

Т.Е.Сизикова, В.Н.Лебедев, Н.В.Боярская, С.В.Борисевич

**ДИАГНОСТИКА ОСТРОЙ ЛИХОРАДКИ С ТРОМБОЦИТОПЕНИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ – БОЛЕЗНИ, ВЫЗЫВАЕМОЙ НОВЫМ ФЛЕБОВИРУСОМ***ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны, Сергиев Посад, Российская Федерация*

В 2009 г. в КНР от больного был выделен новый вирус, получивший название вирус острой лихорадки с тромбоцитопеническим синдромом (SFTS). Болезнь, вызываемая этим вирусом, характеризуется острой лихорадкой, поражениями респираторного и желудочно-кишечного тракта, сопровождается прогрессирующей тромбоцитопенией, лейкопенией, летальностью в 6–30 % случаев. Секвенирование генома выделенного возбудителя установило, что вирус SFTS относится к новой (третьей) группе рода *Phlebovirus* семейства *Bunyaviridae*. В настоящее время для специфической диагностики SFTS разработаны различные методы (обратная транскрипция-полимеразная цепная реакция, непрямой метод флуоресцирующих антител, иммуноферментный анализ). В обзоре рассмотрена разработка диагностических наборов и основные характеристики методов выявления возбудителя инфекции и специфических антител к нему.

**Ключевые слова:** острая лихорадка с тромбоцитопеническим синдромом, вирус острой лихорадки с тромбоцитопеническим синдромом, флебовирус, геномная РНК, праймер, обратная транскрипция-полимеразная цепная реакция, метод флуоресцирующих антител, иммуноферментный анализ, реакция нейтрализации, чувствительность, специфичность.

*Корреспондирующий автор:* Сизикова Татьяна Евгеньевна, e-mail: 48cnii@mil.ru.

Т.Е.Sizikova, V.N.Lebedev, N.V.Boyarskaya, S.V.Borisevich

**Diagnostics of Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome – Disease, Caused by Novel Phlebovirus***The 48<sup>th</sup> Central Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Sergiev Possad, Russian Federation*

In 2009, a novel virus, named severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS) virus, was isolated from a patient in China. The illness caused by this novel virus is characterized by a sudden onset of fever and respiratory or gastrointestinal disorders, followed by progressive thrombocytopenia and leucocytopenia, the case-fatality rate amounting to 6–30 %. Genomic sequencing of the isolated agent indicated that the SFTS virus constituted a new (third) group of Phlebovirus genus, Bunyaviridae family. Presently, different means for specific diagnostics of SFTS (real-time reverse transcription polymerase chain reaction, indirect fluorescent antibodies method, enzyme-linked immune-sorbent assay) are developed. Constructing of diagnostic kits, basic characteristics of methods for determination of causative agent of infection or specific antibodies against it are considered in this review.

**Key words:** severe fever with thrombocytopenia syndrome, severe fever with thrombocytopenia syndrome virus, phlebovirus, genomic RNA, primer, reverse transcription-polymerase chain reaction, fluorescent antibodies method, enzyme linked immunosorbent assay, neutralization testing, sensitivity, specificity.

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

*Corresponding author:* Taniana E. Sizikova, e-mail: 48cnii@mil.ru.

*Citation:* Sizikova T.E., Lebedev V.N., Boyarskaya N.V., Borisevich S.V. Diagnostics of Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome – Disease, Caused by Novel Phlebovirus. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; 3:21–26. (In Russ.). DOI: 10.21055/0370-1069-2016-3-21–26

В марте 2009 г. в КНР выявлена новая вирусная инфекция человека с высокой летальностью (до 30 %). У заболевших отмечена тяжелая лихорадка и тромбоцитопения. Болезнь по клинической картине напоминала анаплазмоз, однако антитела к данному возбудителю в сыворотках крови реконвалесцентов не выявлены. Болезнь получила название «Острая лихорадка с тромбоцитопеническим синдромом» (англ. Severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS)).

В июне 2009 г. из биоматериала первого зарегистрированного больного выделен ранее неизвестный вирус, относящийся к роду *Phlebovirus* семейства *Bunyaviridae*. Позже этот же возбудитель был выделен от других больных и клещей видов *Haemaphysalis longicornis* и *Rhipicephalus microplus*. Выделенный

возбудитель получил название по нозологической форме – вирус SFTS (в литературе также встречаются названия «вирус лихорадки Хэнань» и «вирус Hуайянганшан») [15, 16].

Вирус поражает тромбоциты и лимфоциты больного, что быстро приводит к поражениям внутренних органов. Уровень летальности у лиц с лабораторно подтвержденным диагнозом составляет в среднем 12 %.

В последующем аналогичные случаи заболевания зарегистрированы в КНДР, Южной Корее и Японии. В Южной Корее из 36 зарегистрированных в 2013 г. случаев 17 (47 %) завершили летальным исходом.

Основные симптомы SFTS (лихорадка с температурой от 39,2 до 39,7 °С, слабость, поражение

конъюнктив, диарея, боли в брюшной полости, лейкоцитопения, тромбоцитопения, протеинурия и гематурия) являются неспецифическими, т.е. поставить точный диагноз только по клинической картине не представляется возможным [15].

Наиболее распространенными отклонениями при лабораторном тестировании являются тромбоцитопения (в 95 % случаев) и лимфоцитопения (в 86 % случаев). В большинстве случаев у больных развивается мультиорганный недостаток, о чем свидетельствуют повышенные уровни аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы, креатинкиназы и лактатдегидрогеназы. Также часто наблюдали протеинурию (в 84 % случаев) и гематурию (в 59 % случаев) [15]. Указанные отклонения являются характерными для многих вирусных инфекций, в том числе и вирусных геморрагических лихорадок.

