

ОБЗОРЫ И ЛЕКЦИИ

© Коллектив авторов, 2012

А.Е. ПЛАТОНОВ¹, В.В. МАЛЕЕВ¹, Л.С. КАРАНЬ¹, И.В. САННИКОВА²,
В.Д. ПАСЕЧНИКОВ², О.В. ПЛАТОНОВА¹, С.Е. СМИРНОВА³,
О.В. МАЛЕЦКАЯ⁴, Н.Ф. ВАСИЛЕНКО⁴, А.Н. КУЛИЧЕНКО⁴

КРЫМСКАЯ ГЕМОРРАГИЧЕСКАЯ ЛИХОРАДКА В ЕВРАЗИИ В XXI ВЕКЕ: КЛИНИКА И ДИАГНОСТИКА

¹ Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва;

² Ставропольская государственная медицинская академия Минздрава России;

³ Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАМН, Московская область;

⁴ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора

В обзоре рассмотрены вопросы клиники и диагностики Крымской геморрагической лихорадки (КГЛ), обращено внимание на то, что до 60–80% заболеваний КГЛ в России и Турции в XXI веке протекают без развития геморрагического синдрома. Перечислены прогностические факторы тяжелого течения заболевания и летального исхода: признаки коагулопатии (снижение числа тромбоцитов и уровня гемоглобина, повышение международного нормализованного отношения и активированного частичного тромбопластинового времени), существенный рост уровня аспаратаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы в крови, высокая концентрация вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ) в крови, а также ошибочный диагноз на амбулаторном или госпитальном этапе.

Сопоставлены характеристики наиболее распространенных диагностических методов: выявления специфических анти-ККГЛ IgM и IgG в ИФА и РНК вируса в ПЦР. Рассмотрены различные подходы к разработке ПЦР-тест-систем для диагностики КГЛ, результаты их испытаний и практического применения. Следует подчеркнуть, что использование ПЦР критически необходимо для ранней диагностики и адекватной терапии КГЛ, в то время как серологические методы, также обладающие высокой чувствительностью и специфичностью, могут применяться в основном для поздней ретроспективной диагностики в эпидемиологических целях.

Ключевые слова: Крымская геморрагическая лихорадка, вирус Крымской-Конго геморрагической лихорадки, Евразия, клиника, диагностика.

A.E. PLATONOV¹, V.V. MALEEV¹, L.S. KARAN¹, I.V. SANNIKOVA², V.D. PASECHNIKOV², O.V. PLATONOVA¹,
S.E. SMIRNOVA³, O.V. MALETSKAYA⁴, N.F. VASILENKO⁴, A.N. KULICHENKO⁴

CRIMEAN-CONGO HEMORRHAGIC FEVER IN EURASIA IN THE XXI CENTURY: CLINICAL PRESENTATION AND DIAGNOSTICS

¹Central Research Institute of Epidemiology, Russian Inspectorate for the Protection of Consumer Rights and Human Welfare, Moscow;

²State Medical Academy, Ministry of Health of Russia, Stavropol;

³Chumakov Institute of Poliomyelitis and Viral Encephalites, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow Region;

⁴Anti-Plague Institute, Russian Inspectorate for the Protection of Consumer Rights and Human Welfare, Stavropol

The review considers the clinical presentation and diagnostics of Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF). Attention is drawn to the absence of hemorrhagic syndrome in 60-80% CCHF cases in Russia and Turkey in the XXI century. The prognostic factors for severe disease and lethal outcome are specified, which include coagulopathy markers (abnormal platelet count, hemoglobin, activated partial thromboplastin time, and international normalized ratio), significantly increased blood levels of alanine transferase and aspartate transferase, the high blood concentration of CCHF virus, as well as the wrong diagnosis at the pre-hospital stage and/or at admission. The diagnostic characteristics of widely used tools, specific ELISA for anti-CCHF IgM/IgG and PCR-based tests, are compared. We consider different approaches to the development of diagnostic PCR assays for CCHF, the results of trials and practical use of PCR-based diagnostics. It should be noted that the use of PCR assays is critical for early CCHF diagnostics and adequate treatment, whereas serological methods, having also excellent specificity and sensitivity, may be used mainly for late and retrospective diagnosis with epidemiological purposes.

Key words: Crimean-Congo hemorrhagic fever, Eurasia, clinical presentation, diagnostics.

Крымская геморрагическая лихорадка (КГЛ) — зоонозная природно-очаговая инфекционная болезнь (код по МКБ-10 — А98.0), вызываемая вирусом Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ).

Вопросы вирусологии, классической и молекулярной эпидемиологии и профилактики КГЛ, а также заболеваемость и региональные эпидемиологические особенности КГЛ были рассмотрены в нашем предыдущем сообщении [1]. Показано, что в XXI веке активизировались старые и появились новые природные очаги КГЛ в Евразии, существенно возросла заболеваемость. В результате был накоплен большой массив данных по клинике КГЛ, появились и были внедрены новые методы диагностики, которые рассматриваются в этой статье. Поскольку результаты исследований, проведенных в России, хорошо известны читателю и доступны из других источников, в обзоре особое внимание уделено анализу англоязычной литературы, в частности публикаций, основанных на данных, полученных в ходе эпидемии КГЛ в Турции в 2002–2012 гг.

Клиника КГЛ

По имеющимся данным, у всех млекопитающих, кроме человека, инфекция ККГЛ протекает практически бессимптомно, выражаясь в невысокой транзитной виремии с последующей выработкой специфических антител. Экспериментальное заражение овец может сопровождаться невысокой лихорадкой, коров — вялостью и снижением аппетита. Известным исключением является летальная инфекция ККГЛ у новорожденных мышей, то есть у особей с несформировавшимся иммунитетом [2, 3].

Предполагают, что не менее 80% случаев инфекции вирусом ККГЛ у человека также протекают бессимптомно [4]. Наличие в очагах иммунной прослойки населения, не перенесшего клинического заболевания КГЛ, очевидно свидетельствует в пользу этого предположения. Высочайший уровень виремии при клинических случаях КГЛ (см. ниже) показывает, что у части популяции может быть нарушен механизм, ограничивающий репликацию вируса ККГЛ в организме человека. Поиск вариантов генов/белков (генетических полиморфизмов), сочетающихся с существенно повышенной предрасположенностью к развитию КГЛ, пока безуспешен [5, 6].

В течении клинически выраженной КГЛ выделяют 4 периода: инкубационный (1–14 дней, чаще 3–7); предгеморрагический (1–7 дней); геморрагический (2–5 дней); реконвалесценция (начиная с 10–20-го дня заболевания) [3, 7, 8].

По мнению российских и зарубежных (в последние годы в первую очередь турецких) специалистов, в предгеморрагический период основными симптомами являются слабость, лихорадка, головная боль, миалгия, тошнота (все эти симптомы встречаются в 60–90% случаев); возможны диарея, катаральные явления, гиперемия склер, кожи

лица, шеи и грудной клетки. На следующей стадии геморрагические проявления на коже варьируют от петехиальной сыпи до крупных гематом, возможны носовые кровотечения (15–50% случаев), кровавая рвота (7–35%), мелена (1–15%), кровохарканье (10%), гематурия (10–20%), кровоточивость десен (10%) [6, 8–11]. Следует подчеркнуть, что при налаженной системе эпидемиологического надзора и диагностики КГЛ в эндемичных регионах большинство больных госпитализируют в предгеморрагическом периоде, на 2–5-й день заболевания. Возможно поэтому, по последним данным, геморрагический синдром отмечался в Турции в 2004–2005 гг. только у 30–40% больных КГЛ, в 2006–2007 гг. — у 15–25% [12, 13].

