

ХАНТАВИРУСЫ И ДИАГНОСТИКА ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ

В.В. Распопин

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) – острое вирусное природно-очаговое заболевание человека зоонозной природы, характеризующееся системным поражением мелких сосудов, геморрагическим диатезом, гемодинамическими расстройствами и развитием острой почечной недостаточности.

Этиология

Возбудителями ГЛПС является ряд генетически различных серотипов хантавирусов (Пуумала, Хантаан, Сеул, Амур, Добrava и Сааремаа), принадлежащих к роду *Hantavirus* семейства *Bunyaviridae* [1–3]. Хантавирусы имеют сегментированный одноцепочечный РНК-геном. Три сегмента нуклеиновой кислоты, S (малый), M (средний) и L (большой), кодируют нуклеопротеин (NP), оболочечные гликопротеины (G1, G2) и РНК-зависимую РНК-полимеразу соответственно. Гликопротеины принимают непосредственное участие в инфицировании макрофагов, лимфоцитов, эпителиальных, фолликулярных, дендритных и эндотелиальных клеток, связываясь с их рецепторами. Нуклеопротеин синтезируется на ранних стадиях инфекции и играет ключевую роль в таких важных этапах жизненного цикла вируса, как трансляция, транспорт и сборка зрелых вирионов. Пока-

зано также, что данный белок участвует в модуляции иммунного ответа хозяина на хантавирусную инфекцию [2].

Эпидемиология

К настоящему времени различают две нозологические формы хантавирусной инфекции – хантавирусный кардиолегочный синдром, регистрируемый в странах Северной и Южной Америки, и ГЛПС, широко распространенную на евразийском континенте, в том числе и на территории России [4, 5]. В странах Европы и Азии ежегодно фиксируется около 100 тыс. случаев данного заболевания, большая часть из которых приходится на Китай. В нашей стране ГЛПС занимает по заболеваемости ведущее место среди зоонозов и одно из первых мест среди природно-очаговых болезней человека [6]. Ежегодно в РФ официально регистрируется в среднем 7500 случаев этой инфекции. Наибольшее количество, 20924 заболевших ГЛПС, было отмечено в 1997 г. [7]. Около 90 % всех пациентов с диагнозом ГЛПС приходится на Приволжский и Уральский федеральный округ [8].

На севере Европейской части России доминирующими возбудителями ГЛПС являются хантавирусы Пуумала и Сааремаа, на юге страны – Добрава [6]. В Сибири обнаружена циркуляция шести серотипов хантавирусов, однако связь с заболеванием человека ГЛПС установлена пока только для вирусов Пуумала и Добрава [9]. В дальневосточных регионах возбудителями ГЛПС являются вирусы Хантаан, Амур и Сеул [10]. Роль остальных хантавирусов в патологии человека остается предметом дальнейших исследований.

Природный резервуар хантавирусов – мышевидные грызуны, у которых инфекция протекает в латентной форме. Принято считать, что каждый серотип/генотип хантавирусов имеет единственного естественного хозяина. Инфекционный вирус выделяется грызунами во внешнюю среду с мочой, фекалиями или слюной животных [1, 11]. Пути передачи инфекции человеку – аспирационный, алиментарный и контактный. В эндемичных по ГЛПС районах отмечают увеличение числа заболевших людей каждые 3–4 года, что связано

с периодичностью массового размножения доминирующих видов грызунов и повышением уровня их инфицированности хантавирусами. Передача вируса от больных ГЛПС здоровым людям до настоящего времени зарегистрирована не была [1, 6].

Патогенез и клиника

Механизмы патогенеза и патоморфологии органов-мишеней при инфекции, ассоциированной с разными видами хантавирусов, имеют общий иммуноопосредованный характер.

Патогенез хантавирусной инфекции складывается из следующих факторов:

- *проникновения патогена в респираторные пути;*
- *вирусемии и диссеминации;*
- *репликации в клетках дыхательных путей, макрофагах, дендритных клетках, эндотелии сосудов микроциркуляторного русла и тканях органов-мишеней.* При этом размножение хантавируса в различных клетках не сопровождается их повреждением, что свидетельствует о неспособности хантавируса к прямому цитопатогенному эффекту и инициации некроза тканей.
- *развития системного и локального иммунного воспаления с инициацией высокой сосудистой проницаемости.* Это обуславливает центральные и микроциркуляторные гемодинамические нарушения – гиповолемию, плазморею, гипергидратацию тканей, сгущение крови, нарушения работы сердца, синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови (ДВС-синдром) и, как следствие, деструктивные процессы в тканях и полиорганную недостаточность (респираторный тракт, почки, мозг, печень, сердце) [12, 13].