Основные признаки болезни, которые позволяют предполагать возможность SFTS, следующие: температура тела выше 38,2 °C; симптомы заболевания желудочно-кишечного тракта (тошнота, рвота, боли в брюшной полости, диарея и признаки кишечного кровотечения); тромбоцитопения с концентрацией тромбоцитов менее  $100 \cdot 10^9 \cdot \text{л}^{-1}$ ; лейкопения с концентрацией лейкоцитов менее  $4 \cdot 10^9 \cdot \text{л}^{-1}$ ; повышенный уровень аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы и лактатдегидрогеназы.

Не вызывает сомнений то, что для постановки диагноза SFTS необходимы методы специфической диагностики.

Вирус SFTS впервые выделен от 42-летнего больного мужчины, проживавшего в провинции Хэнань. Выделенный изолят вируса получил название штамм DBM. В последующем из биопроб, полученных от других больных, выделено еще 11 штаммов вируса SFTS. С помощью электронной микроскопии показано, что вирионы вируса SFTS имеют сферическую форму с диаметром 80–100 мкм. В инфицированных клетках вирионы можно наблюдать внутри вакуолей, главным образом, в аппарате Гольджи.

Частичное секвенирование генома первоначально проведено для штамма DBM, впоследствии определили полную последовательность генома еще 11 штаммов вируса SFTS. Все штаммы, включая штамм DMB, по нуклеотидной последовательности являлись близкородственными, уровень гомологии по всем сегментам генома составлял 96 %. Концевые участки всех трех сегментов генома сходны с таковыми для других флебовирусов. L-сегмент генома состоит из 6368 нуклеотидов и содержит одну открытую рамку считывания, кодирующую 2084 аминокислоты. M-сегмент генома состоит из 3378 нуклеотидов и содержит одну открытую рамку считывания, кодирующую 1073 аминокислоты (предшественник гликопротеинов Gn и Gc). S-сегмент генома состоит из 1744 нуклеотидов РНК и характеризуется амбисенной стратегией кодирования белков N и NSs, содержит две рамки считывания, разделенные внутренним регионом из 62 нуклеотидов. Белок NSs

играет важную роль в патогенезе, подавляя синтез интерферона в инфицированных клетках [10].

Полные последовательности L-, M- и S-сегментов генома депонированы в GenBank под номерами KF358691, KF358692 и KF358693 соответственно [5].

Филогенетический анализ, проведенный с помощью определения полноразмерных последовательностей сегментов L, M и S штаммов DBM, HN6 и HB29 вируса SFTS, выявил, что данный вирус относится к роду *Phlebovirus* семейства *Bunyaviridae*, причем занимает промежуточное положение между двумя другими группами рода *Phlebovirus* (группа Сицилийской москитной лихорадки, в которую кроме одноименного вируса также входят вирусы лихорадки долины Рифт (ЛДР), Пунта-Тора, Тоскана и Массила, группа вируса Укуниеме). Результаты филогенетического анализа установили, что вирус SFTS является прототипным агентом третьей группы рода *Phlebovirus*. Из представителей первой и второй групп к вирусу SFTS наиболее близок вирус Укуниеме (уровень гомологии по сегментам L, M и геномной РНК составляет 34, 24 и 29 % соответственно) [13]. Эти данные нашли подтверждение при анализе аминокислотных последовательностей структурных белков вируса SFTS и других флебовирусов. Показано, что РНК-зависимая РНК-полимераза и гликопротеины вируса SFTS более родственны соответствующим белкам вируса Укуниеме, однако белки нуклеокапсида вирусов SFTS и ЛДР являются более близкородственными (уровень гомологии 41,4 %). Наиболее уникальной структурой характеризуется белок NSs, кодируемый S-сегментом геномной РНК вируса SFTS, для которого уровень гомологии с другими флебовирусами находится на уровне от 11,2 до 16,0 %.

В группу вируса SFTS рода *Phlebovirus* может быть включен новый вирус (вирус Heartland), выделенный в штате Миссури (США) в 2009 г. от больных, у которых наблюдали схожую с SFTS симптоматику. Уровень гомологии вирусов SFTS и Heartland по генам двух наиболее консервативных белков флебовирусов (РНК-зависимой РНК-полимеразы и нуклеокапсида) составляет 73 и 62 % соответственно [8].

При анализе геномных последовательностей изолятов вируса SFTS, выделенных в КНР в 2009–2011 гг., Lam T. *et al.* [6], установили циркуляцию двух основных линий возбудителя, вероятно, являющихся продуктом гомологичной рекомбинации в процессе молекулярной эволюции вируса SFTS.

Для диагностики SFTS используют различные методы, включающие выделение биологически активного вируса, амплификацию его нуклеиновой кислоты и выявление специфических антител в сыворотке крови переболевших [15].

Выделение биологически активного вируса при первом официально подтвержденном случае болезни описано в работе X.J. Yu *et al.* [15].

Для выделения возбудителя использовали монослойные культуры клеток человека (HL60), млекопи-

тающих (DH82, L929, Vero, Vero E6), клещей ISE6, которые заражали экстрактом белых кровяных телец больных. Поддерживающую среду меняли два раза в неделю. Спустя один месяц после инокуляции клеточных монослойных культур различных клеток цитопатический эффект выявили в клетках DH82. После нескольких пассажей в клетках DH82 цитопатический эффект, проявлявшийся в удлинении клеток с наличием гранулированных частиц в цитоплазме, выявляли спустя 4 сут после инфицирования монослоя.

