

## «НОВЫЕ» ГЕМОТРАНСМИССИВНЫЕ ИНФЕКЦИИ И ИХ ПРОФИЛАКТИКА

Жибурт Е.Б., Губанова М.Н., Шестаков Е.А., Максимов В.А.  
Национальный медико-хирургический центр имени Н.И. Пирогова  
Московская медицинская академия имени И.М.Сеченова  
Российская ассоциация трансфузиологов

### ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на серьезный прогресс в лабораторном скрининге донорской крови на маркеры гемотрансмиссивных инфекций, риск передачи этих инфекций сохраняется как в развитых, так и в развивающихся странах. Причем риск сохраняется как для «традиционных» вирусов (ВИЧ-1/2, вирусы гепатитов В и С), так и для «новых»: вирус Западного Нила, Т-лимфотропный вирус I типа (HTLV-I), вирус простого герпеса 8 типа (HHV-8), вирус гепатита G, вирус ТТ.

Если для ряда вышеуказанных инфекций (вирус гепатита G, вирус ТТ) их опасность для здоровья реципиентов является предметом дискуссий, то для вируса Западного Нила такая опасность доказана. С учетом опасности этого вируса для реципиентов компонентов крови в России и странах СНГ целесообразно остановиться на нем подробнее.

### ВИРУС ЗАПАДНОГО НИЛА

Вирус Западного Нила – флавивирус, основным вектором которого являются орнитофильные комары, может инфицировать птиц, лошадей и других млекопитающих (рисунки) [33]. Передача вируса Западного Нила человеку была обнаружена в Африке, странах Средиземноморья и, спорадически, в Европе [8, 20, 27].

О лихорадке Западного Нила известно, что она выражается в высокой температуре, боли в мышцах и суставах, тошноте и других гриппоподобных симптомах. Иногда она поражает центральную нервную систему и переходит в энцефалит, в тяжелых случаях заканчиваясь смертью больного.

Начиная с 1999 года, распространение вируса Западного Нила регистрируется в США, в том числе отмечаются случаи передачи вируса с трансфузией компонентов крови [9, 10, 15, 18]. Предполагали, что в 2002 году риск передачи вируса Западного Нила в городах с высокой частотой инфекции составит от 1,46 до 12,33 на 10 000 донаций крови [9].

Расчетные прогнозы подтвердились: в 2002 году зарегистрированы первые случаи инфекции вирусом Западного Нила, переданные при переливании крови: документировано 23 гемотрансмиссивных заболевания, вызванные трансфузией компонентов крови 16 доноров в стадии виремии. [18, 28].

В июне 2003 году был введен обязательный скрининг всех донаций крови в США методом полимеразной цепной реакции на наличие генома вируса Западного Нила. Однако установлено, что такой скрининг не позволяет исключить все виремические донации: несколько случаев

передачи инфекции зарегистрировано и после начала лабораторного скрининга в США [13]. Как появление «новых» вирусов, так и возможная несостоятельность процедур лабораторной детекции патогенов признаны сильными аргументами в пользу внедрения процедур инаktivации вирусов в лабильных продуктов крови.

Расчеты, основанные на результатах серологических исследований, показывают, что около 20 % случаев инфекции проявляются как острое заболевание с повышением температуры [26, 32]. Менее чем у 1 процента инфицированных развивается серьезное поражение нервной системы (энцефалит, менингит, паралич). Практически в 80 % случаев инфекция протекает бессимптомно, в том числе и в стадии виремии, что обуславливает риск участия в донорстве крови лиц, инфицированных вирусом Западного Нила [23, 31]. Исходя из расчетного показателя - 140 инфекций на каждый случай нейроинвазивного заболевания [26, 32], можно говорить о 800 000 случаев инфекции американцев вирусом Западного Нила в 2002 и 2003 гг – периоде, в котором зарегистрировано 5812 случаев нейроинвазивных заболеваний [19, 28].

### **ВИРУС ЗАПАДНОГО НИЛА В РОССИИ**

Вирус Западного Нила является объектом исследования российских вирусологов. Эпидемическая вспышка лихорадки Западного Нила, зарегистрированная в 1999 году на юге Русской равнины и охватившая Волгоградскую и Астраханскую области и Краснодарский край, сделала исследование этого вируса в России весьма актуальным.

Пик этого заболевания наблюдается в июле-августе, когда вылетает наибольшее количество комаров рода кулекс, переносящих вируса Западного Нила.