Российские специалисты, опираясь на клинический опыт, накапливавшийся с 1945 г. [7, 8, 14], дополнительно к перечисленной выше симптоматике обращают внимание на брадикардию и гипотонию в предгеморрагическом и геморрагическом периодах; при тяжелом течении болезни с кровотечениями брадикардия сменяется тахикардией [15]. Наличие или отсутствие геморрагического синдрома составляет основу российской клинической классификации. В работах, опубликованных в XX веке, геморрагический синдром отмечался у 85–90% российских больных КГЛ [16]. Однако в 2005–2010 гг., как и в Турции, лишь около 40% случаев заболевания КГЛ в России протекало с геморрагическим синдромом, при этом только в 20% случаев имело место тяжелое течение заболевания [1, 17].

Статистически значимыми прогностическими факторами летального исхода является мелена и кровавая рвота [6, 9, 10]. Профузные кровотечения в брюшную полость, маточные кровотечения и интрацеребральные кровоизлияния сравнительно редки (1–2%), но являются наиболее неблагоприятными прогностическими признаками. В принципе возможно повреждение сосудов, питающих любой орган, поэтому геморрагические симптомы встречаются в разных, иногда необычных, сочетаниях, причем степень их выраженности определяет тяжесть и исход болезни.

Увеличение печени наблюдается у 15–40% больных, селезенки — у 10–20%, лимфоаденопатия — у 15–40%. У части (до 15%) больных отмечают признаки поражения дыхательных путей, в тяжелых случаях сопровождающиеся интерстициальным отеком легких по типу острого респираторного дистресс-синдрома [18].

Турецкие специалисты, в отличие от отечественных, не отмечали серьезных осложнений на стадии реконвалесценции [19].

Тромбоцитопения, лейкопения, повышенный уровень АСТ, АЛТ, ЛДГ, КФК — типичные проявления КГЛ, встречающиеся в 65–95% случаев [12]. Нарушения системы свертывания крови при КГЛ отражаются в увеличении протромбинового времени (ПТВ), международного нормализованного отношения (МНО), активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), снижении концентрации фибриногена; другие показатели

свертывания (белок S, D-димеры, антитромбин III) менее информативны [10, 20]. Имеет место активация системы комплемента, что может быть зарегистрировано по усиленному потреблению компонентов C3 и C4 [10, 19]. Пациенты с геморрагическим синдромом (тяжелое течение болезни) и без него (среднетяжелое) отличаются по ряду лабораторных показателей. Методом характеристических кривых (ROC) было показано, что для больных с геморрагическим синдромом типичны: число тромбоцитов ниже $90 \times 10^9/\text{л}$; гемоглобин $< 135 \text{ г/л}$; ПТВ $> 13 \text{ с}$; АЧТВ $> 35 \text{ с}$; МНО $> 1,0$; АСТ $> 120 \text{ МЕ/л}$; АЛТ $> 70 \text{ МЕ/л}$; ЛДГ $> 510 \text{ МЕ/л}$; КФК $> 270 \text{ МЕ/л}$; С-реактивный белок $> 6 \text{ мг/л}$. Многофакторный анализ логистической регрессии показал, что независимыми маркерами развития геморрагического синдрома являются снижение числа тромбоцитов и уровня гемоглобина, повышение величины МНО, концентраций АСТ и С-реактивного белка относительно указанных выше пороговых значений [13]. Российские специалисты также обращают внимание на то, что особенностью КГЛ является не только снижение количества тромбоцитов, но и нарушение их функциональной и секреторной активности, адгезии и агрегации [8, 21].

Статистически значимыми лабораторными прогностическими факторами летального исхода являются: число тромбоцитов ниже $20 \cdot 10^9/\text{л}$; АЛТ $> 900 \text{ МЕ/л}$; АСТ $> 700 \text{ МЕ/л}$; АЧТВ $> 60 \text{ с}$; фибриноген $< 1,1 \text{ г/л}$ [9]. Российские специалисты предлагают несколько иной набор прогностических факторов и их пороговых значений: число тромбоцитов ниже $55 \times 10^9/\text{л}$; АЛТ выше «двух границ нормы», АЧТВ $> 113 \text{ с}$; протромбиновый индекс $< 67\%$ [22]. Для прогноза исхода КГЛ можно также пользоваться международной шкалой тяжести ДВС-синдрома [23]. Оценка по шкале выше 4 баллов соответствует тяжелому течению заболевания, оценка выше 6 типична для умерших больных [24]. Развитие декомпенсированного, с внутренними кровотечениями, ДВС-синдрома, как правило, приводит к полиорганной недостаточности и смерти на 3–10-й день от начала заболевания.

Летальность КГЛ в XX веке, по различным сообщениям, варьировала от 10 до 50%, в частности в СССР она достигала 20% [14]. По данным, полученным в России, Турции и Иране в XXI веке, летальность при клинически выраженных, лабораторно подтвержденных формах инфекции не превышает 5–10% [1, 9, 12, 13, 25]. Это может быть обусловлено как повышением качества диагностики и активным выявлением среднетяжелых и легких форм КГЛ, особенно без геморрагического синдрома, так и, в известной мере, объективными причинами (своевременным и адекватным оказанием медицинской помощи).

Завышенная оценка биологической опасности вируса ККГЛ выразилась в отнесении его в США и Европе к микроорганизмам 4-й (высшей) степени патогенности, что негативно сказывается на экспериментальных исследованиях данной инфекции (в ряде работ на культурах клеток и животных

в качестве суррогата вируса ККГЛ используют «менее патогенный» найровирус Хазара или арте-ривирус геморрагической лихорадки обезьян [26, 27]. В этих странах формальная необходимость госпитализации больных КГЛ исключительно в условиях наивысшей биобезопасности отсрочивает начало лечения и затрудняет его в целом [3, 28].

Лабораторная диагностика КГЛ

Возможности дифференциальной клинической диагностики КГЛ ограничены, поскольку множество вирусных и бактериальных инфекций, включая трансмиссивные, протекает с развитием геморрагического синдрома и/или ДВС. Встречаются и диагностические ошибки, при которых у больных КГЛ диагностируют соматические заболевания, сопровождающиеся кровоточивостью. Для исключения этих ошибок важен учет эпидемиологического анамнеза. Практический опыт оказания медицинской помощи в Ставропольском крае в 2000–2005 гг. показал, что при первичном обращении ошибочный диагноз был поставлен 75% больных КГЛ, а при поступлении в стационар – почти 50%. При этом ошибочный диагноз на амбулаторном или госпитальном этапе был существенным фактором риска летального исхода при КГЛ (соотношение шансов больше 3) [22]. Поэтому умение выявить по клинико-эпидемиологическим показателям больных с подозрением на КГЛ с целью своевременного применения эффективных методов лабораторной диагностики КГЛ невозможно переоценить. В современной практике чаще всего применяются 3 метода диагностики КГЛ, обладающие своими преимуществами и ограничениями [29].