Установлено, что вирус SFTS может инфицировать различные клетки, в том числе L929, Vero, Vero E6, но цитопатический эффект проявлялся только в клетках DH82 [15] и Vero E6 [13].

Рассмотрим другие случаи выделения вируса SFTS от больных. В Японии возбудитель выделен от 59-летней женщины, проживающей в префектуре Ямагути. Больную госпитализировали с высокой температурой (39,2 °C), рвотой и признаками кишечного кровотечения. Лабораторные анализы показали наличие тромбоцитопении, лейкопении, повышенные уровни аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы и креатинкиназы, протеинурию и микрогематурию. Спустя трое суток после госпитализации больная погибла. Вирус SFTS выделили из сыворотки крови больной путем инфицирования клеток Vero. Идентификация выделенного возбудителя проведена с помощью ОТ-ПЦР. Филогенетический анализ выделенного возбудителя показал его близкое родство со штаммами вируса SFTS, выделенными в КНР. Не выявлено влияния пространственных или временных факторов выделения возбудителя на изменение его генома [12].

К.Н. Kim *et al.* [5] провели выделение и идентификацию вируса SFTS, выделенного от 63-летней женщины, проживавшей в провинции Гангвон, Южная Корея. Больная погибла на 10-е сутки после госпитализации от мультиорганной недостаточности. Вирус удалось выделить из пробы крови больной, хранившейся в течение 7 месяцев при температуре минус 70 °C, путем инфицирования клеток Vero и DH82. Проведенное секвенирование геномной РНК

полученного изолята показало его близкое родство штаммам вируса, выделенным в Китае и Японии. Уровень гомологии по сегментам L, M и S составлял 95,8–99,8; 94,1–99,9 и 94,8–99,7 % соответственно.

Исследования с возбудителями инфекционных болезней, направленные на разработку профилактических и лечебных средств, как правило, требуют наличия доступной лабораторной модели. Jin C. *et al.* [4] при исследованиях, проводимых с вирусом SFTS, обосновали возможность использования в качестве лабораторных животных белых мышей линии C57/BL6, у которых после инфицирования наблюдается тромбоцитопения и лейкоцитопения. Вирус SFTS накапливается в цитоплазме макрофагов и красной пульпе селезенки.

Лабораторной моделью, позволяющей выявлять летальный исход при инфицировании вирусом SFTS, являются мыши линии ICR, генетически дефектные по синтезу интерферонов  $\alpha$  и  $\beta$ . Гибель животных наступает на 3–4-е сутки после подкожного введения  $1 \cdot 10^6$  бляшкообразующих частиц вируса [7].

Вскоре после выявления вируса SFTS была разработана амплификационная тест-система для выявления в исследуемых пробах РНК данного возбудителя. Праймеры рассчитаны при анализе геномной последовательности из 168 нуклеотидов, выявленной в сыворотках крови больных SFTS [13]. В дальнейшем праймеры, используемые при постановке ОТ-ПЦР, рассчитывали на основании опубликованных полных последовательностей L-, M- и S-сегментов генома, депонированных в GenBank под номерами KF358691, KF358692 и KF358693 соответственно [5]. Структура олигонуклеотидных праймеров, используемых при постановке ОТ-ПЦР и проведении генотипирования вируса SFTS, представлена в табл. 1.

Как следует из представленных данных, большая часть используемых в исследованиях олигонуклеотидных праймеров ориентирована на выявление специфических нуклеотидных последовательностей, расположенных на S-сегменте генома.

Y. Sun *et al.* [11] проведен выбор праймеров, специфичных не только к S-, но и к L- и M- сегментам

Таблица 1

Структура олигонуклеотидных праймеров для выявления РНК методом ОТ-ПЦР при проведении генотипирования вируса SFTS

Структура праймеров		Ген-мишень	Источник
Прямого	Обратного		
5'-GACAGGCTCCTCAAGGCTCT-3'	5'-GCCCAGTAGCCCTGAGTTTC-3'	S-сегмент	13
5'-ACCTCTTTTGACCCTGAGTTWGACA-3'	5'-CTGAAGGAGACAGGTGGAGATGA-3'	S-сегмент	17
5'-ACATTTTCCCTGATGCCTATGCCTTC-3'	5'-GAGGTGGACAGAGGAAGTCG-3'	S-сегмент	10
5'-cagataccccgcagtg-3'	5'-AGAGGTTGATGGCACTCCA-3'	S-сегмент	14
5'-tatctcccagtgggccagctccaaaggccatgcaac-3'	5'-GTGGGAAGGCTCTGCGCTACTGAGAGGGCAGAAACCAGG-3'	S-сегмент	
5'-aaggttgagaattccccctg-3'	5'-CCTCACAGGAGTGATTGAGAG-3'	S-сегмент	2
5'-gggtccctgaaggaggtgtaa-3'	5'-TGCCTTACCAAGACTATCAATGT-3'	S-сегмент	
5'-agtctaggtcatctgatccgtyag-3'	5'-TGTAAGTTCCGCCCTTTGTCCAT-3'	L-сегмент	11
5'-aagaagtgctgttcattattg-3'	5'-GCCTAAGGACATGGTGAGTA-3'	M-сегмент	
5'-gggtccctgaaggaggtgtaa-3'	5'-TGCCTTACCAAGACTATCAATGT-3'	S-сегмент	

генома. Чувствительность тест-систем с использованием трех специфичных для каждого сегмента генома пар праймеров составляла 10 геном-эквивалентов на 1 мкл, что соответствовало  $10 \text{ ЦПД}_{50} \cdot \text{мл}^{-1}$ . Специфичность разработанной тест-системы доказывает отсутствие ложноположительных реакций с вирусами Хантаан, денге, гепатитов В и С. При анализе 70 сывороток больных с использованием разработанной тест-системы положительный результат получен в 69 случаях, причем для сывороток, взятых на 1–10-е сутки после начала болезни, доля положительных результатов составляла 100 %.