Проведены комплексные вирусологические, серологические и молекулярно-генетические исследования экологии вируса Западного Нила в различных экосистемах на территории Астраханской области и Республики Калмыкия. Выявлены основные виды переносчиков, участвующих в циркуляции вируса в природных и антропогенных биоценозах. Филогенетическое изучение выделенных штаммов, показало абсолютное доминирование I генотипа вируса, наиболее близкого к штаммам из США и Израиля. Эпидемические штаммы имели до 6% нуклеотидных различий с историческими штаммами, выделенными в этом же регионе 20—30 лет назад. Выявлена также циркуляция IV генотипа вируса, обладающего сниженной патогенностью. Это, возможно, обеспечивает формирование выраженной иммунной прослойки без эпидемических последствий. Анализ результатов комплексных исследований по экологии вируса Западного Нила указывает на то, что эпицентр эндемичной территории находится в средней части дельты Волги [3].

Вирус Западного Нила (ВЗН) обнаружен в 3 видах птиц, коллекционированных в летне-осенний период 2002 г. на юге Западной

Сибири. Индикацию ВЗН проводили с помощью иммуноферментного анализа и ОТ-ПЦР. Из 5 мертвых грачей (*Coryvus frugilegus*), найденных на территории Кулундинской низменности, 3 оказались инфицированы ВЗН. РНК ВЗН была обнаружена в 2% образцов внутренних органов птиц водного комплекса — чирка-свистунка (*Anas strepera*) и чирка-трескуна (*Anas querquedula*), добытых на оз. Чаны (Барабинская низменность). Определение нуклеотидной последовательности 300—472 а. о. фрагмента гена белка Е ВЗН показало, что максимальный уровень гомологии нуклеотидной последовательности связан со штаммом WNV/LEIV-Vlg99-27889, который был изолирован от пациента в Волгограде (1999 г.). Высокий уровень гомологии нуклеотидной последовательности дает основание предположить наличие связи между вариантами ВЗН, циркулирующими в Северном Прикаспии и на юге Западной Сибири [6].

В летне-осенний период 1997–1999 гг. в Волгограде и примыкающих к нему территориях области наблюдалась повышенная заболеваемость острыми инфекциями, сопровождавшимися лихорадкой и поражением центральной нервной системы. В 1997 г. преимущественно страдали дети в возрасте 3–14 лет, а в 1998–1999 гг. случаи данных заболеваний отмечались в основном у взрослых, преимущественно в возрасте старше 50 лет.

Большое количество больных, имеющих заболевания со сходной клинической картиной (интоксикационный синдром разной степени выраженности, гиперплазия лимфоидных фолликулов и гиперемия зева, полиморфные кожные высыпания, склерит, воспалительные поражения центральной и периферической нервной системы), вовлечение в эпидемический процесс населения разного возраста, с одной стороны, но не укладывающихся в клинику известных в нашем регионе инфекционных заболеваний, с другой стороны, заставило провести широкое лабораторное обследование больных на специфические маркеры многих инфекций. Серологические исследования по выявлению возбудителей лептоспироза, листериоза, лимфоцитарного хориоменингита, конго-крымской геморрагической лихорадки (ККГЛ) и копрологическое исследование на наличие энтеровирусов дали отрицательный результат.

В ходе исследований, проведенных в лаборатории биологии и индикации арбовирусов Института вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН, методами иммуноферментного анализа и реакции торможения гемагглютинации были выявлены антитела (IgM и IgG) к вирусу лихорадки Западного Нила.

В последующем это факт был подтвержден с помощью молекулярных методов исследования [21].

Проведенные в декабре 1999 г. лабораторные обследования реконвалесцентов 1997–1998 гг. подтвердили перенесенную лихорадку Западного Нила.

Всего в 1999 г. в Волгограде и Волгоградской области было зарегистрировано 492 серологически подтвержденных случая заболевания вирусом Западного Нила. При этом летальность составила 7,32%.

По данным Центра ГСЭН, в Волгоградской области в последние 10 лет ежегодные плановые дезинсекционные обработки водоемов (мест выплода комаров) не проводились в необходимом объеме. Ранее дезинсекционная барьерная обработка открытых территорий осуществлялась в местах массового скопления людей с целью защиты их от комаров и других кровососущих членистоногих вблизи пионерских лагерей, летних оздоровительных учреждений, баз отдыха, туристических баз.

В последние 5 лет значительно сократилась также противокomarиная обработка подвальных помещений жилых домов в Волгограде. В то же время в южных регионах России, в частности в Нижнем Поволжье, отмечаются активное освоение необжитых территорий, значительные миграционные процессы, оказывающие ярко выраженное антропогенное влияние на экосистему. Именно антропогенное преобразование биосферы с изменением экологической ситуации существенно усложнило эпидемиологическую ситуацию [4].

