

ПРОБЛЕМЫ ОСОБО ОПАСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Научно-практический журнал
Выходит четыре раза в год
Основан в 1968 году

Главный редактор академик РАН,
доктор медицинских наук, профессор **В.В.Кутырев**

*Журнал входит в перечень ВАК ведущих рецензируемых научных журналов и изданий,
в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций
на соискание ученой степени доктора и кандидата наук*

Выпуск 3

2015

САРАТОВ

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

С.А.Бугоркова, докт. мед. наук
З.Л.Девдариани, докт. мед. наук, профессор
Г.А.Ерошенко, докт. биол. наук
Т.Б.Караваяева (отв. секретарь), канд. мед. наук
Е.В.Куклев, докт. мед. наук, профессор
Н.И.Микшис, докт. мед. наук
М.Н.Ляпин, канд. мед. наук
А.В.Осин, канд. биол. наук
Н.В.Попов, докт. биол. наук, профессор
Ю.А.Попов, докт. биол. наук, профессор
Л.В.Саяпина, докт. мед. наук
Н.И.Смирнова, докт. биол. наук, профессор
В.П.Топорков, докт. мед. наук, профессор
С.А.Щербаклова, докт. биол. наук
Т.Н.Щуковская, докт. мед. наук, профессор

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

С.В.Балахонков, докт. мед. наук, профессор (Иркутск)
В.Е.Безсмертный, канд. мед. наук (Москва)
В.П.Бондарев, докт. мед. наук, профессор (Москва)
С.В.Борисевич, докт. биол. наук, профессор (Сергиев Посад)
А.Л.Гинцбург, докт. мед. наук, академик РАН (Москва)
И.А.Дятлов, докт. мед. наук, член-корр. РАН (Оболensk)
А.Н.Куличенко, докт. мед. наук, профессор (Ставрополь)
В.В.Кутырев, докт. мед. наук, академик РАН (Саратов)
Д.К.Львов, докт. мед. наук, академик РАН (Москва)
В.В.Малеев, докт. мед. наук, академик РАН (Москва)
В.Л.Мотин, профессор (Галвестон, США)
Г.Г.Онищенко, докт. мед. наук, академик РАН (Москва)
А.В.Ракин, канд. биол. наук (Мюнхен, Германия)
В.П.Сергиев, докт. мед. наук, академик РАН (Москва)
М.Скурник, профессор (Хельсинки, Финляндия)
А.В.Топорков, докт. мед. наук (Волгоград)

Журнал включен в Реферативный журнал и Базы данных ВИНТИ, индексируется в Российском Индексе Научного Цитирования (РИНЦ) и размещен в Электронной научной библиотеке. Сведения о журнале ежегодно публикуются в международной справочной системе по периодическим и продолжающимся изданиям «Ulrich's Periodicals Directory».

© Федеральное казенное учреждение здравоохранения
Российский научно-исследовательский противочумный
институт «Микроб», 2015

2015, Issue 3

Problems of Particularly Dangerous Infections

Scientific and Practical Journal
Issued quarterly. Founded in 1968

Problems of Particularly Dangerous Infections is published
by Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe"

Editor-in-Chief

Kutyrev V.V., Member of the RAS,
Doctor of Medical Science, Professor

Editorial Board

Bugorkova S.A., Doctor of Medical Science
Devdariani Z.L., Doctor of Medical Science, Professor
Eroshenko G.A., Doctor of Biological Science
Karavaeva T.B. (executive secretary), Candidate of Medical Science
Kouklev E.V., Doctor of Medical Science, Professor
Mikshis N.I., Doctor of Medical Science
Lyapin M.N., Candidate of Medical Science
Osin A.V., Candidate of Biological Science
Popov N.V., Doctor of Biological Science, Professor
Popov Yu. A., Doctor of Biological Science, Professor
Sayapina L.V., Doctor of Medical Science
Smirnova N.I., Doctor of Biological Science, Professor
Toporkov V.P., Doctor of Medical Science, Professor
Shcherbakova S.A., Doctor of Biological Science
Shchukovskaya T.N., Doctor of Medical Science, Professor

Editorial Council

Balakhonov S.V., Doctor of Medical Science, Professor (Irkutsk)
Bezsmertny V.E., Candidate of Medical Science (Moscow)
Bondarev V.P., Doctor of Medical Science, Professor (Moscow)
Borisevich S.V., Doctor of Biological Science, Professor (Sergiev Possad)
Gintsburg A.L., Doctor of Medical Science, Member of the RAS (Moscow)
Dyatlov I.A., Doctor of Medical Science, Corresponding Member
of the RAS (Obolensk)
Kulichenko A.N., Doctor of Medical Science, Professor (Stavropol)
Kutyrev V.V., Doctor of Medical Science, Member of the RAS (Saratov)
Lvov D.K., Doctor of Medical Science, Member of the RAS (Moscow)
Maleev V.V., Doctor of Medical Science, Member of the RAS (Moscow)
Motin V.L., Ph. D., Professor (Galveston, USA)
Onishchenko G.G., Doctor of Medical Science, Member of the RAS (Moscow)
Rakin A.V., Ph. D. (Munich, Germany)
Sergiev V.P., Doctor of Medical Science, Member of the RAS (Moscow)
Skurnik M., Professor (Helsinki, Finland)
Toporkov A.V., Doctor of Medical Science (Volgograd)

Editorial Office Address:

46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation
Tel +7(845-2) 51-82-22. Fax +7(845-2) 51-52-12
E-mail: jour@microbe.ru
http://journal.microbe.ru

Подписной индекс в каталогах «Почта России» – 24687, «Пресса России» – 29448

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи и массовых коммуникаций. Свидетельство ПИ № ФС77-35894

Адрес редакции: 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: jour@microbe.ru. Сайт: http://journal.microbe.ru

Зав. редакцией Л.С.Пронина. Тел. (845-2) 51-82-22. Факс (845-2) 51-52-12

Пробл. особо опасных инф. 2015. Вып. 3. 1–110

Редакторы Е.С.Герасимова, Т.А.Поришкова. Технический редактор Т.К.Меркулова. Перевод на английский Т.Б.Караваяевой, А.П.Рыжовой

Подписано в печать 21.09.15. Формат 60×88 1/8. Бумага мелованная. Печать офсетная. Усл. печ. л. 13,5. Гарнитура Таймс. Заказ 706
Журнал отпечатан в типографии ООО «ИППОЛит-XXI век». 410012, Саратов, Б. Казачья, 79/85

Онищенко Г.Г., Попова А.Ю., Топорков В.П., Смоленский В.Ю., Щербаклова С.А., Кутырев В.В. Современные угрозы и вызовы в области биологической безопасности и стратегия противодействия

5

Эпидемиология

Попова А.Ю., Сафронов В.А., Лопатин А.А., Раздорский А.С., Boiro M.Y., Magassouba N.F., Смоленский В.Ю., Демина Ю.В., Ежлова Е.Б., Кутырев В.В. Проблемы научно-практического обеспечения противоэпидемических мероприятий при ликвидации эпидемии болезни, вызванной вирусом Эбола, в Западной Африке

10

Безсмертный В.Е., Бредихин В.Н., Конева А.С., Панин Ю.А., Поздняков И.В., Ицков Я.Ю., Коломоец Е.В., Левковский А.Е. Опыт создания стационарного инфекционного госпиталя для лечения особо опасных инфекционных болезней в Гвинейской Республике

13

Карнаухов И.Г., Топорков В.П., Удовиченко С.К., Кутырев В.В. Использование системного подхода в оценке надзора и контроля болезни, вызванной вирусом Эбола

16

Кириллов В.Б., Кириллова С.Л., Борисевич С.В. Прогнозирование последствий появления в России завозных случаев болезни, вызванной вирусом Эбола

24

Малеев В.В., Tolno Facely, Konomou K. Victor, Sow Thierno Idy, Ицков Я.Ю., Демина Ю.В., Левковский А.Е., Коломоец Е.В., Ковалев Г.А., Хорошилов В.Ю., Омариев З.М. Эпидемиологические и клинические особенности болезни, вызванной вирусом Эбола, в Гвинейской Республике

27

Пакскина Н.Д., Шиянова А.Е., Дмитриева Л.Н., Карнаухов И.Г., Караваяева Т.Б. Мероприятия в отношении лиц, контактировавших с больным лихорадкой Эбола

33

Попов Н.В., Сафронов В.А., Поршаков А.М., Кутырев В.В. Оценка потенциальной эпизоотологической значимости мелких хищных млекопитающих в циркуляции вируса Эбола в Гвинейской Республике

39

Попова А.Ю., Сафронов В.А., Boiro M.Y., Куклев Е.В., Кедрова О.В., Удовиченко С.К., Лопатин А.А., Раздорский А.С., Ежлова Е.Б., Смоленский В.Ю., Кутырев В.В. Эпидемиологические особенности болезни, вызванной вирусом Эбола, в странах Западной Африки в 2013–2015 гг.

42

Попова А.Ю., Шиянова А.Е., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Пакскина Н.Д., Кедрова О.В., Дмитриева Л.Н., Карнаухов И.Г. Комплекс мероприятий в рамках санитарной охраны территории Российской Федерации по недопущению завоза и распространения болезни, вызванной вирусом Эбола

49

Микробиология

Дедков В.Г., Сафонова М.В., Боднев С.А., Кабанов А.С., Сафронов В.А., Лопатин А.А., Куклев В.Е., Уткин Д.В., Малеев В.В., Шипулин Г.А. Совершенствование диагностической системы в формате ОТ-ПЦР в реальном времени «Амплисенс EBOV (ZAIRE)-FL» для детекции РНК вируса Эбола Заир

55

Onishchenko G.G., Popova A.Yu., Toporkov V.P., Smolensky V.Yu., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. Present-Day Menaces and Challenges in the Sphere of Biological Safety and Strategy of Countermeasures

Epidemiology

Popova A.Yu., Safronov V.A., Lopatin A.A., Razdorsky A.S., Boiro M.Y., Magassouba N.F., Smolensky V.Yu., Demina Yu.V., Ezhlova E.B., Kutyrev V.V. Issues of Scientific and Practical Support of Anti-Epidemic Activities in the Course of Ebola Virus Disease Epidemic Response in West Africa

Bezsmertny V.E., Bredikhin V.N., Koneva A.S., Panin Yu.A., Pozdnyakov I.V., Itskov Ya.Yu., Kolomoets E.V., Levkovsky A.E. Experience in Building Infectious Hospital for Treatment of Particularly Dangerous Infectious Diseases in the Republic of Guinea

Karnaukhov I.G., Toporkov V.P., Udovichenko S.K., Kutyrev V.V. Deployment of Systematic Approach to the Assessment of Surveillance and Control over Ebola Virus Disease

Kirillov V.B., Kirillova S.L., Borisevich S.V. Analysis of the Impact Consequent to the Emergence of Imported Ebola Virus Disease Cases in the Russian Federation

Maleev V.V., Tolno Facely, Konomou K. Victor, Sow Thierno Idy, Itskov Ya.Yu., Demina Yu.V., Levkovsky A.E., Kolomoets E.V., Kovalev G.A., Khoroshilov V.Yu., Omariev Z.M. Epidemiological Peculiarities and Clinical Features of Ebola Virus Disease in the Republic of Guinea

Pakskina N.D., Shiyanova A.E., Dmitrieva L.N., Karnaukhov I.G., Karavaeva T.B. Activities Undertaken toward Individuals Who Have Been in Contact with Ebola Fever Patient

Popov N.V., Safronov V.A., Porshakov A.M., Kutyrev V.V. Evaluation of Potential Epizootiological Significance of Small Predatory Mammals in Ebola Virus Circulation in the Republic of Guinea

Popova A.Yu., Safronov V.A., Boiro M.Y., Kouklev E.V., Kedrova O.V., Udovichenko S.K., Lopatin A.A., Razdorsky A.S., Ezhlova E.B., Smolensky V.Yu., Kutyrev V.V. Epidemiological Peculiarities of Ebola Virus Disease Epidemic, 2013–2015 in West Africa Countries

Popova A.Yu., Shiyanova A.E., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Pakskina N.D., Kedrova O.V., Dmitrieva L.N., Karnaukhov I.G. Complex of Measures Aimed at Prevention of Ebola Virus Disease Importation and Transmission, Performed within the Frames of Sanitary Protection of the Territories of the Russian Federation

Microbiology

Dedkov V.G., Safonova M.V., Bodnev S.A., Kabanov A.S., Safronov V.A., Lopatin A.A., Kuklev V.E., Utkin D.V., Maleev V.V., Shipulin G.A. Improvement of Diagnostic System in a Real-Time RT-PCR “AmpliSens EBOV (ZAIRE)-FL” Format for Zaire ebolavirus RNA Detection

Казачинская Е.И., Никонорова Ю.В., Локтев В.Б. Моноклональные антитела и рекомбинантные белки для иммунодиагностики болезни, вызванной вирусом Эбола.....

