

А.Ю.Попова^{1,2}, В.А.Терновой³, О.В.Пьянков³, Е.В.Чаусов³, Ар.А.Сергеев³, А.С.Кабанов³, С.А.Боднев³, Р.Б.Баяндин³, В.М.Блинов³, N.F.Magassouba⁴, В.В.Кутырев⁵, Ю.В.Демина¹, Е.Б.Ежлова¹, А.П.Агафонов³, В.Н.Михеев³

ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ ИЗОЛЯТОВ ЭБОЛАВИРУСА ЗАИР 2014

¹Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация; ²Российская медицинская академия последипломного образования, Москва, Российская Федерация; ³ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», п. Кольцово, Российская Федерация; ⁴Государственная больница «Донка», Конакри, Гвинейская Республика; ⁵ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация

Анализ 5 изолятов эболавируса Заир 2014, которые прошли пассажи на культурах клеток или мышцах, показал в ряде случаев наличие уникальных мутаций в геномной РНК. Все идентифицированные нуклеотидные замены единичны, располагаются стохастически и являются либо синонимичными, либо приходится на некодирующие участки генома эболавируса, не приводя к возникновению замен аминокислотных. Уровень варибельности нуклеотидных последовательностей составил 0,005–0,01 %, что подтверждает чрезвычайно высокую генетическую стабильность эболавируса Заир, вызвавшего вспышку. Подтвержден факт подавления накопления в вариантах эболавируса несинонимичных мутаций с течением времени. Обнаружены изменения в сайтах гликозилирования и муцин-подобном домене гликопротеина эболавируса.

Ключевые слова: эболавирус, Гвинея, геном вируса, мутации, мыши-сосунки.

A.Yu.Popova^{1,2}, V.A.Ternovoy³, O.V.P'yankov³, E.V.Chausov³, Ar.A.Sergeev³, A.S.Kabanov³, S.A.Bodnev³, R.B.Bayandin³, V.M.Blinov³, N.F.Magassouba⁴, V.V.Kutyrev⁵, Yu.V.Demina¹, E.B.Ezhlova¹, A.P.Agafonov³, V.N.Mikheev³

Analysis of Ebola virus Zaire 2014 isolates

¹Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Moscow, Russian Federation; ²Russian Medical Academy for Post-Graduate Training, Moscow, Russian Federation; ³State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector", Kol'tsovo, Russian Federation; ⁴Donka National Hospital, Conakry, Republic of Guinea; ⁵Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

Analysis of 5 Ebola virus Zaire 2014 isolates passaged in cell cultures or in mice, demonstrated presence of unique mutations in the genome RNA in some cases. All identified nucleotide substitutions are singular, stochastically located, synonymous or fall within non-coding regions. Variability level of nucleotide sequences is equal to 0.005–0.01 %, suggesting extremely high genetic stability of Ebola virus Zaire, the causative agent of the outbreak. Confirmed is suppression of non-synonymous mutations accumulation in ebolavirus variants in the course of time. Detected are alterations in glycosylation sites and mucin-like domain of ebolavirus glycoprotein.

Key words: ebolavirus, Guinea, virus genome, mutations, suckling mice.

В деревне префектуры Гекеду на юге Гвинеи 26 декабря 2013 г. заболел 18-месячный мальчик. Считается, что он, заразившись от крылана или какого-либо другого дикого животного, стал первой жертвой начинающейся эпидемии, охватившей страны Западной Африки и ставшей крупнейшей и наиболее сложной в истории этой болезни. Эпидемия болезни, вызванной вирусом Эбола, начавшаяся в Гвинейской Республике в декабре 2013 г. в г. Мельянду (префектура Гекеду) [4], в 2014 г. стремительно распространилась и охватила соседние с Гвинеей страны – Либерию и Сьерра-Леоне [6]. Тем не менее, происхождение вируса в каждой из стран и время его передачи не известны, и в настоящее время проведение эпидемиологического анализа основано лишь на предположениях [10].

Широкомасштабная и интенсивная передача этой болезни оказала опустошительное воздействие на семьи и местные сообщества, подорвала систему

основных гражданских и медико-санитарных услуг и ослабила экономику 3 стран Западной Африки – Либерии, Гвинейской Республики и Сьерра-Леоне, где зарегистрировано в общей сложности более 27,5 тыс. больных и более 11 тыс. летальных исходов [1].

Эпидемию 2013–2015 гг. вызвал наиболее патогенный для человека эболавирус Заир [4]. Одной из главных задач, стоящих перед эпидемиологами, было получение ответа на вопрос, связано ли непрекращающееся распространение болезни по странам Западной Африки с изменением свойств эболавируса Заир.