В ряде работ имеются данные о разработке для выявления возбудителя SFTS различных модификаций ОТ-ПЦР. L.Gui *et al.* [2] для выявления вируса SFTS разработали систему обратной транскрипции с перекрестным праймированием. В реакции были использованы 5 олигонуклеотидных праймеров, специфичных к последовательностям, расположенным на М-сегменте генома, – два рассеянных праймера, два детекторных праймера (прямой и обратный) и перекрестный праймер. Реакцию перекрестного праймирования проводили при 60 °С в течение 90 мин и останавливали прогреванием при 80 °С в течение 2 мин. Для визуализации результатов амплификации использовали стрип-кассеты фирмы Ustar Biotech. Co., Ltd. (КНР). Чувствительность разработанной тест-системы составила 100 геном-эквивалентов на реакцию. 100 % специфичность разработанного набора выявлена при испытаниях с вирусами и доказывает отсутствие ложноположительных реакций с относящимися к семейству *Bunyaviridae* вирусами Хантаан, Сеул, ЛДР, вирусами денге и клещевого энцефалита. С помощью разработанной тест-системы возбудитель выявлен в 94,1 % сывороток больных SFTS.

G.Yang *et al.* [14] разработали тест-систему для быстрого выявления РНК вируса SFTS с помощью ОТ-ПЦР с изотермальной амплификацией. Особенностью разработанного метода является использование в реакционной смеси сразу трех пар праймеров, специфичных по отношению к нуклеотидным последовательностям S-сегмента генома вируса с SFTS с последующей инкубацией при 63 °С в течение 30 мин и детекцией продуктов реакции при электрофорезе в 1 % агарозе. Высокая специфичность этой тест-системы показана при испытаниях с возбудителями различной этиологии, вызывающими у человека заболевания со сходной SFTS симптоматикой (вирусы Хантаан, желтой лихорадки, японского энцефалита, энтеровирус человека 71, вирус Коксаки А-16, вирусы гриппа А(Н1N1) и В (Victoria), ротавирус, *Leptospira interrogans*, возбудитель гранулоцитарного анаплазмоза). Ложноположительные реакции не выявлены.

Чувствительность разработанной тест-системы составила  $10 \text{ ЦПД}_{50} \cdot \text{мл}^{-1}$ . При анализе 37 сывороток больных с использованием разработанной тест-системы и тест-системы для выявления возбудителя с помощью ОТ-ПЦР в реальном времени отмечена

примерно равная доля положительных результатов (18 из 37 и 20 из 37 соответственно). Следует отметить, что биологически активный вирус SFTS выделен только в 7 из 37 исследуемых сывороток.

Рассмотренные данные подтверждают тот факт, что некоторые особенности патогенеза флебовирусных инфекций и диссеминации возбудителя в макроорганизме могут привести к отсутствию в биопробе от больного не только вируса, но и фрагментов его геномной РНК [9]. Поскольку вирус из крови обычно удается выделить только с 1-х по 6-е сутки после начала болезни, не у всех пациентов с симптомами возбудитель может быть определен посредством ОТ-ПЦР-РВ [3]. В связи с этим при диагностике SFTS необходимо строго придерживаться рекомендации ВОЗ об использовании, как минимум, двух различных методов. Для диагностики SFTS важное значение имеют методы, направленные на выявление специфических антител. В качестве таких методов при определении специфических антител к вирусу SFTS апробированы метод флуоресцирующих антител (МФА), иммуноферментный анализ (ИФА) и реакция нейтрализации (микротест) (РНМТ).

Y.Jiao *et al.* [3] для определения специфических антител к вирусу SFTS в ИФА и МФА обосновали возможность использования рекомбинантного белка нуклеокапсида данного возбудителя. Процедура приготовления набора включала экстракцию РНК вируса SFTS из инфицированной культуры клеток Vero, амплификацию гена белка нуклеокапсида с помощью ОТ-ПЦР со специфическими праймерами, клонирование гена в плазмидном векторе рЕТ-28(a)+, трансформацию рекомбинантного вектора в *E. coli* BL21, лизирование клеток, содержащих рекомбинантный белок, и выделение последнего с помощью аффинной хроматографии. Идентичность полученного рекомбинантного белка белку нуклеопротеина нативного вируса подтверждена с помощью анализа Вестерн-блот.

При испытаниях полученного набора отмечено, что все сыворотки, дающие положительный результат в РНМТ, давали положительный результат и в ИФА.

При проведении РНМТ X.J.Yu *et al.* [15] смешивали равные объемы вируса SFTS (расчетное содержание биологически активного вируса  $100 \text{ ЦПД}_{50}$ ) и исследуемых разведений иммунной сыворотки. Смесь инкубировали при 37 °С в течение 1,5 ч. Затем смесь разливали в лунки 96-луночных планшетов и инкубировали в атмосфере, содержащей 5 %  $\text{CO}_2$  в течение 12 сут. Развитие инфекции в клетках определяли с помощью МФА. За титр сыворотки принимали высшее разведение, при котором проходило ингибирование репродукции вируса в клетках.