58

Краснов Я.М., Сафронов В.А., Носов Н.Ю., Кутырев В.В., Попова А.Ю. Сравнительный анализ секвенированных образцов вируса Zaire Ebolavirus из Гвинейской Республики

65

Лопатин А.А., Найденова Е.В., Сафронов В.А., Раздорский А.С., Уткин Д.В., Касьян Ж.А., Крицкий А.А., Терновой В.А., Нестеров А.Е., Сергеев А.А., Sylla A.L., Капоуи V., Boiro M.Y., Демина Ю.В., Хорошилов В.Ю., Попова А.Ю., Кутырев В.В. Изучение сохранения вируса Эбола в биологических жидкостях пациента на поздних стадиях выздоровления

73

Петров А.А., Лебедев В.Н., Стомба Л.Ф., Сизикова Т.Е., Плеханова Т.М., Сидорова О.Н., Пышная Н.С., Павелков Д.И., Борисевич С.В. Молекулярно-генетические особенности строения генома представителей рода *Ebolavirus*

77

Попова А.Ю., Терновой В.А., Пьянков О.В., Чаусов Е.В., Сергеев А.А., Кабанов А.С., Боднев С.А., Баяндин Р.Б., Блинов В.М., Magassouba N.F., Кутырев В.В., Демина Ю.В., Ежлова Е.Б., Агафонов А.П., Михеев В.Н. Изучение свойств изолятов эболавируса Заир 2014

83

Сизикова Т.Е., Лебедев В.Н., Пантюхов В.Б., Борисевич С.В. Молекулярные механизмы проникновения вируса Эбола в перmissive клетки

89

Терновой В.А., Семенцова А.В., Чуб Е.В., Пьянков О.В., Локтев В.Б., Агафонов А.П. Высокоэффективное xMAP-мультиплексирование для обнаружения и идентификации геморрагических лихорадок, включая Эбола

94

Биотехнология, иммунология

Петров А.А., Лебедев В.Н., Плеханова Т.М., Стомба Л.Ф., Борисевич Г.В., Сидорова О.Н., Чухраля О.В., Борисевич С.В. Современное состояние разработки средств экстренной профилактики и лечения болезни, вызванной вирусом Эбола

98

Сизикова Т.Е., Лебедев В.Н., Борисевич С.В., Кутаев Д.А., Борисевич И.В. Современное состояние разработки вакцин нового поколения против болезни, вызванной вирусом Эбола

104

Юбилей

К 60-летию Александра Николаевича Куличенко

110

Kazachinskaya E.I., Nikonorova Yu.V., Loktev V.B. Monoclonal Antibodies and Recombinant Proteins for Immuno-Diagnostics of Ebola Virus Disease

Krasnov Ya.M., Safronov V.A., Nosov N.Yu., Kutyrev V.V., Popova A.Yu. Comparative Analysis of the Sequenced Zaire ebolavirus Samples from the Republic of Guinea

Lopatin A.A., Naidenova E.V., Safronov V.A., Razdorsky A.S., Utkin D.V., Kas'yan Zh.A., Kritsky A.A., Ternovoy V.A., Nesterov A.E., Sergeev A.A., Sylla A.L., Kanomou V., Boiro M.Y., Demina Yu.V., Khoroshilov V.Yu., Popova A.Yu., Kutyrev V.V. Studies of Ebola Virus persistence in the Body Fluids of a Patient at Advanced Stages of Convalescence

Petrov A.A., Lebedev V.N., Stovba L.F., Sizikova T.E., Plekhanova T.M., Sidorova O.N., Pyshnaya N.S., Paveliev D.I., Borisevich S.V. The Molecular Genetic Peculiarities of Genomic Structure of Members of the *Ebolavirus* Genus

Popova A.Yu., Ternovoy V.A., P'yankov O.V., Chaurov E.V., Sergeev A.A., Kabanov A.S., Bodnev S.A., Bayandin R.B., Blinov V.M., Magassouba N.F., Kutyrev V.V., Demina Yu.V., Ezhlova E.B., Agafonov A.P., Mikheev V.N. Analysis of Ebola virus Zaire 2014 isolates

Sizikova T.E., Lebedev V.N., Pantyukhov V.B., Borisevich S.V. Molecular Mechanisms of Ebola Virus Entry into Permissive Cells

Ternovoy V.A., Sementsova A.V., Chub E.V., P'yankov O.V., Loktev V.B., Agafonov A.P. Highly Effective xMAP Multiplex Assay for the Detection and Identification of Hemorrhagic Fever Agents, Including Ebola Virus

Biotechnology, Immunology

Petrov A.A., Lebedev V.N., Plekhanova T.M., Stovba L.F., Borisevich G.V., Sidorova O.N., Chukhraya O.V., Borisevich S.V. Current State of the Development of Therapies for Emergency Prophylaxis and Treatment of Ebola Virus Disease

Sizikova T.E., Lebedev V.N., Borisevich S.V., Kutaev D.A., Borisevich I.V. Current State of the Development of Next-Generation Vaccines against Ebola Virus Disease

Anniversaries

To the 60-th Anniversary of Alexander N. Kulichenko

Г.Г.Онищенко¹, А.Ю.Попова^{2,3}, В.П.Топорков⁴, В.Ю.Смоленский², С.А.Щербакова⁴, В.В.Кутырев⁴

СОВРЕМЕННЫЕ УГРОЗЫ И ВЫЗОВЫ В ОБЛАСТИ БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ И СТРАТЕГИЯ ПРОТИВОДЕЙСТВИЯ

¹Российская академия наук, Москва, Российская Федерация; ²Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация; ³Российская медицинская академия последипломного образования, Москва, Российская Федерация; ⁴ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация

Рассмотрена современная номенклатура угроз в области биологической безопасности в рамках широкой трактовки данного понятия, обусловленных инфекционными болезнями. На примере эпидемии лихорадки Эбола в Западной Африке показано, что актуальные, новые, распространяющиеся на новые территории инфекционные болезни, относящиеся к категории острых угроз, способны создавать чрезвычайную ситуацию в области биологической безопасности. Эта ситуация характеризуется признаками неожиданности, эксплозивным ростом заболеваемости, высокой степенью поражения медицинского персонала и летальностью, неготовностью общества к противодействию им (мониторинг, лечение, профилактика, контроль), тяжелыми социально-экономическими последствиями, косвенными признаками возможности рукотворного происхождения, реальной угрозой для биологической безопасности всего мирового сообщества. Отмечены варианты угроз, реализованные в затяжные (хронические) эпидемии и пандемии, обусловленные ВИЧ/СПИД, туберкулезом, проявлениями малярии, характеризующиеся самой высокой социально-экономической значимостью. Рассмотрена также номенклатура угроз, расширяющая арсенал средств биологического терроризма. Стратегия противодействия состоит в системном подходе к предупреждению и реагированию на острые угрозы, уменьшении социально-экономических последствий их реализации, достижении на этом фоне более эффективного контроля указанных затяжных проблем, строгом выполнении странами положений КБТО.

Ключевые слова: биологическая безопасность (широкий формат), номенклатура угроз в области биологической безопасности, эпидемия лихорадки Эбола, биологический терроризм, стратегия противодействия современным угрозам и вызовам.

G.G.Onishchenko¹, A.Yu.Popova^{2,3}, V.P.Toporkov⁴, Smolensky V.Yu.², S.A.Shcherbakova⁴, V.V.Kutyrev⁴

Present-Day Menaces and Challenges in the Sphere of Biological Safety and Strategy of Countermeasures

¹Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation; ²Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Moscow, Russian Federation; ³Russian Medical Academy for Post-Graduate Training, Moscow, Russian Federation; ⁴Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

Considered is present-day nomenclature of menaces in the sphere of biological safety in the frames of broad-sense representation of this concept associated with infectious diseases. By the example of Ebola fever epidemic in West Africa, demonstrated is the fact that actual, new and spreading in the new territories infectious diseases which are attributed to the category of acute menaces, can create emergency situation in the sphere of biological safety. Such situation presents traits of unexpectedness, explosive growth of morbidity, high number of cases among health workers, high lethality, unpreparedness of the society for countermeasures (monitoring, treatment, prophylaxis, and control), severe social and economical consequences, indirect signs of probability of its intended origin, real menace for biological safety of the whole global community. Presented are variants of menaces that manifested as long-lasting (chronic) epidemics and pandemics (HIV/AIDS, tuberculosis, malaria) which have the highest social and economical impact. Considered is nomenclature of menaces that broaden the toolkit of biological terrorism means. The strategy of countermeasures implies systemic approach to prevention and response to acute menaces, reducing of social and economical consequences of their realization, thus achieving more effective control over aforementioned long-lasting problems, strict adherence to BTWC provisions.

Key words: biological safety (broad-sense), nomenclature of menaces in the sphere of biological safety, Ebola fever epidemic, biological terrorism, strategy of countermeasures against present-day menaces and challenges.

Номенклатура современных угроз и вызовов в области биологической безопасности включает, прежде всего, инфекционные болезни, способные в случае «острого» характера эпидемических проявлений оказать критическое воздействие на общественное здоровье, сопряженное с крупными социально-экономическими и политическими потрясениями в странах. Эта номенклатура приведена в двух списках Приложения 2 ММСП (2005 г.), включающих 14 но-

зологических форм. На уровне СНГ список таких угроз составляет 19 наименований, а Таможенного экономического союза – 24 нозологии. При этом списки остаются открытыми в связи с проблемой глобализации и актуализации инфекционных болезней, распространения болезней на новые территории, устойчивой тенденцией появления в мире новых (ранее не известных) инфекционных болезней, особенно вирусной этиологии, по отношению к которым

существует проблема неожиданности, непредсказуемости, возможности трактовки биотеррористического происхождения, серьезности возникающих эпидемических ситуаций, достигающих масштаба ЧС санитарно-эпидемиологического (биологического) характера с угрозой национальной и международной биологической безопасности.

С этой тенденцией сопряжена необходимость оперативного обеспечения адекватной противозидемической готовности компетентных ведомств, знания эпидемиологии (территорий, факторов, времени и контингентов риска, естественных резервуаров и механизмов передачи) и обеспечения биологической безопасности при обслуживании медицинским персоналом больных и работе с контаминированными патогенными биологическими агентами объектами. Существо проблемы состоит в реализации стратегии мониторингирования и верификации таких ситуаций, эпидемиологическом прогнозировании и своевременном создании средств диагностики, лечения, профилактики, разработки эффективных противозидемических мероприятий.

В целом в указанные выше списки инфекционных болезней входят представители актуальных, новых, возвращающихся и распространяющихся на новые территории инфекционных болезней, представляющих пул естественных угроз биологической безопасности, превращающихся в современные вызовы в случае террористического происхождения. Сложность проблемы надзора и контроля реализации таких угроз состоит также в том, что наиболее опасные нозологические формы входят в арсенал средств биологического терроризма (более 40 наименований видов возбудителей), способных, с одной, стороны создать искусственную опасную биологическую ситуацию, а с другой – существенно осложнить естественную опасную биологическую ситуацию до уровня ЧС биологического характера с созданием угрозы национальной безопасности вплоть до возникновения угрозы функционирования государства. Эксперты в качестве примера таких последствий приводят возможную результативность одновременной аппликации на территории трех патогенных микроорганизмов – чумы, натуральной оспы и сибирской язвы.

Поэтому в случае возникновения чрезвычайных ситуаций биологического характера, а именно они, как мы показали ранее [3, 4], отличаются от чрезвычайных ситуаций санитарно-эпидемиологического характера и оказываются наиболее разрушительными параметрами для социально-экономического, политического, психо-эмоционального, морального состояния общества (возникают версии об антропогенном их происхождении). Напомним насколько тяжелыми по данным признакам были последствия для США и резонансными для всего мирового сообщества распространение в 2001 г. спор сибирской язвы посредством почтовых отправлений. Как версия лабораторного происхождения рассматривалось

возникновение и эпидемическое распространение SARS-коронавируса в 2003 г.

Все вышеуказанные проблемы с исчерпывающей полнотой сфокусированы в эпидемических событиях, обусловленных лихорадкой Эбола, впервые возникшей в виде эпидемии на новой территории, ранее не поражавшейся этой болезнью западной части Африки в 2014–2015 гг. Начальные эпидемические цепочки болезни возникли в конце 2013 г. на территории Гвинейской Республики. Затем болезнь распространилась в Либерию, Сьерра-Леоне. На 13 сентября 2015 г., по данным ВОЗ, количество больных/умерших зарегистрировано в: Гвинее – 3792/2530, Либерии – 10666/4086, Сьерра-Леоне – 13756/3953. Общее количество больных/умерших в этих странах составило 28220/11291. Экспоненциальный рост количества больных в Гвинее, Либерии, Сьерра-Леоне, достигавший соответственно сотни, пятисот и более пятисот больных в неделю, заносы болезни в сопредельные страны – Нигерию, Сенегал, Мали, в страны Европы – Великобританию, Испанию, Италию и США были проявлением неожиданности, серьезности эпидемической ситуации, неготовности государственных структур здравоохранения, правительства, международных организаций к эффективному противодействию, и как следствие, выхода болезни из-под контроля, что практически и было констатировано ВОЗ.

В литературе имеется достаточно обстоятельное и объективное с эпидемиологической точки зрения описание хода эпидемии лихорадки Эбола в странах Западной Африки с позиции естественного развития эпидемического процесса и роли целого ряда факторов, в том числе социально-экономических, способствовавших его эскалации [2], созданию, согласно объявлению ВОЗ 8 августа 2014 г., чрезвычайной ситуации в области общественного здравоохранения международного значения.

Вместе с тем, исходя из эксплозивного роста заболеваемости, масштабированного эпидемического распространения с выходом болезни в крупные населенные пункты и столичные города, высокой летальности и беспрецедентного поражения медицинского персонала, заболеваемости, в несколько сотен раз превысившей среднегодовую заболеваемость лихорадкой Эбола за 37 лет в странах Центральной Африки (в 1976–2013 гг. зарегистрировано более 20 вспышек в Демократической Республике Конго, Судане, Габоне, Уганде; общее количество больных/умерших составило 2433/1581), в литературе сформирована версия относительно рукотворного компонента в возникновении эпидемии лихорадки Эбола в странах Западной Африки. К числу наиболее обсуждаемых относятся следующие аргументы:

- эпидемию лихорадки Эбола в Западной Африке обусловил самый опасный (патогенный, «летальный») вирус Заир, поразивший городское население без убедительной привязки первичных заражений человека к природным биоценозам;

- западно-африканский возбудитель лихорадки Эбола генетически относится к варианту Заир, циркулировавшему в Центральной Африке в 2003–2009 гг., т.е. за 3500 км от места эпидемии без сколько-нибудь объективной трактовки возможности его естественной интродукции из Центральной Африки как в указанный период, так и в 2014 г., когда вспышка лихорадки Эбола в Центральной Африке была вызвана геновариантом Заир, изолированным в этом регионе в 1995 г.;

- гипермутабильность вируса в зоне эпидемии при установленной древности происхождения филовирусов и относительной стабильности территориальной привязки всех 5 видов эболавируса, что является свидетельством «искусственности» западно-африканского возбудителя.

Предшествовавшее эпидемии изучение вируса Эбола в США как «вирусной лихорадки биотерроризма», функционирование и дислокация научно-исследовательских и военных подразделений США в странах Западной Африки в эпицентре эпидемии лихорадки Эбола, заблаговременная разработка и испытание вакцинных препаратов незадолго до эпидемии и во время ее, объявление о готовности к практическому применению вакцины в момент эпидемии также могут быть истолкованы в пользу рукотворного происхождения эпидемии. Тем более, что США в 2010 г. официально принесли извинения по поводу вскрытого историками факта создания США в 1946–1948 гг. искусственной биологической ситуации, обусловленной скрытым инфицированием 5500 гватемальцев (без их согласия) сифилисом и другими болезнями, передаваемыми половым путем, с целью изучения эффективности лечения пенициллином [1].

Таким образом, лихорадка Эбола это современная «острая» угроза, впервые выявленная в 1976 г. в странах Центральной Африки как новая (ранее не известная) инфекционная болезнь, послужившая, в связи с широким распространением в 90-е годы в данном регионе, одним из основных аргументов для пересмотра ММСП (1969 г.) и введения ее в новые ММСП (2005 г.). Оценка характера и динамики эпизоотологической обстановки, как известно, является важным аспектом эпидемиологического прогнозирования при зоонозах. Не спрогнозированная болезнь, вышедшая из-под контроля и масштабированная из-за неспособности эффективно воздействовать на ситуацию правительств, национальных и международных организаций в области здравоохранения, причинившая серьезный социально-экономический ущерб пораженным странам и создавшая угрозу глобального распространения при отсутствии эффективных средств лечения, профилактики и борьбы, определена некоторыми руководителями промышленно развитых стран как приоритетная угроза для всего мирового сообщества.