В Гвинейскую Республику для оказания содействия в борьбе с БВЭ направлен мобильный комплекс специализированной противэпидемической бригады (МК СПЭБ) Роспотребнадзора РФ, основной задачей которого стала организация дифференциальной лабораторной диагностики лихорадки Эбола [2].

Целью данных исследований является выделение и изучение биологических свойств штаммов эболавируса Заир 2014.

Материалы и методы

Материалом для исследования служили 6 образцов крови, 6 – грудного молока, 2 – смывов и по одному образцу семенной жидкости и мочи от больных с лабораторно подтвержденным диагнозом «лихорадка Эбола в острой стадии» (табл. 1). Забор материала осуществлен в госпитале Донка в соответствии с договором с Институтом Пастера Гвинеи. По данным ПЦР-исследования, во всех образцах содержался генетический материал эболавируса Заир. Для выделения вируса использовали культуры клеток Vero и 4647, полученные из отдела клеточных культур ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», мышей-сосунков линии BALB/c, полученных из питомника лабораторных животных ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор». Животных содержали согласно ветеринарному законодательству и в соответствии с требованиями по гуманному содержанию и использованию животных в экспериментальных исследованиях [3]. Репликацию вируса в культуре клеток и органах и тканях животных подтверждали методом ПЦР.

Все эксперименты проведены в лаборатории с максимальным уровнем биологической защиты (BSL-4) с использованием изолирующих пневмокапсюлов на базе ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор».

Выделение тотальной РНК проводили с использованием набора реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «Рибо-Преп» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва) согласно инструкции производителя. Построение кДНК проводили с использованием комплекта реагентов для получения кДНК на матрице РНК «Реверта-L» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва) согласно инструкции производителя. Для диагностики лихорадки Эбола использовали зарегистрированные ПЦР-тест-системы отечественного производства «Вектор-ПЦР-Эбола-RG» (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор») и «АмплиСенс EBOVZair1-FL» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва). Образцы с высоким содержанием вирусного материала (Ct<25) были использованы для определения нуклеотидной последовательности геномной РНК вируса Эбола. Для секвенирования использовали панель праймеров для получения перекрывающихся фрагментов ДНК, составляющих полный геном вируса Эбола.

Определение нуклеотидной последовательности выделенных ПЦР-фрагментов проводили на генетическом анализаторе ABI 3130xl DNA Analysis System («Hitachi») с использованием набора «BigDye Terminator v3.1 Cycle sequencing Kit» (ABI, США). Филогенетический анализ осуществляли с использованием прикладных программ MEGA 5 (PSU) и DNASTAR Lasergene 9. Для анализа нуклеотидных последовательностей вируса Эбола нами использована электронная база данных GenBank.

Таблица 1

Клинические образцы, собранные в госпитале Донка, Гвинейская Республика, март–апрель 2015 г.

№ образца	Тип образца	Значение C _t в ПЦР (исходный образец)	Биопроба		
			КК		Мыши
			Vero	4647	
GVR02	Кровь	19,1	+ ¹	отр.	+
GVR03	Молоко	24,6	отр.	отр.	+
GVR04	Молоко	32,3	отр.	отр.	отр.
GVR05	Смыв	24,2	+ ¹	отр.	+
GVR06	Смыв	27,8	отр.	отр.	отр.
GVR07	Кровь	25,2	отр.	отр.	+ ¹
GVR08	Молоко	20,8	+	+ ¹	+
GVR09	Кровь	26,2	+ ¹	отр.	+
GVR10	Моча	23,0	отр.	отр.	отр.
GVR11	Молоко	22,0	отр.	отр.	отр.
GVR12	Молоко	25,1	отр.	отр.	отр.
GVR13	Семя	33,2	отр.	отр.	отр.
GVR14	Кровь	38,4	отр.	отр.	отр.
GVR15	Кровь ²	18,1	+	отр.	+
GVR19	Молоко	23,7	отр.	отр.	отр.
GVR20	Кровь	31,2	отр.	отр.	отр.

Примечания: С – параметр используется как показатель вирусной нагрузки в образце; КК – культура клеток; + – образец положительный в ПЦР, отр. – образец негативный в ПЦР.

¹Секвенирование генома вируса Эбола осуществлено из вируса, прошедшего один пассаж на культуре клеток.

²Секвенирование генома вируса Эбола осуществлено из клинического материала.