В развитии ГЛПС выделяют несколько периодов:

- *инкубационный*, составляющий от 7 до 46 дней, в среднем 14 дней;
- *начальный (лихорадочный)* – 1–5 дней. Заболевание развивается остро и проявляется в виде недомогания, головной и мышечной боли, повышения температуры. Возможны катаральные явления, чувство тяжести и тупая боль в пояснице, нарушения зрения. У больного ГЛПС, как

правило, наблюдается гиперемия лица, шеи, верхней половины тела, могут быть мелкие геморрагии на коже и зеве, одутловатость, пастозность лица и век, инъецированность сосудов склер и конъюнктив;

- в *олигурический период* (со 2–4 до 8–11 дня болезни) нарастают проявления типичных для ГЛПС –
 - интоксикационного синдрома;
 - геморрагического синдрома;
 - нарушений деятельности сердечно-сосудистой системы;
 - поражений вегетативной нервной системы;
 - острой почечной недостаточности;
- в *полиурический период* (с 13-го по по 20–25 день болезни) восстанавливается диурез. Азотный, электролитный и водный балансы постепенно нормализуются;
- на 3–4 неделе болезни полиурия уменьшается, состояние пациента улучшается, начинается *период реконвалесценции*, длящийся 3–4 недели [14].

Клинические проявления ГЛПС могут существенно отличаться в зависимости от вида инфицирующего хантавируса. Наиболее тяжелые формы заболевания с развитием массивного геморрагического синдрома и шока могут быть вызваны серотипом Добрава. Летальность при этом составляет 5–13 %.

У больных, зараженных вирусами Хантаан и Амур, отмечается преимущественно типичный геморрагический синдром, среднетяжелые и тяжелые формы ГЛПС составляют 83–94 %, а летальность – до 8 %. Кроме того, при инфекции, обусловленной хантавирусом Амур, в 78 % случаев развивается ДВС-синдром.

Для лиц, инфицированных вирусом Сеул, в основном характерна среднетяжелая форма заболевания, сопровождающая почечной недостаточностью и гепатопатией. Смертность при этой инфекции составляет 1–2 %.

При заражении хантавирусами Пуумала и Сааремаа преобладают симптомы нефропатии, геморрагический синдром менее выражен, а шок развивается относительно редко. Летальность относительно невысокая и составляет 0–0,2 % среди пациентов, имевших симптоматику ГЛПС [15].

Клинические признаки ГЛПС и степень их проявления у больных, инфицированных одним и тем же серотипом хантавируса, могут значительно варьировать, а в ряде случаев заболевание может протекать в стертой и атипичной формах (менингоэнцефалитическая, абдоминальная, гипертоксическая, ГЛПС с затянувшейся более 12 дней олигоурией, лихорадочная) [12, 14].

При клинической диагностике симптомы ГЛПС ошибочно могут быть отнесены к таким заболеваниям, как грипп и другие ОРВИ, Крым-Конго геморрагическая лихорадка, псевдотуберкулез, энтеровирусная инфекция, острый гломерулонефрит, токсическая нефропатия, геморрагический васкулит, менингококковая инфекция, а с учетом данных эпиданамнеза – к лептоспирозу, клещевому энцефалиту, боррелиозу [5, 12, 14]. В связи с этим, а также вследствие многообразия клинических проявлений ГЛПС, расширения ареалов природных очагов, роста заболеваемости, наличия тяжелых форм и высокой летальности особое значение приобретает своевременная и точная лабораторная диагностика ГЛПС.

Лабораторная диагностика ГЛПС

Прямые методы диагностики хантавирусных инфекций включают в себя исследования по выявлению самого вируса, его антигенов и РНК.

- *Прямую изоляцию вируса* из лейкоцитарной фракции крови или биоптатов органов пациента проводят либо на лабораторных животных, либо на клеточной линии Vero-E6. Однако этот метод может быть реализован только в специальных лабораториях и требует больших временных затрат (4–8 недель) [15].
- Чувствительным методом лабораторного подтверждения хантавирусной инфекции является *иммуногистохимический метод* обнаружения вирусных антигенов в гистологических препаратах с использованием специфичных меченых антител. Этот метод может иметь важное значение в ретроспективной постмортальной диагностике ГЛПС [16].
- Для обнаружения хантавирусов применяют *метод гибридизации in situ*, который позволяет

определить наличие РНК вируса в исследуемом биоптате либо секционном материале [15].