Вирусологический метод – изоляция вируса ККГЛ из биологического материала путем заражения новорожденных мышей или культур клеток – является «золотым стандартом» диагностики. Заражение новорожденных мышей – более чувствительный вариант методики, вирус может быть изолирован вплоть до 12-го дня заболевания. Однако работу с живой культурой ККГЛ можно производить только на базе лабораторий, имеющих разрешение и возможность работы с микроорганизмами 2-й группы патогенности (по российской классификации), а сам процесс изоляции занимает несколько дней. Следует отметить также, что вирусологический метод, требующий присутствия живого возбудителя в образце, обладает меньшей диагностической чувствительностью, чем метод ПЦР (см. ниже). В работе [30] из 41 образца сыворотки крови больных КГЛ, положительных в ПЦР, лишь 26 (63%) проб оказались способными заразить новорожденных мышей и/или культуру клеток Vero. Поэтому вирусологический метод применяют в основном в исследовательских целях, для последующего детального изучения штаммов вируса ККГЛ.

Для практической диагностики наиболее широко используют выявление специфических IgM-и/или IgG-антител в сыворотке крови больного

методом ИФА [29]. Иммунодоминантным антигеном вируса ККГЛ является нуклеокапсид; несмотря на различие генотипов, штаммы вируса ККГЛ относятся к одному серотипу [3, 14]. Антитела к вирусу ККГЛ, по-видимому, не обладают кросс-реактивностью по отношению к другим патогенным микроорганизмам, циркулирующим в России (при исследовании больных из других регионов следует учитывать возможность кросс-реактивности с найровирусами Дугбе, Хазара и др.). Это является существенным преимуществом, позволяющим использовать одну тест-систему для диагностики инфекции, вызванной разными генотипами вируса ККГЛ. ИФА-тест нового поколения использует в качестве антигена рекомбинантный нуклеопротеин ККГЛ, что позволяет избежать использования поликлональных антител и стандартизировать методику [31].

В России тест-системы для выявления IgM и IgG к вирусу ККГЛ выпускают ЗАО «Биосервис» (<http://bioservice.com.ru>) и ЗАО „ВЕКТОР-БЕСТ” (www.vector-best.ru). Принципиальным ограничением ИФА-диагностики КГЛ является то, что IgM-антитела появляются в среднем на 5–7-й день заболевания/госпитализации, а IgG-антитела – не ранее 2–3-й недели болезни. Таким образом, лабораторная диагностика в момент поступления больного затруднена, что создает проблемы для выбора адекватной терапии, своевременного проведения противоэпидемических мероприятий, предотвращения внутрибольничного инфицирования [12, 32]. У большинства умерших от КГЛ больных содержание IgM- и, тем более, IgG-антител в крови не достигает диагностического уровня [3, 9, 33]. IgM-антитела сохраняются в крови переболевших КГЛ в течение полугода, IgG-антитела – по меньшей мере 5 лет [31, 34].

К настоящему моменту предложен ряд методик детекции РНК вируса ККГЛ и диагностики КГЛ с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР), предусматривающие различные способы выявления ПЦР-продукта: электрофорез в агарозном геле [35, 36], гибридизацию с зондами на микрочипах [37], ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ) со специфическими зондами [38–42]. Предел детекции РНК вируса ККГЛ в ПЦР достигает 100 копий генома/ мл образца (например, плазмы крови) или около 5–10 копий генома в реакцию [38]. Показано, что в экспериментальных условиях одна копия генома вируса ККГЛ соответствует приблизительно одной инфекционной «фокус-формирующей единице» [43]. Проблемой при разработке ПЦР-диагностики КГЛ является существенное разнообразие нуклеотидных последовательностей вируса ККГЛ, которое к тому же для ряда генотипов вируса ККГЛ описано недостаточно. Известны варианты ПЦР-методик, использующих в качестве мишени сегмент М [43] или сегмент L (АмплиСенс® ССНФV-FL), но большинство методик используют в качестве мишени сегмент S, охарактеризованный наиболее полно [35–40, 42]. Некоторые методики специализированы для выявления только одно-

го генотипа, циркулирующего на определенной территории [39], другие нацелены на то, чтобы выявлять несколько генотипов или все известные генотипы [35, 38, 41]. При этом методики на основе микрочипов способны работать и в случае появления отдельных ранее не описанных мутаций [37].

Как и при многих инфекциях, плазма является лучшим материалом для ПЦР-диагностики по сравнению с сывороткой крови. РНК вируса ККГЛ выявляется также в слюне и моче больных в количестве, сопоставимом с плазмой, что можно использовать для неинвазивной ПЦР-диагностики КГЛ [44]. Следует отметить, что в работе [44] не изучалась жизнеспособность вируса ККГЛ, а в исследованиях 1967–1969 гг. А.М. Бутенко и М.П. Чумакову не удалось выделить вирус из мочи 10 больных КГЛ в разгар болезни с выраженной вирусемией [45].

Принципиальным преимуществом ПЦР-диагностики КГЛ является то, что вирусная нагрузка в крови больного, как правило, максимальна при госпитализации, сохраняется у большинства больных на 7–14-й день заболевания, а у некоторых больных выявляется даже на 3-й неделе болезни. Таким образом, диагностика возможна в ходе всего лечения, а в критический момент поступления специфичность и чувствительность ПЦР-диагностики превышает 95% [33]. По имеющимся сведениям, Россия является единственной страной, в которой ПЦР-тест-системы для диагностики КГЛ официально сертифицированы (имеют регистрационные удостоверения РФ № ФСР 2008/03360 от 15.10.08 и № ФСР 2012/12997 от 03.02.12), промышленно выпускаются и широко используются в практике [32]. Тест-системы «АмплиСенс® ККГЛ-EPH» с электрофоретической детекцией продуктов амплификации в агарозном геле и «АмплиСенс® ССНФV-FL» с флуоресцентной детекцией разработаны в Центральном НИИ эпидемиологии и распространяются через ООО «ИнтерЛабСервис» (www.interlabservice.ru).

В сертификационных испытаниях тест-системы «АмплиСенс® ККГЛ-EPH» были установлены ее 100% специфичность и чувствительность при работе со штаммами вируса ККГЛ различных генотипов и штаммами гетерологичных вирусов. При сопоставлении аналитической чувствительности вирусологического метода заражения новорожденных белых мышей и тест-системы «АмплиСенс® ККГЛ-EPH» было показано, что инфекционная активность вируса на мышках составила 10^7 ЛД₅₀/мл, а чувствительность ПЦР-тест-системы при разведении вируса плазмой крови была на порядок лучше, то есть позволяла выявлять концентрации вируса ККГЛ, равные 0,1 ЛД₅₀/мл и ниже. Одновременно было показано, что аналитическая чувствительность (предел детекции) тест-системы «АмплиСенс® ККГЛ-EPH» составляет 5×10^3 копий генома/мл сыворотки или плазмы крови. При исследовании клинических образцов сыворотки крови от 21 больного с верифицированным диагнозом КГЛ и 100 контрольных образцов сыворотки была показана 100% специ-

фичность ПЦР-тест-системы и ее 100% чувствительность при использовании образцов, взятых в 1-ю неделю заболевания [36].

