

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Кафедра молекулярной биологии и генетики

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В  
ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ.  
СОВРЕМЕННАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЯ  
ЛИХОРАДКИ ЗАПАДНОГО НИЛА.  
РАЗЛИЧНЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЛИНИИ  
ВИРУСА ЗАПАДНОГО НИЛА И ИХ  
РАСПОСТРАНЕНИЕ.

Волгоград -2020

# ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Лихорадка Западного Нила - острое вирусное зооантропонозное природноочаговое заболевание, с трансмиссивным механизмом передачи, характеризующееся полиаденопатией, эритемой и воспалением менингеальных оболочек, протекающих на фоне лихорадочно-интоксикационного синдрома.

# ИСТОРИЯ

- Первая эпидемическая вспышка была зарегистрирована в 1937 году при исследовании японского энцефалита. Впервые ВЗН был выделен из крови больного человека в 1937 г. в Уганде.
- В последующем появились заболевания в Африке и Азии.
- Наиболее часто заболевание встречается в странах Средиземноморья, особенно в Израиле и Египте.
- Описаны случаи болезни во Франции - на побережье Средиземного моря и на Корсике, а также в Индии и Индонезии, в Белоруссии, на Украине, Румынии, Чехии и Италии.
- В дальнейшем было проведено серологическое исследование, подтверждающее наличие АТ к вирусу – в Краснодарском крае, Омской и Волгоградской областях, в Белоруссии, Азербайджане, Таджикистане и Украине – эти исследования ставят вопрос о эндемичности территорий и подтверждают факт перенесения заболевания, пусть даже в стёртой/ субклинической форме.
- Актуальность этого заболевания возросла в 1999-2003 гг, когда заболеваемость стала возрастать в Астраханской области, Волгоградской и Краснодарском крае

- Крупные вспышки были зафиксированы в Израиле, Греции, Румынии, России, США.

Через места вспышек пролегают крупные миграционные пути птиц. Первоначально ВЗН был распространен в Африке, некоторых частях Европы, на Ближнем Востоке, в Западной Азии и Австралии. После его интродукции в 1999 г. в США вирус распространился и в настоящее время широко укоренился на территории от Канады до Венесуэлы.

# ЛИХОРАДКА ЗАПАДНОГО НИЛА В ЕВРОПЕ

В Европе ВЗН впервые был обнаружен в 1958 г., когда у 2 больных (Албания) были выделены специфические антитела. Затем ВЗН был изолирован в Португалии, Словакии, Молдавии, Украине, Венгрии, Румынии, Чехии. В 1960-х годах случаи заболеваний наблюдали в Южной Франции, Испании, на юге России, юго-западе Румынии и Чехии. Южная Европа, куда прилетают гнездятся птицы, зимующие в Африке, являются территорией риска для этой инфекции. Так, при исследовании более тысячи сывороток крови, взятых у жителей 10 городов Испании в дельте реки Эбр, были обнаружены в высокие титры антител к ВЗН.

В 1996 г. в Европе (Румыния) была зарегистрирована первая крупная вспышка ЛЗН, протекавшей с поражением ЦНС в виде менингитов и энцефалитов. Проведенное клинико-эпидемиологическое расследование выявило больных, поступивших с острым менингитом и энцефалитом, в 40 округах Румынии, включая Бухарест. Всего с 15 июля по 12 октября 1996 г. было выявлено 393 пациента с серологически подтвержденной инфекции ЛЗН, у 352 из них заболевание протекало с поражением ЦНС. 17 пациентов старше 50 лет умерли. Число летальных исходов было прямо пропорционально возрасту пациентов. Случаи легких заболеваний не регистрировались.

# ЛИХОРАДКА ЗАПАДНОГО НИЛА В ЕВРОПЕ

В Бухаресте обследован 251 пациент с разными диагнозами: энцефалит Западного Нила (166), менингит (57), лихорадка (33), а их возраст варьировал от 1 года до 89 лет. Наиболее частыми клиническими проявлениям были лихорадка – 95,7%, головная боль – 92,6%, ригидность затылочных мышц – 89,1%, рвота – 62,5%, астения – 46,5%, миаглия – 28,9%. У пациентов с энцефалитами было обнаружено нарушение сознания – 89,2%, тремор конечностей – 40,4%, атаксия – 44%, паралич – 15,1%. Летальный исход наблюдался у 15,1% больных энцефалитом и у 1,8% больных менингитом. При более длительном исследовании около 800 случаев получили серологическое подтверждение.