По мнению специалистов ГНЦ вирусологии и биотехнологии "Вектор" очаг лихорадки Западного Нила сформировался в Новосибирской области.

В Астраханской области в 2005 году наблюдалась вспышка заболеваемости лихорадкой Западного Нила. Всего в регионе выявлено не менее 73 случаев этого арбовирусного заболевания, 51 из них – в областном центре. Для троих астраханцев заражение оказалось смертельным. Пик заболеваемости этой лихорадкой, вирус которой людям передают комары, пришелся на сентябрь, который в 2005 году в Астрахани выдался на редкость жарким [2].

Специалисты Волгоградского государственного медицинского университета и Института вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН установили, что вирус Западного Нила поражает не только клетки нервной системы, как считалось ранее, но и ткани почек, легких и миокарда.

Российские специалисты исследовали вирус, заражая беспородных мышей. После заражения животных держали некоторое время в обычных лабораторных условиях, а затем брали легкие, сердце и почки на исследование. Вирус обнаруживали, окрашивая срезы тканей мечеными антителами. Уже в инкубационный период (3-5-е сутки после заражения) вирус активно размножался в тканях легких, миокарда и почек. Капилляры были расширены и наполнены кровью. В период разгара заболевания (6-13-е сутки) все внутренние симптомы усугублялись, а в тканях легких, миокарда и почек скапливались лимфоциты и макрофаги. Иммунологическое окрашивание показало, что эти ткани забиты вирусами, особенно много их в группе умерших животных. Но даже у тех

зараженных мышей, которые не обнаруживали клинических признаков заболевания, в тканях внутренних органов находили вирус Западного Нила.

Исследователи считают, что экспрессия антигенов вируса Западного Нила в стенках сосудов, мышечных клетках сердца, в клетках почечных канальцев и даже в легких свидетельствует о том, что вирус поражает эти ткани, а не только клетки нервной системы, как считали ранее. В этом случае лихорадка Западного Нила предстает еще более серьезным заболеванием, чем мы думали [5].

Статистический анализ 38 случаев с патологоанатомическим диагнозом «серозный менингоэнцефалит» в г. Волгограде и Волгоградской области (1997-2000 г.) показал, что у 80 процентов больных с помощью метода ИФА выявлены антитела класса Ig M и Ig G к вирусу Западного Нила. Данные серологического исследования больных свидетельствовали о наличии у них лихорадки Западного Нила в клинической форме серозного менингита [1].

### **КАК ВЫЯВИТЬ ВИРУС ЗАПАДНОГО НИЛА У ДОНОРОВ КРОВИ?**

В 2003 в США было внедрено обследование образцов донорской крови методом полимеразной цепной реакции на РНК вируса Западного Нила. Серологические маркеры (антитела) используются только для диагностического мониторинга, поскольку появляются спустя довольно продолжительный период «серологического окна». В 2003-2005 годах в 41 штате были выявлены образцы 1425 доноров в стадии клинически бессимптомной вiremии. В то же время при исследовании 36 случаев возможного заражения вирусом Западного Нила с компонентами крови в шести случаях такое заражение было доказано. Полагают, что ложноотрицательный результат генотестирования контагиозных образцов связан с низкой концентрацией вируса [25].

Следует подчеркнуть, что внедрение скрининга генетических маркеров вируса Западного Нила произошло в лабораториях, в течение ряда лет обследующих все донации на РНК ВИЧ и вируса гепатита С. До создания в России системы скрининга генетических маркеров инфекций методом амплификации нуклеиновых кислот [7], задача обследовать все донации на РНК вируса Западного Нила представляется утопической.

### **КАК УНИЧТОЖИТЬ ВИРУС ЗАПАДНОГО НИЛА В ПЛАЗМЕ КРОВИ ДОНОРА?**

Методы инактивации вирусов в эритроцитах разрабатываются и в практику еще не внедрены. Метод инактивации вирусов в тромбоцитах, приготовленных методом афереза в России внедрен (Самарская ОСПК). К сожалению, аферез тромбоцитов остается весьма редкой процедурой (нет статистического инструментария для оценки ее применения в отечественной практике).

Поэтому целесообразно остановиться на возможности инактивации как вируса Западного Нила, так и других вирусов, в наиболее

востребованном российскими трансфузиологами компоненте донорской крови – плазме.

