке крови, взятой на 10-е сут 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 г. Москву из Доминиканской республики, госпитализирована в Инфекционную клиническую больницу (ИКБ) № 1 г. Москвы. Срок беременности составлял 20 нед. Кровь для вирусологического обследования была взята на 5-е сут болезни. После первичного заражения 22.02.2017 г. все 10 нбм заболели через 12 сут. На уровне 1-4 пассажей инкубационный период заболевания составил 9-15 дней, на 5 пассаже – 7-11 сут, на 7-м пассаже – 8 сут, на 8-9 пассажах – 5-7 сут при 100% летальности. По результатам ОТ-ПЦР (Л.С. Карань, Центральный НИИ Эпидемиологии, г. Москва) в исходной пробе крови больной, использованной для заражения нбм, обнаружена РНК вируса Зика. Методом ИФА в сыворотках крови пациентки, взятых на 5-е и 14-е сут 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 г., выявлены специфические IgG (1:1600) при отсутствии IgM. Полноразмерный геном штамма Z 2017 (азиатский генотипа вируса Зика), секвенированный в лаборатории молекулярной генетики, депонирован в Государственную коллекцию вирусов под номером MF 66436.

Вирус Зика, штамм EG 2017. Больной находился в Доминиканской республике в августе 2016 г. Заболел 21 августа после возвращения в Москву. Госпитализирован в ИКБ № 1 г. Москвы. Пробы мочи и слюны для вирусологического обследования были взяты на 6-е сут болезни. Результаты заражения нбм (06.03.2017 г.) этими материалами оказались отрицательными. В культуре клеток VERO E6 после заражения пробой слюны больного EG наблюдался выраженный цитопатогенный эффект. Пробой культуральной жидкости 06.04.2017 г. были заражены 14 нбм, 11 из которых заболели через 8, 11, 12 и 15 сут. Инкубационный период за-

болевания на уровне 2-го пассажа составлял 9-15 сут (заболели 8 из 11 инфицированных нбм), на уровне 7-го пассажа – 6-8 сут (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, также обнаружена высокая концентрация РНК азиатского генотипа вируса Зика (А. Г. Прилипов). В сыворотках крови пациента, взятых на 6-е и 11-е сут 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 мес после начала заболевания: на IgM – отрицательный, на IgG – 1:6400.

Вирус денге 3, штамм GR 2016. Пациент заболел 24.11.2016 г. после возвращения из поездки на Филиппины. Госпитализирован в ИКБ № 1 г. Москвы. Кровь для вирусологического обследования была взята на 2-е сут болезни. После первичного заражения 14.07.2017 г. заболели все 14 нбм в период с 8 по 11 сут. На уровне 4-го пассажа инкубационный период сократился до 7-9 сут. При обследовании сыворотки крови на 2-е сут 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 MT 2018. Пациентка прибыла из Индонезии 18.02.2017 г. Заболела 21.02.2017 г. Госпитализирована в ИКБ № 1 г. Москвы с диагнозом «ОРВИ и укусом обезьяны в анамнезе». Кровью, взятой на 8-е сут после начала заболевания, 26.01.2018 г. было заражено 13 нбм, 7 из них заболели в период с 4-х по 10-е сут после инфицирования. К третьему пассажиру инкубационный период сократился до 3-х сут, летальность составляла 100%. В лаборатории механизмов популяционной изменчивости патогенных микроорганизмов установлена принадлежность штамма MT 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 им. А.М. Ничоги. Пробой крови, взятой на 7-е сут болезни, 29.03.2018 г., были заражены 14 нбм, все они заболели через 8-11 сут. При последующих трех пассажах инкубационный период заболевания сократился до 6 сут. В вирусологической лаборатории ЦГиЭ в 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-е сут болезни, через 8-11 сут заболели 9 из 9 зараженных нбм. При последующих трех пассажах инкубационный период заболевания сократился до 6 сут. 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 ранее 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 сут после первичного заражения 13.04.2018 г. заболели все 11 инфицированных нбм. Титр IgM к вирусам денге на 7-е сут 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 г. 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-и сут заболевания, все 7 инфицированных нбм заболели через 10 сут. 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 г. после возвращения из Таиланда, 21.05.17 г. был госпитализирован в ИКБ № 1 г. Москвы. После заражения 16.04.18 кровью, взятой на 2-е сут болезни, через 9-12 сут заболели все 12 инфицированных нбм, при первом пассаже - 7 из 7 на 8-е сут. 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-е сут болезни, 18.04.2018 г. были заражены 14 нбм, 2 из которых заболели на 7-е сут после инокуляции. В тот же день при обследовании методом ИФА у больной обнаружены IgM антител к вирусам денге в титре 1:100. В лаборатории механизмов популяционной изменчивости патогенных микроорганизмов при секвенировании генома штамма LV2018 установлена его принадлежность к вирусу денге 1.