Результаты и обсуждение

Заражение клиническими образцами монослойных культур клеток показало, что эффективность репликации эболавируса Заир 2014 в клетках Vero и 4647 невысока: только 6 образцов из 16 показали наличие генетического материала – РНК эболавируса Заир в лизате культур клеток. Внутримозговое заражение мышей-сосунков подтвердило способность эболавируса Заир к размножению в этих животных: 7 из 16 проб показали положительный результат в ПЦР при анализе крови и мозговой ткани зараженных мышей. (табл. 1). Исходный образец крови GVR15, образцы лизата культур клеток (GVR02, GVR05, GVR08, GVR09) и гомогената мозга мыши GVR07 взяты для определения последовательности генома эболавируса Заир 2014.

Полный геном из исходного образца получен только с использованием пробы GVR15. Проведенный анализ полной нуклеотидной последовательности геномной РНК позволил установить, что этот вариант эболавируса Заир наиболее близок к изоляту H.sapiens-wt/SLE/2014/ManoRiver-G3818. Сравнение гена, кодирующего наиболее важный, с точки зрения изменения биологических свойств, GP белок, с геном гликопротеина вируса Эбола Заир 1976 показал, что

Таблица 2

Сравнительная таблица аминокислотных замен в гликопротеине эболавируса Заир 2014 и вируса Эбола Заир 1976

Позиция а.о. в белке GP	Аминокислота в геноме эболавируса Заир 2014 (GVR15)	Аминокислота в геноме вируса Эбола Заир 1976 (AF086833.2)
82	V	A
262	A	T
310	A	V
315	P	A
331	E	G
336	N	T
359	K	E
377	P	S
378	P	L
382	T	P
405	G	E
411	A	T
422	P	S
430	L	P
441	A	T
443	S	F
446	L	P
455	Y	H
503	V	A
544	T	I

в этом гене произошли мутации в 79 местах, 20 мутаций приводят к замене аминокислотного остатка в последовательности белка GP (табл. 2).

В остальных генах варианта эболавируса Заир 2014 образец GVR15 найдено следующее количество нуклеотидных замен при сравнении с генами вируса Эбола Заир 1976:

- в NP гене Эбола GVR15 найдено 99 нуклеотидных замен;
- в VP-24 гене – 58 нуклеотидных замен;
- в VP-30 гене – 37 нуклеотидных замен;
- в VP-35 гене – 25 нуклеотидных замен;
- в VP-40 гене – 40 нуклеотидных замен;
- в L гене вируса Эбола GVR15 – 175 нуклеотидных замен.

Важно отметить, что при сравнении эболавируса Заир 2014 образец GVR15 с вирусом Эбола, вызвавшим вспышку болезни в Конго в 2012 г. (KC545396) [9] обнаружено, что образец GVR15 содержит в GP белке 17 сайтов гликозилирования (табл. 3.) в то время как штамм вируса Эбола, который был выделен в Конго в 2012 г. содержит 13 сайтов гликозилирования.

Прямое сравнение нуклеотидных последовательностей геномной РНК Заир эболавируса 1976 (AF086833.2) и варианта вируса Эбола GVR15 выявило гомологию нуклеотидных последовательностей на уровне 97 %, что составляет в среднем 500 нуклеотидных замен на геном.

В варианте эболавируса Заир 2014 (образец GVR15) не найдено укорочения 5'-концевой геном-

ной РНК, которое могло повлиять на механизм репликации вируса [7].

Анализ остальных 5 изолятов эболавируса Заир 2014, которые прошли пассажи на культурах клеток или мышах, показал в ряде случаев наличие уникальных мутаций. В геноме изолята, выделенного из образца GVR09, обнаружены мутации A₂₅₇₅→T (ген NP) и G₆₆₆₈→T (ген GP). Общее количество замен, отличающих этот вариант эболавируса Заир 2014 от консенсусной последовательности ближайших вариантов, оказалось равным 8 (уровень отличия 0,04 %). В геноме изолята, выделенного из образца GVR08, обнаружены мутации A₂₅₇₇→C (ген NP) и T₆₆₇₇→C (ген GP) и G₆₆₆₈→T (ген GP). В целом уровень отличия от консенсусной последовательности от ближайших вариантов, оказался равным 0,03 % (7 замен). В геноме изолята, выделенного из образца GVR05, обнаружены мутации T₁₈₈₁₃→C и T₁₈₈₈₃→G (некодирующая часть геномной РНК). По филогенетическому дереву изолят Эбола GVR05 относится к клайду известных последовательностей, выделенных в Сьера-Леоне в 2014 г. (рисунок).