X.J.Yu *et al.* [15] с помощью МФА, ИФА, РНМТ провели исследования по сероконверсии в отношении SFTS. В опытах использовали сыворотки крови больных, у которых возбудитель SFTS выявлен с помощью ОТ-ПЦР. Результаты исследования сывороток больных, взятых в провинции Хубэй, представлен-

Результаты серологического исследования сывороток крови больных SFTS. Данные X.J.Yu *et al.* [15]

Шифры сывороток крови больных	Время взятия крови после начала болезни, сут		Титры антител (обратная величина), определенные в сыворотках крови больных в острой фазе болезни и стадии реконвалесценции, с помощью					
	Острая фаза	Фаза реконвалесценции	МФА	ИФА	РНМТ			
НВ03	7	40	<20	160	<100	6400	<10	640
НВ08	2	34	<20	160	<100	25600	<10	640
НВ10	2	30	<20	320	100	6400	<10	160
НВ11	5	40	<20	>320	<100	25600	<10	160
НВ12	13	42	20	>320	400	25600	<10	160
НВ14	11	45	<20	>320	<100	6400	<10	640
НВ16	4	55	20	>320	100	25600	40	160
НВ18	6	33	<20	80	100	6400	<10	160
НВ20	8	30	<20	320	100	25600	<10	160
НВ24	8	46	<20	>320	100	25600	40	160
НВ29	9	52	<20	160	<100	25600	40	640

ные в табл. 2, свидетельствуют о том, что сероконверсия была отмечена у всех больных, что особенно отчетливо проявлялось при анализе данных РНМТ. Аналогичные результаты получены при анализе парных сывороток больных, выделенных в провинциях Шаньдун и Хэнань [1, 18].

Наиболее информативные результаты можно получить при комплексном исследовании сывороток крови больных различными методами. При исследованиях, проведенных в провинции Хэнань, в 223 из 285 (78,24 %) сыворотках больных, взятых в острой фазе болезни, с помощью ОТ-ПЦР выявлена РНК вируса SFTS [13]. Авторы показали зависимость возможности идентификации болезни с помощью выявления специфической РНК (в ОТ-ПЦР) и/или специфических иммуноглобулинов изотипа G (IgG) (в МФА) от продолжительности болезни с момента ее начала (табл. 3).

На ранних сроках (до 7-х суток) болезни специфическую диагностику целесообразно проводить при использовании ОТ-ПЦР.

Анализ данных о заболеваемости SFTS указывает на наличие серьезной потенциальной опасности для здравоохранения Российской Федерации, поскольку эпидемические очаги SFTS располагаются в сопредельных с Дальневосточным регионом территориях. Клеши видов *Haemaphysalis longicornis* и *Rhipicephalus microplus*, являющиеся вектором пере-

дачи инфекции, а также ее возможным резервуаром, характеризуются широким ареалом распространения. Болезнь, характеризующаяся высокой летальностью, сложно идентифицировать только по ее клинической картине. В этой связи важное значение приобретает разработка методов специфической лабораторной диагностики SFTS и, в первую очередь, разработка молекулярно-биологических методов выявления и идентификации возбудителя, в частности, различных модификаций ОТ-ПЦР.

**Конфликт интересов.** Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Cui F., Cao H.X., Wang L., Zhang S.F., Ding S.J., Yu X.J., Yu H. Clinical and epidemiological study on Severe fever with thrombocytopenia syndrome in Yiyuan country, Shandong province, China. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2013; 88(3):510–2. DOI: 10.4269/ajtmh.11-0760.
2. Gui L., Ge Y., Qi X., Xu G., Li H., Zhao K., Wu B., Shi Z., Guo X., Hu L., You Q., Zhang L.H., Freiberg A.N., Yu X., Wang H., Zhou M., Tang Y.W. Detection of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus by reverse transcription-cross-priming amplification coupled with vertical flow visualization. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50(12):3881–5. DOI: 10.1128/JCM.01931-12.
3. Jiao Y., Zeng X., Guo X., Qi X., Zhang X., Shi Z., Zhou M., Bao C., Zhang W., Xu Y., Wang H. Preparation and evaluation of recombinant severe fever with thrombocytopenia syndrome virus nucleocapsid protein for detection of total antibodies in human and animal sera by double-antigen sandwich enzyme linked immunosorbent assay. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50(2):372–7. DOI: 10.1128/JCM.01319-11.
4. Jin C., Liang M., Ning J., Gu W., Jiang H., Wu W., Zhang F., Li C., Zhang Q., Zhu H., Chen T., Han Y., Zhang W., Zhang S., Wang Q., Sun L., Liu Q., Li J., Wang T., Wei Q., Wang S., Deng Y., Qin C., Li D. Pathogenesis of emerging severe fever with thrombocytopenia syndrome virus in C57/BL6 mouse model. *Proc Natl. Acad. Sci. USA.* 2012; 109(25):10053–8. DOI: 10.1073/pnas.1120246109.
5. Kim K.H., Yi J., Kim G., Choi S.J., Jun K.I., Kim N.H., Choe P.G., Kim N.J., Lee J.K., Oh M. Severe fever with thrombocytopenia syndrome, South Korea, 2012. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19(11):1892–4. DOI: 10.3201/eid1911.130792.
6. Lam T.T., Liu W., Bowden T.A., Cui N., Zhuang L., Liu K., Zhang Y.Y., Gao W.C., Pybus O.G. Evolutionary and molecular analysis of the emergent severe fever with thrombocytopenia syndrome virus. *Epidemics.* 2013; 5:1–10. DOI: 10.1016/j.epidem.2012.09.002.
7. Liu Y., Wu B., Paessler S., Walker D.H., Tesh R.B., Yu X.J. The pathogenesis of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infection in alpha/beta interferon knockout mice: insights into the pathologic mechanisms of a new viral hemorrhagic fever. *J. Virol.*