Все вышеизложенное относительно эпидемиологической сути эпидемии лихорадки Эбола как реализации острой угрозы, отнесенной к IV группе па-

тогенности (классификация ВОЗ) и требующей максимального уровня биологической защиты (BSL 4) при работе с контаминированными объектами, при наличии вкуче признаков возможности террористического генеза эпидемии в Западной Африке как наиболее одиозного «манифестирующего» современного вызова, трактуется нами как чрезвычайная ситуация биологического характера, создавшая угрозу национальной и международной безопасности.

Эпидемия лихорадки Эбола в Западной Африке пополнила ряд самых разрушительных биологических ситуаций, к которому относится и ожидаемая пандемия гриппа нового подтипа, которая уже на первом этапе может нанести экономический ущерб международному сообществу, исчисляемый в \$ 850 млрд. При широкой трактовке биологической безопасности такую пандемию можно назвать ЧС биологического характера, имеющей прямое (болезнь) и опосредованное (социально-экономический ущерб) негативное влияние на жизнедеятельность человека.

Параметры ЧС биологического характера представлены нами при разработке концептуальных основ широкого формата биологической безопасности, соответственно сформулированных понятий, определений и терминов [3, 4].

Напомним, что разработанная нами концепция широко трактуемого понятия «биологическая безопасность» охватывает всю сферу санитарно-эпидемиологического благополучия, смежные с ней области ветеринарно-санитарного, фитосанитарного обеспечения, экологической безопасности, среды обитания (производственная, социально-экономическая, геополитическая инфраструктуры, экологическая система) и осуществляется в целях предупреждения и ликвидации чрезвычайных ситуаций биологического характера (ЧС), признаками которой, как правило, является высокая социально-экономическая и геополитическая значимость негативного влияния на жизнедеятельность человека, сопоставимая с угрозой национальной и международной безопасности. Сама же биологическая безопасность определяется нами как защищенность населения (личности, общества, государства) от прямого и/или опосредованного через среду обитания (производственная, социально-экономическая, геополитическая сферы, экологическая система) вредного воздействия опасных биологических факторов.

Задача списка актуальных инфекционных болезней состоит в формировании структуры и содержания международной настороженности и готовности к экстренному реагированию, включающему вопросы эпидемиологической диагностики (клинический, эпидемиологический и этиологический анализы), проведения санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий, перечня разрабатываемых и производимых медицинских иммунобиологических препаратов для диагностики и профилактики инфекционных болезней, номенклатуры лечебных средств, направленности подготовки кадров. В

целом реализация этих направлений требует организационного, методологического, технологического, материально-технического, кадрового обеспечения.

Инфекционные болезни вместе с массовыми неинфекционными заболеваниями токсического происхождения, обусловленными действием биологических, химических и радиоактивных факторов, создают в мире так называемые «острые», требующие экстренного реагирования ситуации в области общественного здравоохранения, имеющие международное значение. Стратегия по отношению к острым угрозам состоит в том, чтобы своевременно и в рациональных объемах осуществлять ответные действия, минимизируя при этом социально экономические потери и геополитическую значимость.

Наряду с номенклатурой инфекционных болезней, относящихся к острым угрозам, требующим экстренного адекватного реагирования, имеется небольшое число нозологических форм, проявляющихся в виде «хронических» (затянувшихся) эпидемии и пандемии, характеризующихся самой высокой социально-экономической значимостью и требующих привлечения большого объема ресурсов для повышения эффективности их контроля. В эту функциональную группу болезней входят ВИЧ/СПИД, туберкулез, малярия. На их долю приходится почти 50 % больных в мире. Стратегия состоит в том, чтобы приблизить помощь к населению и тем самым улучшить эпидемиологическую обстановку.

Следующая группа угроз представлена нозологическими формами, именуемыми ВОЗ тропическими «забытыми» инфекционными (паразитарными) болезнями, поражающими беднейшие слои населения из-за некачественных питьевой воды, санитарно-гигиенических условий жизни и недостаточной медицинской помощи (14 нозологий).

Из числа современных угроз можно выделить еще одну группу инфекционных болезней, которая отличается тем, что, будучи управляемой специфическими средствами иммунопрофилактики, может давать эпидемические вспышки масштаба ЧС международного значения из-за нарушений в поддержании иммунной защиты населения. В таком аспекте можно рассматривать, например, проявления кори в целом ряде европейских стран в 2010 г., когда, по данным Европейского Центра контроля за заболеваниями, произошел 4-кратный рост заболеваемости по сравнению с 2009 г. Наряду с корью, к этой группе можно отнести краснуху, полиомиелит, дифтерию, менингококковую инфекцию.

В функциональном отношении необходимо выделить группу инфекционных болезней, возникающих вследствие стихийных бедствий и антропогенных катастроф. К этим болезням относятся острые кишечные инфекции, включая холеру, гепатит А, природно-очаговые зоонозные, общие для человека и животных и др.

К настоящему времени сформулирован перечень биологических угроз для человека, представленных

факторами и процессами, происходящими в природе и обществе:

- естественные природные резервуары патогенных микроорганизмов и неконтролируемое распространение живых микроорганизмов, особенно генетически модифицированных, с неустановленным механизмом влияния на экосистемы;

- массовые вспышки инфекционных болезней (эпидемии, эпизоотии и эпифитотии) естественного происхождения;

- аварии и диверсии на объектах, где проводятся работы с патогенными микроорганизмами;

- использование микроорганизмов и экзопатогенов в военных и террористических целях, включая диверсии на биологически опасных объектах.

В рамках реализации широкого формата биологической безопасности необходимо иметь в виду, что он учитывает основной смысл принципиально важного положения из доклада Генерального директора ВОЗ М.Чен на 68-й сессии ВАО (18 мая 2015 г.) о том, что неинфекционные болезни, связанные с «нездоровыми» современными продуктами питания и образом жизни, являющимися основной причиной смертности в мире, обогнали инфекционные болезни.

Характеризуя возрастание методических возможностей биотерроризма как манифестирующего вызова в современных условиях, необходимо еще раз напомнить о возрастании значимости технологий двойного назначения и других видов деятельности, увеличивающих арсенал средств биотерроризма. К ним относятся: искусственное распространение биологических средств путем контаминирования продуктов питания и воды на конечных стадиях распределительной цепочки; микрокапсулирование биологических средств как способ повышения их устойчивости в объектах окружающей среды; придание возбудителям устойчивости к антибиотикам и противовирусным препаратам; создание технологических линий по производству биологических средств; искусственное распространение биологических средств путем загрязнения продуктов питания, воды и пищи на начальных стадиях распределительных цепочек; распространение биологических средств в виде порошка и аэрозоля; получение вирусов посредством синтеза; снижение эффективности вакцинных препаратов; модификация с целью повышения вирулентных свойств возбудителей инфекционных болезней; придание непатогенным для человека микроорганизмам свойств вирулентности; повышение трансмиссивных свойств патогенов; повышение инфекционных свойств патогенов; инсерция факторов вирулентности; инсерция генов хозяина с целью модификации иммунного ответа; создание новых патогенов; повышение стабильности патогенов в условиях окружающей среды посредством модификации генома; удаление из генома детектируемых (диагностических) участков; придание генетическим конструкциям тканеспецифических свойств. Важным направлением в области обеспечения биологической

безопасности является учет рисков, связанных с развитием синтетической биологии [5].

В Российской Федерации обеспечение биологической безопасности возведено в ранг государственной политики и стало одним из важнейших направлений укрепления национальной безопасности Российской Федерации. Целью реализации этого направления является последовательное снижение до минимально приемлемого уровня риска воздействия опасных биологических факторов на население, производственную и социальную инфраструктуру и экологическую систему.

Реализация государственной политики по обеспечению биологической безопасности достигается путем функционирования единой государственной системы обеспечения химической и биологической безопасности Российской Федерации, предусматривающей категорирование, прогнозирование, предупреждение и парирование угроз химической и биологической безопасности, ликвидацию последствий чрезвычайных ситуаций в результате воздействия опасных химических и биологических факторов окружающей среды.

Стратегия противодействия современным угрозам и вызовам должна строиться с учетом их номенклатуры, регламентированной в ММСП (2005 г.), на основе системного подхода и государственной политики в области широко трактуемой биологической безопасности, при скоординированной на межгосударственном уровне организации и выборе ответных мер на чрезвычайные ситуации в области общественного здравоохранения международного значения, регламентированных в ММСП (2005 г.), с учетом их совершенствования и создания по инициативе Генерального директора ВОЗ М.Чен новой единой программы на 2016–2017 годы на случай чрезвычайных ситуаций в области общественного здравоохранения. Эта программа должна объединить ресурсы трех уровней организации ВОЗ, кадровые резервы и усиленный национальный потенциал реагирования путем более тесного сотрудничества с ВОЗ и ее Генеральным директором, с учетом создания новой модели для ускоренной разработки, тестирования и одобрения медицинской продукции во время ЧС, вызываемой новой или вновь возвращающейся инфекционной болезнью. Обязательным элементом стратегии противодействия современным вызовам является выполнение странами Конвенции о запрещении разработки, производства и накопления запасов бактериологического (биологического) и токсинного оружия и об их уничтожении (далее КБТО). Напомним, что КБТО была создана и принята в связи с активизацией генетических разработок в области биологических средств ведения войны. В целом стратегия предупреждения и ответных мер на чрезвычайные ситуации биологического характера должна строиться на адекватном совершенствовании законодательной и нормативной базы этих мер на

уровне ООН (ВОЗ), Группы двадцати, ШОС, БРИКС, ЕврАзЭС, СНГ.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Маначинский А.Я. Вспушки лихорадки Эбола в Западной Африке: Кто ответит? <http://rubicon.org.ua/index.php/item/122-vspyski-likhoradki-ebola-v-zapadnoj-afrike-kto-otvetit?tmpl=component&print=1> (дата обращения 14.09.2015).
2. Платонов А.Е., Платонова О.В., Малеев В.В. Эбола 2014 г. Эпидемиологические и социальные аспекты. *Эпидемиол. и инф. бол.* 2014; 5:34–49.
3. Онищенко Г.Г., Смоленский В.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Топорков В.П., Топорков А.В., Ляпин М.Н., Кутырев В.В. Актуальные проблемы биологической безопасности в современных условиях. Сообщение 1. Концептуальные основы биологической безопасности. *Вестник РАМН.* 2013; 10:4–13.
4. Онищенко Г.Г., Смоленский В.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Топорков В.П., Топорков А.В., Ляпин М.Н., Кутырев В.В. Актуальные проблемы биологической безопасности в современных условиях. Сообщение 2. Понятийная, терминологическая и определительная базы биологической безопасности. *Вестник РАМН.* 2013; 11:4–11.
5. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., Одинокоев Г.Н., Сафронов В.А. Синтетическая биология: риски и перспективы. *Пробл. особо опасных инф.* 2014; 3:5–11.

References

1. Manachinsky A.Ya. [Ebola fever outbreaks in West Africa: Who will take blame?]. [cited 14 Sep 2015]. Available from: <http://rubicon.org.ua/index.php/item/122-vspyski-likhoradki-ebola-v-zapadnoj-afrike-kto-otvetit?tmpl=component&print=1>.
2. Platonov A.E., Platonova O.V., Maleev V.V. [Ebola, 2014. Epidemiological and social aspects]. *Epidemiol. Infek. Bol.* 2014; 5:34–49.
3. Onishchenko G.G., Smolensky V.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Toporkov V.P., Toporkov A.V., Lyapin M.N., Kutyrev V.V. [Topical issues of biological safety under current conditions. Part 1. Conceptual bases of biological safety]. *Vestnik RAMN.* 2013; 10:4–13.
4. Onishchenko G.G., Smolensky V.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Toporkov V.P., Toporkov A.V., Lyapin M.N., Kutyrev V.V. [Topical issues of biological safety under current conditions. Part 2. Conceptual, terminological, and definitive framework of biological safety]. *Vestnik RAMN.* 2013; 11:4–11.
5. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., Odinokov G.N., Safronov V.A. [Synthetic biology: risks and prospects]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2014; 3:5–11.

Authors:

Onishchenko G.G. Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation.

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.

Toporkov V.P., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Smolensky V.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.

Об авторах:

Онищенко Г.Г. Российская академия наук. Российская Федерация, Москва.

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.

Топорков В.П., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Смоленский В.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.

Поступила 04.09.15.

А.Ю.Попова^{1,2}, В.А.Сафронов³, А.А.Лопатин³, А.С.Раздорский³, М.Y.Boiro⁴, N.F.Magassouba⁵,
В.Ю.Смоленский¹, Ю.В.Демина¹, Е.Б.Ежлова¹, В.В.Кутырев³

ПРОБЛЕМЫ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ПРОТИВОЭПИДЕМИЧЕСКИХ МЕРОПРИЯТИЙ ПРИ ЛИКВИДАЦИИ ЭПИДЕМИИ БОЛЕЗНИ, ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ ЭБОЛА, В ЗАПАДНОЙ АФРИКЕ

¹Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация; ²Российская медицинская академия последипломного образования, Москва, Российская Федерация; ³ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация; ⁴Институт Пастера Гвинеи, Киндия, Гвинейская Республика; ⁵Государственная больница «Донка», Конакри, Гвинейская Республика

В статье рассматривается практический опыт сотрудничества Российской Федерации и Гвинейской Республики по вопросам борьбы с лихорадкой Эбола. Отмечаются проблемные вопросы в научном обеспечении профилактических мероприятий. Дается краткая характеристика Института Пастера Гвинеи в качестве уникальной базы для проведения научных исследований. Освещены правовые аспекты сотрудничества и приоритетные направления для развития совместных проектов в области эпидемиологического мониторинга. Определены шаги по модернизации материальной базы и укреплению кадрового потенциала, включая подготовку специалистов, в целях становления эффективной системы эпидемиологического надзора.

Ключевые слова: международное сотрудничество, эпидемия БВВЭ, эпидемиологический надзор, Институт Пастера Гвинеи, СПЭБ Роспотребнадзора.

A.Yu.Popova^{1,2}, V.A.Safronov³, A.A.Lopatin³, A.S.Razdorsky³, M.Y.Boiro⁴, N.F.Magassouba⁵, V.Yu.Smolensky¹,
Yu.V.Demina¹, E.B.Ezhlova¹, V.V.Kutyrev³

Issues of Scientific and Practical Support of Anti-Epidemic Activities in the Course of Ebola Virus Disease Epidemic Response in West Africa

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; ³Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation; ⁴Pasteur Institute of Guinea, Kindia, Republic of Guinea; ⁵Donka National Hospital, Conakry, Republic of Guinea

Consideration is given to the experience of cooperation between the Russian Federation and the Republic of Guinea in the matter of Ebola fever response. Outlined are the challenging issues regarding scientific support of preventive activities. Provided is a brief characteristic of Pasteur Institute of Guinea as a unique platform for research activities. Covered are the legal aspects of collaboration and priority areas for the development of common initiatives in the sphere of epidemiological monitoring. Identified are the stages of material reinforcement and medical staff capacity building, including training of specialists with a view to the establishment of effective system for epidemiological surveillance.

Key words: international cooperation, EVD epidemic, epidemiological surveillance, Pasteur Institute of Guinea, specialized anti-epidemic team of the Rospotrebnadzor.