Предложено несколько методов инактивации или элиминации вирусов из одной дозы плазмы:

- 1) облучение видимым светом плазмы, обработанной метиленовым синим [22];
- 2) облучение ультрафиолетом плазмы, обработанной псораленом [17];
- 3) облучение ультрафиолетом плазмы, обработанной рибофлавином [14];
- 4) прогревание плазмы [16];
- 5) наночистота [11].

Кроме того, разработаны методы для противовирусной обработки пулов плазмы, применяющиеся на заводах по производству препаратов плазмы:

- 1) обработка методом «растворитель/детергент» [30];
- 2) пастеризация [12].

В настоящее время для практического использования в некоторых странах лицензированы лишь методы обработки одной дозы плазмы метиленовым синим и обработки пула плазмы методом «растворитель/детергент» в промышленных условиях. Современных производств препаратов крови в России пока нет. Поэтому необходимо обратить внимание на метод обработки одной дозы плазмы метиленовым синим, применение которого в России уже началось (Ставрополь, Краснодар).

Полная инактивация вируса Западного Нила достигается при обработке плазмы метиленовым синим (0,8-1,0 ммоль/л и облучении белым светом (30,000-45,000 люкс) в течение 2 мин. Облучения бело-желтым светом 20-40 Дж/см<sup>2</sup> (2,5-5 мин) было достаточно для инактивации на  $5,75 \log_{10}$  [24].

Таким образом, наряду с надлежащим отбором доноров (анкетирование, врачебное обследование) для профилактики инфицирования реципиентов как вирусом Западного Нила, так и другими вирусами, в практику получения донорской плазмы для переливания целесообразно внедрение метода инактивации вирусов.



Рисунок с сайта elementy.ru

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Белик Т.А. Патоморфологические изменения головного мозга при экспериментальном воспроизведении лихорадки Западного Нила/ Дисс. канд. мед. наук.- Волгоград, 2006.- 115 с.
2. Кублицкий Г. Лихорадка Западного Нила дошла до берегов Волги// Газета, №190 от 07.10.2005
3. Львов Д.К., Ковтунов А.И., Яшкулов К.Б. и др. Особенности циркуляции вируса Западного Нила (Flaviviridae, Flavivirus) и некоторых других арбовирусов в экосистемах дельты Волги, Волго-Ахтубинской поймы и сопредельных аридных ландшафтах (2000—2002 гг.)// Вопросы вирусологии.- 2004.- № 3.- С.45-52
4. Петров В.А., Алюшин А.М., Жуков А.Н. и др. Клинико-эпидемиологическая характеристика вспышки лихорадки Западного Нила в 1999 году в Волгоградской области// Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.- 2001.- Т.3, №1.- С.17-21
5. Писарев В.Б., Бутенко А.М., Петров В.А. и др. Морфологические и иммуногистохимические изменения в ткани легких, миокарда и почек при экспериментальной лихорадке Западного Нила// Вопросы вирусологии.- 2005.- № 2.- С.37-38
6. Терновой В.А., Щелканов М.Ю., Шестопалов А.М. и др. Выявление вируса Западного Нила у птиц на территории Барабинской и Кулундинской низменностей (Западно-Сибирский пролетный путь) в

летне-осенний период 2002 г.// Вопросы вирусологии.- 2004.- № 3.- С.52-56

7. Федоров Н.А., Ёлов А.А., Суханов Ю.С., Жибурт Е.Б. Генамплификационное (NAT) тестирование крови и других материалов на патогены и мутации.- М.: Полиграфсервис, 2003.- 210 с.

8. Asnis D.S., Conetta R., Teixeira A.A. et al. The West Nile virus outbreak of 1999 in New York: the Flushing Hospital experience// Clin. Infect. Dis.- 2000.- Vol. 30.- P. 413-418

9. Biggerstaff B.J., Petersen L.R. Estimated risk of transmission of the West Nile virus through blood transfusion in the US 2002// Transfusion.- 2003.- Vol. 43.- P. 1007-1017

10. Biggerstaff BJ, Petersen LR. Estimated risk of West Nile virus transmission through blood transfusion during an epidemic in Queens, New York City// Transfusion.- 2002.- Vol. 42.- P. 1019-1026

11. Burnouf T., Radosevich M., El-Ekiaby M., et al. Nanofiltration of single plasma donations: feasibility study// Vox Sang.- 2003.- Vol.84.- P.111-119

12. Burnouf-Radosevich M., Burnouf T., Huart J.J. A pasteurized therapeutic plasma// Infusionsther Transfusionsmed.- 1992.- Vol.19.- P.91-94