Таблица 3

Выявление специфической РНК вируса SFTS (в ОТ-ПЦР) и специфических иммуноглобулинов к вирусу SFTS (в МФА). Данные В.Ху *et al.* [13]

Продолжительность болезни с момента его начала, сут	Количество проб	Количество положительных проб при выявлении	
		IgG (%)	РНК (%)
1–3	87	4 (4,6)	72 (82,8)
4–6	134	27 (20,1)	117 (87,3)
7–14	64	49 (76,6)	34 (53,1)
Всего	285	80 (28,1)	223 (78,24)

2014; 88(3):1781–6. DOI: 10.1128/jvi.02277-13.

8. McMullan L.K., Folk S.M., Kelly A.J., MacNeil A., Goldsmith C.S., Metcalfe M.G., Batten B.C., Albarino C.G., Zaki S.R., Rollin P.E., Nicholson W.L., Nichol S.T. A new phlebovirus associated with severe febrile illness in Missouri. *N. Engl. J. Med.* 2012; 367(9):834–41. DOI: 10.1056/nejmoa1203378.

9. Pepin M., Boulou M., Bird B., Kemp A., Paweska J. Rift Valley fever virus (*Bunyaviridae: Phlebovirus*): an update on pathogenesis, molecular epidemiology, vector diagnostics and prevention. *Vet. Res.* 2010; 41(6):61–101. DOI: 10.1051/vetres/20100033.

10. Qu B., Qi X., Wu X., Liang M., Li C., Cardona C.J., Xu W., Tang f., Li Z., Wu B., Powell K., Wegner M., Li D., Xing Z. Suppression of the interferon and NF- $\kappa$ B responses by severe fever with thrombocytopenia syndrome virus. *J. Virol.* 2012; 86(16):8388–401. DOI: 10.1128/jvi.00612-12.

11. Sun Y., Liang M., Qu J., Jin C., Zhang Q., Li J., Jiang X., Wang Q., Lu J., Gu W., Zhang S., Li C., Wang X., Zhan F., Yao W., Bi Z., Wang S., Li D. Early diagnosis of novel SFTS bunyavirus infection by quantitative real-time RT-PCR assay. *J. Clin. Virol.* 2012; 53:48–53. DOI:10.1016/j.jcv.2011.09.031.

12. Takahashi T., Maeda K., Susuki T., Ishido A., Shigeoka T., Tominaga T., Kamei T., Honda M., Ninomiya D., Sakai T., Senba T., Kaneyuki S., Sakaguchi S., Satoh A., Hosokawa T., Kawabe Y., Kurihara S., Izumikawa K., Kohno S., Azuma T., Suemori K., Yasukawa M., Mizutani T., Omatsu T., Katayama Y., Miyahara M., Ijuin M., Doi K., Okuda M., Umeki K., Saito T., Fukushima K., Nakajima K., Yoshikawa T., Tani H., Fukushi S., Fukuma A., Ogata M., Shimojima M., Nakajima N., Nagata N., Katano H., Fukumoto H., Sato Y., Hasegawa H., Yamagishi T., Oishi K., Kurane I., Morikawa S., Saijo M. The first identification and retrospective study of severe fever with thrombocytopenia syndrome in Japan. *J. Infect. Dis.* 2014; 209(6):816–27. DOI: 10.1093/infdis/jit603.

13. Xu B., Liu L., Huang X., Ma H., Zhang Y., Du Y., Wang P., Tang X., Wang H., Kang K., Zhang S., Zhao G., Wu W., Yang Y., Chen H., Mu F., Chen W. Metagenomic analysis of fever, thrombocytopenia and leukopenia syndrome (FTLS) in Henan province, China: Discovery of a new Bunyavirus. *PLOS Pathogens.* 2011; 7(11):e1002369. DOI: 10.1371/journal.ppat.1002369.

14. Yang G., Li B., Liu L., Huang W., Zhang W., Liu Y. Development and evaluation of reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of a new SFTS bunyavirus. *Arch. Virol.* 2012; 157:1779–83. DOI: 10.1007/s00705-012-1348-1.

15. Yu X.J., Liang M.F., Zhang S.Y., Liu Y., Li J.D., Sun Y.L., Zhang L., Zhang Q.F., Popov V.L., Li C., Qu J., Li Q., Zhang Y.P., Hai R., Wu W., Wang Q., Zhan F.X., Wang X.J., Kan B., Wang S.W., Wan K.L., Jing H.Q., Lu J.X., Yin W.W., Zhou H., Guan X.H., Liu J.F., Bi Z.Q., Liu G.H., Ren J., Wang H., Zhao Z., Song J.D., He J.R., Wan T., Zhang J.S., Fu X.P., Sun L.N., Dong X.P., Feng Z.J., Yang W.Z., Hong T., Zhang Y., Walker D.H., Wang Y., Li D.X. Fever with thrombocytopenia associated with a novel bunyavirus in China. *N. Engl. J. Med.* 2011; 364(16):1523–32. DOI: 10.1056/nejmoa1010095.