С мая 2014 г. опубликовано более 230 полноразмерных последовательностей эболавируса Заир, вызвавшего эпидемию, охватившую страны Западной Африки. Сравнение их нуклеотидных и аминокислотных последовательностей свидетельствует об отсутствии появления критических мутаций в геноме вируса, способных потенциально привести к увеличению его вирулентности в процессе эпидемии [9]. Предположение о том, что вирус уже в процессе эпидемии 2013–2015 гг. приобрел повышенную вирулентность, а потому эпидемическая вспышка

Таблица 3

Сайты гликозилирования варианта эболавируса Заир 2014, образец GVR15

Позиция сайта гликозилирования на гене GP	Нуклеотидная последовательность	Аминокислотная последовательность
6035	ATGGGT...	M G V
6153	...TACAGGTTA...	L Q V
6644	...ATGCAACGG...	N A T
6717	...ATGAGACAG...	N E T
6747	...ATTTGACCT...	N L T
6804	...ATGAGACAA...	N E T
6867	...ACCCCGAAA...	N P E
6920	...ACCTCACTA...	N L T
6983	...ACATCAGTG...	N I S
7031	...ACACAACAA...	N T T
7070	...ATTCCTCTGC...	N S S
7190	...ACAGCACCCA...	N S T
7271	...ACGACAGCA...	N D S
7350	...ACACGAGTA...	N T S
7394	...ACTACAGCG...	N Y S
7418	...ACAACACTC...	N N T
7721	...ACGAAACGA...	N E T
7886	...ACATAACAG...	N I T



Филогенетическое дерево, построенное на основе полноразмерных нуклеотидных последовательностей эболавируса. Анализ проведен методом «объединения ближайших соседей» с использованием 2 параметрической модели Кимуры. Приведены оригинальные названия штаммов эболавирусов, депонированных в базе данных GenBank

БВВЭ оказалась столь масштабной, не подтверждается. Полное определение первичной последовательности геномной РНК эболавируса Заир, выделенной весной 2014 г. и осенью 2015 г. в Гвинее, Сьерра-Леоне и Либерии, подтверждает высокую генетическую стабильность вируса, вызвавшего вспышку болезни в Западной Африке [5]. Ранее определенные замены нуклеотидной и аминокислотной последовательности у выделенных изолятов эболавируса, в дальнейшем, у других выделенных позже изолятов эболавируса, больше не регистрируются, отсутствуют сцепленные мутации. По данным Европейской мобильной лаборатории, эболавирус из Гвинеи попал в Сьерра-Леоне в апреле или в начале мая 2014 г. [8].

Нами установлено, что треть вариантов вируса, выявленных в ходе текущей вспышки, делятся меж-

ду собой на 2 подгруппы, отличающиеся наличием 4 сцепленных мутаций в позициях 800 (ген NP), 8928 (ген VP30), 15963 и 17142 (ген L). Учитывая высокую генетическую стабильность вируса в течение всего периода наблюдения можно предположить, что в человеческую популяцию одновременно попали два близкородственных варианта эболавируса из различных источников. Эти данные подтверждаются анализом вирусных последовательностей определенных в августе–октябре 2014 г. [11]. Есть свидетельство о том, что существуют два варианта эболавируса (вариант Гвинея и вариант Сьерра-Леоне), которые передавались независимо друг от друга в пределах Гвинеи [11]. Установлены подтвержденные случаи передачи вируса от человек к человеку и при этом, после первоначального введе-

ния карантинных мероприятий, не обнаружено никаких доказательств импорта или экспорта эболавируса через национальные границы. При секвенировании вирусных последовательностей наблюдали как host-host передачу эболавируса, так и периодические появления intrahost генетических вариантов эболавируса [11].