- В настоящее время для прямого выявления возбудителей инфекционных заболеваний широко используют полимеразную цепную реакцию (ПЦР), позволяющую выявить нуклеиновые кислоты возбудителей в клинических пробах обследуемых лиц с высокой чувствительностью и специфичностью. Хантавирусы имеют одноцепочечную геномную РНК отрицательной полярности, поэтому для ее определения применяют *метод ОТ-ПЦР*, включающий проведение обратной транскрипции вирусной РНК, а затем ПЦР [17, 18]. Применение этого метода в лабораториях позволяет обнаружить РНК хантавируса в крови пациентов на самой ранней стадии патологического процесса, что особенно важно при развитии тяжелых форм заболевания. Однако ОТ-ПЦР имеет ограничения, поскольку вирусемия при хантавирусной инфекции часто совпадает с инкубационным периодом или началом заболевания, а на 3–9 день после появления его симптомов вирус, как правило, элиминируется из кровотока. Вследствие этого РНК хантавируса в крови или моче госпитализированных больных с ГЛПС может не выявляться [19].

В настоящее время основой лабораторной диагностики ГЛПС являются *серологические методы исследования* [20]. Показано, что структурные белки хантавирусов, нуклеокапсидный (NP) и оболочечные (G1, G2), отличаются высокой иммуногенностью и при развитии инфекции индуцируют продукцию специфических антител [21, 22]. Иммуноглобулины класса М (IgM) к хантавирусам можно выявить в сыворотке крови больных уже на 1–7 день после появления признаков заболевания. Концентрация IgM достигает максимальных значений к 8–25 дню, а к концу третьего месяца от начала заболевания они перестают обнаруживаться. Определение этого серологического маркера позволяет проводить раннюю лабораторную диагностику ГЛПС [5, 12, 20].

Иммуноглобулины класса G (IgG) к хантавирусам начинают продуцироваться в организме человека на 2–9 день после появления симптомов

заболевания, а через 18–22 дня их концентрация в крови достигает максимальных значений. Показано, что на ранних стадиях ГЛПС у больных определяются преимущественно IgG к NP-белку, а в начале выздоровления появляются антитела, специфичные к вирусным гликопротеинам G1 и G2 [5]. Положительный результат определения вирусспецифических IgG не позволяет дифференцировать недавнее заражение человека хантавирусом от давно перенесенной инфекции, поскольку у переболевших формируется длительный иммунитет, и IgG к хантавирусам могут обнаруживаться в течение многих лет после заболевания. Надежным подтверждением недавнего инфицирования является сероконверсия (появление в крови сначала вирусспецифических IgM, а затем IgG) или четырехкратное увеличение титра IgG в образцах сыворотки крови, взятых у обследуемого пациента в острый период заболевания и в фазу выздоровления с интервалом 1–2 недели.

Следует отметить, что у 1–2 % больных с явными клиническими проявлениями ГЛПС и соответствующим эпиданамнезом антитела к хантавирусам не выявляются, что, как предполагают, может быть связано с наличием серонегативных форм данного заболевания [20]. В этом случае для подтверждения хантавирусной инфекции важное диагностическое значение имеет метод ОТ-ПЦР [23].

Серологическая диагностика хантавирусных инфекций может проводиться с применением:

- *реакции торможения гемагглютинации*, поскольку хантавирусы инициируют продукцию антител, способных агглютинировать эритроциты некоторых животных;
- *непрямого иммунофлюоресцентного анализа*, в котором используют культуру клеток Vero-E6, зараженную хантавирусом. Метод имеет высокую чувствительность. К недостаткам этого теста относятся трудно стандартизуемая методика анализа и визуальная оценка его результатов;
- *реакции нейтрализации бляшкообразования*, которая является «золотым стандартом» серологических тестов. Тест является типоспецифичным и может быть применен для дифференцирования инфекций, вызываемых разными хан-

тавирусами. Для анализа необходимо использовать серотипы хантавирусов, адаптированные к культуре клеток Vero-E6 путем длительного серийного пассирования;

- *иммуноблоттинга*, который обладает высокой чувствительностью и специфичностью и потенциально, при соответствующем выборе рекомбинантных антигенов, может быть использован для типирования хантавирусов;
- *иммуноферментного анализа (ИФА)* [2, 24].

