

*Шмелёва Н. П., Грибкова Н. В., Сивец Н. В.*

## **ТЯЖЕЛЫЕ ОСТРЫЕ РЕСПИРАТОРНЫЕ ИНФЕКЦИИ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С НОВЫМИ ДЛЯ ЧЕЛОВЕКА ВИРУСАМИ И ИХ ДИАГНОСТИКА**

*Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии,  
г. Минск, Республика Беларусь*

На протяжении последних десятилетий участились случаи преодоления межвидового барьера вирусами животных, сопровождающиеся развитием тяжелых респираторных заболеваний у людей. Особую опасность представляет высоко патогенный вирус гриппа птиц А(Н5N1), который по-прежнему остается основным кандидатом в пандемические и регулярно вызывает заболевания людей в природных очагах. Первую вспышку заболеваний среди людей, вызванную этим субтипом вируса и сопровождавшуюся 50% летальностью, зарегистрировали в 1997 г. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) с 2003 г. по июль 2016 г. в 16 странах зарегистрировано 854 лабораторно-подтвержденных случая инфицирования людей, из которых 450 (52,7%) закончились летально [1]. Большинство вирусов гриппа данного субтипа циркулируют в настоящее время в странах Азии (Индонезия) и Африки (Египет), где сформировались природные очаги.

Периодически поступают сообщения о тяжелых респираторных заболеваниях, вызванных и другими субтипами вирусов гриппа птиц, которые ранее не вызывали заболеваний у человека. К таким вирусам относятся вирусы гриппа птиц А(Н7N9) и А(Н9N2). Поскольку птицы играют значительную роль в жизнедеятельности человека как продукт питания и часто являются источником заражения человека, ВОЗ придает большое значение взаимодействию вирусов гриппа человека и птиц, и эпидемиологическому надзору за этими вирусами, являющимися потенциальными кандидатами в новые пандемические вирусы.

С марта 2013 г. внимание мировой общественности приковано к вирусу гриппа птиц – А(Н7N9). С момента регистрации первых случаев заболеваний по июль 2016 г. официально было подтверждено 793 случая инфицирования данным вирусом, 319 из которых закончились летально (40,2%) [2]. Для заболеваний, обусловленных вирусом гриппа А(Н7N9), основным клиническим проявлением остается быстро прогрессирующая тяжелая пневмония. К настоящему моменту регистрируются спорадические случаи инфицирования данным вирусом, главным образом в южных провинциях Китая. Несмотря на то, что степень риска глобального распространения оценивается как низкая, этот вирус рассматривается как потенциальный кандидат в пандемические штаммы, что обуславливает необходимость отслеживания его циркуляции.

Кроме того, за последние два года разнообразие циркулирующих вирусов гриппа дополнили выявленные штаммы вируса гриппа А(Н5N2), А(Н5N3), А(Н5N6) и А(Н5N8), все из которых в настоящее время циркулируют в различных частях мира. В Китае вирусы гриппа А(Н5N1), А(Н5N2), А(Н5N6) и А(Н5N8) в настоящее время циркулируют среди птиц вместе с вирусами гриппа А(Н7N9) и А(Н9N2). Относительно возможности инфицирования человека этими новыми

вирусами известно немного, но некоторые отдельные случаи инфицирования человека уже выявлены. Например, в Китае в апреле 2014 г. был обнаружен первый в мире случай инфицирования человека вирусом H5N6, который имел летальный исход, и за ним в декабре 2014 г. произошел второй тяжелый случай инфицирования человека. Всего с мая 2014 г. по июль 2016 г. зарегистрировано 14 случаев, 6 из которых – с летальными исходами [3].

С сентября 2012 г. сеть глобального предупреждения и ответных действий (GAR), действующая в рамках ВОЗ, сообщила о 1800 лабораторно подтвержденных случаях инфицирования людей новым коронавирусом MERS-CoV [4]. Заболевания протекают в виде тяжелых острых респираторных инфекций с почечным синдромом. Коронавирусы относятся к РНК-содержащим вирусам, способным вызывать у человека и животных заболевания различной степени тяжести. Способность коронавирусов животных преодолевать межвидовой барьер впервые была продемонстрирована в 2003-2004 гг., когда была зарегистрирована вспышка SARS, сопровождавшаяся высокой летальностью. Однако новый коронавирус MERS-CoV отличается от возбудителя SARS. В большинстве случаев инфицирование людей отмечали у лиц, имевших верблюжьей фермы или употреблявших продукты верблюжьего происхождения без должной обработки. Наиболее часто инфицирование людей вирусом MERS-CoV регистрируется в Саудовской Аравии, Объединенных Арабских Эмиратах. Однако завозные случаи заболеваний, ассоциированных с MERS-CoV, были выявлены в Греции, Йемене, Египте, Нидерландах, США, Австрии и Корее [4].