Вспышка ЛЗН была зарегистрирована в Чехии. С 23 июня по 29 сентября 1997 г. там было исследовано более 600 сывороток от больных, проходящих стационарное и амбулаторное лечение. Антитела к вирусу Западного Нила были обнаружены у 13 человек.

## РАСПРОСТРАНЕНИЕ ВИРУСА ЛИХОРАДКИ ЗАПАДНОГО НИЛА В РОССИИ И СТРАНАХ СНГ

Что ареал распространения ВЗН охватывает юг европейская части России, а в Западной Сибири – Алтайский край. Из стран СНГ в него входят: Молдова, Украина, Беларусь, Армения, Азербайджан, Грузия, Казахстан, Таджикистан, Киргизия, Узбекистан и Туркменистан. Заболеваемость за последние 20 лет выявилась в Казахстане и Среднеазиатских государств, на Украине, в Азербайджане, в Астраханской области.

На территории России 3 штамма вируса западного Нила были впервые выделены в Астраханской области в 1963 г. от клещей. Изоляция вируса ЛЗН от 12 пациентов астраханской инфекционной больницы осуществлены лишь в 1967 г., а позднее были получены доказательства о принадлежности этих штаммов к африкано-ближневосточной группе.

# ОСОБЕННОСТИ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И РАСПРОСТРАНЕНИЯ ЛЗН В ВОЛГОГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

Доказательства циркуляции ВЗН на территории Волгоградской области были получены в начале 80-х годов, когда при скрининговом исследовании населения некоторых районов области и комаров, отловленных в пойме р. Волги, были обнаружены антитела к ВЗН и его антител.

Систематическое и целенаправленное изучение эпидемического процесса при ЛЗН в Волгоградской области начато лишь с 1999 г., когда впервые были описаны значительные вспышки этой инфекции.

В дельте р. Волги в циркуляцию вируса вовлекается около 56 видов птиц. В приморской части дельты особое значение имеют птицы водно-околоводного комплекса. В первую очередь, голенастые, а также большой баклан, лысуха, камышница, чомга, в меньшей степени – чайка и крачки. Наибольшее количество очагов ЛЗН отмечено в культурном ландшафте дельты, где в этом процесс включается около 20 видов птиц, прежде всего грачи, вороны, голуби.





В меньшей степени возникновение участков заноса ВЗН возможно в районе нижней и средней Волги, в полупустынных местах Астраханской области и Калмыкии, где имеются места концентрации птиц и комаров. Наиболее мощным узлом концентрации гнездящихся и мигрирующих птиц в Волгоградской области являются Волго-Ахтубинское междуречье вместе с Сарпинскими озерами, включающее 5 локальных скоплений птиц в островных, озерных и водно-болотных экосистемах. Оно занимает 138 тыс. га и расположено на территории Среднеахтубинского, Ленинского и Светлоярского районов Волгоградской области.

Здесь гнездится более 150 видов птиц. В миграционном потоке восточно-европейского пролетного пути эти остановочные пункты занимают особое положение: общий масштаб миграций оценивается здесь в сотни тысяч особей поганкообразных, цапель, лебедей, гусей, речных и нырковых уток и до миллиона ржанкообразных (кулики, чайки, крачки).

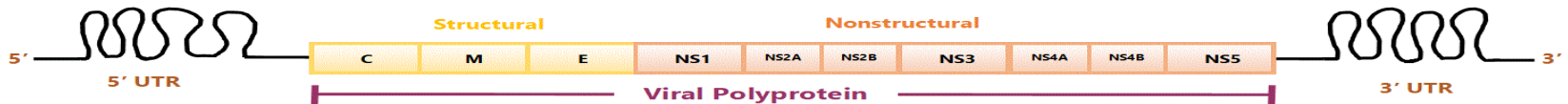
# ОСОБЕННОСТИ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И РАСПРОСТРАНЕНИЯ ЛЗН В АСТРАХАНСКОЙ ОБЛАСТИ

На территории Астраханской области существование природных очагов арбовирусных инфекций впервые было установлено в 60-е годы. В настоящее время показана возможность возникновения стойких очагов вируса ЛЗН на юге России за счет адаптации его к клещам, обитающих в гнездовьях чаек и крачек в бассейне Каспийского моря.

# ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ

- ВЗН относится к семейству *Flaviviridae*, род *Flavivirus*. Относится ко II группе патогенности.
- Геном ВЗН - односкрученная РНК длиной в 11000 нуклеотидов. Состоит из короткого 5' некодирующего региона, одной длинной рамки считывания, содержащей более 10000 нуклеотидов, и 3' - некодирующего региона переменной длины. Открытая рамка считывания из 3400 аминокислот кодирует три структурных белка в 5' - конце, которыми являются капсида (С), пре-мембранный (prеM) и оболочечный (Е) белки с последующими семью неструктурными (NS) белками (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5) в 3' - двух третях генома.

## West Nile Virus Genome



- Хорошо сохраняется в замороженном и высушенном состоянии. Погибает при температуре выше 56°C в течение 30 мин. Инактивируется эфиром и дезоксихолатом. Обладает гемагглютинирующими свойствами.

# ПУТИ ПЕРЕДАЧИ

- В природе ВЗН поддерживается в энзоотическом цикле, включающем передачу ВЗН между птицами и комарами, однако в этот цикл в результате укусов инфицированных комаров могут также включаться люди, лошади и некоторые другие млекопитающие.
- ЛЗН имеет отчетливую сезонность - позднее лето и осень, когда условия для развития комаров наиболее благоприятны. Чаще заболевают люди молодого возраста.

В отдельных случаях инфицирование людей происходит при переливании крови, трансплантации органов, грудном вскармливании и при внутрилабораторных контактах с ВЗН.

## Как передается вирус лихорадки Западного Нила



Существуют три механизма, которые могут способствовать транссезонной персистенции вируса в мягком климате:

- а) продолжающаяся энзоотичная передача на протяжении всего года;
- б) вертикальная передача комарами;
- в) хроническая инфекция у птиц.

Имеются данные, что чувствительность к ВЗН популяций комаров, по меньшей мере, частично находится под генетическим контролем. Относительно меньше вариаций чувствительности к ВЗН отмечено у комаров *Culex spp.* по сравнению с *Aedes spp.* к другим флавивирусам.

Инфекция, вызванная ВЗН, развивается у многих млекопитающих, но значительно реже у комаров. Однако в некоторых исследованиях показано, что, хотя инфекция комаров обычно длительная и значительно менее активная, чем у птиц и млекопитающих, вирус может действовать повреждающе на некоторые функции комаров. Недавняя интродукция и быстрое распространение ВЗН в Северной Америке представили уникальную возможность наблюдения эволюции и адаптации вируса к новым хозяевам.

# ЕСТЕСТВЕННЫЕ ХОЗЯЕВА И ПЕРЕНОСЧИКИ

ВЗН поддерживается в энзоотичном цикле между птицами и комарами преимущественно рода *Culex* с развитием у птиц длительных высоких уровней виремии. Хотя млекопитающие - случайные хозяева, у них могут проявляться клинические признаки инфекции и поражения органов, иногда приводящие к смерти.

Клинически выраженные заболевания у приматов редки, несмотря на данные о высоком уровне сероконверсии.

Высокая чувствительность к ВЗН многих видов птиц в Северной Америке - существенный фактор интенсивной эпизоотической активности в этом регионе. В США более 300 видов птиц могут быть смертельно заражены ВЗН, хотя главное значение имеют некоторые виды корвид (врановых), особенно вороны и сойки. Однако и другие виды могут служить резервуарами вируса в связи с его интенсивным размножением в их организме.

Значительное снижение в последние годы численности популяции некоторых видов птиц в США, включая американских ворон и шалфейного тетерева, связывают с их гибелью после инфицирования ВЗН.