Получен также патент на изобретение № 2276362 «Способ выявления вируса КГЛ в биологическом и полевом материале», позволяющий производить предварительную селективную концентрацию вируса на поверхности магнитных иммунных сорбентов и тем самым улучшать предел его детекции методом ПЦР. Использование метода концентрации и очистки от примесей, ингибирующих ПЦР, особенно эффективно при исследовании клещей [46].

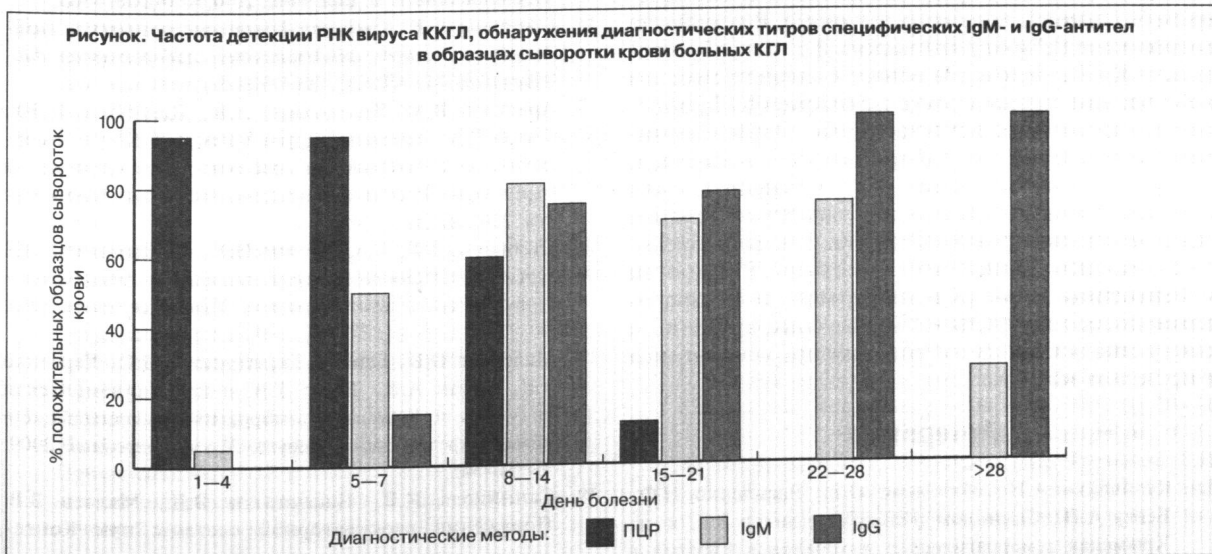
Лабораторная методика диагностики КГЛ, аналогичная ПЦР-тест-системе «АмплиСенс® ККГЛ-EPH», использовалась в Ставропольском крае, Волгоградской и Ростовской областях уже в 2001–2002 гг. [34, 35, 47, 48]. Результаты нашего исследования 366 сывороток крови, собранных от 178 больных с подозрением на КГЛ в Ставропольском крае в 2001 г. (66 больных) и в 2002 г. (112 больных), позволили оценить диагностические возможности лабораторных методик в реальных условиях. У 5 больных ПЦР-положительные пробы были взяты в 1-ю неделю заболевания, но отсутствовали более поздние парные сыворотки для серологического подтверждения методом ИФА. У 18 больных, напротив, диагноз КГЛ был поставлен на основе выявления диагностического титра специфических IgM и/или сероконверсии по IgG, но не было необходимых для ПЦР-диагностики проб, взятых в 1-ю неделю заболевания. Результаты, полученные при обследовании этих 23 больных, не использовались при сопоставлении ПЦР и ИФА-методик. У 88 больных не выявлены ни РНК вируса ККГЛ, ни специфические антитела к вирусу ККГЛ (истинно-отрицательные результаты), и, таким образом, диагноз КГЛ был снят. У 62 больных диагноз КГЛ был подтвержден как методом ПЦР, так и методом ИФА (истинно-положительные результаты). У 2 больных в крови обнаружена РНК вируса ККГЛ, но выработка специфических антител на 9–13-й

день болезни не обнаружена. Мы трактуем это как истинно-положительные результаты ПЦР и ложно-отрицательные результаты ИФА. У 3 больных отмечено 4-кратное нарастание титра специфических IgG, но пробы, взятые в 1-ю неделю болезни, были ПЦР-отрицательны, что предположительно являлось ложно-отрицательным результатом ПЦР. Таким образом, по самым строгим оценкам, специфичность метода ПЦР относительно метода ИФА составила не менее 98%, а чувствительность – 95%.

Результаты диагностики на разных этапах развития инфекции у больных с подтвержденным диагнозом КГЛ могут быть суммированы следующим образом (см. рисунок). В первые 4 дня болезни чувствительность ПЦР-диагностика превышает 95%, а серологическая диагностика практически невозможна. К концу 1-й недели специфические IgM-антитела выявляются приблизительно у 50% больных КГЛ, специфические IgG-антитела – только у 10–15% больных. На 2-й неделе заболевания процент положительных ПЦР-находок снижался, на 3-й не превышал 10–20%, к 4-й неделе вирус элиминировался из крови всех больных КГЛ. Одновременно возрастает доля проб, содержащих IgM и IgG в диагностических титрах. Максимум (92%) IgM-положительных проб достигается на 3-й неделе заболевания, к 4-й неделе специфические IgG выявляются у 100% больных КГЛ. Результаты четко показывают место двух лабораторных методов, которые должны применяться для диагностики КГЛ в совокупности. Серологический метод пригоден для постановки окончательного диагноза перед выпиской больного, то есть имеет в основном ретроспективное эпидемиологическое значение. Метод ПЦР, напротив, незаменим в первые дни болезни, что чрезвычайно важно для выбора адекватной терапии, предотвращения случаев внутрибольничного инфицирования, проведения противоэпидемических мероприятий в очаге.

Практическое применение коммерческой тест-системы «АмплиСенс® ККГЛ-EPH» и тест-сис-

Рисунок. Частота детекции РНК вируса ККГЛ, обнаружения диагностических титров специфических IgM- и IgG-антител в образцах сыворотки крови больных КГЛ



тем для выявления антител к вирусу ККГЛ ЗАО «Биосервис» в 2006–2009 гг. в Астраханской области для исследования сывороток крови, взятых у 33 больных с подтвержденным диагнозом КГЛ [32], показало, что специфичность ОТ-ПЦР равна 100%, а чувствительность – 95% на 4–8-й день болезни и 38% на 9–12-й день. Позже РНК вируса ККГЛ не выявлялась. Диагностика по наличию IgM была возможна, начиная с 9-го дня болезни (чувствительность – 92%), а по IgG – только после 12-го дня (чувствительность – 100%).