Эпидемия болезни, вызванной вирусом Эбола (БВВЭ), в Западной Африке началась в декабре 2013 г. в Гвинейской Республике. Для этой особо опасной инфекционной болезни характерна высокая летальность (до 90 %), длительный инкубационный период и отсутствие доступных средств специфической профилактики и лечения. Несмотря на активно оказываемую помощь, в том числе и со стороны Российской Федерации, от эпидемии БВВЭ серьезно пострадали не только Либерия, Сьерра-Леоне и Гвинея, но и все мировое сообщество, которое прямо или косвенно вовлечено в чрезвычайную ситуацию в области общественного здравоохранения.

Значительную роль в потере контроля над эпидемическим процессом сыграл дефицит научных знаний в области эпидемиологии и эпизоотологии лихорадки Эбола. До сих пор окончательно не установлен природный резервуар, в котором сохраняется вирус, отсутствуют репрезентативные научные дан-

ные относительно уровня иммунной прослойки среди населения западно-африканского региона, остается недостаточно изученным вопрос о сохранении вируса Эбола в различных средах организма на поздних сроках выздоровления.

Восполнение пробелов в научном обеспечении противоэпидемических мероприятий в настоящий период становится наиболее актуальной задачей, которая не может решаться на национальном уровне без привлечения кадровых и материальных ресурсов стран-партнеров. Практический выход совместных научных исследований в данной области имеет значение не только для стран западно-африканского региона, но и для всего мирового сообщества. Как показал опыт, локальное осложнение эпидемиологической обстановки по БВВЭ при недостаточном научно-практическом обеспечении переросло в чрезвычайную ситуацию в области общественного здравоохранения, что негативно отразилось

на санитарно-эпидемиологическом благополучии населения на глобальном уровне. Исходя из этого Российская Федерация принимает прямое и активное участие не только в наращивании потенциала глобального реагирования на эпидемию БВВЭ, но и развивает совместные научные направления, опираясь на положительный опыт взаимодействия с западно-африканскими партнерами.

Высокий уровень научно-методического и нормативного обеспечения реализации Международных медико-санитарных правил (2005 г.) на территории Российской Федерации позволил четко и оперативно выстроить систему реагирования на уровне Республики Гвинея [1].

В частности, согласно с официальным обращением Гвинеи к Российской Федерации об оказании помощи в борьбе с БВВЭ, на основании Поручения Правительства Российской Федерации от 07.08.2014 № СП-П12-5959 и приказа Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека от 19.08.2014 г. специалисты специализированной противоэпидемической бригады (СПЭБ) были направлены в Гвинею для оказания консультативно-методической помощи международным организациям и гвинейским специалистам по вопросам планирования и проведения мероприятий по локализации и ликвидации эпидемических очагов БВВЭ [3]. Для проведения диагностических исследований клинического материала от больных (трупов), подозрительных на БВВЭ, и реконвалесцентов в Гвинею был также направлен мобильный комплекс СПЭБ (МК СПЭБ), включающий два лабораторных модуля.

За время совместной работы СПЭБ в национальном госпитале «Донка» (Отделение тропических и инфекционных болезней) и в Институте Пастера Гвинеи (ИПГ) отработаны организационные механизмы взаимодействия и получен значительный практический опыт исследования клинического материала от больных лихорадкой Эбола. При этом удельный вес лабораторно подтвержденных случаев БВВЭ в Гвинее составил 88 %, в Сьерра-Леоне – 64,5, в Либерии – 29,5, что свидетельствует об уровне организации лабораторной диагностики.

Институт Пастера Гвинеи, как научное учреждение, имеет большой опыт исследования объектов окружающей среды и клинического материала на наличие возбудителей опасных инфекционных болезней. Исходя из этого и с учетом уникального географического расположения именно на территории ИПГ построен госпиталь для лечения больных Эбола. Этот российско-гвинейский госпиталь стал первым стационарным лечебным учреждением в Гвинее, ориентированным на борьбу с особо опасными инфекционными болезнями. Специалисты Роспотребнадзора методически сопровождали все этапы проектирования и ввода госпиталя в эксплуатацию, что позволило научно-обоснованно реализовать комплекс инженерных и организационных мер обеспечения биологической безопасности.

В рамках сотрудничества, с января 2015 г. мобильный комплекс СПЭБ передислоцирован в г. Киндия Гвинеи и размещен на базе созданного Научного клинико-диагностического центра эпидемиологии и микробиологии (НКДЦЭМ), который был открыт 17 января 2015 г. на территории Института Пастера.

Основными функциями центра являются: прием больных с подозрением на особо опасные инфекционные болезни, в том числе на БВВЭ, клиническая диагностика и исследование наличия или отсутствия РНК вируса, организация лечения больных, проведение противоэпидемических мероприятий, проведение научно-исследовательской работы. Важной задачей создания Центра является совершенствование специальной подготовки кадров по основам биологической безопасности, безопасности работы с больными БВВЭ. К настоящему времени проведено 7 семинаров. Обучено более 100 медицинских специалистов Гвинеи.

В обязательном порядке у всех пациентов, в соответствии с временными рекомендациями ВОЗ «Руководство по лабораторной диагностике болезни, вызванной вирусом Эбола» от 19.09.2014 г. [4], исследовалась сыворотка крови на наличие РНК вируса Эбола методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР). На основании вышеуказанных рекомендаций ВОЗ, условием для выписки пациента без клинических симптомов БВВЭ из стационара являются два отрицательных результата исследований методом ОТ-ПЦР, проведенных с интервалом не менее 48 ч. Однако имеющиеся литературные данные о возможности сохранения вируса в других биологических жидкостях человека [5] определили проведение у больных БВВЭ дополнительных исследований мочи, слюны (мокроты) и грудного молока. При выписке – мочи, слюны, фекалий, соскоба из влагалища и семенной жидкости.

Следует отметить, что в результате проведенных исследований установлено сохранение маркеров возбудителя БВВЭ во многих биологических жидкостях (молоке, сперме, моче, фекалиях, мокроте) даже при отсутствии его в сыворотке крови в диагностически определяемых концентрациях. Определение эпидемиологического значения подобных находок на настоящем этапе развития эпидемии с регистрацией небольшого числа новых случаев является одной из актуальных задач, поскольку эти научные исследования направлены на совершенствование критериев безопасной выписки лиц, перенесших БВВЭ.

Для оценки наличия сопутствующих инфекций у больных проведен молекулярно-генетический и иммунологический анализ исследуемого материала на наличие РНК/ДНК возбудителей гепатитов В, С, ВИЧ, ОКИ, антигена малярийного плазмодия. Полученные на базе мобильной лаборатории результаты уже представляют определенный научный и практический интерес, однако для повышения эффективности и охвата мониторинговых исследований требуется модернизация лабораторной базы Института Пастера Гвинеи и приведение ее в соот-

ветствие международным стандартам технологичности и безопасности.

Интенсификации российско-гвинейского сотрудничества в области изучения и борьбы с инфекционными болезнями способствовало подписание меморандумов о сотрудничестве между Роспотребнадзором и Министерством Здравоохранения и Министерством высшего образования и научных исследований Гвинейской Республики. Так же заключен ряд договоров о научно-техническом сотрудничестве научно-исследовательских институтов Роспотребнадзора (НИИЭМ им. Пастера, РосНИПЧИ «Микроб») с Институтом Пастера Гвинеи.

С учетом новой клинической базы ИПГ совместно со специалистами Роспотребнадзора на основании заключенных меморандумов планируется развивать научные направления лабораторной диагностики, профилактики и изучения бактериальных и вирусных инфекционных болезней.

Основные задачи – это проведение совместных научных исследований, включая эпизоотологический мониторинг и исследование клинического материала на максимально широкий спектр нозологических форм, подготовка кадров из числа местных специалистов по эпидемиологии, профилактике и диагностике инфекционных болезней, актуальных для Гвинейской Республики. Одним из практических выходов этой работы является совершенствование средств серодиагностики и молекулярно-генетической диагностики БВВЭ и филовирусных инфекционных болезней.

Следует отметить, что инфекционные болезни в Западно-Африканском регионе, представленном странами с низким уровнем доходов населения, являются одной из ведущих причин смертности и инвалидизации населения, в то время как профилактические мероприятия имеют универсальный характер и достаточно хорошо известны. В данном аспекте развитие системы эпидемиологического мониторинга окажет существенный вклад не только в борьбу и профилактику лихорадки Эбола, но и других актуальных инфекционных болезней, оказав положительный эффект на здоровье населения в целом. Результат совместной мониторинговой работы позволит наметить приоритетные территории и контингенты эпидемиологического риска для сосредоточения и более эффективного использования ограниченных материальных и кадровых ресурсов.

Актуализация и обобщение новых научных сведений по эпидемиологии, профилактике и лабораторной диагностике БВВЭ позволило в 2015 г. разработать более 50 руководящих документов в этой области и опубликовать практическое руководство [2].

Таким образом, в Гвинейской Республике, благодаря вкладу Российской Федерации, не только создаются благоприятные условия для текущей практической помощи в борьбе с БВВЭ, но и закладывается основа для более эффективной и научно обоснованной системы эпидемиологического надзора, которая позволит контролировать эпидемиологические риски, не допуская подобных эпидемий в будущем.

Авторы подтверждают отсутствие конфликта

финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Онищенко Г.Г., Пакскина Н.Д., Топорков В.П., Топорков А.В., Шиянова А.Е., Кутырев В.В. Научно-методические и нормативные аспекты реализации Международных медико-санитарных правил (2005 г.) на территории Российской Федерации. *Пробл. особо опасных инф.* 2010; 3(105):5–12.
2. Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Эпидемиология, профилактика и лабораторная диагностика болезни, вызванной вирусом Эбола. Практическое руководство. Саратов: Буква; 2015. 244 с.
3. Попова А.Ю., Сафронов В.А., Магасуба Н.Ф., Уткин Д.В., Одинок 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., Щербак С.А., Терновой В.А., Агафонов А.П., Михеев В.Н., Кутырев В.В. Организация и проведение диагностических исследований на базе мобильного комплекса специализированной противозидемической бригады в Республике Гвинея в период эпидемии лихорадки Эбола в 2014 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2014; 4:5–8.
4. Laboratory diagnosis of Ebola virus disease. Interim guideline. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/134009/1/WHO_EVD_GUIDANCE_LAB_14.1_eng.pdf?ua=1 (дата обращения 22.08.2015).
5. Moreau M., Spencer C., Gozalbes J.G., Colebunders R., Lefevre A., Gryseels S., Borremans B., Gunther S., Becker D., Bore J.A., Koundouno F.R., Caro A.D., Wulfel R., Decroo T., Van Herp M., Peetermans L., Camara A.M. Lactating mothers infected with Ebola virus: EBOV RT-PCR of blood only may be insufficient. *Euro Surveill.* 2015 Jan 22; 20(3):pii 21017.

References

1. Onischenko G.G., Paksina N.D., Toporkov V.P., Toporkov A.V., Shyanova A.E., Kutyrev V.V. [Methodological principles of implementation of International Health Regulations (2005) in the territory of the Russian Federation]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2010; 3(105):5–12.
2. Popova A.Yu., Safronov V.A., Magasuba N.F., Utkin D.V., Odinokov G.N., Pyankov O.V., Sergeev A.S., Bodnev S.A., Kabanov A.S., Kuklev 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. Infek.* 2014; 4: 5–8.
3. Popova A.Yu., Kutyrev V.V., editors. [Epidemiology, prophylaxis and laboratory diagnostics of Ebola virus disease]. Sarov: BUKVA; 2015. 244 p.
4. Laboratory diagnosis of Ebola virus disease. Interim guideline. [cited 22 Aug 2015]. Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/134009/1/WHO_EVD_GUIDANCE_LAB_14.1_eng.pdf?ua=1.
5. Moreau M., Spencer C., Gozalbes J.G., Colebunders R., Lefevre A., Gryseels S., Borremans B., Gunther S., Becker D., Bore J.A., Koundouno F.R., Caro A.D., Wulfel R., Decroo T., Van Herp M., Peetermans L., Camara A.M. Lactating mothers infected with Ebola virus: EBOV RT-PCR of blood only may be insufficient. *Euro Surveill.* 2015 Jan 22; 20(3):pii 21017.

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.

Safronov V.A., Lopatin A.A., Razdorsky A.S., Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe"; 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Boiro M.Y. Pasteur Institute of Guinea. Kindia, Republic of Guinea.

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

Smolensky V.Yu., 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 последилового образования; Российская Федерация, 125993, Москва, ул. Баррикадная, 2/1.

Сафронов В.А., Лопатин А.А., Раздорский А.С., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Бойро М.Ю. Институт Пастера Гвинеи. Гвинейская Республика, Киндия.

Магассуба Н.Ф. Государственная больница «Донка». Гвинейская Республика, Конакри.

Смоленский В.Ю., 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 19.08.15.

**В.Е.Безсмертный¹, В.Н.Бредихин¹, А.С.Конева¹, Ю.А.Панин¹, И.В.Поздняков¹, Я.Ю.Ицков²,
Е.В.Коломоец², А.Е.Левковский²**

ОПЫТ СОЗДАНИЯ СТАЦИОНАРНОГО ИНФЕКЦИОННОГО ГОСПИТАЛЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОСОБО ОПАСНЫХ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ В ГВИНЕЙСКОЙ РЕСПУБЛИКЕ

¹ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора, Москва, Российская Федерация;

²Объединенная компания «РУСАЛ», Москва, Российская Федерация

В рамках оказания помощи Российской Федерацией странам Западной Африки спроектирован и построен с участием компании РУСАЛ госпиталь для лечения больных лихорадкой Эбола. Капитальная постройка с ко-
ечным фондом в 60 мест и четким делением на чистую зону и зону риска заражения выгодно отличает дан-
ный госпиталь от палаточных конструкций, которые используются международными организациями. Впервые
в Западной Африке применена система обеззараживания отходов с использованием каустика. Отмечено, что за
счет обеспечения режима биологической безопасности за время работы госпиталя не зафиксировано ни одного
случая внутригоспитального заражения. Введение в эксплуатацию госпиталя является эффективным механизмом
борьбы с болезнью, вызванной вирусом Эбола.

Ключевые слова: инфекционный госпиталь, лихорадка Эбола, биологическая безопасность, эпидемия, Западная Африка.

**V.E.Bezsmertny¹, V.N.Bredikhin¹, A.S.Koneva¹, Yu.A.Panin¹, I.V.Pozdnyakov¹, Ya.Yu.Itskov², E.V.Kolomoets²,
A.E.Levkovsky²**

Experience in Building Infectious Hospital for Treatment of Particularly Dangerous Infectious Diseases in the Republic of Guinea

¹Plague Control Center, Moscow, Russian Federation; ²United Company "RUSAL", Moscow, Russian Federation

Ebola treatment hospital was constructed within the frames of the West Africa support initiative of the Russian Federation, in
cooperation with the United Company "RUSAL". Permanent building with bed capacity rated 60 and strict separation of clean area
from hazard zone set this medical facility apart from tent camps, which are used by international organizations. For the first time ever,
in West Africa, deployed was a strategy of waste decontamination using caustic. It is of note that due to biological safety procedure
compliance, no case of nosocomial infection was registered during the whole time of operation. Commissioning of this hospital is an
effective mechanism for Ebola virus disease control.