13. Centers for Disease Control and Prevention. Update: detection of West Nile virus in blood donations—United States 2003// MMWR Morb. Mortal. Wkly Report.- 2003.- Vol.52.- P. 916-919

14. Corbin F. Pathogen inactivation of blood components: current status and introduction of an approach using riboflavin as a photosensitizer// Int. J. Hematol.- 2002.- Vol.76, (Suppl 2).- P.253-257

15. Detection of west nile virus in blood donations—United States 2003// MMWR Morb. Mortal. Wkly Report.- 2003.- Vol.52.- P.769-772

16. Goubran H.A., Burnouf T., Radosevich M. Virucidal heat-treatment of single plasma units: a potential approach for developing countries // Haemophilia.- 2000.- Vol.6.- P.597-604

17. Hambleton J., Wages D., Radu-Radulescu L., et al. Pharmacokinetic study of FFP photochemically treated with amotosalen (S-59) and UV light compared to FFP in healthy volunteers anticoagulated with warfarin// Transfusion.- 2002.- Vol.42.- P.1302-1307

18. Harrington T., Kuehnert M.J., Kamel H. et al. West Nile virus infection transmitted by blood transfusion// Transfusion.- 2003.- Vol. 43.- P. 1018-1022

19. Hayes E.B., Komar N., Nasci R.S. et al. Epidemiology and transmission dynamics of West Nile virus disease// Emerg. Infect. Dis.- 2005.- Vol.11.- P.1167-1173

20. Hindiyeh M., Shulman L.M., Mendelson E. et al. Isolation and characterization of West Nile virus from the blood of viremic patients during the outbreak in Isreal. 2000// Emerg. Infect. Dis.- 2001.- Vol. 7.- P. 748-750



21. Ivanov D.K., Butenko A.M., Gromashevsky V.L. et al. Isolation of two strains of West Nile virus during an outbreak in Southern Russia, 1999// *Emerg. Infect. Dis.*- 2000.- Vol.6.- P.373-376
22. Lambrecht B., Mohr H., Knüver-Hopf J., Schmitt H. Photoinactivation of viruses in human fresh plasma by phenothiazine dyes in combination with visible light// *Vox Sang.*- 1991.- Vol.60.- P.207-213
23. Lanciotti R.S., Kerst A.J., Nasci R.S. et al. Rapid detection of West Nile virus from human clinical specimens, field-collected mosquitoes, and avian samples by a TaqMan reverse transcriptase-PCR assay// *J. Clin. Microbiol.*- 2000.- Vol.38.- P.4066-4071
24. Mohr H., Knüver-Hopf J., Gravemann U. et al. West Nile virus in plasma is highly sensitive to methylene blue–light treatment// *Transfusion.*- 2004.- Vol. 44, №6.- P. 886-890
25. Montgomery S.P., Brown J.A., Kuehnert M.S. et al. Transfusion-associated transmission of West Nile virus, United States 2003 through 2005// *Transfusion.*- 2006/- in press
26. Mostashari F., Bunning M.L., Kitsutani P.T. et al. Epidemic West Nile encephalitis, New York, 1999: results of a household-based seroepidemiological survey// *Lancet.*- 2001, №358.- P.261-264
27. Murgue B., Murri S., Triki H., et al. West Nile in the Mediterranean basin: 1950-2000// *Ann. N. Y. Acad. Sci.*- 2001.- Vol. 951.- P. 117-126
28. O'Leary D.R., Marfin A.A., Montgomery S.P. et al. The epidemic of West Nile virus in the United States, 2002// *Vector Borne Zoonotic. Dis.*- 2004.- Vol.4.- P.61-70
29. Pealer L.N., Marfin A.A., Petersen L.P. et al. Transmission of West Nile virus through blood transfusion in the United States in 2002// *N. Engl. J. Med.*- 2003.- Vol.349.- P.1236-45
30. Piet M.P., Chin S., Prince A.M. et al. The use of tri(n-butyl)phosphate detergent mixtures to inactivate hepatitis viruses and human immunodeficiency virus in plasma and plasma's subsequent fractionation // *Transfusion.*- 1990.- Vol.30.- P.591-598
31. Southam C.M., Moore A.E. Induced virus infections in man by the Egypt isolates of West Nile virus// *Am. J. Trop. Med. Hyg.*- 1954.- Vol.3.- P.19-50
32. Tsai T.F., Popovici F., Cernescu C. et al. West Nile encephalitis epidemic in southeastern Romania// *Lancet.*- 1998, №352.- P.767-771
33. Valero N. West Nile virus: a new challenge?// *Invest. Clin.*- 2003.- Vol. 44.- P. 175-177