Для количественного исследования РНК вируса ККГЛ в сыворотке крови был разработан и использован вариант ПЦР-методики с детекцией в режиме реального времени с интеркалирующим красителем SYBR GREEN. В данном формате исследования использовали неконкурентный внутренний контрольный образец (гено-инженерный конструктор генома вируса гепатита С – ВКО HCV) с известной концентрацией. Предварительно была определена концентрация кДНК контролей-калибраторов для вируса ККГЛ (K1 CCHFV, K2 CCHFV) и кДНК HCV (K1 HCV и K2 HCV), по которым на приборе iQiCycler («Biorad», США) построена калибровочная кривая, определяющая линейный диапазон измерений. Экстракцию РНК проводили в присутствии ВКО HCV, ПЦР-реакцию с детекцией в реальном времени – в присутствии K1- и K2-калибраторов для CCHFV и HCV. Путем пересчета с использованием калибровочной кривой определяли вирусную нагрузку – число копий генома вируса ККГЛ в образце. Данный подход был использован для оценки величины и скорости изменения вирусной нагрузки в процессе заболевания и лечения КГЛ, для изучения патогенеза инфекции, а также для коррекции и оценки эффективности терапии [8, 47, 49].

В XXI веке на фоне осложнения эпидемической обстановки по КГЛ произошло несколько важных изменений в общем понимании этой инфекции. Существенно улучшились выявление и диагностика случаев КГЛ со среднетяжелым и легким течением без геморрагического синдрома. В результате возрос вклад этих клинических форм в заболеваемость КГЛ в целом. На основе большого массива наблюдений описан спектр симптомов КГЛ, определена частота их встречаемости. Изучен комплекс клинических и лабораторных показателей, которые применяются или могут применяться для прогноза течения и исхода КГЛ; их относительная значимость как прогностических факторов оценена с помощью статистических методов. Разработан и сертифицирован ряд диагностических препаратов нового поколения [50], которые пришли на смену диагностическим методам, применявшимся в прошлом веке.

Литература

- Куличенко А.Н., Малецкая О.В., Василенко Н.Ф., Бейер А.П., Санникова И.В., Пасечников В.Д. и др. Крымская геморрагическая лихорадка в Евразии в XXI веке: эпидемиологические аспекты. *Эпидемиол. и инфекц. болезни. Актуал. вопр.* 2012; (3): 42–53.
- Hoogstraal H. The epidemiology of tick-borne Crimean-Congo hemorrhagic fever in Asia, Europe, and Africa. *J. Med. Entomol.* 1979; 15 (4): 307–417.
- Whitehouse C.A. Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Antiviral Res.* 2004; 64 (3): 145–160.
- Goldfarb L.G., Chumakov M.P., Myskin A.A. et al. An epidemiological model of Crimean hemorrhagic fever. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1980; 29 (2): 260–264.
- Arslan S., Engin A. Relationship between NF-kappaB1 and NF-kappaB1A genetic polymorphisms and Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Scand. J. Infect. Dis.* 2012; 44 (2): 138–143.
- Engin A., Arslan S., Kizildag S. et al. Toll-like receptor 8 and 9 polymorphisms in Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Microbes Infect.* 2010; 12(12–13): 1071–1078.
- Малеев В.В., Галимзянов Х.М., Бутенко А.М., Чернов И.В. *Крымская геморрагическая лихорадка*. М.–Астрахань: Изд-во АГМА, 2003. 120 с.
- Санникова И.В. *Крымская-Конго геморрагическая лихорадка: клинико-патогенетические аспекты и оптимизация лечения*. Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 2009.
- Ergonul O., Celikbas A., Baykam N. et al. Analysis of risk factors among patients with Crimean-Congo haemorrhagic fever virus infection: severity criteria revisited. *Clin. Microbiol. Infect.* 2006; 12 (6): 551–554.
- Ozturk B., Tutuncu E., Kuscu F. et al. Evaluation of factors predictive of the prognosis in Crimean-Congo hemorrhagic fever: new suggestions. *Int. J. Infect. Dis.* 2012; 16 (2): e89–e93.
- Галимзянов Х.М., Малеев В.В., Чернов И.В., Аршба Т.Е., Чернова Л.П. Дифференциальная диагностика крымской геморрагической лихорадки и астраханской риккетсиозной лихорадки. *Инфекц. бол.* 2006; 4 (1): 67–69.
- Yilmaz G.R., Buzgan T., Irmak H. et al. The epidemiology of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Turkey, 2002–2007. *Int. J. Infect. Dis.* 2009; 13 (3): 380–386.
- Yilmaz G., Koksali I., Topbas M. et al. The effectiveness of routine laboratory findings in determining disease severity in patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever: severity prediction criteria. *J. Clin. Virol.* 2010; 47 (4): 361–365.
- Смирнова С.Е. *Крымская-Конго геморрагическая лихорадка (этиология, эпидемиология, лабораторная диагностика)*. М.: АТиСО, 2007. 304 с.
- Аристова В.А., Колобухина Л.В., Щелканов М.Ю., Львов Д.К. Экология вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки и особенности её клиники на территории России и сопредельных стран. *Вопр. вирусол.* 2001; 47 (4): 7–14.
- Онищенко Г.Г., Москвитина Э.А., Водяницкая С.Ю. Крымская геморрагическая лихорадка: эпидемиологические типы заболеваемости. *Журн. микробиол.* 2005; (4): 17–23.
- Малецкая О.В., Бейер А.П., Агапитов Д.С., Харченко Т.В., Таран А.В., Таран Т.В. и др. Эпидемическая ситуация по Крымской геморрагической лихорадке в Южном федеральном округе. *Журн. микробиол.* 2009; (6): 51–54.
- Санникова И.В., Пасечников В.Д., Малеев В.В. Поражения респираторной системы при Конго-