Key words: infectious hospital, Ebola fever, biological safety, epidemic, West Africa.

Согласно Международным медико-санитарным
правилам (2005 г.) [1] предупреждение и ликвидация
чрезвычайных ситуаций в области общественно-
го здравоохранения, обусловленных проявлениями
особо опасных инфекционных болезней, являют-
ся важным направлением обеспечения санитарно-
эпидемиологического благополучия населения.

Примером такой чрезвычайной ситуации яви-
лась крупнейшая вспышка болезни, вызванной ви-
русом Эбола (БВВЭ), в странах Западной Африки
(Гвинея, Либерия, Сьерра-Леоне), начавшаяся в 2013 г. и продолжающаяся по настоя-
щее время, где общее число заболевших составило
около 27 тыс. человек, более 11 тыс. из которых по-
гибли. Летальность составила в среднем 41 %, при-
чем среди медицинских работников она колебалась
от 50 до 73 %.

В ликвидации данной чрезвычайной ситуации
наряду с другими странами участвует Российская
Федерация.

Наиболее востребованным в плане оказания
помощи Гвинеяской Республике стало направление
укрепления госпитальной базы. С этой целью по по-
ручению Роспотребнадзора специалистами ФКУЗ

«Противочумный центр» совместно с компанией
РУСАЛ разработан проект инфекционного госпита-
ля, предназначенного для приема больных с подо-
зрением на БВВЭ, их лечения, обеспечения клиниче-
ской, лабораторной диагностики. При этом лечебный
процесс должен быть организован таким образом,
чтобы исключить возможность внутрибольничного
заражения БВВЭ.

При разработке объемно-планировочных реше-
ний и инженерно-технических систем обеспечения
биологической безопасности госпиталя учитывались
основные условия и принципы проектирования и
эксплуатации инфекционных больниц, а также тре-
бования отечественных и международных норматив-
ных документов и рекомендаций [1, 4]:

- инфекционный госпиталь должен размещаться
на изолированной территории, четко подразделяемой
на «чистую» и «грязную» зоны;

- планировочные решения госпиталя должны
обеспечивать надежную изоляцию больных, возмож-
ность проведения диагностических и лечебных ме-
роприятий, исключение перекрестного инфицирова-
ния больных, надлежащий санитарно-гигиенический
и противоэпидемический режим;

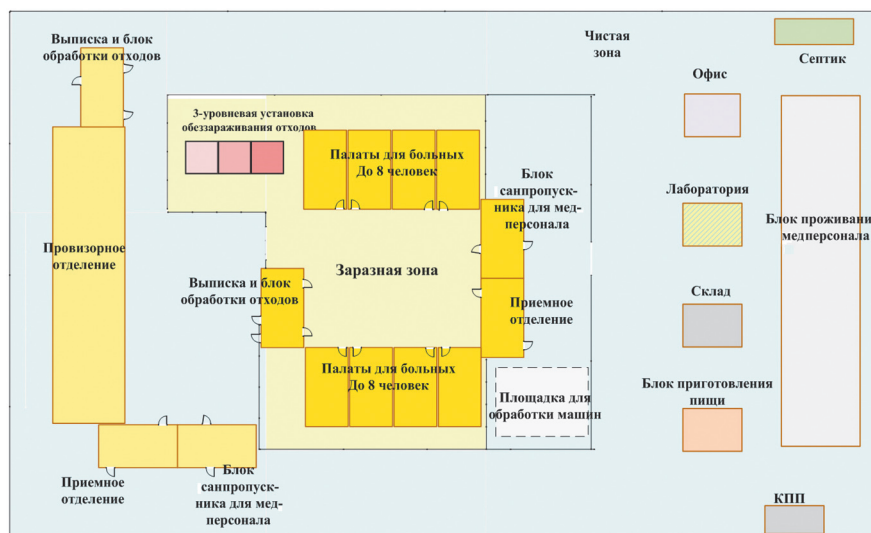


Рис. 1. Общий план-схема инфекционного госпиталя

- в инфекционном госпитале отдельные здания и помещения, входы и выходы из зданий и групп помещений должны быть расположены с учетом строгого разобщения «чистых» и «грязных» маршрутов продвижения больных, персонала, инфицированных предметов, материалов;

- хозяйственные сооружения следует размещать на территории с соблюдением санитарных разрывов;

- на территории госпиталя не допускается размещение объектов, не имеющих к нему отношения;

- на выезде из «грязной» зоны необходимо предусматривать площадку или помещение для дезинфекции санитарного транспорта;

- вход и выход персонала должен осуществляться со стороны «чистой» зоны, проход персонала из «грязной» зоны в «чистую» должен осуществляться через санитарные пропускники;

- выписываемый (здоровый) из боксов должен выходить в «чистую» зону после санобработки;

- основными структурными элементами инфекционных отделений могут являться боксы, полубоксы, палаты;

- сточные воды от инфекционных отделений должны обеззараживаться;

- мусор, твердые отходы и белье должны уничтожаться в мусоросжигательных печах;

- подачу воздуха в секцию следует осуществлять посредством отдельных систем приточной вентиляции;

- боксы и полубоксы секций должны быть оборудованы системой гравитационной вытяжной вентиляции;

- от каждого бокса, полубокса следует предусматривать вытяжную вентиляцию посредством самостоятельных каналов.

С учетом представленных выше условий и принципов в основу проектирования мог быть положен типовой план-схема госпиталя (рис. 1) и схема трехуровневой установки обеззараживания отходов (рис. 2).

В результате был спроектирован, построен и в настоящее время функционирует стационарный ин-

фекционный госпиталь для диагностики и лечения БВВЭ, входящий в состав «Центра эпидемиологических, микробиологических исследований и оказания медицинской помощи».

Центр представляет собой сложную автономную систему лечебно-диагностических, хозяйственно-технических, охранных и жилых корпусов. Имеет инфекционный профиль.

Кочный фонд Центра составляет 60 койко-мест, распределенных между двумя лечебными зонами: 16 коек – провизорный госпиталь, 44 койки – инфекционный госпиталь.

Возможно увеличение вместимости корпусов в два раза (в наличии на складе имеются все необходимые материалы и оборудование). Центр имеет собственную диагностическую и клинико-биохимическую лабораторию. По степени контагиозности Центр разделен на две зоны: чистая зона и зона риска заражения. Каждая зона имеет свое функциональное назначение и состоит из рабочих корпусов.

Чистая зона – территория, не имеющая рисков заражения, имеющая собственный периметр, соединяющаяся с внешней средой собственным проездом (проходом), зарезервированным только для сотрудников Центра. Из чистой зоны, через систему санитарных пропускников осуществляется переход меди-

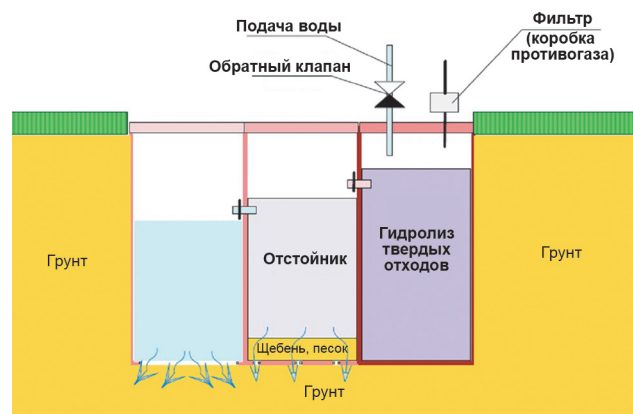


Рис. 2. Схема трехуровневой установки обеззараживания отходов

цинских работников в зону риска заражения.

Система ограждений и внешних периметров построена таким образом, что предотвращает неконтролируемое передвижение больных и работников госпиталя, чем минимизируются риски заражения и распространения инфекционных болезней.

Передвижение по зонам госпиталя осуществляется в строго разработанном порядке в соответствии с международными санитарными нормами и правилами по работе с особо опасными инфекциями.

На территории госпиталя продуманы и правильно организованы «чистые» и «грязные» маршруты движения персонала, пациентов, чистого и использованного мягкого и твердого инвентаря, зараженного материала, твердых и жидких отходов и др.

Впервые в Западной Африке применена система обеззараживания (трехуровневый септик с использованием каустика), что позволяет эффективно обеззараживать жидкие отходы и одновременно не нарушать экологию окружающей среды.

Подразделения госпиталя обеспечены энергоснабжением, водопроводом и канализацией, оснащены кондиционерами, необходимым медицинским оборудованием. Созданы палаты интенсивной терапии.

За время работы инфекционного госпиталя по лечению БВВЭ не зарегистрировано ни одного случая внутригоспитального заражения БВВЭ. Организация лечебного процесса позволила существенно снизить летальность среди больных.

Создание инфекционного госпиталя в Гвинее является не только свидетельством непосредственного участия Российской Федерации в международных усилиях по борьбе с крупнейшей вспышкой лихорадки Эбола, но и эффективным механизмом борьбы с опасными инфекционными болезнями.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности). СП 1.3.3118–13. М.; 2014. 195 с.
2. Международные медико-санитарные правила (2005 г.). ВОЗ. Женева; 2006.
3. 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.
4. Interim Infection Prevention and Control Guidance for Care of Patients with Suspected or Confirmed Filovirus Haemorrhagic Fever in Health-Care Settings, with Focus on Ebola. WHO/HIS/SDS/2014.4 Rev.1. World Health Organization. http://www.who.int/csr/resources/publications/ebola/filovirus_infection_control/en/ (дата обращения 08.05.2015).

References

1. Safety of Work with Microorganisms of the I-II Groups of Pathogenicity (Hazard). Sanitary Regulations 1.3.3118-13. M.; 2014. 195 p.
2. International Health Regulations (2005). WHO, Geneva; 2006.
3. Popova A.Yu., Safronov V.A., Magasuba N.F., Utkin D.V., Odiнокоеv G.N., P'yankov O.V., Sergeev A.S., Bodnev, S.A. Kabanov A.S., Kuklev 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. Infek.* 2014; 4:5–8.
4. Interim Infection Prevention and Control Guidance for Care of Patients with Suspected or Confirmed Filovirus Haemorrhagic Fever in Health-Care Settings, with Focus on Ebola. WHO/HIS/SDS/2014.4 Rev.1 [cited 08 May 2015]. World Health Organization. Available from: http://www.who.int/csr/resources/publications/ebola/filovirus_infection_control/en/.

Authors:

Bezsmertny V.E., Bredikhin V.N., Koneva, A.S. Panin Yu.A., Pozdnyakov I.V. Plague Control Center. 4, Musorgskogo St., Moscow, 127490, Russian Federation. E-mail: protivochym@nl.ru
 Itskov Ya.Yu., Kolomoets E.V., Levkovsky A.E. United Company "RUSAL". Moscow, Russian Federation.

Об авторах:

Безсмертный В.Е., Бредихин В.Н., Конева А.С., Панин Ю.А., Поздняков И.В. Противочумный центр. Российская Федерация, 127490, Москва, ул. Мусоргского, 4. E-mail: protivochym@nl.ru
 Ицков Я.Ю., Колмоец Е.В., Левковский А.Е. Объединенная компания «РУСАЛ». Российская Федерация, Москва.

Поступила 05.08.15..

И.Г.Карнаухов, В.П.Топорков, С.К.Удовиченко, В.В.Кутырев

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СИСТЕМНОГО ПОДХОДА В ОЦЕНКЕ НАДЗОРА И КОНТРОЛЯ БОЛЕЗНИ, ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ ЭБОЛА

ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов,
Российская Федерация

В статье рассмотрен системный подход в отношении надзора и контроля ЧС в области санитарно-эпидемиологического благополучия на примере эпидемии лихорадки Эбола в странах Западной Африки. На основании данных литературы проанализированы меры по надзору и контролю БВВЭ в отношении каждого из четырех элементов эпидемического процесса (источник, возбудитель, механизм передачи, реципиент) на различных уровнях организации материи (глобальный, региональный, популяционный, организменный, клеточный, молекулярный, субмолекулярный). На основании проведенного анализа предложены основные направления по оптимизации надзора и контроля БВВЭ.

Ключевые слова: системный подход, эпидемический процесс, эпидемиологический надзор и контроль, лихорадка Эбола, ЧС в области санитарно-эпидемиологического благополучия.

I.G.Karnaukhov, V.P.Toporkov, S.K.Udovichenko, V.V.Kutyrev

Deployment of Systematic Approach to the Assessment of Surveillance and Control over Ebola Virus Disease

Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

Studied has been systematic approach as regards epidemiological surveillance and control over emergency situations in the sphere of sanitary-epidemiological welfare by the example of Ebola fever epidemic in West Africa countries. Based on the literature data available, analyzed have been measures for EVD surveillance and control, with reference to every stage of epidemiological process (source/ origin, agent, mechanism of transmission, recipient) at various levels of matter organization (global, regional, population, cellular, molecular, and sub-molecular). Following this, put forward have been primary areas for EVD control optimization.

Key words: systematic approach, epidemic process, epidemiological surveillance and control, Ebola fever, emergency situation in the sphere of sanitary-epidemiological welfare.

В современном мире высок риск возникновения чрезвычайных ситуаций (ЧС) в области общественного здравоохранения, имеющих международное значение (ММСП, 2005 г.), или, в соответствии с российской терминологией, ЧС в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения, обусловленных известными, возвращающимися и новыми (неизвестными) инфекционными болезнями с потенциалом глобального распространения, а также массовыми неинфекционными болезнями (токсическими поражениями), связанными с действием биологических, химических и радиоактивных веществ. В связи с этим актуальным является совершенствование системного подхода к предупреждению, выявлению, верификации, мониторингованию и контролю таких ЧС.

Системный подход в отношении эпидемического процесса предложен еще В.Д.Беляковым, установившим взаимосвязь биологического, природного и социального факторов в эпидемическом процессе [1].

Эта теория получила развитие в трудах Б.Л.Черкасского, который выделил ряд уровней в структуре эпидемического процесса применительно к какой-либо инфекционной болезни и рассматривал системный подход в эпидемиологии как исследование эпидемического процесса в качестве социально-экологической системы, т.е. сложной, открытой,

организованной, многоуровневой, целой системы, обеспечивающей существование, воспроизведение и распространение паразитических видов микроорганизмов среди населения [8, 9].

Нами предлагается системный подход в отношении надзора и контроля ЧС в области санитарно-эпидемиологического благополучия, которые могут быть вызваны, в том числе и инфекционными болезнями. Впервые предложен системный подход в отношении надзора и контроля за инфекционными болезнями, подразумевающий мониторинг и проведение мероприятий в отношении каждого из четырех элементов эпидемического процесса (источник, возбудитель, механизм передачи, реципиент) на различных уровнях организации материи (глобальный, региональный, популяционный, организменный, клеточный, молекулярный, субмолекулярный) [5]. Структура информационного содержания предлагаемого системного подхода представлена в таблице.