Вирус денге 1, штамм ZN 2018. После возвращения в г. Москву из Таиланда пациентка 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-е сут болезни, 18.04.2018 г. были заражены 10 нбм, 4 из которых заболели через 10 сут. При следующем пассаже на 8-е сут заболели все 13 инфицированных нбм. По данным секвенирования генома, выполненного в лаборатории механизмов популяционной изменчивости патогенных микроорганизмов, штамм ZN 2017 был идентифицирован как вирус денге 1.

Вирус денге 2, штамм DM 2018. Больная была в г. Москву из Таиланда. Заболела 21.05.2018 г. Госпитализирована в ИКБ № 1 г. Москвы с диагнозом «лихорадка неясной этиологии». Кровью, взятой на 3-и сут болезни, 01.06.2018 г. было заражено 9 нбм, одна из которых заболела на 9-е сут. При первом пассаже через 6-9 сут заболели все 11 из 11 зараженных нбм. В третьем пассаже заболели 13 нбм на 7-е сут 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 ОРВИ. Пробой крови, взятой на 2-е сут болезни, 13.06.2018 г. было заражено 12 нбм, 2 из которых заболели через 4 сут, при первом пассаже на 4-е сут умерли 3 нбм из 5 зараженных. В сыворотке крови, взятой на 10-е сут болезни, обнаружены IgM антитела к вирусам денге в титре более 1:800. В лаборатории механизмов популяционной изменчивости патогенных микроорганизмов штамм BG 2018 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-е сут болезни, 22.06.2018 г. было заражено 9 нбм, 2 из которых

заболели через 14 сут, при первом пассаже 5 из 14 нбм заболели на 12-е сут. 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-й день болезни, 22.06.2018 г. были заражены 11 нбм, 2 из которых заболели через 11 сут. В сыворотке крови 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. после возвращения из Таиланда, 19.06.2018 г. госпитализирован в ИКБ № 1 г. Москвы с предварительным диагнозом ОРВИ. Пробой крови, взятой на 3-и сут болезни, 22.06.2018 г. были заражены 14 нбм, 12 из которых заболели через 5-7 сут. В сыворотке крови от 25.06.2018 г. (на 9-е сут болезни) методом ИФА обнаружены IgM антитела к вирусам денге в титре более 1:800. В лаборатории механизмов популяционной изменчивости патогенных микроорганизмов штамм был генотипирован как вирус денге 2.

Заключение

В процессе вирусологического обследования клинических материалов, полученных от больных с острыми вирусными инфекциями неясной этиологии, в 2012-2018 гг. в опытах заражения новорожденных белых мышей было выделено 8 штаммов вируса денге 1 от пациентов, инфицированных в Таиланде (7 штаммов) и Вьетнаме (1 штамм); 8 штаммов вируса денге 2 от больных, заразившихся в Таиланде (5 штаммов), Индонезии (2 штамма) и на Мальдивских островах (1 штамм); по одному штамму вирусов денге 3 и Чикунгунья (азиатского генотипа) от пациентов, госпитализированных после возвращения из поездок на Филиппины; два штамма азиатского генотипа вируса Зика от больных, посетивших Доминиканскую республику; 6 штаммов вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки генотипа Европа 1 и 1 штамм вируса Западного Нила первого (европейского) генотипа от больных, проживающих в Астраханской области. Результаты вирусологических исследований и генотипирования выделенных штаммов вирусов были подтверждены данными обнаружения специфических IgM антител у обследованных