- крымской геморрагической лихорадке. *Тер. арх.* 2007; 79 (11): 20–23.
19. Ozkurt Z., Kiki I., Erol S. et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Eastern Turkey: clinical features, risk factors and efficacy of ribavirin therapy. *J. Infect.* 2006; 52 (3): 207–215.
 20. Onguru P., Dagdas S., Bodur H. et al. Coagulopathy parameters in patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever and its relation with mortality. *J. Clin. Lab. Anal.* 2010; 24 (3): 163–166.
 21. Лазарева Е.Н., Галимзянов Х.М., Полякова А.М., Малеев В.В., Черенова Л.П., Самогруева М.А., Неталиева С.Ж. Роль тромбоцитов в патогенезе геморрагического синдрома Крымской геморрагической лихорадки. *Эпидемиол. и инфекц. бол.* 2007; (1): 24–27.
 22. Санникова И.В., Пасечников А.Д., Малеев В.В., Первушин Ю.В. Крымская-Конго геморрагическая лихорадка в Ставропольском крае: особенности течения тяжелых форм и предикторы легальности. *Инфекц. бол.* 2007; 5 (4): 25–28.
 23. Bakhtiari K., Meijers J.C., de Jonge E., Levi M. Prospective validation of the International Society of Thrombosis and Haemostasis scoring system for disseminated intravascular coagulation. *Crit Care Med.* 2004; 32 (12): 2416–2421.
 24. Ergonul O., Tuncbilek S., Baykam N. et al. Evaluation of serum levels of interleukin (IL)-6, IL-10, and tumor necrosis factor-alpha in patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever. *J. Infect. Dis.* 2006; 193 (7): 941–944.
 25. Sharifi-Mood B., Metanat M., Ghorbani-Vaghei A. et al. The outcome of patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever in Zahedan, southeast of Iran: a comparative study. *Arch. Iran Med.* 2009; 12 (2): 151–153.
 26. Flusin O., Vigne S., Peyrefitte C.N. et al. Inhibition of Hazara nairovirus replication by small interfering RNAs and their combination with ribavirin. *Virology* 2011; 8: 249.
 27. Johnson R.F., Dodd L.E., Yellayi S. et al. Simian hemorrhagic fever virus infection of rhesus macaques as a model of viral hemorrhagic fever: clinical characterization and risk factors for severe disease. *Virology* 2011; 421 (2): 129–140.
 28. Keshtkar-Jahromi M., Kuhn J.H., Christova I. et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever: current and future prospects of vaccines and therapies. *Antiviral Res.* 2011; 90 (2): 85–92.
 29. Организация и проведение профилактических и противоэпидемических мероприятий против Крымской геморрагической лихорадки. Метод. указания МУ 3.1.1.2488-09. М., 2009.
 30. Wolfel R., Paweska J.T., Petersen N. et al. Virus detection and monitoring of viral load in Crimean-Congo hemorrhagic fever virus patients. *Emerg. Infect. Dis.* 2007; 13 (7): 1097–1100.
 31. Dowall S.D., Richards K.S., Graham V.A. et al. Development of an indirect ELISA method for the parallel measurement of IgG and IgM antibodies against Crimean-Congo haemorrhagic fever (CCHF) virus using recombinant nucleoprotein as antigen. *J. Virol. Methods* 2012; 179 (2): 335–341.
 32. Путилина Н.Г., Азарян А.Р., Трусова И.Н., Мальков П.М., Гришанова А.П., Ковтунов А.И. и др. Применение ОТ-ПЦР и иммуноферментного анализа для специфической диагностики крымской геморрагической лихорадки. *Вопр. вирусол.* 2011; 56 (4): 34–38.
 33. Saksida A., Duh D., Wraber B. et al. Interacting roles of immune mechanisms and viral load in the pathogenesis of crimean-congo hemorrhagic fever. *Clin. Vaccine Immunol.* 2010; 17 (7): 1086–1093.
 34. Василенко Н.Ф. Опыт применения ИФА и ОТ-ПЦР в диагностике Крымской геморрагической лихорадки в Ставропольском крае в 2002 г. *Журн. микробиол.* 2005; (4): 90–93.
 35. Карань Л.С., Шипулин Г.А., Платонов А.Е. Лабораторная диагностика Крымской геморрагической лихорадки методом полимеразной цепной реакции. *Клин. лаб. диагностика* 2003; (10): 50–54.
 36. Ларичев В.Ф., Манзенюк И.Н., Найденова Е.В., Карань Л.С., Шарова И.Н., Щербакова С.А. и др. ИФА- и ПЦР-тест-системы, предназначенные для детекции вируса Крымской-конго геморрагической лихорадки. *Вопр. вирусол.* 2007; 52 (4): 43–46.
 37. Wolfel R., Paweska J.T., Petersen N. et al. Low-density microarray for rapid detection and identification of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *J. Clin. Microbiol.* 2009; 47 (4): 1025–1030.
 38. Atkinson B., Chamberlain J., Logue C.H. et al. Development of a Real-Time RT-PCR Assay for the Detection of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2012; 12(9): 786–793.
 39. Duh D., Saksida A., Petrovec M. et al. Novel one-step real-time RT-PCR assay for rapid and specific diagnosis of Crimean-Congo hemorrhagic fever encountered in the Balkans. *J. Virol. Methods* 2006; 133 (2): 175–179.
 40. Garrison A.R., Alakbarova S., Kulesh D.A. et al. Development of a TaqMan minor groove binding protein assay for the detection and quantification of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2007; 77 (3): 514–520.
 41. Kondiah K., Swanepoel R., Paweska J.T., Burt F.J. A Simple-Probe real-time PCR assay for genotyping reassorted and non-reassorted isolates of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in southern Africa. *J. Virol. Methods* 2010; 169 (1): 34–38.
 42. Yapar M., Aydogan H., Pahsa A. et al. Rapid and quantitative detection of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus by one-step real-time reverse transcriptase-PCR. *Jpn. J. Infect. Dis.* 2005; 58 (6): 358–362.
 43. Weidmann M., Sall A.A., Manuguerra J.C. et al. Quantitative analysis of particles, genomes and infectious particles in supernatants of haemorrhagic fever virus cell cultures. *Virology* 2011; 8: 81.
 44. Bodur H., Akinci E., Onguru P. et al. Detection of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus genome in saliva and urine. *Int. J. Infect. Dis.* 2010; 14 (3): e247–e249.
 45. Butenko A.M., Chumakov M.P. Isolation of Crimean-congo hemorrhagic fever virus from patients and from autopsy specimens. *Arch. Virol.* 1999; Suppl 1: 295–301.
 46. Василенко Н.Ф., Ефременко В.И., Афанасьев Е.Н., Еременко Е.И. Применение молекулярно-биологических и иммунологических методов для диагностики Крымской геморрагической лихорадки и детекции ее возбудителя. *Эпидемиол. и инфекц. бол.* 2007; (1): 30–34.
 47. Карань Л.С., Платонов А.Е., Смирнова С.Е., Вышемирский О.И., Журавлев В.И., Еременко Е.И. и др. Генетические исследования при КГЛ: от диагностики до молекулярной эпидемиологии. В кн.:

- Арбовирусы и арбовирусные инфекции.* Под ред. А.М. Бутенко. Тула: ЗАО «Гриф и К», 2007; 57–61.
48. Антонов В.А., Тихонов С.Н., Ткаченко Г.А., Алексеева В.В., Замаев В.С., Жуков А.Н. и др. Использование новых технологий для лабораторной диагностики Крымской геморрагической лихорадки в Волгоградской области. *Журн. микробиол.* 2005; (4): 86–89.
 49. Karan' L.S., Platonov A.E., Sannikova I.V. et al. Viral load at Crimean-Congo hemorrhagic fever and its clinical significance. *Abstracts Book of International Conference on Emerging Infectious Diseases.* Atlanta: 2004; 125.
 50. Escadafal C., Olschlager S., Avsic-Zupanc T. et al. First international external quality assessment of molecular detection of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2012; 6(6): e1706.