Анализ мер, принимаемых в рамках надзора и контроля какой-либо конкретной опасной инфекционной болезни, проведенный с позиций системного подхода, позволяет адекватно оценить полноту и эффективность проводимых мероприятий и сформулировать задачи по их оптимизации.

Одним из последних и наиболее ярких примеров ЧС в области общественного здравоохранения меж-

**Структура информационного содержания системного подхода в отношении надзора и контроля ЧС
в области санитарно-эпидемиологического благополучия**

Уровни	Надзор				Контроль			
	Источник	Возбудитель	Механизм передачи	Реципиент	Источник	Возбудитель	Механизм передачи	Реципиент
Глобальный	1	8	15	22	29	36	43	50
Региональный	2	9	16	23	30	37	44	51
Популяционный	3	10	17	24	31	38	45	52
Организменный	4	11	18	25	32	39	46	53
Клеточный	5	12	19	26	33	40	47	54
Молекулярный	6	13	20	27	34	41	48	55
Субмолекулярный	7	14	21	28	35	42	49	56

дународного значения стала эпидемия болезни, вызванной вирусом Эбола (БВВЭ) или лихорадки Эбола в странах Западной Африки. Используя имеющиеся литературные данные, проанализируем с позиций системного подхода мероприятия, проводящиеся в рамках надзора и контроля БВВЭ, оценим их полноту и эффективность и сформулируем актуальные задачи с учетом выявленных недостатков. При рассмотрении конкретных мер по надзору и контролю в скобках будут указываться номера ячеек таблицы, которым соответствуют данные меры.

В отношении источника возбудителя при БВВЭ известно, что случаи заражения людей происходили в результате прямого контакта (охота, употребление в пищу) с инфицированными или погибшими от БВВЭ шимпанзе, гориллами, летучими мышами и крыланами, обезьянами, лесными антилопами и дикобразами, обнаруженными во влажных лесах Африканского континента [26, 27, 38].

Наиболее вероятным природным резервуаром вируса Эбола считают крыланов семейства *Pteropodidae*, включающего 36 родов, а также отдельных представителей летучих мышей [23, 32, 33].

Вирус Эбола, проникнув в человеческую популяцию, способен к антропогенному распространению. Больной человек становится источником инфекции и представляет опасность для окружающих [2, 20].

Надзор за источником БВВЭ на глобальном и региональном уровнях (1, 2) предполагает:

- осуществление эпизоотологического мониторинга на эндемичных территориях Западной и Центральной Африки в отношении крыланов и летучих мышей. Отлов, лабораторное исследование на наличие вируса Эбола, определение ареала распространения;

- выявление эпизоотий среди диких животных (особенно горилл, шимпанзе и других видов обезьян) на эндемичных территориях. Лабораторное исследование на наличие вируса Эбола теплокровных животных в случае возникновения падежа (массовой гибели);

- мониторинг заболеваемости населения в регионах, эндемичных по лихорадке Эбола, и странах риска заболеваемости.

Надзор за источником БВВЭ на глобальном и

региональном уровнях неразрывно связан с надзором за возбудителем (8, 9), включающим обнаружение вируса Эбола, его антигена или РНК в клиническом материале (пробы от больных с подозрением на БВВЭ), полевом материале (пробы от животных на эндемичных территориях) на территории эндемичных стран и стран из группы риска, определение видовой принадлежности обнаруженного вируса и установление ареала распространения различных видов возбудителя БВВЭ.

Эпизоотологические исследования на территории эндемичных по БВВЭ стран Африканского континента проводились и достаточно масштабные, но не местными специалистами и носили эпизодический характер [28, 36].

Уровень организации мониторинга заболеваемости населения БВВЭ зависит от уровня развития здравоохранения в тех или иных африканских странах. Известно, что в целом в странах Западной Африки уровень развития здравоохранения чрезвычайно низкий: имеется острый недостаток медицинских работников, медицинских учреждений, средств индивидуальной защиты и дезинфекции [17, 18, 41]. Страны, затронутые эпидемией лихорадки Эбола в 2013–2015 гг. (Либерия, Гвинея, Сьерра-Леоне) относятся к наиболее бедным и неблагополучным в Африканском регионе и в мире [6].

Из-за отсутствия эпидемиологического надзора за БВВЭ в странах Западной Африки очаг лихорадки неясной этиологии обнаружили только через 3 месяца после первого случая БВВЭ, что способствовало быстрому распространению инфекции [6].

Лабораторная диагностика БВВЭ в ходе эпидемии 2013–2015 гг. осуществляется в лабораториях центров, сотрудничающих с ВОЗ, либо в аккредитованных ВОЗ лабораториях, в том числе мобильных лабораториях из стран Европы, Канады, Китая, России [40].

Надзор за источником на популяционном уровне также неразрывно связан с надзором за возбудителем (3, 10) БВВЭ и включает:

- изучение гетерогенности популяций крыланов и летучих мышей на эндемичных территориях по инфицированности вирусом Эбола и выявляемому виду возбудителя;

- изучение инфицированности вирусом Эбола популяций кровососущих насекомых;

- изучение гетерогенности популяции жителей эндемичных территорий по наличию антител к вирусу Эбола.

В 2003–2008 гг. в ходе масштабных серологических исследований, проведенных на территории Габона и Республики Конго, обнаружены антитела к вирусу Эбола вида *Zaire ebolavirus* у шести видов отряда рукокрылых [23, 32, 33]. При этом у трех видов крыланов (молотоголовый крылан *Hypsignathus monstrosus*, ошейниковый крылан *Myonycteris torquata* и эполетовый крылан Франке *Epomops franqueti*) чаще других обнаруживали специфические антитела IgG и нуклеотидные последовательности вируса Эбола вида *Zaire ebolavirus*. К настоящему времени получены данные, свидетельствующие о том, что 17 видов летучих мышей и крыланов могут быть потенциальными резервуарами для филовирсов (*Marburgvirus*, видов *Zaire ebolavirus* и *Reston ebolavirus*, *Lloviu virus*), однако носители для вируса видов *Bundibugyo ebolavirus*, *Sudan ebolavirus* и *Tai Forest ebolavirus* неизвестны. Истинная роль летучих мышей и крыланов в качестве резервуаров, по сравнению со случайными хозяевами, и относительный вклад каждого вида в динамику межвидовых взаимоотношений в настоящее время неизвестны [29].

Что касается обнаружения антител к вирусу Эбола у людей, то известно, что проводились выборочные исследования населения эндемичных по БВВЭ территорий. Например, в 2005–2008 гг. проведено исследование 4349 человек из 220 поселений в Габоне на наличие специфических антител к вирусу Эбола. Антитела обнаружили у 10–19 % обследованных [15, 16], что может свидетельствовать о широком распространении бессимптомных и легких форм БВВЭ.

Имеются данные, свидетельствующие о возможности бессимптомного течения БВВЭ. Результаты одного из исследований показали, что 71 % серопозитивных субъектов не имели признаков болезни. Около 46 % лиц, тесно контактировавших с больными, оказались серопозитивными при отсутствии симптомов [16].

При исследовании распространенности антител в сыворотках крови жителей стран Африки с 1961 по 1996 год установлено, что положительные находки отмечались в 23 % случаев [21]. Вируснейтрализующие антитела чаще встречались у жителей лесных районов (19–33,8 % населения), чем у обитателей равнин. Помимо антител, обнаружили специфический клеточный иммунитет к вирусу Эбола. Тесты *in vitro* показали значимое увеличение числа лимфоцитов Т8, продуцирующих цитокин IFN- γ [31]. Практически все выявленные обладатели иммунитета проживали в местностях, где не зафиксировано вспышек БВВЭ среди людей. Судя по всему, болезнь у контактировавших с вирусом жителей Габона протекала бессимптомно, либо с минимальными симптомами.

В Сьерра-Леоне – гиперэндемичном регионе по лихорадке Ласса, который также включает Гвинею и Либерию, – ежегодно 500–700 проб исследуют на наличие возбудителя болезни. В образцах крови, собранных в период с октября 2006 г. по октябрь 2008 г., в 8,6 % проб обнаружили антитела (IgM) к вирусу Эбола [37].

Полученные данные проливают новый свет на экологию вируса Эбола, а также указывают на высокую распространенность естественного иммунитета к этой инфекции у африканцев. Предполагается, что эта особенность организма может сыграть ключевую роль в остановке распространения болезни. Возможно, вирус незаметно иммунизировал значительную часть населения Западной Африки. Если будет обнаружено каким именно образом это произошло, то ученые получат в свое распоряжение мощное оружие для остановки распространения эпидемии.

Надзор за источником, возбудителем и реципиентом на организменном и клеточном уровнях (4, 5, 11, 12, 25, 26) неразрывно связан и подразумевает изучение инфекционного процесса, то есть изучение патогенеза, особенностей иммунитета, клинических особенностей БВВЭ на животных и у больных людей, в зависимости от вида вируса Эбола.

Патогенез БВВЭ изучен недостаточно, в основном в опытах на приматах [12]. Летальность при БВВЭ, по данным ВОЗ, составляет 65–75 %, но эта цифра может быть существенно завышена за счет недостаточного выявления среднетяжелых и легких форм болезни [6].

Известно, что при развитии инфекции вирус Эбола, как правило, успешно преодолевает как врожденный, так и адаптивный иммунитет [13, 15]. Постинфекционный иммунитет стойкий. Получены данные, свидетельствующие о возможности бессимптомного течения БВВЭ.

Надзор за источником и возбудителем на молекулярном и субмолекулярном уровнях (6, 7, 13, 14) также тесно связан и направлен на мониторинг информации о лабораторной диагностике БВВЭ.

Большой научный интерес и практическую значимость представляет использование в области надзора за возбудителем БВВЭ на субмолекулярном уровне современных молекулярных биологических методов – полногеномного секвенирования. Его применение позволяет установить географическое происхождение штамма вируса Эбола и определить откуда произошел занос возбудителя [6].

Надзор за механизмом передачи на глобальном и региональном уровнях (15, 16) предполагает:

- эпидемиологическое расследование первых случаев БВВЭ при возникновении вспышек лихорадки Эбола на эндемичных территориях. Установление механизмов и путей заражения человека при контакте с возможными источниками возбудителя;

- эпидемиологическое расследование случаев БВВЭ при антропогенном распространении болезни. Установление механизмов и путей заражения;

- изучение длительности выживания вируса Эбола в объектах окружающей среды, трупах животных, погибших от БВВЭ.

Надзор за механизмом передачи на популяционном уровне (17) направлен на изучение особенностей механизма и путей передачи вируса Эбола, а также его устойчивости во внешней среде, в зависимости от видовой принадлежности вируса.

Надзор за механизмом передачи на организменном уровне (18) предусматривает изучение в экспериментах на животных механизмов и путей передачи вируса Эбола.

Надзор за механизмом передачи на молекулярном и субмолекулярном уровне (20, 21) связан с изучением устойчивости вируса Эбола к химическим и физическим факторам воздействия и выявлением вируса Эбола с помощью ОТ-ПЦР в объектах окружающей среды – возможных факторах передачи возбудителя.

Известно, что в природных очагах болезни вирус Эбола передается от животных человеку посредством контактного механизма, реализуемого прямым контактным путем при снятии шкур, разделке туш, приготовлении животных в пищу, уходе за больными животными; непрямым контактным путем через предметы и объекты внешней среды, загрязненные кровью или выделениями инфицированных животных [10, 30].

Заражение населения эндемичных стран Африканского континента может произойти и посредством алиментарного пути передачи. В 1994–1995 гг. в Заире (Демократическая Республика Конго) зарегистрирована крупная вспышка БВВЭ в результате употребления в пищу местными жителями мозга инфицированных обезьян. В настоящее время не доказана передача вируса через воду и продукты питания, прошедшие надлежащую термическую обработку.

При передаче вируса Эбола от человека к человеку также превалирует контактный механизм. Прямой контакт с кровью, биологическими жидкостями и органами инфицированного человека (в том числе умершего или бальзамированного) возможен при уходе за больным, оказании медицинской помощи, проведении лабораторного и инструментального обследования, взятии клинического материала и работе с ним, участии в погребальном ритуале. Непрямой контактный путь может быть реализован при контакте с загрязненным медицинским оборудованием, в частности, иглами и шприцами, объектами окружающей среды, контаминированными возбудителем (загрязненная одежда, постельное белье) [14].

Артифициальный (искусственный) механизм передачи реализуется парентеральным путем (проведение инъекций, гемотрансфузий, оперативных вмешательств и инвазивных процедур). Возникновению таких внутрибольничных или внутрилабораторных случаев заражения способствуют нарушения санитарно-противоэпидемического режима в медицинских учреждениях, некачественные дезинфекция и стерилизация медицинского инструментария

и оборудования, несоблюдение правил асептики и антисептики.

Известно, что в ходе эпидемии лихорадки Эбола 2013–2015 гг. заболело 879 медицинских работников, 510 из них умерли (на 27.07.2015).

Аспирационный механизм передачи лихорадки Эбола рассматривается как маловероятный, что связано с отсутствием случаев болезни среди лиц, находившихся в окружении больного, но не имевших с ним тесного контакта. В то же время, в экспериментальных условиях именно аэрозольное применение вируса вызывало высокую заболеваемость и летальность среди обезьян [7].

Ограниченные лабораторные исследования при благоприятных условиях показывают, что на твердых поверхностях вирус может оставаться жизнеспособным в течение нескольких дней с медленным падением концентрации [25]. Однако при высыхании или под действием света, особенно ультрафиолета, его выживаемость резко падает [19].

На поверхности трупов обезьян, погибших от БВВЭ, возбудитель сохраняется в течении 7 сут [34].

Вирус Эбола чувствителен к нагреванию и дезинфектантам из групп хлорактивных, кислородактивных препаратов, кислот и щелочей [7].

Надзор за реципиентом на глобальном и региональном уровнях (22, 23) предусматривает регистрацию заболеваемости на эндемичных территориях стран Африки и оценку обеспеченности населения эндемичных по лихорадке Эбола стран медицинской помощью.

Надзор за реципиентом на популяционном уровне (24) заключается в определении групп риска заражения БВВЭ среди населения эндемичных по лихорадке Эбола стран. Это:

- медицинский персонал, осуществляющий оказание медицинской помощи и исследование клинического материала от больных БВВЭ при недостаточно строгом соблюдении санитарно-противоэпидемического режима в учреждении;

- члены семьи, осуществляющие уход за больным, или другие лица, имеющие с ним прямые контакты;

- лица, участвующие в похоронах и церемонии погребения, имевшие непосредственный контакт с трупами людей, скончавшихся от БВВЭ [7].

Надзор за реципиентом на молекулярном уровне (27) направлен на выявление антител к вирусу Эбола у здоровых людей, проживающих на эндемичных территориях.