Таким образом, все нуклеотидные замены, идентифицированные нами, единичны, располагаются стохастически и являются либо синонимичными, либо приходятся на некодирующие участки генома эболавируса, не приводя к возникновению замен аминокислотных. Уровень вариабельности нуклеотидных последовательностей составил 0,005–0,01 %, что подтверждает чрезвычайно высокую генетическую стабильность эболавируса Заир, вызвавшего вспышку. Наши данные подтверждают факт подавления накопления в вариантах эболавируса несинонимичных мутаций с течением времени. Обнаружены изменения в сайтах гликозилирования и муцин-подобном домене гликопротеина эболавируса, которые заслуживают дальнейшего изучения.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Болезнь, вызванная вирусом Эбола. Инф. Бюл. ВОЗ № 103. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs103/ru/> (дата обращения 17.04.2015).
2. Попова А.Ю., Сафронов В.А., Магасуба Н.Ф., Уткин Д.В., Одинокоев Г.Н., Пьянков О.В., Сергеев А.С., Боднев С.А., Кабанов А.С., Куклев В.Е., Лопатин А.А., Раздорский А.С., Никифоров К.А., Щербаклова С.А., Терновой В.А., Агафонов А.П., Михеев В.Н., Кутырев В.В. Организация и проведение диагностических исследований на базе мобильного комплекса специализированной противоэпидемической бригады в Республике Гвинея в период эпидемии лихорадки Эбола в 2014 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2014; 4:5–8.
3. Руководство по содержанию и использованию лабораторных животных. Washington, D.C.: National Academy Press; 1996. 138 p.
4. Baize S., Pannetier D., Oestereich L., Rieger T., Koivogui L., Magassouba N.F., Soropogui B., Sow M.S., Keita S., De Clerck H., Tiffany A., Dominguez G., Loua M., Traoré A., Kolié M., Malano E.R., Heleze E., Bocquin A., Mély S., Raoul H., Caro V., Cadar D., Gabriel M., Pahlmann M., Tappe D., Schmidt-Chanasit J., Impouma B., Diallo A.K., Formenty P., Van Herp M., Günther S. Emergence of Zaire Ebola Virus Disease in Guinea – preliminary report. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371:1418–25.
5. Carroll M.W., Matthews D.A., Hiscox J.A., Elmore M.J., Pollakis G., Rambaut A., Hewson R., Garcia-Dorival I., Bore J.A., Koundouno R., Abdellati S., Afrough B., Aiyepada J., Akhilomen P., Asogun D., Atkinson B., Badusche M., Bah A., Bate S., Baumann J., Becker D., Becker-Ziaja B., Bocquin A., Borremans B., Bosworth A., Boettcher J.P., Cannas A., Carletti F., Castilletti C., Clark S., Colavita F., Diederich S., Donatus A., Duraffour S., Ehichioya D., Ellerbrok H., Fernandez-Garcia M.D., Fizez A., Fleischmann E., Gryseels S., Hermelink A., Hinzmann J., Hopf-Guevara U., Ighodalo Y., Jameson L., Kelterbaum A., Kis Z., Kloth S., Kohl C., Korva M., Kraus A., Kuisma E., Kurth A., Liedigk B., Logue C.H., Lüdtke A., Maes P., McCowen J., Mély S., Mertens M., Meschi S., Meyer B., Michel J., Molkenhain P., Muñoz-Fontela C., Muth D., Newman E.N., Ngabo D., Oestereich L., Okosun J., Olorok T., Omiunu R., Omomoh E., Pallasch E., Pályi B., Portmann J., Pottage T., Pratt C., Priesnitz S., Quartu S., Rappe J., Repits J., Richter M., Rudolf M., Sachse A., Schmidt K.M., Schudt G., Strecker T., Thom R., Thomas S., Tobin E., Tolley H., Trautner J., Vermoesen T., Vitoriano I., Wagner M., Wolff S., Yue C., Capobianchi M.R., Kretschmer B., Hall Y., Kenny J.G., Rickett N.Y., Dudas G., Coltart C.E., Kerber R., Steer D., Wright C., Senyah F., Keita S., Drury P., Diallo B., de Clerck H., Van Herp M., Sprecher A., Traore A., Diakite M., Konde M.K., Koivogui L., Magassouba N., Avšič-Zupanc T., Nitsche A., Strasser M., Ippolito G., Becker S., Stoecker K., Gabriel M., Raoul H., Di Caro A., Wölfel R., Formenty P., Günther S. Temporal and spatial analysis of

the 2014–2015 Ebola virus outbreak in West Africa. *Nature*. 2015; 524(7563):97–101. DOI: 10.1038/nature14594.

6. Ebola Response Team. Ebola virus disease in West Africa—the first 9 months of the epidemic and forward projections. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371(16):1481–95. DOI: 10.1056/NEJMoa1411100.

7. Hoenen T., Groseth A., Feldmann F., Marzi A., Ebihara H., Kobinger G., Gunther S., Feldmann H. Complete genome sequences of three Ebola virus isolates from the 2014 outbreak in west Africa. *Genome Announc.* 2014; 2(6):pii e01331–14. DOI: 10.1128/genomeA.01331-14.