Поступила 16.07.12

References

1. Kulichenko A.N., Maletskaya O.V., Vasilenko N.F., Beyer A.P., Sannikova I.V., Pasechnikov V.D. et al. [Crimean-Congo hemorrhagic fever in Eurasia in the 21st century: epidemiological aspects]. *Epidemiologiia i Infektsionnye Bolezni. Aktual'nye Voprosy* 2012; (3): 42–53. (In Russ.)
2. Hoogstraal H. The epidemiology of tick-borne Crimean-Congo hemorrhagic fever in Asia, Europe, and Africa. *J. Med. Entomol.* 1979; 15 (4): 307–417.
3. Whitehouse C.A. Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Antiviral Res.* 2004; 64 (3): 145–160.
4. Goldfarb L.G., Chumakov M.P., Myskin A.A. et al. An epidemiological model of Crimean hemorrhagic fever. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1980; 29 (2): 260–264.
5. Arslan S., Engin A. Relationship between NF-kappaB1 and NF-kappaBIA genetic polymorphisms and Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Scand. J. Infect. Dis.* 2012; 44 (2): 138–143.
6. Engin A., Arslan S., Kizildag S. et al. Toll-like receptor 8 and 9 polymorphisms in Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Microbes Infect.* 2010; 12(12–13): 1071–1078.
7. Maleev V.V., Galimzianov Kh.M., Butenko A.M., Cherenov I.V. *Krymskaia gemorragicheskaja likhoradka* [Crimean hemorrhagic fever]. Moscow-Astrakhan: AGMA Publ., 2003. 120 p. (In Russ.)
8. Sannikova I.V. Dokt. Diss. *Krymskaia-Kongo gemorragicheskaja likhoradka: kliniko-patogeneticheskie aspekty i optimizatsiia lecheniia* [Crimean-Congo hemorrhagic fever: clinical and pathogenetic aspects and optimization of treatment]. Dr. Med. Diss. Moscow, 2009. (In Russ.)
9. Ergonul O., Celikbas A., Baykam N. et al. Analysis of risk-factors among patients with Crimean-Congo haemorrhagic fever virus infection: severity criteria revisited. *Clin. Microbiol. Infect.* 2006; 12 (6): 551–554.
10. Ozturk B., Tutuncu E., Kuscuf F. et al. Evaluation of factors predictive of the prognosis in Crimean-Congo hemorrhagic fever: new suggestions. *Int. J. Infect. Dis.* 2012; 16 (2): e89–e93.
11. Galimzianov Kh.M., Maleev V.V., Cherenov I.V., Arshba T.E., Cherenova L.P. [A differential diagnosis of Crimean hemorrhagic fever and Astakhan rickettsial fever]. *Infektsionnye Bolezni* 2006; 4 (1): 67–69. (In Russ.)
12. Yilmaz G.R., Buzgan T., Irmak H. et al. The epidemiology of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Turkey, 2002–2007. *Int. J. Infect. Dis.* 2009; 13 (3): 380–386.
13. Yilmaz G., Koksali I., Topbas M. et al. The effectiveness of routine laboratory findings in determining disease severity in patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever: severity prediction criteria. *J. Clin. Virol.* 2010; 47 (4): 361–365.
14. Smirnova S.E. *Krymskaia-Kongo gemorragicheskaja likhoradka (etiologiia, epidemiologiia, laboratornaia diagnostika)* [Crimean-Congo hemorrhagic fever]. Moscow: ATISO, 2007. 304 p. (In Russ.)
15. Aristova V.A., Kolobukhina L.V., Shchelkanov M.Iu., L'vov D.K. [Ecology of Crimean-Congo hemorrhagic fever and characteristics of its clinical presentation in Russia and neighbouring countries]. *Vopr. Virusol.* 2001; 47 (4): 7–14. (In Russ.)
16. Onishchenko G.G., Moskvitina E.A., Vodyanitskaia S.Iu. [Crimean hemorrhagic fever: epidemiological types of prevalence]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2005; 4 (Suppl): 17–23. (In Russ.)
17. Maletskaya O.V., Beier A.P., Agapitov D.S., Kharchenko T.V., Taran A.V., Taran T.V. et al. [Epidemic situation on Congo-Crimean hemorrhagic fever in South Federal District of Russia]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2009; (6): 51–54. (In Russ.)
18. Sannikova I.V., Pasechnikov V.D., Maleev V.V. [Respiratory lesions in Congo-Crimean hemorrhagic fever]. *Ter. Arkh.* 2007; 79 (11): 20–23. (In Russ.)
19. Ozkurt Z., Kiki I., Erol S. et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Eastern Turkey: clinical features, risk factors and efficacy of ribavirin therapy. *J. Infect.* 2006; 52 (3): 207–215.
20. Onguru P., Dagdas S., Bodur H. et al. Coagulopathy parameters in patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever and its relation with mortality. *J. Clin. Lab. Anal.* 2010; 24 (3): 163–166.
21. Lazareva E.N., Galimzianov Kh.M., Poliakova A.M., Maleev V.V., Cherenova L.P., Samotrueva M.A., Netaliev S.Zh. [Role of trombocytes in pathogenesis of hemorrhagic syndrome in Crimean hemorrhagic fever]. *Epidemiologiia i Infektsionnye Bolezni* 2007; (1): 24–27. (In Russ.)
22. Sannikova I.V., Pasechnikov A.D., Maleev V.V., Pervushin Iu.V. [Crimean-Congo hemorrhagic fever in the Stavropol region: specificity of severe forms and predictors of lethality]. *Infektsionnye Bolezni* 2007; 5 (4): 25–28. (In Russ.)
23. Bakhtiari K., Meijers J.C., de Jonge E., Levi M. Prospective validation of the International Society of Thrombosis and Haemostasis scoring system for disseminated intravascular coagulation. *Crit. Care Med.* 2004; 32 (12): 2416–2421.
24. Ergonul O., Tuncbilek S., Baykam N. et al. Evaluation of serum levels of interleukin (IL)-6, IL-10, and tumor necrosis factor-alpha in patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever. *J. Infect. Dis.* 2006; 193 (7): 941–944.
25. Sharifi-Mood B., Metanat M., Ghorbani-Vaghei A. et al. The outcome of patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever in Zahedan, southeast of Iran: a comparative study. *Arch. Iran Med.* 2009; 12 (2): 151–153.
26. Flusin O., Vigne S., Peyrefitte C.N. et al. Inhibition of Hazara nairovirus replication by small interfering RNAs and their combination with ribavirin. *Virology* 2011; 8: 249.
27. Johnson R.F., Dodd L.E., Yellayi S. et al. Simian hemorrhagic fever virus infection of rhesus macaques as a model of viral hemorrhagic fever: clinical characterization and risk factors for severe disease. *Virology* 2011; 421 (2): 129–140.