Контроль за источником и возбудителем БВВЭ на глобальном, региональном и популяционном уровнях (29, 30, 31, 36, 37, 38) должен предусматривать активное выявление больных и их госпитализацию в специализированные медицинские учреждения во время вспышек БВВЭ на территории эндемичных стран; формирование у медицинского персонала на эндемичных по БВВЭ территориях настороженности в отношении данной болезни, подготовку медицин-

ских работников по клинко-эпидемиологической диагностике БВВЭ; недопущение завоза БВВЭ на территорию неэндемичных стран в рамках мероприятий по санитарной охране территории.

Необходимо отметить, что клиническая диагностика БВВЭ на начальных этапах болезни затруднена, так как ряд инфекционных болезней, эндемичных для стран Африканского континента (малярия, лихорадка Ласса, желтая лихорадка, лихорадка денге, менингококковая инфекция и др.), характеризуются сходной неспецифической симптоматикой [6]. Поэтому особое внимание должно уделяться выяснению эпидемиологического анамнеза [7].

Меры по недопущению завоза БВВЭ достаточно проработаны как на уровне ВОЗ, так и в Российской Федерации [7].

Контроль за источником на организменном и клеточном уровнях тесно связан с контролем за возбудителем (32, 33, 39, 40) и подразумевает лечение больных БВВЭ. Проводится поддерживающее симптоматическое лечение, этиотропной терапии на текущий момент не существует. Имеются только экспериментальные препараты, находящиеся в стадии разработки или испытаний [22, 35].

Контроль за источником и возбудителем на молекулярном и субмолекулярном уровнях (34, 35, 41, 42) предполагает использование ряда методов лабораторной диагностики для выявления вируса Эбола у людей и животных, а также контроль излеченности больных БВВЭ с помощью определения в крови антигена вируса методом ИФА и РНК вируса методом ОТ-ПЦР.

Комплексная диагностика включает в себя:

- выявление антигена вируса в иммунохимических реакциях (с помощью иммуноферментного анализа);
- определение в крови больного специфических антител к вирусу Эбола изотипа Ig M;
- определение в крови (в периоде реконвалесценции) специфических антител к вирусу Эбола с помощью ИФА и различных видов реакции нейтрализации (реакции подавления бляшкообразования (РПБО));
- выявление в образцах биологического материала геномной РНК вируса Эбола с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией;
- выявление вирусных частиц с помощью электронной микроскопии (так как вирионы филовирсов достаточно крупные и имеют характерную морфологию);
- проведение обогатительного пассажа в культурах клеток или при инфицировании чувствительных лабораторных животных с последующей идентификацией возбудителя.

Наиболее часто применяют серологические (ИФА) и молекулярно-генетические (ПЦР) методы исследования для выявления маркеров вируса Эбола или антител к нему у людей и животных при осуществлении надзора за источниками БВВЭ на попу-

ляционном и региональном уровнях. Это выявление имевшего место контакта с возбудителем болезни у человека или животного по наличию в крови антигена вируса методом ИФА и специфических антител к вирусу методами ИФА и различных видов реакций нейтрализации. Выявление в образцах биологического материала геномной РНК вируса Эбола с помощью ОТ-ПЦР. Метод применяется как основной при выявлении РНК вируса Эбола как в клиническом материале от людей, так и в материале от животных – возможных носителей вируса [7].

Недостатком используемых методов ИФА и ПЦР является необходимость наличия соответствующего лабораторного оборудования и лабораторий с высоким уровнем биологической защиты.

Перспективным направлением является разработка высокочувствительных и специфичных тест-систем, не требующих дополнительного дорогостоящего оборудования и позволяющих проводить диагностику непосредственно у постели больного.

Важной мерой контроля за возбудителем БВВЭ и механизмом передачи на организменном, клеточном и молекулярном уровнях (39, 40, 41, 46, 47, 48) является проведение текущей и заключительной дезинфекции в палатах медицинских учреждений, где находятся больные БВВЭ, а также в домашних очагах. Обеззараживание биологических жидкостей больного, а также предметов, загрязненных кровью и выделениями, осуществляется с помощью химических дезинфектантов и автоклавирования [7].

В части контроля за возбудителем БВВЭ на молекулярном и субмолекулярном уровнях (41, 42) важным направлением является изучение вируса на молекулярно-генетическом уровне с целью создания эффективных лечебных препаратов и вакцин. И такие разработки активно ведутся несколькими странами. Вакцина VSV-EBOV разработана специалистами Канадской национальной микробиологической лаборатории и лицензирована компаниями NewLink Genetics и Merck&Co (США). В настоящее время продолжается вторая и третья фаза клинических испытаний в Гвинее, Либерии и Сьерра-Леоне при участии специалистов ВОЗ, международной организации «Врачи без границ» [11].

Вакцина ChAd3-ZEBOV разработана компанией GlaxoSmithKline (Великобритания) в сотрудничестве с Национальным институтом аллергии и инфекционных заболеваний США. Вторая фаза клинических испытаний запланирована на вторую половину 2015 г. в таких странах как Камерун, Гана, Мали, Нигерия, Сенегал [3].

Вакцины Ad26-EBOV и MVA-EBOV разработаны компаниями Johnson & Johnson и Bavarian Nordic. Получены результаты первой фазы клинических испытаний на людях в январе 2015 г. в Великобритании и США [24].

Также известно о разработках вакцин на основе аденовируса (компания Vaxart), вируса везикулярного стоматита (Profectus Biosciences), рекомбинант-

ного белка вируса Эбола (Protein Sciences), ДНК-вакцины (Inovia) и рекомбинантной вакцины против бешенства (университет Джефферсона) [3].

По данным Министерства здравоохранения России, в нашей стране разрабатываются четыре вакцины против вируса Эбола. Они отличаются векторами, которые используются для встраивания гена вируса Эбола. Все препараты находятся на стадии разработки или клинических испытаний [4].

Контроль за механизмом передачи заключается в прерывании возможных путей передачи инфекции, создании условий, в которых ведущие механизмы передачи возбудителя не могут реализоваться. Контроль за механизмом передачи на глобальном и региональном уровне (43, 44) заключается в разработке (на уровне ВОЗ) и распространении памяток для населения и медицинских работников по мерам профилактики заражения БВВЭ, проведении семинаров и тренингов для медицинских работников по использованию средств индивидуальной защиты. Такие мероприятия проводились во время эпидемии БВВЭ в 2013–2015 гг. [7].

Контроль за механизмом передачи на популяционном и организменном уровнях (45, 46) заключается в разработке и применении эффективных мер по прерыванию путей передачи вируса от источника реципиенту: снижение риска передачи инфекции от диких животных человеку в результате контактов с инфицированными животными и употребления их сырого мяса. Перед употреблением в пищу кровь и мясо животных необходимо подвергать тщательной тепловой обработке. С животными следует обращаться в перчатках и защитной одежде. Снижение риска передачи инфекции от человека человеку в результате прямого или тесного контакта с людьми, имеющими симптомы БВВЭ, особенно с биологическими жидкостями больных. При уходе за больными в домашних условиях и в медицинских учреждениях необходимо использовать средства индивидуальной защиты. Соблюдение стандартных мер предосторожности при уходе за больными: использование средств индивидуальной защиты, гигиена рук (перчатки, мытье рук), респираторная гигиена (использование маски, очков, лицевого щитка), осуществление безопасных процедур (инъекций). Безопасное погребение умерших от БВВЭ – исключение тесного контакта родственников с телом умершего. И здесь на первое место выходит проведение санитарно-просветительной работы, обеспечение достаточным количеством средств индивидуальной защиты.

Контроль за реципиентом практически на всех уровнях (50–56) предполагает осуществление вакцинации населения на территориях, эндемичных по БВВЭ, и на территориях с риском возникновения лихорадки Эбола.

В период текущей эпидемии с марта 2015 г. в странах Западной Африки проводится иммунизация

экспериментальной вакциной VSV-EBOV.

Контроль за реципиентом на организменном уровне (53) предусматривает выявление и изоляцию контактных с больным лихорадкой Эбола на срок инкубационного периода, использование средств индивидуальной защиты при уходе за больным БВВЭ в условиях медицинского учреждения или в домашних условиях, безопасное погребение умерших от БВВЭ. Эти направления нашли отражение в «Плане борьбы с Эбола», разработанном ВОЗ [39].

Таким образом, на основе проведенного системного анализа можно выделить ряд основных направлений по оптимизации надзора и контроля БВВЭ.

На эндемичных территориях и территориях риска по БВВЭ необходимо:

- организовать проведение на постоянной основе эпизоотологического мониторинга;
- создать национальные специализированные лаборатории, подготовить специалистов по лабораторной диагностике и обеспечить тест-системами для диагностики БВВЭ;
- развивать сеть медицинских учреждений и увеличивать число медицинских работников;
- формировать у медицинского персонала настороженности в отношении данной болезни, подготовить по клинко-эпидемиологической диагностике БВВЭ;
- обеспечить соблюдение требований биологической безопасности в медицинских учреждениях и лабораториях, обеспечить достаточным количеством средств индивидуальной защиты;
- проводить масштабные исследования населения на наличие антител к вирусу Эбола;
- проводить санитарно-просветительную работу среди населения по профилактике заражения БВВЭ;
- изучать патогенез и особенности иммунитета при БВВЭ, в том числе в экспериментах на животных;
- изучать возможность реализации аэрогенного и трансмиссивного механизмов передачи БВВЭ в экспериментах на животных;
- получить сертифицированные препараты для этиотропной терапии и вакцин, прошедших все стадии клинических испытаний;
- разработать высокочувствительные и специфичные тест-системы, не требующие дополнительного дорогостоящего оборудования и позволяющие проводить диагностику непосредственно у постели больного.

Реализация перечисленных задач требует чрезвычайно больших финансовых средств, но это уже вопрос для рассмотрения международным сообществом и международными, в том числе финансовыми институтами.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Беляков В.Д. Эпидемический процесс. Л.: Медицина, 1964. 244 с.
2. Болезнь, вызванная вирусом Эбола. Информационный бюллетень ВОЗ. Информационный бюллетень № 103. Август 2015. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs103/ru/> (дата обращения 22.04.2015).
3. Вакцины, терапевтические средства и методы диагностики вируса Эбола. http://www.who.int/medicines/emp Ebola_q_a/ru/ (дата обращения 15.07.2015).
4. ВОЗ заявила о скором завершении эпидемии лихорадки Эбола. <http://www.vz.ru/news/2015/1/29/726841.html> (дата обращения 21.07.2015).
5. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Санитарная охрана территории Российской Федерации в современных условиях. Саратов: ООО «Буква»; 2014. 460 с.
6. Платонов А.Е., Платонова О.В., Малеев В.В. Эбола, 2014 г. Эпидемиологические и социальные аспекты. *Эпидемиол. и инф. бол.* 2014; 5:34–49.
7. Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Эпидемиология, профилактика и лабораторная диагностика болезни, вызванной вирусом Эбола. Саратов: ООО «Буква»; 2015. 250 с.
8. Черкасский Б.Л. Руководство по общей эпидемиологии. М.: Медицина; 2001. 560 с.
9. Черкасский Б.Л. Эпидемиологический словарь. М.: Научно-методический центр ТВКГ им. акад. Н.Н.Бурденко; 2001. 84 с.
10. Шкарин В.В., Ковалишенина О.В. Новые инфекции: систематизация, проблемы, перспективы. Н. Новгород: Изд-во НГМА; 2012. 716 с.
11. Agnandji S.T., Huttner A., Zinser M.E., Njuguna P., Dahlke C., Fernandes J.F., Yerly S., Dayer J.A., Kraehling V., Kasonta R., Adegnik A.A., Altfeld M., Auderset F., Bache E.B., Biedenkopf N., Borregaard S., Brosnahan J.S., Burrow R., Combes C., Desmeules J., Eickmann M., Fehling S.K., Finckh A., Goncalves A.R., Grobusch M.P., Hooper J., Jambrecina A., Kabwende A.L., Kaya G., Kimani D., Lell B., Lemaître B., Lohse A.W., Massinga-Loembe M., Matthey A., Mordmüller B., Nolting A., Ogowang C., Ramharmer M., Schmidt-Chanait J., Schmiedel S., Silvera P., Stahl F.R., Staines H.M., Strecker T., Stubbe H.C., Tsofa B., Zaki S., Fast P., Moorthy V., Kaiser L., Krishna S., Becker S., Kieny M.P., Bejon P., Kremsner P.G., Addo M.M., Siegrist C.A. Phase 1 trials of rVSV Ebola vaccine in Africa and Europe – preliminary report. *N. Engl. J. Med.* April 1, 2015 [Epub ahead of print]. DOI: 10.1056/NEJMoa1502924. <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1502924#articleDiscussion> (дата обращения 28.06.2015).
12. Baize S., Leroy E.M., Georges A.J., Georges-Courbot M.C., Capron M., Bedjabaga I., Lansoud-Soukate J., Mavoungou E. Inflammatory responses in Ebola virus-infected patients. *Clin. Exp. Immunol.* 2002; 128(1):163–8.
13. Basler C.F. Portrait of a killer: genome of the 2014 EBOV outbreak strain. *Cell Host Microbe.* 2014; 16(4):419–21.
14. Bausch D.G., Schwarz L. Outbreak of Ebola virus disease in Guinea: where ecology meets economy. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2014; 8(7):e3056. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003056.
15. Becquart P., Wauquier N., Mahlakoiv T., Nkoghe D., Padilla C., Souris M., Ollomo B., Gonzalez J.P., De Lamballerie X., Kazanji M., Leroy E.M. High prevalence of both humoral and cellular immunity to Zaire ebolavirus among rural populations in Gabon. *PLoS One.* 2010; 5(2):e9126. DOI: 10.1371/journal.pone.0009126.
16. Bellan S.E., Pulliam J.R., Dushoff J., Meyers L.A. Ebola control: effect of asymptomatic infection and acquired immunity. *Lancet.* 2014; 384(9953):1499–500.
17. Chan M. Ebola virus disease in West Africa – No early end to the outbreak. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371(13):1183–5.
18. Del Rio C., Mehta A.K., Lyon G.M. III, Guarner J. Ebola hemorrhagic fever in 2014: The tale of an evolving epidemic. *Ann. Intern. Med.* 2014; 161(10):746–8.
19. Ebola virus – a short primer on virus survival and disinfection. <http://pennstatefoodsafety.blogspot.ru/2014/10/ebola-virus-short-primer-on-virus.html> (дата обращения 15.04.2015).
20. Filovirus haemorrhagic fever. Guideline (Draft for internal use). Medecins Sans Frontieres (MSF OCB); 2008. 133 p.
21. Gonzalez J.P., Herbreteau V., Morvan J., Leroy E.M. Ebola virus circulation in Africa: a balance between clinical expression and epidemiological silence. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 2005; 98(3):210–7.
22. Goodman J.L. Studying «Secret serums» – toward safe, effective Ebola treatments. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371(12):1086–9.
23. Hayman D.T., Emmerich P., Yu M., Wang L., Suu-Ire R., Fooks A.R., Cunningham A.A., Wood J. Long-term survival of an urban fruit bat seropositive for Ebola and Lagos bat viruses. *PLoS One.* 2010; 5(8):e11978. DOI: 10.1371/journal.pone.0011978.
24. Heterologous prime-boost immunisation in Ebola vaccine development, testing and licensure. http://www.who.int/immunization/research/meetings_workshops/WHO_primeboost Ebola 21nov14_meeting_report.pdf (дата обращения 19.07.2015).
25. Interim guidance for environmental infection control in hospitals for Ebola virus. <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/hcp/environmental-infection-control-in-hospitals.html> (дата обращения 25.05.2015).
26. Lahm S.A., Kombila M., Swanepoel R., Barnes R.F. Morbidity and mortality of wild animals in relation to outbreaks of Ebola haemorrhagic fever in Gabon, 1994–2003. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2007; 101:64–78.
27. Leroy E.M., Epelboin A., Mondonge V., Pourrut X., Gonzalez J.P., Muyembe-Tamfum J.J., Formenty P. Human Ebola outbreak resulting from direct exposure to fruit bats in Luebo, Democratic Republic of Congo, 2007. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2009; 9(6):723–8.
28. Leroy E.M., Rouquet P., Formenty P., Souquière S., Kilbourne A., Froment J.M., Bermejo M., Smit S., Karesh W., Swanepoel R., Zaki S.R., Rollin P.E. Multiple Ebola virus transmission events and rapid decline of Central African wildlife. *Science.* 2004; 303(5656):387–90.
29. Olival K.J., Hayman D.T. Filoviruses in bats: current knowledge and future directions. *Viruses.* 2014; 6:1759–88.
30. Peterson A.T., Carroll D.S., Mills J.N., Johnson K.M. Potential mammalian filovirus reservoirs. *Emerg. Infect. Dis.* 2004; 10(12):2073–81.
31. Possible natural immunity to Ebola? <http://en.ird.fr/the-media-centre/scientific-newsheets/337-possible-natural-immunity-to-ebola> (дата обращения 10.06.2015).
32. Pourrut X., Kumulungui B., Wittmann T., Moussavou G., Délicat A., Yaba P., Nkoghe D., Gonzalez J.P., Leroy E.M. The natural history of Ebola virus in Africa. *Microbes Infect.* 2005; 7:1005–14.
33. Pourrut X., Souris M., Towner J.S., Rollin P.E., Nichol S.T., Gonzalez J.P., Leroy E. Large serological survey showing cocirculation of Ebola and Marburg viruses in gabonese bat populations and a high seroprevalence of both viruses in *Rousettus aegyptiacus*. *BMC Infect. Dis.* 2009; 9:159. DOI: 10.1186/1471-2334-9-159.
34. Prescott J., Bushmaker N., Fischer R., Miazgowiec K., Judson S., Munster V.J. Postmortem stability of Ebola virus. *Emerg. Inf. Dis.* 2015; 21(5):856–9.
35. Reardon S. Ebola treatments caught in limbo. *Nature.* 2014; 511(7511):520.
36. Reiter P., Turell M., Coleman R., Miller B., Maupin G., Liz J., Kuehne A., Barth J., Geisbert J., Dohm D., Glick J., Pecor J., Robbins R., Jahrling P., Peters C., Ksiazek T. Field investigations of an outbreak of Ebola Hemorrhagic fever, Kikwit, Democratic Republic of the Congo: arthropod studies. *J. Infect. Dis.* 1999; 179(1):S148–54.
37. Schoepp R.J., Rossi C.A., Khan S.H., Goba A., Fair J.N. Undiagnosed acute viral febrile illnesses, Sierra Leone. *Emerg. Infect. Dis.* 2014; 20(7):1176–82.
38. Walsh P.D., Abernethy K.A., Bermejo M., Beyers R., Wachter P.D., Akou M.E., Huijbregts B., Mambounga D.I., Toham A.K., Kilbourn A.M., Lahm S.A., Latour S., Maisels F., Mbina C., Mihindou Y., Obiang S.N., Effa E.N., Starkey M.P., Telfer P., Thibault M., Tutin C., Whitek L., Wilkie D.S. Catastrophic ape decline in western equatorial Africa. *Nature.* 2003; 422:611–14.
39. World Health Organization. Ebola Response Roadmap. <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/131596/1/EbolaResponseRoadmap.pdf> (дата обращения 14.07.2015).
40. World Health Organization. Ebola Response Roadmap Situation Report 3. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/133073/1/roadmapsitrep3_eng.pdf?ua=1 (дата обращения 5.05.2015).
41. World Health Organization. Unprecedented number of medical staff infected with Ebola. <http://www.who.int/mediacentre/news/ebola/25-august-2014/en/#> (дата обращения 26.05.2015).