Специфический вирус может сохраняться в самках комаров, находящихся в зимней спячке, в трансвариально инфицированном потомстве или хронически инфицированных позвоночных хозяевах, возможно, птицах или лягушках. Следовательно, поскольку вирус ЛЗН может длительно существовать в организме комаров, то они являются не только переносчиками, но и источником инфекции. Т.о., сохранение вирусрв в зимующих комарах является одним из механизмов сохранения вирусной популяции в межэпизоотическом периоде. Альтернативно вирус может быть вновь занесен зараженными перелетными птицами из тропических или субтропических очагов с нерегулярными промежутками времени.

Инфицированные птицы могут секретировать значительное количество вируса в экскрементах, что способствует прямой передаче вируса от птицы к птице или через внешнюю среду. Длительность инфекции у птиц короткая, многие чувствительные виды в эксперименте погибают в течение одной недели после инфицирования, часто через 24-48 ч после развития клинических симптомов.

Среди лошадей с клиническими симптомами ЛЗН после инфицирования при укусе комаров отмечается 20-40% смертности. Виремия у лошадей низкая и кратковременная, следовательно, они вряд ли служат важным источником размножения вируса. Приблизительно в 10% клинические симптомы ЛЗН развиваются у экспериментально инфицированных лошадей.

С момента интродукции ВЗН в США в 1999 г. свыше 30 видов млекопитающих и рептилий, по меньшей мере, стали сероположительными, и многие проявляют клинические признаки инфекции. Однако за исключением трех видов (белки, бурундуки, кролики) все они являются «тупиками» инфекции (т. е. уровень виремии слишком низок, чтобы передать вирус комарам при их питании кровью).



Мыши и хомячки широко используются как экспериментальные модели при изучении патогенеза нейроинвазивной формы ЛЗН. На обоих видах может быть воспроизведен фенотип смертельной нейроинвазивной формы, хотя имеются значительные отличия в чувствительности, особенности в зависимости от штамма линейных мышей.

У чувствительных мышей вирус обычно выявляется в крови в 1-й день после инфицирования с пиком через 3-4 дня. Смерть от неврологических симптомов отмечается к 7-му дню. У погибших мышей выявляется широкое распространение вируса в периферических органах и центральной нервной системе.

У иммунокомпетентных позвоночных хозяев флавивирусная инфекция обычно вызывает транзиторную виремию с последующим быстрым иммунным ответом и освобождением организма от вируса. При инфицировании ВЗН период виремии обычно длится 3-6 дней в зависимости от вида животного. Иммунный ответ с помощью врожденных и адаптивных механизмов обычно достаточен для элиминации вируса из крови в течение первой недели. Однако, несмотря на отсутствие виремии и наличие специфических гуморальных IgM-антител, у некоторых животных в течение второй недели развивается нейроинвазивная форма. Данные о персистенции вируса получены в основном *in vitro* в клеточных культурах. Изучение персистенции вируса *in vivo* впервые проведено на обезьянах резус, которые были заражены несколькими штаммами ВЗН интрацеребрально или подкожно. У 13,5% животных развился смертельный энцефалит, остальные животные выжили, хотя у некоторых из них отмечались клинические признаки энцефалита. ВЗН выделялся из тканей некоторых забитых животных до 167 дней.



После внутрибрюшинной инокуляции золотистым хомячкам выделенного в 1999 г. в Нью-Йорке штамма NY 385-99 у них отмечалась умеренная вирусемия в течение 6 дней. IgM- и гемагглютинирующие антитела появлялись через 5 дней после инфицирования и быстро возрастали в титре. Вирус обычно не мог быть выделен из крови до 6-го дня. Начиная с 7-8-го дня у животных появлялись клинические признаки болезни, со второй недели - симптомы энцефалита. В этот период 40-50% животных погибали. Но уже с третьей недели оставшиеся животные начинали выздоравливать.

У погибших животных вирус мог быть выделен путем прямого культивирования гомогенизированной ткани мозга или почек. От некоторых выживших хомячков культуру выделяли из мозга до двух месяцев, несмотря на длительно сохраняющиеся высокие уровни вируснейтрализующих антител в их сыворотках.