Учитывая развитый гражданский и религиозный туризм (хадж в Мекку) в регионы, где регистрируются заболевания, вызванные новыми для человека вирусами, вполне вероятен завоз этих вирусов в Республику Беларусь. Существенную роль для обеспечения биобезопасности в стране, организации адекватных профилактических мероприятий и обеспечения клинического ведения пациентов, играет своевременное выявление этих возбудителей современными методами лабораторной диагностики, позволяющими в короткий срок выявить этиологический агент инфекции. В настоящее время для диагностики возбудителей тяжелых острых респираторных инфекций, ассоциированных с новыми для человека вирусами предпочтение отдается полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Принципиальным преимуществом ПЦР-РВ является получение результатов диагностики в достаточно короткие сроки, упрощение анализа и снижение количества манипуляций с исследуемым образцом, и, следовательно, снижение вероятности ошибок.

Для своевременного выявления и контроля за развитием эпидемической ситуации по новым для человека вирусам в Республике Беларусь в РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, разработан диагностический набор «ТОРИ-ген». Данный набор позволяет проводить выявление в клиническом материале человека генетического материала возбудителей тяжелых острых респираторных вирусных инфекций, ассоциированных с новыми для человека вирусами: РНК субтипов H5, H7, H9 вируса гриппа А и коронавируса MERS-CoV.

В основе набора реагентов лежит принцип процесса амплификации (умножения) ДНК методом ПЦР, в ходе которой повторяются циклы температурной

денатурации ДНК, отжига праймеров (затравок) с комплементарными последовательностями и последующей достройки полинуклеотидных цепей Taq-полимеразой. Для оценки прохождения ПЦР в смесь для амплификации добавлен внутренний контрольный образец. В наборе предусмотрен способ детекции продуктов амплификации в режиме реального времени. Для детекции продуктов амплификации в реакционную смесь введены зонды, каждый из которых содержит флуоресцентную метку и гаситель флуоресценции. В случае образования специфического продукта зонд разрушается, что ведёт к возрастанию уровня флуоресценции, который фиксируется оптической системой амплификатора.

Использование специфических зондов позволяет отдельно регистрировать результаты амплификации фрагментов геномов респираторных вирусов и внутреннего контрольного образца. Зонды, используемые в реакции, мечены флуоресцентными красителями, детектирующимися на каналах FAM, HEX, ROX. Предварительные лабораторные испытания разработанного набора показали, что аналитическая специфичность составила 100%, аналитическая чувствительность –  $1 \times 10^3$  Гэ/мл. Набор подготовлен для проведения процедуры государственной регистрации.

Таким образом, при необходимости раннего выявления вирусов гриппа А субтипов H5, H7, H9 и коронавируса MERS-CoV может быть использован набор реагентов «ТОРИ-ген». Своевременное выявление возбудителей новых вирусных инфекций будет способствовать предотвращению завоза и контролю их распространения на территории Республики Беларусь, и тем самым, обеспечению биобезопасности страны.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. WHO Cumulative number of confirmed human cases for avian influenza A(H5N1) reported to WHO, 2003-2016 [Electronic resource]. 2016 – Mode of access : [http://http://www.who.int/influenza/human\\_animal\\_interface/2016\\_07\\_19\\_tableH5N1.pdf?ua=1](http://http://www.who.int/influenza/human_animal_interface/2016_07_19_tableH5N1.pdf?ua=1). Date of access : 30.08.2016.
2. WHO Human infection with avian influenza A(H7N9) virus – China [Electronic resource]. 2016. Mode of access : <http://http://http://www.who.int/csr/don/07-august-2016-ah7n9-china/en>. Date of access : 30.08.2016.
3. WHO Human infection with avian influenza A(H5N6) virus. China [Electronic resource]. 2016. Mode of access : <http://http://www.who.int/csr/don/08-june-2016-ah5n6-china/en>. Date of access : 30.08.2016.
4. WHO Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) [Electronic resource]. 2015. Mode of access : <http://http://www.who.int/emergencies/mers-cov/en>. Date of access : 30.08.2016.