8. Kugelman J.R., Wiley M.R., Mate S., Ladner J.T., Beitzel B., Fakoli L., Taweh F., Prieto K., DiClaro J.W., Minogue T., Schoepp R.J., Schaefer K.E., Pettitt J., Bateman S., Fair J., Kuhn J.H., Hensley L., Park D.J., Sabeti P.C., Sanchez-Lockhart M., Bolay F.K., Palacios G. Monitoring of Ebola Virus Makona Evolution through Establishment of Advanced Genomic Capability in Liberia. *Emerg. Infect. Dis.* 2015; 21(7):1135–43. DOI: 10.3201/eid2107.150522.

9. Outbreak news. Ebola, Democratic Republic of the Congo. *Wkly. Epidemiol. Rec.* 2012; 87(44):421.

10. Park D.J., Dudas G., Wohl S., Goba A., Whitmer S.L., Andersen K.G., Sealfon R.S., Ladner J.T., Kugelman J.R., Matranga C.B., Winnicki S.M., Qu J., Gire S.K., Gladden-Young A., Jalloh S., Nosamiefan D., Yozwiak N.L., Moses L.M., Jiang P.P., Lin A.E., Schaffner S.F., Bird B., Townler J., Mamoh M., Gbakie M., Kaneh L., Kargbo D., Massally J.L., Kamara F.K., Konuwa E., Sellu J., Jalloh A.A., Mustapha I., Foday M., Yillah M., Erickson B.R., Sealy T., Blau D., Paddock C., Brault A., Amman B., Basile J., Bearden S., Belser J., Bergeron E., Campbell S., Chakrabarti A., Dodd K., Flint M., Gibbons A., Goodman C., Klena J., McMullan L., Morgan L., Russell B., Salzer J., Sanchez A., Wang D., Jungreis I., Tomkins-Tinch C., Kislyuk A., Lin M.F., Chapman S., MacInnis B., Matthews A., Bochicchio J., Hensley L.E., Kuhn J.H., Nusbbaum C., Schieffelin J.S., Birren B.W., Forget M., Nichol S.T., Palacios G.F., Ndiaye D., Hapji C., Gevao S.M., Vandi M.A., Kargbo B., Holmes E.C., Bedford T., Gnirke A., Ströher U., Rambaut A., Garry R.F., Sabeti P.C. Ebola Virus Epidemiology, Transmission, and Evolution during Seven Months in Sierra Leone. *Cell*. 2015; 161(7):1516–26. DOI: 10.1016/j.cell.2015.06.007.

11. Tong Y.G., Shi W.F., Liu D., Qian J., Liang L., Bo X.C., Liu J., Ren H.G., Fan H., Ni M., Sun Y., Jin Y., Teng Y., Li Z., Kargbo D., Dafaie F., Kanu A., Chen C.C., Lan Z.H., Jiang H., Luo Y., Lu H.J., Zhang X.G., Yang F., Hu Y., Cao Y.X., Deng Y.Q., Su H.X., Sun Y., Liu W.S., Wang Z., Wang C.Y., Bu Z.Y., Guo Z.D., Zhang L.B., Nie W.M., Bai C.Q., Sun C.H., An X.P., Xu P.S., Zhang X.L., Huang Y., Mi Z.Q., Yu D., Yao H.W., Feng Y., Xia Z.P., Zheng X.X., Yang S.T., Lu B., Jiang J.F., Kargbo B., He F.C., Gao G.F., Cao W.C. China Mobile Laboratory Testing Team in Sierra Leone. Genetic diversity and evolutionary dynamics of Ebola virus in Sierra Leone. *Nature*. 2015; 524(7563):93–6. DOI: 10.1038/nature14490.