# ПАТОГЕНЕЗ

- Вирус проникает в кровь человека при укусе комара.
- гематогенно диссеминирует, вызывая системные поражения лимфоидных тканей (лимфаденопатию).
- при проникновении вируса через ГЭБ возможны поражения оболочек и вещества мозга с развитием менингоэнцефалита.
- известны случаи латентной инфекции.

Возбудитель тропен: к клеткам ЦНС, к эндотелию сосудов; возможно персистирование вируса в организме человека в течение относительно длительного времени (более 1-2 мес).

Естественная восприимчивость людей высокая. Постинфекционный иммунитет напряжённый и стойкий.

# ЛЗН - ФЕНОМЕН АЙСБЕРГА

Менингит,  
энцефалит,  
полиомиелит

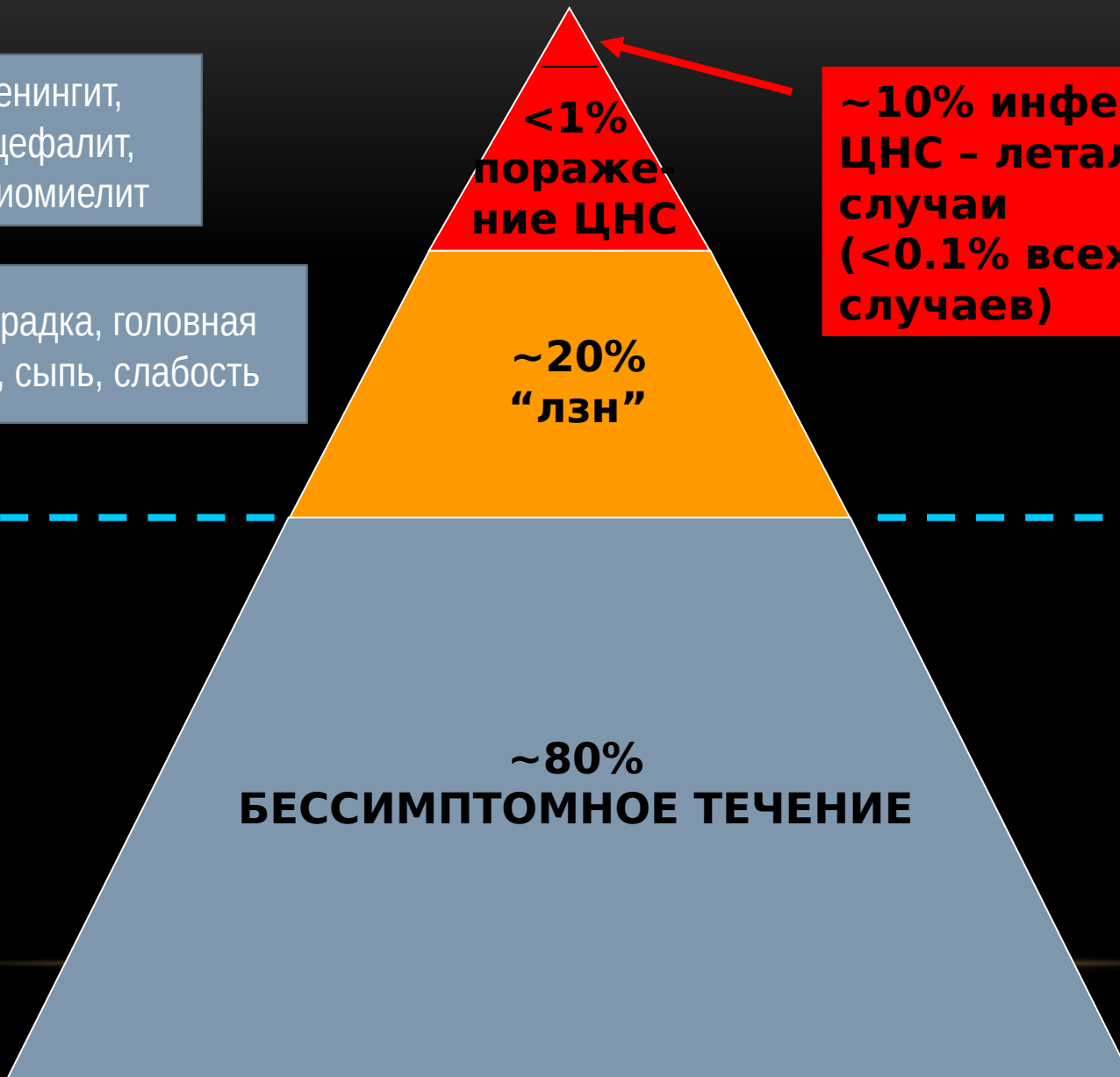
Лихорадка, головная  
боль, сыпь, слабость