16. Zhang Y.Z., Zhou D.J., Qin X.C., Tian J.H., Xiong Y., Wang J.B., Chen X.P., Gao D.Y., He Y.W., Jin D., Sun Q., Guo W.P., Wang W., Yu B., Li J., Dai Y.A., Li W., Peng J.S., Zhang G.B., Zhang S., Chen X.M., Wang Y., Li M.H., Lu X., Ye C., de Jong M.D., Xu J. The ecology, genetic diversity, and phylogeny of Huaiyangshan virus in China. *J. Virol.* 2012; 86(5):2864–8. DOI: 10.1128/jvi.06192-11.

17. Zhang Y.Z., He Y.W., Dai Y.A., Xiong Y., Zheng H., Zhou D.J., Li Y., Sun Q., Luo X.L., Chen Y.L., Qin X.C., Tian J.H., Chen X.P., Yu B., Jin D., Guo W.P., Li W., Wang W., Peng J.S., Zhang G.B., Zhang S., Chen X.M., Wang Y., Li M.H., Li Z., Lu S., Ye C., de Jong M.D., Xu J. Hemorrhagic fever caused by a novel Bunyavirus in China: pathogenesis and correlates of fatal outcome. *Clin. Inf. Dis.* 2012; 54:527–33. DOI: 10.1093/cid/cir804.

18. Zhao L., Zhai S., Wen H., Cui F., Chi Y., Wang L., Xue F., Wang Q., Wang Z., Zhang S., Song Y., Du J., Yu X. Severe fever with thrombocytopenia syndrome, Shandong province, China, 2011. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18(6):963–5. DOI: 10.3201/eid2001.120532.

References

1. Cui F., Cao H.X., Wang L., Zhang S.F., Ding S.J., Yu X.J., Yu H. Clinical and epidemiological study on Severe fever with thrombocytopenia syndrome in Yiyuan country, Shandong province, China. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2013; 88(3):510–2. DOI: 10.4269/ajtmh.11-0760.

2. Gui L., Ge Y., Qi X., Xu G., Li H., Zhao K., Wu B., Shi Z., Guo X., Hu L., You Q., Zhang L.H., Freiberg A.N., Yu X., Wang H., Zhou M., Tang Y.W. Detection of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus by reverse transcription-cross-priming amplification coupled with vertical flow visualization. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50(12):3881–5. DOI: 10.1128/JCM.01931-12.

3. Jiao Y., Zeng X., Guo X., Qi X., Zhang X., Shi Z., Zhou M., Bao C., Zhang W., Xu Y., Wang H. Preparation and evaluation of recombinant severe fever with thrombocytopenia syndrome virus nucleocapsid protein for detection of total antibodies in human and animal sera by double-antigen sandwich enzyme linked immunosorbent assay. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50(2):372–7. DOI: 10.1128/JCM.01319-11.

4. Jin C., Liang M., Ning J., Gu W., Jiang H., Wu W., Zhang F., Li C., Zhang Q., Zhu H., Chen T., Han Y., Zhang W., Zhang S., Wang Q., Sun L., Liu Q., Li J., Wang T., Wei Q., Wang S., Deng Y., Qin C., Li D. Pathogenesis of emerging severe fever with thrombocytopenia syndrome virus in C57/BL6 mouse model. *Proc Natl. Acad. Sci. USA.* 2012; 109(25):10053–8. DOI: 10.1073/pnas.1120246109.

5. Kim K.H., Yi J., Kim G., Choi S.J., Jun K.I., Kim N.H., Choe P.G., Kim N.J., Lee J.K., Oh M. Severe fever with thrombocytopenia syndrome, South Korea, 2012. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19(11):1892–4. DOI: 10.3201/eid1911.130792.

6. Lam T.T., Liu W., Bowden T.A., Cui N., Zhuang L., Liu K., Zhang Y.Y., Gao W.C., Pybus O.G. Evolutionary and molecular analysis of the emergent severe fever with thrombocytopenia syndrome virus. *Epidemics.* 2013; 5:1–10. DOI: 10.1016/j.epidem.2012.09.002.

7. Liu Y., Wu B., Paessler S., Walker D.H., Tesh R.B., Yu X.J. The pathogenesis of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus infection in alpha/beta interferon knockout mice: insights into the pathologic mechanisms of a new viral hemorrhagic fever. *J. Virol.* 2014; 88(3):1781–6. DOI: 10.1128/jvi.02277-13.

8. McMullan L.K., Folk S.M., Kelly A.J., MacNeil A., Goldsmith C.S., Metcalfe M.G., Batten B.C., Albarino C.G., Zaki S.R., Rollin P.E., Nicholson W.L., Nichol S.T. A new phlebovirus associated with severe febrile illness in Missouri. *N. Engl. J. Med.* 2012; 367(9):834–41. DOI: 10.1056/nejmoa1203378.

9. Pepin M., Boulou M., Bird B., Kemp A., Paweska J. Rift Valley fever virus (*Bunyaviridae: Phlebovirus*): an update on pathogenesis, molecular epidemiology, vector diagnostics and prevention. *Vet. Res.* 2010; 41(6):61–101. DOI: 10.1051/vetres/20100033.

10. Qu B., Qi X., Wu X., Liang M., Li C., Cardona C.J., Xu W., Tang f., Li Z., Wu B., Powell K., Wegner M., Li D., Xing Z. Suppression of the interferon and NF- $\kappa$ B responses by severe fever with thrombocytopenia syndrome virus. *J. Virol.* 2012; 86(16):8388–401. DOI: 10.1128/jvi.00612-12.