References

1. [Ebola Virus Disease]. WHO Information Bulletin N 103 [cited 17 Apr 2015]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs103/ru/>.
2. Popova A.Yu., Safranov V.A., Magasuba N.F., Utkin D.V., Odiнокоев G.N., P'yankov O.V., Sergeev A.S., Bodnev S.A., Kabanov A.S., Kulklev V.E., Lopatin A.A., Razdorsky A.S., Nikiforov K.A., Shcherbakova S.A., Ternovoy V.A., Agafonov A.P., Mikheev V.N., Kutyrev V.V. [Management and performance of diagnostic investigations on the platform of the Specialized Anti-Epidemic Team Mobile Complex during EVD epidemics in 2014 in the Republic of Guinea]. *Probl. Osobo Opasn. Infekts.* 2014; 4: 5–8.
3. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Washington, D.C.: 1996. 137 p.
4. Baize S., Pannetier D., Oestereich L., Rieger T., Koivogui L., Magassouba N.F., Soropogui B., Sow M.S., Keita S., De Clerck H., Tiffany A., Dominguez G., Loua M., Traoré A., Kolié M., Heleze E., Bocquin A., Mély S., Raoul H., Caro V., Cadar D., Gabriel M., Pahlmann M., Tappe D., Schmidt-Chanasit J., Impouma B., Diallo A.K., Formenty P., Van Herp M., Günther S. Emergence of Zaire Ebola Virus Disease in Guinea – preliminary report. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371:1418–25.
5. Carroll M.W., Matthews D.A., Hiscox J.A., Elmore M.J., Pollakis G., Rambaut A., Hewson R., Garcia-Dorival I., Bore J.A., Koundouno R., Abdellati S., Afrough B., Aiyepada J., Akhilomen P., Asogun D., Atkinson B., Badusche M., Bah A., Bate S., Baumann J., Becker D., Becker-Ziaja B., Bocquin A., Borremans B., Bosworth A., Boettcher J.P., Cannas A., Carletti F., Castilletti C., Clark S., Colavita F., Diederich S., Donatus A., Duraffour S., Ehichioya D., Ellerbrok H., Fernandez-Garcia M.D., Fizez A., Fleischmann E., Gryseels S., Hermelink A., Hinzmann J., Hopf-Guevara U., Ighodalo Y., Jameson L., Kelterbaum A., Kis Z., Kloth S., Kohl C., Korva M., Kraus A., Kuisma E., Kurth A., Liedigk B., Logue C.H., Lüdtke A., Maes P., McCowen J., Mély S., Mertens M., Meschi S., Meyer B., Michel J., Molkenhain P., Muñoz-Fontela C., Muth D., Newman E.N., Ngabo D., Oestereich L., Okosun J., Olorok T., Omiunu R., Omomoh E., Pallasch E., Pályi B., Portmann J., Pottage T., Pratt C., Priesnitz S., Quartu S., Rappe J., Repits J., Richter M., Rudolf M., Sachse A., Schmidt K.M., Schudt G., Strecker T., Thom R., Thomas S., Tobin E., Tolley H., Trautner J., Vermoesen T., Vitoriano I., Wagner M., Wolff S., Yue C., Capobianchi M.R., Kretschmer B., Hall Y., Kenny J.G., Rickett N.Y., Dudas G., Coltart C.E., Kerber R., Steer D., Wright C., Senyah F., Keita S., Drury P., Diallo B., de Clerck H., Van Herp M., Sprecher A., Traore A., Diakite M., Konde M.K., Koivogui L., Magassouba N., Avšič-Zupanc T., Nitsche A., Strasser M., Ippolito G., Becker S., Stoecker K., Gabriel M., Raoul H., Di Caro A., Wölfel R., Formenty P., Günther S. Temporal and spatial analysis of