<1%  
поражение  
ЦНС

~10% инфекции  
ЦНС - летальные  
случаи  
(<0.1% всех  
случаев)

~20%  
“ЛЗН”

~80%  
БЕССИМПТОМНОЕ ТЕЧЕНИЕ



# ФОРМЫ ЗАБОЛЕВАНИЯ

- Манифестная – развивается типичная клиническая картина с бурной симптоматикой;
  - ЛЗН без поражения центральной нервной системы (протекает в гриппоподобной форме либо в гриппоподобной форме с нейротоксикозом);
  - ЛЗН с поражением ЦНС (менингеальная и менингоэнцефалитическая формы).
- Бессимптомная – в таком случае проявления заболевания отсутствуют (по данным ВОЗ, частота названной формы приближается к 80% от общего числа заболеваемости).

# СИМПТОМЫ

Инкубационный период до 3 недель (чаще – 5-6 дней).

## Манифестная форма:

- острое начало заболевания; подъем температуры тела до 39-40 °С (в редких случаях выше 40 °С)
- длительность лихорадочного периода может достигать 12 суток (чаще 2-3 дня);
- потрясающий озноб;
- проливной пот;
- полиморфная пятнисто-папулезная сыпь
- головная боль;
- болезненность при движении глазных яблок;
- повышенная чувствительность к свету, фотофобия;
- мышечные и суставные боли;
- увеличение и болезненность лимфатических узлов головы и шеи при пальпации;
- гиперемия слизистых оболочек зева;
- длительный период астенизации после купирования интоксикационных симптомов (общая слабость, сонливость, снижение работоспособности, чувство разбитости).

## В случае протекания инфекции с явлениями нейротоксикоза

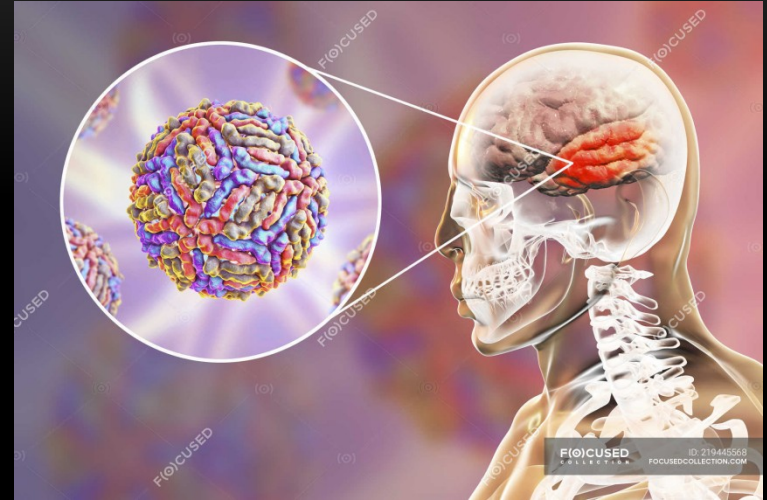
- головная боль приобретает интенсивный характер,
- возможны эпизоды головокружения,
- характерны тошнота, рвота на высоте лихорадки,
- шаткость походки,
- ригидность затылочных мышц.

## При менингеальной форме

- острое начало со стремительным повышением температуры тела до критических цифр, ознобом, потливостью;
- интенсивная головная боль, на 3-4-е сутки приобретающая мучительный характер;
- ригидность затылочных мышц;
- светобоязнь;
- тошнота, рвота с выявлением менингеальных симптомов.
- По результатам проведения люмбальной пункции определяются изменения в спинномозговой жидкости, характерные для серьезных вирусных менингитов.