28. Keshtkar-Jahromi M., Kuhn J.H., Christova I. et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever: current and future prospects of vaccines and therapies. *Antiviral Res.* 2011; 90 (2): 85–92.
29. *Organizatsiia i provedenie profilakticheskikh i protivoepidemicheskikh meropriiatii protiv Krymskoi gemorragicheskoi likhoradki. Metod. ukazaniia* MU 3.1.1.2488-09 [Organization and implementation of prophylactic and antiepidemic measures against Crimean hemorrhagic fever. Methodological guideline 3.1.1.2488-09]. Moscow: Rospotrebnadzor Publ., 2009. (In Russ.)
30. Wolfel R., Paweska J.T., Petersen N. et al. Virus detection and monitoring of viral load in Crimean-Congo hemorrhagic fever virus patients. *Emerg. Infect. Dis.* 2007; 13 (7): 1097–1100.
31. Dowall S.D., Richards K.S., Graham V.A. et al. Development of an indirect ELISA method for the parallel measurement of IgG and IgM antibodies against Crimean-Congo haemorrhagic fever (CCHF) virus using recombinant nucleoprotein as antigen. *J. Virol. Methods* 2012; 179 (2): 335–341.
32. Putilina N.G., Azarian A.R., Trusova I.N., Mal'kov P.M., Grishanova A.P., Kovtunov A.I. et al. [Use of RT-PCR and enzyme immunoassays for the specific diagnosis of Crimean hemorrhagic fever]. *Vopr. Virusol.* 2011; 56 (4): 34–38. (In Russ.)
33. Saksida A., Duh D., Wraber B. et al. Interacting roles of immune mechanisms and viral load in the pathogenesis of Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Clin. Vaccine Immunol.* 2010; 17 (7): 1086–1093.
34. Vasilenko N.F. [Experience in the use of the EIA and RT-PCR for diagnostics of Crimean hemorrhagic fever in the Stavropol territory in 2002]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2005; 4 (Suppl): 90–93. (In Russ.)
35. Karan' L.S., Shipulin G.A., Platonov A.E. [Laboratory diagnostics of Crimean hemorrhagic fever by polymerase chain reaction]. *Klin. Lab. Diagn.* 2003; (10): 50–54. (In Russ.)
36. Larichev V.F., Manzenyuk I.N., Naidenova E.V., Karan' L.S., Sharova I.N., Shcherbakova S.A. et al. [ELISA and PCR test systems used to detect Crimean-Congo hemorrhagic fever virus]. *Vopr. Virusol.* 2007; 52 (4): 43–46. (In Russ.)
37. Wolfel R., Paweska J.T., Petersen N. et al. Low-density microarray for rapid detection and identification of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *J. Clin. Microbiol.* 2009; 47 (4): 1025–1030.
38. Atkinson B., Chamberlain J., Logue C.H. et al. Development of a Real-Time RT-PCR Assay for the Detection of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2012; (Epub ahead of print)
39. Duh D., Saksida A., Petrovec M. et al. Novel one-step real-time RT-PCR assay for rapid and specific diagnosis of Crimean-Congo hemorrhagic fever encountered in the Balkans. *J. Virol. Methods* 2006; 133 (2): 175–179.
40. Garrison A.R., Alakbarova S., Kulesh D.A. et al. Development of a TaqMan minor groove binding protein assay for the detection and quantification of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2007; 77 (3): 514–520.
41. Kondiah K., Swanepoel R., Paweska J.T., Burt F.J. A Simple-Probe real-time PCR assay for genotyping reassorted and non-reassorted isolates of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in southern Africa. *J. Virol. Methods* 2010; 169 (1): 34–38.
42. Yapar M., Aydogan H., Pahsa A. et al. Rapid and quantitative detection of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus by one-step real-time reverse transcriptase-PCR. *Jpn. J. Infect. Dis.* 2005; 58 (6): 358–362.
43. Weidmann M., Sall A.A., Manuguerra J.C. et al. Quantitative analysis of particles, genomes and infectious particles in supernatants of haemorrhagic fever virus cell cultures. *Virol. J.* 2011; 8: 81.
44. Bodur H., Akinci E., Onguru P. et al. Detection of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus genome in saliva and urine. *Int. J. Infect. Dis.* 2010; 14 (3): e247–e249.
45. Butenko A.M., Chumakov M.P. Isolation of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus from patients and from autopsy specimens. *Arch. Virol.* 1999; Suppl 1: 295–301.
46. Vasilenko N.F., Efremenko V.I., Afanas'ev E.N., Eremenko E.I. [The use of molecular-biological and immunological methods for diagnostics of CCHF and detection of its agent]. *Epidemiologiia i Infektsionnye Bolezni* 2007; (1): 30–34. (In Russ.)
47. Karan' L.S., Platonov A.E., Smirnova S.E., Vyshemirskii O.I., Zhuravlev V.I., Eremenko E.I. et al. [Genetic investigation of Crimean hemorrhagic fever: from diagnostics to molecular epidemiology]. In: *Arbovirusy i arbovirusnye infektsii* [Arboviruses and arboviral infections]. Tula: «Grif i K» CJSC Publ., 2007; 57–61. (In Russ.)
48. Antonov V.A., Tikhonov S.N., Tkachenko G.A., Alekseeva V.V., Zamaraev V.S., Zhukov A.N. et al. [The use of new technologies for the laboratory diagnostics of Crimean hemorrhagic fever in the Volgograd region]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2005; 4 (Suppl): 86–89. (In Russ.)
49. Karan' L.S., Platonov A.E., Sannikova I.V. et al. Viral load at Crimean-Congo hemorrhagic fever and its clinical significance. *Abstracts Book of International Conference on Emerging Infectious Diseases.* Atlanta: 2004; 125.
50. Escadafal C., Olschlager S., Avsic-Zupanc T. et al. First international external quality assessment of molecular detection of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2012; 6(6): e1706.

Сведения об авторах:

Платонов Александр Евгеньевич, д-р биол. наук, проф., зав. лаб. эпидемиологии природно-очаговых инфекций Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора
Адрес: 111123, Москва, ул. Новогиреевская, д. 3а
Телефон: +7(495) 974-96-46
E-mail: platonov@pcr.ru

For correspondence: Alexander E. Platonov, platonov@pcr.ru
Карань Людмила Станиславовна – науч. сотр. лаб. эпидемиологии природно-очаговых инфекций Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, karan@pcr.ru
Малеев Виктор Васильевич – д-р мед. наук, проф., акад. РАМН, зам. дир. по научно-исследовательской работе Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, maleyev@pcr.ru

Санникова Ирина Викторовна – д-р мед. наук, проф. каф. инфекционных болезней с эпидемиологией Ставропольской государственной медицинской академии Минздрава России

Пасечников Виктор Дмитриевич – д-р мед. наук, проф., зав. каф. терапии Института последипломного и допол-

нительного образования Ставропольской государственной медицинской академии Минздрава России, passetchnikov@mail.ru

Платонова Ольга Владимировна – науч. сотр. лаб. эпидемиологии природно-очаговых инфекций Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, orlatonova@rsg.ru

Смирнова Светлана Евгеньевна – д-р мед. наук, вед. науч. сотр. лаб. геморрагических лихорадок Института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАМН

Малецкая Ольга Викторовна – д-р мед. наук, проф., зам. дир. по науке и противоэпидемической работе, зав. лаб. эпидемиологии Ставропольского противочумного института Роспотребнадзора, snipchi@mail.stv.ru

Василенко Надежда Филипповна – д-р биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. вирусологии Ставропольского противочумного института Роспотребнадзора, snipchi@mail.stv.ru

Куличенко Александр Николаевич – д-р мед. наук, проф., дир. Ставропольского противочумного института Роспотребнадзора, kulichenko_an@list.ru

* * *

Список литературы оформлен в соответствии с рекомендациями Всероссийского института научной и технической информации (ВИНИТИ) РАН для учета ссылок на публикации в Российском Индексе Научного Цитирования (РИНЦ, www.elibrary.ru) и зарубежных библиографических базах.