Основными недостатками первых трех методов являются невозможность унифицированной оценки результатов проведенного исследования и необходимость применения нативных хантавирусов, все работы с которыми должны проводиться в помещениях с высоким уровнем биобезопасности.

В современной лабораторной диагностике хантавирусной инфекции наиболее широко применяется определение вирусспецифических иммуноглобулинов классов М и G с использованием иммуноферментного анализа (ИФА). Наборы реагентов для ИФА имеют высокую чувствительность и специфичность, позволяют за 2–3 часа провести одновременно анализ большого количества образцов и получить объективную инструментальную оценку его результатов [20].

Для определения иммуноглобулинов к хантавирусам с помощью ИФА в качестве антигена применяют очищенный вирус, рекомбинантные полипептиды – аналоги его структурных белков, а также синтетические пептиды, представляющие собой отдельные антигенные детерминанты. В большинстве коммерческих наборов реагентов с этой целью используется рекомбинантный белок NP, рекомбинантные поверхностные гликопротеины G1 и G2 хантавирусов применяют значительно реже [2, 21].

В ЗАО «Вектор-Бест» для диагностики ГЛПС предлагает наборы реагентов «ВектоХанта-IgM» и «ВектоХанта-IgG» на основе высокоспецифичных рекомбинантных белков и конъюгатов моноклональных антител к IgM и IgG человека с пероксидазой хрена. Эти диагностические тесты предназначены для выявления в сыворотке (плазме) крови специфических иммуноглобулинов классов

М и G к хантавирусам Добрава, Пуумала, Хантаан, Амур методом твердофазного иммуноферментного анализа. В качестве антигенов в данных наборах использованы рекомбинантные белки, содержащие иммунодоминантные эпитопы нуклеокапсидного белка NP и гликопротеинов оболочки G1, G2 этих хантавирусов, иммобилизованные на поверхность лунок планшета. Наборы содержат все необходимые для проведения анализа компоненты, укомплектованы дополнительной пластиковой емкостью, одноразовыми наконечниками для автоматических дозаторов и пленкой для заклеивания планшетов. При проведении анализа осуществляется цветовой контроль внесения исследуемого образца и конъюгата. Стрипированный вариант планшета позволяет проводить 12 независимых постановок по 8 анализов (включая контроль). Время проведения анализов 1,5 ч.

Наборы реагентов «ВектоХанта-IgM» и «ВектоХанта-IgG» имеют регистрационные удостоверения и разрешены к производству, продаже и применению на территории Российской Федерации.

Список литературы:

1. Schmaljohn C., Hjelle B. // *Emerg. Infect. Dis.* 1987. V. 3. P. 95–104.
2. Jonsson C.B., Figueiredo L.T.M. and Vapalahti O. // *Clin. Microbiol. Rev.* 2010. V. 23. N. 2. P. 412–441.
3. Lee P., Gibbs C.J., Gajdusek D.C. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 1985. V. 22. N. 6. P. 940–944.
4. Zhang Y.Z., Zou Y., Fu Z.F., Plyusnin A. // *Emerg. Inf. Dis.* 2010. V. 16. N. 8. P. 1195–1203.
5. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом / Под ред. Р.А. Слоновой, Е.А. Ткаченко. Владивосток: Примполиграфкомбинат, 2007. 246 с.
6. Ткаченко Е.А., Дзагурова Т.К., Бернштейн А.Д. и др. // *Национальные приоритеты России.* 2011. № 2 (5). С. 18–22.
7. Информация Госкомсанэпиднадзора // *Здоровье населения и среда обитания.* Ежемес. бюл. 1997. №1. С. 23; 1998. № 1. С. 31; 1999. № 1. С. 25; 2001. № 1. С. 35; 2002. № 1. С. 50; 2003. № 1. С. 50; 2004. № 1. С. 49; 2005. № 1. С. 46; 2006. № 1. С. 43; 2007. № 1. С. 50; 2009. № 1. С. 47–48.