## При менингоэнцефалитической форме заболевания

- состояние пациентов тяжелое или крайне тяжелое,
- отмечается грубая общемозговая симптоматика на фоне явлений менингоэнцефалита (нарушений сознания, головной боли, головокружений, рвоты, генерализованных судорожных приступов),
- в дальнейшем развивается мозговая кома,
- летальность при данной форме заболевания составляет 5–10%, в крайне тяжелых случаях – до 40%.



Большинство людей не испытывает никаких симптомов. Примерно у 80 % людей (примерно у 4 из 5), которые подверглись заражению вирусом ЛЗН, не проявляются вообще никакие симптомы.

# РАЗЛИЧНЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЛИНИИ ВИРУСА ЛЗН

Штаммы ВЗН разделяются по меньшей мере на 7 предполагаемых генетических линий (генотипов).

- Штаммы генотипа 1 являются наиболее распространенными. Они обнаружены в Африке, Европе, Азии, Австралии (вирус Кунжин) и Америке.
- Штаммы генотипа 2 в основном сосредоточены в Африке (Суб-Сахара), на Мадагаскаре.
- Вирус генотипа 3 (вирус Рабенсберг) циркулирует на некоторых видах комаров *Culex* и *Aedes* в Чехии и не патогенен для млекопитающих.
- Генотип 4 составляет штамм LEIV-Krn 88-190, выделенный от клещей в Краснодарском крае, от комаров и озерных лягушек в Волгоградской области.
- Новый генотип 5 был предложен для штаммов, выделенных в Индии, ранее обозначенных как подтип 1с.
- В качестве генотипа 6 реклассифицирован штамм вируса *Sarawak Kunjin*, который значительно отличается от других вирусов Кунжин.
- Седьмой генотип составляет африканский вирус *Koutango*.

Вирус, выявленный на юге Испании летом 2006 г. у комаров, также предложено отнести к самостоятельному генотипу Рабенсберг и Коутанго.



В 2004 г. штаммы ВЗН генотипа 2 были обнаружены в России. Однако варианты, обнаруженные в России и Венгрии, были генетически различны и эволюционно далеки друг от друга.

В 2007 г. вспышка ЛЗН, вызванная российским вариантом генотипа 2, произошла в Волгоградской области.

Летом 2010 г. крупные вспышки ЛЗН в Волгоградской и Ростовской областях также были обусловлены тем же клоном генотипа 2.

Заболеваемость людей в том же году в Румынии была обусловлена штаммами ВЗН генотипа 2, сходными с российскими, тогда как вспышка ЛЗН в Греции была вызвана штаммами ВЗН генотипа 2, сходными с венгерским вариантом.

Интродукция ВЗН в Северную Америку была наиболее тесно связана с изолятом линии 1 из Израиля, полученным во время вспышки 1998 г.

Детальный филогенетический анализ ряда штаммов линии 1, основанный на секвенировании части или полного генома, выявил три основных клада (подтипа) соответствующих Африканским (Ближневосточным) Европейским изолятам (клад 1а); штаммам Кунжин (1в) и Индийским (1с) штаммам.

Очень тесные генетические связи между некоторыми штаммами линии 1а из различных географических зон подчеркивают их передвижение, возможно, через перелетных птиц. Подобные же наблюдения отмечены в отношении штаммов линии 2.

Штаммы ВЗН линии 1, особенно клада 1а, связаны с появлением тяжелых нейроинвазивных форм ЛЗН, выявляемых с середины 1990-х годов что, по-видимому, свидетельствует об их более высокой вирулентности, чем генотипа 2.

Однако такое заключение пока недостаточно обоснованно в связи с ограниченными возможностями точной клинической диагностики ЛЗН и других арбовирусных энцефалитов в Африке, а также точных эпидемиологических сведений о передаче ВЗН в этом регионе.

По некоторым данным вирус Коутанго является «отдаленным вариантом» ВЗН, не укладывающимся в структуру ВЗН.

Некоторые авторы также не согласны с имеющейся генетической классификацией ВЗН. По их мнению, вирусы Рабенсберг и Коутанго не должны классифицироваться в группе штаммов ВЗН, хотя они и обладают определенной серологической общностью.