- K., Gabriel M., Raoul H., Di Caro A., Wölfel R., Formenty P., Günther S. Temporal and spatial analysis of the 2014–2015 Ebola virus outbreak in West Africa. *Nature*. 2015; 524(7563):97–101. DOI: 10.1038/nature14594.
6. Ebola Response Team. Ebola virus disease in West Africa—the first 9 months of the epidemic and forward projections. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371(16):1481–95. DOI: 10.1056/NEJMoal411100.
7. Hoehnen T., Groseth A., Feldmann F., Marzi A., Ebihara H., Kobinger G., Gunther S., Feldmann H. Complete genome sequences of three Ebola virus isolates from the 2014 outbreak in west Africa. *Genome Announc.* 2014; 2(6):pii e01331–14. DOI: 10.1128/genomeA.01331-14.
8. Kugelman J.R., Wiley M.R., Mate S., Ladner J.T., Beitzel B., Fakoli L., Taweh F., Prieto K., DiClaro J.W., Minogue T., Schoepp R.J., Schaecher K.E., Pettitt J., Bateman S., Fair J., Kuhn J.H., Hensley L., Park D.J., Sabeti P.C., Sanchez-Lockhart M., Bolay F.K., Palacios G. Monitoring of Ebola Virus Makona Evolution through Establishment of Advanced Genomic Capability in Liberia. *Emerg Infect Dis.* 2015; 21(7):1135–43. DOI: 10.3201/eid2107.150522.
9. Outbreak news. Ebola, Democratic Republic of the Congo. *Wkly. Epidemiol. Rec.* 2012; 87(44):421.
10. Park D.J., Dudas G., Wohl S., Goba A., Whitmer S.L., Andersen K.G., Sealfon R.S., Ladner J.T., Kugelman J.R., Matranga C.B., Winnicki S.M., Qu J., Gire S.K., Gladden-Young A., Jalloh S., Nosamiefan D., Yozwiak N.L., Moses L.M., Jiang P.P., Lin A.E., Schaffner S.F., Bird B., Towner J., Mamoh M., Gbakie M., Kanneh L., Kargbo D., Massally J.L., Kamara F.K., Konuwa E., Sellsu J., Jalloh A.A., Mustapha I., Foday M., Yillah M., Erickson B.R., Sealy T., Blau D., Paddock C., Brault A., Amman B., Basile J., Bearden S., Belsler J., Bergeron E., Campbell S., Chakrabarti A., Dodd K., Flint M., Gibbons A., Goodman C., Klena J., McMullan L., Morgan L., Russell B., Salzer J., Sanchez A., Wang D., Jungreis I., Tomkins-Tinch C., Kislyuk A., Lin M.F., Chapman S., MacInnis B., Matthews A., Bochicchio J., Hensley L.E., Kuhn J.H., Nusbaum C., Schieffelin J.S., Birren B.W., Forget M., Nichol S.T., Palacios G.F., Ndiaye D., Happi C., Gevao S.M., Vandi M.A., Kargbo B., Holmes E.C., Bedford T., Gnirke A., Ströher U., Rambaut A., Garry R.F., Sabeti P.C. Ebola Virus Epidemiology, Transmission, and Evolution during Seven Months in Sierra Leone. *Cell.* 2015; 161(7):1516–26. DOI: 10.1016/j.cell.2015.06.007.
11. Tong Y.G., Shi W.F., Liu D., Qian J., Liang L., Bo X.C., Liu J., Ren H.G., Fan H., Ni M., Sun Y., Jin Y., Teng Y., Li Z., Kargbo D., Dafaie F., Kanu A., Chen C.C., Lan Z.H., Jiang H., Luo Y., Lu H.J., Zhang X.G., Yang F., Hu Y., Cao Y.X., Deng Y.Q., Su H.X., Sun Y., Liu W.S., Wang Z., Wang C.Y., Bu Z.Y., Guo Z.D., Zhang L.B., Nie W.M., Bai C.Q., Sun C.H., An X.P., Xu P.S., Zhang X.L., Huang Y., Mi Z.Q., Yu D., Yao H.W., Feng Y., Xia Z.P., Zheng X.X., Yang S.T., Lu B., Jiang J.F., Kargbo B., He F.C., Gao G.F., Cao W.C. China Mobile Laboratory Testing Team in Sierra Leone. Genetic diversity and evolutionary dynamics of Ebola virus in Sierra Leone. *Nature*. 2015; 524(7563):93–6. DOI: 10.1038/nature14490.

Authors:

Popova A.Yu. Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare; 18, Bld. 5 and 7, Vadkovsky Pereulok, Moscow, 127994, Russian Federation. Russian Medical Academy for Post-Graduate Training; 2/1, Barrikadnaya St., Moscow, 125993, Russian Federation.

Terновой V.A., P'yankov O.V., Chausov E.V., Sergeev Ar.A., Kabanov A.S., Bodnev S.A., Bayandin R.B., Blinov V.M., Agafonov A.P., Mikheev V.N. State Research Centre of Virology and Biotechnology "Vector". Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru

Magassouba N.F. Donka National Hospital, Conakry, Republic of Guinea.

Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru

Demina Yu.V., Ezhlova E.B. Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare. 18, Bld. 5 and 7, Vadkovsky Pereulok, Moscow, 127994, Russian Federation.

Об авторах:

Попова А.Ю. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; Российская Федерация, 127994, Москва, Вадковский переулок, дом 18, строение 5 и 7. Российская медицинская академия последипломного образования; Российская Федерация, 125993, Москва, ул. Баррикадная, 2/1.

Терновой В.А., Пьянков О.В., Чаусов Е.В., Сергеев Ар.А., Кabanov A.C., Боднев С.А., Баяндин Р.Б., Блинов В.М., Агафонов А.П., Михеев В.Н. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., п. Кольцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru

Magassouba N.F. Государственная больница «Донка». Гвинейская Республика, Конакри.

Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrap@microbe.ru

Демина Ю.В., Ежлова Е.Б. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Российская Федерация, 127994, Москва, Вадковский переулок, дом 18, строение 5 и 7.

Поступила 04.09.15.