8. Лещинская Е.В., Ткаченко Е.А., Рыльцева Е.В. и др. // *Вопр. вирусологии*. 1990. Т. 35. № 1. С. 42–44.
9. Yashina L.N., Patrushev N.A., Ivanov L.I. et al. // *Virus Res.* 2000. V. 70. N. 1–2. P. 31–44.
10. Якименко В.В., Гаранина С.Б., Малькова М.Г. и др. // *Тихоокеанский мед. журн.* 2008. № 2. С. 20–26.
11. Vaheri A. Hantaviruses // Mahy B.W.J., Regenmortal M., editors. *Encyclopedia of Virology*. 2008. Elsevier. P. 317–321.
12. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом: актуальные проблемы эпидемиологии, патогенеза, диагностики, лечения и профилактики / Под ред. Р.Ш. Магазова. Уфа: Гилем, 2006. 238 с.
13. Иванис В.А. // *Тихоокеанский мед. журн.* 2008. №2. С. 15–19.
14. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом. Учеб. пособие для ординаторов и интернов / Под ред. В.Х. Фазылова. Казань: КГМУ, 2008. 72 с.
15. McCaughey C., Hart C.A. // *J. Med. Microbiol.* 2000. V. 49. N. 7. P. 587–599.
16. Mir M. // *Clin. Lab. Med.* 2010. V. 30. N. 1. P. 67–91.
17. Яшина Л.Н., Кузина И.И., Малышева Т.В. и др. // *Вестн. РАМН*. 2004. № 8. С. 40–43.
18. Платонов А.Е., Карань Л.С., Гаранина С.Б. и др. // *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2009. № 2. С. 30–35.
19. Evander M., Eriksson I., Pettersson L. Et al. // *J. Clin. Microbiol.* 2007. V. 45. N. 8. P. 2491–2497.
20. Профилактика геморрагической лихорадки с почечным синдромом / Санитарно-эпидемиологические правила СП 3.17.2614-10. Москва: Роспотребнадзор. 2010. С. 1–7.
21. Elgh F., Ludkvist A., Alexeyev O.A. et al. // *J. Clin. Microbiol.* 1997. V. 35. N. 5. P. 1122–1130.
22. Kallio-Kokko H., Leveelahti R., Brummer-Korvenkontio M. et al. // *J. Med. Virol.* 2001. V. 65. N. 3. P. 605–613.
23. Zhenqiang B., Pierre B.H. F., Cathy E.R. // *J. Infect. Developing Countries*. 2008. V. 2. N. 1. P. 3–23.
24. <http://www.euroimmun.de/index.php?id=startseite&L=1>

**НАБОРЫ РЕАГЕНТОВ
ПРОИЗВОДСТВА ЗАО «ВЕКТОР-БЕСТ»
ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ЗООНОЗНЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ**

№ по каталогу	Наименование	Количество анализов
D-4902	ВектоХанта-IgG	12×8
D-4904	ВектоХанта-IgM	12×8
D-5150	ВектоНил-IgM	12×8
D-5152	ВектоНил-IgG	12×8
D-5154	ВектоНил-IgG-авидность	6×8
D-5052	ВектоККГЛ-IgG	12×8
D-5054	ВектоККГЛ-IgM	12×8
D-5056	ВектоККГЛ-антиген	12×8
D-1152	ВектоВКЭ-IgM	12×8
D-1154	ВектоВКЭ-антиген	12×8
D-1156	ВектоВКЭ-IgG	12×8

**Предлагаем наборы реагентов
для иммуноферментной и ПЦР-диагностики
в режиме реального времени**

*ВИЧ-инфекции, вирусных гепатитов А, В, С, D, E;
TORCH-инфекций; инфекций, передаваемых
половым путем; паразитарных и желудочно-
кишечных заболеваний; природно-очаговых и
зоонозных инфекций; аутоиммунных и системных
заболеваний; беременности и ее мониторинга;
выявления опухолевых маркеров; гормонов и др.,*

**а также наборы реагентов
для клинической биохимии.**

**Максимальный выбор
диагностической продукции!**

ЗАО «Вектор-Бест»

630117, г. Новосибирск-117, а/я 492
тел.: (383) 332-37-58, 332-36-34
тел./факс: 332-67-49, 332-67-52
e-mail: vbmarket@vector-best.ru
Internet: <http://www.vector-best.ru>

Представительства:

Москва:	(495) 710-76-96
Санкт-Петербург:	(812) 495-55-99
Ростов-на-Дону:	(863) 295-15-61
Уфа:	(347) 246-23-34
Екатеринбург:	(343) 372-90-50
Хабаровск:	(4212) 335-946
Нижний Новгород:	(831) 272-35-47
Киев:	(044) 220-04-04

Формат 80×100/32. Гарнитура Century SchoolBook.
Доп. тираж 2000 экз. Подписано в печать 18.02.15.

Отдел оперативной печати ЗАО «Вектор-Бест».
630559, Новосибирская обл., пгт. Кольцово, а/я 121