В связи с широким распространением ВЗН в Северной Америке дебатруется вопрос о происхождении выделенных в этом регионе штаммов. Штаммы, изолированные в 1999 г. в США, были очень схожи с циркулирующими в Израиле в 1998 г. При сравнении последовательностей генома Российского (Volgograd, 1999) и Американского (NY 1999) штаммов, выделенных от людей, было выявлено только 11 аминокислотных замен. Предполагается, что в Европе, Азии и Америке распространяется преимущественно один доминирующий геновариант 1а, предшественник которого возник в середине 90-х годов прошлого столетия в бассейнах Черного и Средиземного морей, а затем широко распространился по всем трем континентам.

В то же время, по данным филогенетического анализа, большинство ВЗН африканского происхождения принадлежат к линии 2. Предполагается, что штаммы линии 1, возможно, эволюционизировали из «прародителей» линии 2. Австралийский вариант ВЗН Кунжин и индийские штаммы, представляющие два самостоятельных варианта внутри линии 1, по-видимому, после внедрения с помощью перелетных птиц в новые регионы подверглись изменению путем генетического дрейфа или адаптации вируса к локальной популяции хозяев.

# ДИАГНОЗ И ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНЫЙ ДИАГНОЗ

**Общие анализы крови и мочи, как правило, не выявляют патологических изменений.**

- Может наблюдаться лейкопения, у 30% число лейкоцитов менее  $4 \times 10^9/\text{л}$ .
- В ликворе - лимфоцитарный плеоцитоз (100-200 кл), нормальное или незначительное повышенное содержание белка.
- Лабораторная расшифровка обеспечивается РТГА, РСК, РН и ПЦР.

**Многие флавивирuсы обладают близким АГ родством, выявление в сыворотках крови АТ к одному из них может быть обусловлено циркуляцией другого вируса.**

- Наиболее достоверным доказательством наличия инфекции, вызванной ВЗН, является обнаружение возбудителя.
- Из крови больного вирус выделяют в культуре клеток МК-2 и на мышах массой 6-8 г (внутриголовное заражение).
- Идентификацию возбудителя осуществляют прямым методом флуоресцирующих антител с использованием видоспецифического люминисцирующего иммуноглобулина к ВЗН.

Диагностика устанавливается по наличию вирусспецифических IgM в СМЖ с помощью ИФА.

IgM-антитела с трудом проникают через гематоэнцефалический барьер, поэтому их наличие в СМЖ обычно является показателем интратекального синтеза. Количество больных нейроинвазивной формой с наличием IgM в СМЖ достигает 80% к концу первой недели болезни. В некоторых случаях они сохраняются в СМЖ до 200 дней, а в сыворотке - более 500 дней. Учитывая возможность длительного присутствия IgM-антител, трудно установить, является ли инфекция острой.

Поэтому помимо IgM в СМЖ определяется титр и IgG-антител. У больных с положительной серологией СМЖ образцы, полученные в течение первой недели болезни, в 58% имели только IgM, в 42% - как IgM, так и IgG. На второй и третьей неделях болезни обычно во всех образцах выявлялись как IgM, так и IgG-антитела. Следовательно, наличие в СМЖ IgM к ВЗН при отсутствии IgG позволяет, как правило, диагностировать острую фазу болезни.

Важно иметь в виду, что инфицирование другими флавивирусами из комплекса японского энцефалита или иммунизация против некоторых флавивирусных инфекций (желтая лихорадка, японский и клещевой энцефалиты) могут индуцировать появление гетерологичных антител, перекрестно реагирующих с антигенами ВЗН, что затрудняет интерпретацию результатов ИФА. Поэтому в сложных случаях необходимо определить титры нейтрализующих антител против панели флавивирусов.

# ПРОГНОЗ

Заболевание имеет склонность к волнообразному течению. Могут наблюдаться 1-2 рецидива болезни (с интервалом в несколько дней). Первая волна характеризуется чаще всего серозным воспалением оболочек мозга, вторая - поражением сердца, третья - катаральными явлениями. Течение заболевания доброкачественное. Несмотря на длительную астению в периоде реконвалесценции, выздоровление полное.