11. Sun Y., Liang M., Qu J., Jin C., Zhang Q., Li J., Jiang X., Wang Q., Lu J., Gu W., Zhang S., Li C., Wang X., Zhan F., Yao W., Bi Z., Wang S., Li D. Early diagnosis of novel SFTS bunyavirus infection by quantitative real-time RT-PCR assay. *J. Clin. Virol.* 2012; 53:48–53. DOI:10.1016/j.jcv.2011.09.031.

12. Takahashi T., Maeda K., Susuki T., Ishido A., Shigeoka T., Tominaga T., Kamei T., Honda M., Ninomiya D., Sakai T., Senba T., Kaneyuki S., Sakaguchi S., Satoh A., Hosokawa T., Kawabe Y., Kurihara S., Izumikawa K., Kohno S., Azuma T., Suemori K., Yasukawa M., Mizutani T., Omatsu T., Katayama Y., Miyahara M., Ijuin M., Doi K., Okuda M., Umeki K., Saito T., Fukushima K., Nakajima K., Yoshikawa T., Tani H., Fukushi S., Fukuma A., Ogata M., Shimojima M., Nakajima N., Nagata N., Katano H., Fukumoto H., Sato Y., Hasegawa H., Yamagishi T., Oishi K., Kurane I., Morikawa S., Saijo M. The first identification and retrospective study of severe fever with thrombocytopenia syndrome in Japan. *J. Infect. Dis.* 2014; 209(6):816–27. DOI: 10.1093/infdis/jit603.

13. Xu B., Liu L., Huang X., Ma H., Zhang Y., Du Y., Wang P., Tang X., Wang H., Kang K., Zhang S., Zhao G., Wu W., Yang Y., Chen H., Mu F., Chen W. Metagenomic analysis of fever, thrombocytopenia and leukopenia syndrome (FTLS) in Henan province, China: Discovery of a new Bunyavirus. *PLOS Pathogens.* 2011; 7(11):e1002369. DOI: 10.1371/journal.ppat.1002369.

14. Yang G., Li B., Liu L., Huang W., Zhang W., Liu Y. Development and evaluation of reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of a new SFTS bunyavirus. *Arch. Virol.* 2012; 157:1779–83. DOI: 10.1007/s00705-012-1348-1.

15. Yu X.J., Liang M.F., Zhang S.Y., Liu Y., Li J.D., Sun Y.L., Zhang L., Zhang Q.F., Popov V.L., Li C., Qu J., Li Q., Zhang Y.P., Hai R., Wu W., Wang Q., Zhan F.X., Wang X.J., Kan B., Wang S.W., Wan K.L., Jing H.Q., Lu J.X., Yin W.W., Zhou H., Guan X.H., Liu J.F., Bi Z.Q., Liu G.H., Ren J., Wang H., Zhao Z., Song J.D., He J.R., Wan T., Zhang J.S., Fu X.P., Sun L.N., Dong X.P., Feng Z.J., Yang W.Z., Hong T., Zhang Y., Walker D.H., Wang Y., Li D.X. Fever with thrombocytopenia associated with a novel bunyavirus in China. *N. Engl. J. Med.* 2011; 364(16):1523–32. DOI: 10.1056/nejmoa1010095.

16. Zhang Y.Z., Zhou D.J., Qin X.C., Tian J.H., Xiong Y., Wang J.B., Chen X.P., Gao D.Y., He Y.W., Jin D., Sun Q., Guo W.P., Wang W., Yu B., Li J., Dai Y.A., Li W., Peng J.S., Zhang G.B., Zhang S., Chen X.M., Wang Y., Li M.H., Lu X., Ye C., de Jong M.D., Xu J. The ecology, genetic diversity, and phylogeny of Huaiyangshan virus in China. *J. Virol.* 2012; 86(5):2864–8. DOI: 10.1128/jvi.06192-11.

17. Zhang Y.Z., He Y.W., Dai Y.A., Xiong Y., Zheng H., Zhou D.J., Li Y., Sun Q., Luo X.L., Chen Y.L., Qin X.C., Tian J.H., Chen X.P., Yu B., Jin D., Guo W.P., Li W., Wang W., Peng J.S., Zhang G.B., Zhang S., Chen X.M., Wang Y., Li M.H., Li Z., Lu S., Ye C., de Jong M.D., Xu J. Hemorrhagic fever caused by a novel Bunyavirus in China: pathogenesis and correlates of fatal outcome. *Clin. Inf. Dis.* 2012; 54:527–33. DOI: 10.1093/cid/cir804.

18. Zhao L., Zhai S., Wen H., Cui F., Chi Y., Wang L., Xue F., Wang Q., Wang Z., Zhang S., Song Y., Du J., Yu X. Severe fever with thrombocytopenia syndrome, Shandong province, China, 2011. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18(6):963–5. DOI: 10.3201/eid2001.120532.

Authors:

Sizikova T.E., Lebedev V.N., Boyarskaya N.V., Borisevich S.V. The 48<sup>th</sup> Central Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Sergiev Possad, Russian Federation. E-mail: 48cnii@mail.ru.

Об авторах:

Сизикова Т.Е., Лебедев В.Н., Боярская Н.В., Борисевич С.В. Центральный научно-исследовательский институт Министерства обороны Российской Федерации. Российская Федерация, 141306, Московская область, г. Сергиев Посад-6, ул. Октябрьская, д. 11. E-mail: 48cnii@mail.ru.

Поступила 09.02.16.