больных. Наши данные по идентификации выделенных штаммов вирусов денге совпадают с результатами обследования 240 случаев лихорадки денге, импортированных в 2014 г. на Тайвань (Республика Китай) из 16 стран Юго-Восточной Азии [1]. В данном регионе была установлена доминирующая циркуляция генотипов вирусов денге 1 и денге 2. Во время эпидемии, возникшей на Тайване в 2014 г., было верифицировано 15 492 случая лихорадки денге, связанных с интродукцией вируса денге 1 из Индонезии. Выделение шести штаммов вируса ККГЛ генотипа Европа 1 и штамма вируса Западного Нила генотипа 1а, изолированных нами в 2013 г. и предыдущие годы, подтверждает факт стабильности популяций и доминирующей циркуляции генотипов этих вирусов в Астраханской области.

Информация, содержащаяся в статье, может представлять интерес для сотрудников диагностических лабораторий вирусологического профиля, санитарно-эпидемиологической службы и лиц, выезжающих в регионы мира, эндемичные по арбовирусным инфекциям.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Shu-Fen Chang, Cheng-Fen Yang, Tun-Chien Hsu et al. Laboratory-based surveillance and molecular characterization of dengue viruses in Taiwan. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 2016; 94(4): 804-11.

REFERENCES

1. Shu-Fen Chang, Cheng-Fen Yang, Tun-Chien Hsu et al. Laboratory-based surveillance and molecular characterization of dengue viruses in Taiwan. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 2016; 94(4): 804-11.

Поступила 17.01.2018

Принята в печать 12.02.2019

Сведения об авторах:

Козлова Алина Александровна, науч. сотр. лаб. биологии и индикации арбовирусов, подразделение «Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского», ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, E-mail: arboelisa@mail.ru; **Бутенко Александр Михайлович**, доктор биол. наук, проф., рук. отдела арбовирусов и экспериментального производства и лаб. биологии и индикации, подразделение «Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского», ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, E-mail: arboelisa@mail.ru; **Ларичев Виктор Филиппович**, доктор мед. наук, вед. науч. сотр. лаб. биологии и индикации, подразделение «Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского», ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, E-mail: arboelisa@mail.ru; **Вашкова Вера Васильевна**, канд. мед. наук, вед. науч. сотр. лаб. биологии и индикации подразделение «Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского», ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России,

E-mail: arboelisa@mail.ru; **Сайфуллин Мухаммад Абдулфаринович**, канд. мед. наук, зав. 11 инфекционным отд-нием ГБУЗ ИКБ № 1 ДЗМ, E-mail: dr_saifullin@mail.ru; **Азарян Алла Рудольфовна**, врач-вирусолог, зав. вирусологической лаб., ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Астраханской области» e-mail: astrfguz@mail.ru; **Гришанова Анна Петровна**, врач-вирусолог вирусологической лаб. ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Астраханской области», E-mail: astrfguz@mail.ru; **Иващенко Екатерина Ивановна**, биолог вирусологической лаб. ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Астраханской области, E-mail: astrfguz@mail.ru; **Гущин Владимир Алексеевич**, зав. лаб. механизмов популяционной изменчивости патогенных микроорганизмов, подразделение «Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского», ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, E-mail: wowaniada@gmail.com; **Щетинин Алексей Михайлович**, науч. сотр. лаб. механизмов популяционной изменчивости патогенных микроорганизмов, подразделение «Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского», ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, E-mail:

shchetinin.alexey@yandex.ru; **Никифорова Мария Андреевна**, науч. сотр. лаб. механизмов популяционной изменчивости патогенных микроорганизмов, подразделение «Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского», ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, E-mail: marianikiforova@inbox.ru; **Климентов Александр Сергеевич**, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. биологии и индикации арбовирусов, подразделение «Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского», ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России. зав. лаб. биохимии ФГБНУ «Федеральный научный центр исследования и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН», E-mail: aklimentov@mail.ru; **Прилипов Алексей Геннадьевич**, доктор биол. наук, рук. лаб. молекулярной генетики подразделение «Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского» ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, E-mail: a_prilipov@mail.ru; **Альховский Сергей Владимирович**, доктор биол. наук, рук. лаб. биотехнологии подразделение «Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского» ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, E-mail: salkh@yandex.ru