References

1. Belyakov V.D. [Epidemic Process (Theory and Method of Investigation)]. L.: Meditsina, 1964. 244 p.
2. [Ebola virus disease. WHO Information Bulletin]. 2015; N 103. [cited 22 Apr 2015]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs103/ru/>.
3. [Ebola vaccines, therapies, and diagnostics]. [cited 15 Jul 2015]. Available from: http://www.who.int/medicines/emp Ebola_q_a/ru/.
4. [WHO declared Ebola epidemic close to an end]. [cited 21 Jul 2015]. Available from: <http://www.vz.ru/news/2015/1/29/726841.html>.
5. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors. [Sanitary Protection of the Russian Federation Territories under Current Conditions]. Saratov: Publishing House «Bukva» Ltd., 2014. 460 p.
6. Platonov A.E., Platonova O.V., Maleev V.V. [Ebola, 2014. Epidemiological and social aspects]. *Epidemiol. Infek. Bol.* 2014; 5:34–49.
7. Popova A.Yu., Kutyrev V.V., editors. [Epidemiology, Prophylaxis, and Laboratory Diagnostics of Ebola Virus Disease]. Saratov: Publishing House «Bukva» Ltd., 2015. 250 p.
8. Cherkassky B.L. [Guidelines on General Epidemiology]. M.: Meditsina, 2001. 560 p.
9. Cherkassky B.L. [Epidemiological Dictionary]. M., 2001. 84 p.
10. Shkarin V.V., Kovalishina O.V. [Emerging Infections: Systematization, Challenging Issues, and Prospective]. N. Novgorod: Publishing House at the premises of Nizhny Novgorod State Medical Academy, 2012. 716 p.

11. Agnandji S.T., Huttner A., Zinser M.E., Njuguna P., Dahlke C., Fernandes J.F., Yerly S., Dayer J.A., Kraehling V., Kasonta R., Adegnika A.A., Altfeld M., Auderset F., Bache E.B., Biedenkopf N., Borregaard S., Brosnahan J.S., Burrow R., Combescure C., Desmeules J., Eickmann M., Fehling S.K., Finckh A., Goncalves A.R., Grobusch M.P., Hooper J., Jambrecina A., Kabwende A.L., Kaya G., Kimani D., Lell B., Lemaitre B., Lohse A.W., Massinga-Loembe M., Matthey A., Mordmüller B., Nolting A., Ogwang C., Ramharter M., Schmidt-Chanasit J., Schmiedel S., Silvera P., Stahl F.R., Staines H.M., Strecker T., Stubbe H.C., Tsofa B., Zaki S., Fast P., Moorthy V., Kaiser L., Krishna S., Becker S., Kieny M.P., Bejon P., Kremsner P.G., Addo M.M., Siegrist C.A. Phase 1 trials of rVSV Ebola vaccine in Africa and Europe – preliminary report. *N. Engl. J. Med.* April 1, 2015 [Epub ahead of print] [cited 28 Jun 2015]. DOI: 10.1056/NEJMoa1502924. Available from: <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1502924#articleDiscussion>.
12. Baize S., Leroy E.M., Georges A.J., Georges-Courbot M.C., Capron M., Bedjabaga I., Lansoud-Soukate J., Mavoungou E. Inflammatory responses in Ebola virus-infected patients. *Clin Exp Immunol.* 2002; 128(1):163–8.
13. Basler C.F. Portrait of a killer: genome of the 2014 EBOV outbreak strain. *Cell Host Microbe.* 2014; 16(4):419–21.
14. Bausch D.G., Schwarz L. Outbreak of Ebola virus disease in Guinea: where ecology meets economy. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2014; 8(7):e3056. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003056.
15. Becquart P., Wauquier N., Mahlakoiv T., Nkoghe D., Padilla C., Souris M., Ollomo B., Gonzalez J.P., De Lamballerie X., Kazanji M., Leroy E.M. High prevalence of both humoral and cellular immunity to Zaire ebola-virus among rural populations in Gabon. *PLoS One.* 2010; 5(2):e9126. DOI: 10.1371/journal.pone.0009126.
16. Bellan S.E., Pulliam J.R., Dushoff J., Meyers L.A. Ebola control: effect of asymptomatic infection and acquired immunity. *Lancet.* 2014; 384(9953):1499–500.
17. Chan M. Ebola virus disease in West Africa – No early end to the outbreak. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371(13):1183–5.
18. Del Rio C., Mehta A.K., Lyon G.M. III, Guarner J. Ebola hemorrhagic fever in 2014: The tale of an evolving epidemic. *Ann. Intern. Med.* 2014; 161(10):746–8.
19. Ebola virus – a short primer on virus survival and disinfection. [cited 15 Apr 2015]. Available from: <http://pennstatefoodsafety.blogspot.ru/2014/10/ebola-virus-short-primer-on-virus.html>.
20. Filovirus haemorrhagic fever. Guideline (Draft for internal use). Medicins Sans Frontieres (MSF OCBA); 2008. 133 p.
21. Gonzalez J.P., Herbreteau V., Morvan J., Leroy E.M. Ebola virus circulation in Africa: a balance between clinical expression and epidemiological silence. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 2005; 98(3):210–7.
22. Goodman J.L. Studying «Secret serums» – toward safe, effective Ebola treatments. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371(12):1086–9.
23. Hayman D.T., Emmerich P., Yu M., Wang L., Suu-Ire R., Fooks A.R., Cunningham A.A., Wood J. Long-term survival of an urban fruit bat seropositive for Ebola and Lagos bat viruses. *PLoS One.* 2010; 5(8):e11978. DOI: 10.1371/journal.pone.0011978.
24. Heterologous prime-boost immunisation in Ebola vaccine development, testing and licensure. [cited 19 Jul 2015]. Available from: http://www.who.int/immunization/research/meetings_workshops/WHO_primeboost_Ebola_21nov14_meeting_report.pdf.
25. Interim guidance for environmental infection control in hospitals for Ebola virus. [cited 25 May 2015]. Available from: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/hcp/environmental-infection-control-in-hospitals.html>.
26. Lahm S.A., Kombila M., Swanepoel R., Barnes R.F. Morbidity and mortality of wild animals in relation to outbreaks of Ebola haemorrhagic fever in Gabon, 1994–2003. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2007; 101:64–78.
27. Leroy E.M., Epelboin A., Mondonge V., Pourrut X., Gonzalez J.P., Muyembe-Tamfum J.J., Formenty P. Human Ebola outbreak resulting from direct exposure to fruit bats in Luebo, Democratic Republic of Congo, 2007. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2009; 9(6):723–8.
28. Leroy E.M., Rouquet P., Formenty P., Souquière S., Kilbourne A., Froment J.M., Bermejo M., Smit S., Karesh W., Swanepoel R., Zaki S.R., Rollin P.E. Multiple Ebola virus transmission events and rapid decline of Central African wildlife. *Science.* 2004; 303(5656):387–90.
29. Olival K.J., Hayman D.T. Filoviruses in bats: current knowledge and future directions. *Viruses.* 2014; 6:1759–88.
30. Peterson A.T., Carroll D.S., Mills J.N., Johnson K.M. Potential mammalian filovirus reservoirs. *Emerg. Infect. Dis.* 2004; 10(12):2073–81.
31. Possible natural immunity to Ebola? [cited 10 Jun 2015]. Available from: <http://en.ird.fr/the-media-centre/scientific-newsheets/337-possible-natural-immunity-to-ebola>.
32. Pourrut X., Kumulungui B., Wittmann T., Moussavou G., Délicat A., Yaba P., Nkoghe D., Gonzalez J.P., Leroy E.M. The natural history of Ebola virus in Africa. *Microbes Infect.* 2005; 7:1005–14.
33. Pourrut X., Souris M., Towner J.S., Rollin P.E., Nichol S.T., Gonzalez J.P., Leroy E. Large serological survey showing cocirculation of Ebola and Marburg viruses in gabonese bat populations and a high seroprevalence of both viruses in *Rousettus aegyptiacus*. *BMC Infect. Dis.* 2009; 9:159. DOI: 10.1186/1471-2334-9-159.
34. Prescott J., Bushmaker N., Fischer R., Miazgowicz K., Judson S., Munster V.J. Postmortem stability of Ebola virus. *Emerg Inf. Dis.* 2015; 21(5):856–9.
35. Reardon S. Ebola treatments caught in limbo. *Nature.* 2014; 511(7511):520.
36. Reiter P., Turell M., Coleman R., Miller B., Maupin G., Liz J., Kuehne A., Barth J., Geisbert J., Dohm D., Glick J., Pecor J., Robbins R., Jahrling P., Peters C., Ksiazek T. Field investigations of an outbreak of Ebola Hemorrhagic fever, Kikwit, Democratic Republic of the Congo: arthropod studies. *J. Infect. Dis.* 1999; 179(1):S148–54.
37. Schoepp R.J., Rossi C.A., Khan S.H., Goba A., Fair J.N. Undiagnosed acute viral febrile illnesses, Sierra Leone. *Emerg. Infect. Dis.* 2014; 20(7):1176–82.
38. Walsh P.D., Abernethy K.A., Bermejo M., Beyers R., Wachter P.D., Akou M.E., Huijbregts B., Mambounga D.I., Toham A.K., Kilbourn A.M., Lahm S.A., Latour S., Maisels F., Mbina C., Mihindou Y., Obiang S.N., Effa E.N., Starkey M.P., Telfer P., Thibault M., Tutin C., Whitek L., Wilkie D.S. Catastrophic ape decline in western equatorial Africa. *Nature.* 2003; 422:611–14.
39. World Health Organization. Ebola Response Roadmap. [cited 14 Jul 2015]. Available from: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/131596/1/EbolaResponseRoadmap.pdf>.
40. World Health Organization. Ebola Response Roadmap Situation Report 3. [cited 05 May 2015]. Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/133073/1/roadmapsitrep3_eng.pdf?ua=1.
41. World Health Organization. Unprecedented number of medical staff infected with Ebola. [cited 26 May 2015]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/news/ebola/25-august-2014/en/#>.

Authors:

Karnaukhov I.G., Toporkov V.P., Udovichenko S.K., Kuttyrev V.V.

Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Об авторах:

Карнаухов И.Г., Топорков В.П., Удовиченко С.К., Кутырев В.В.

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

Поступила 06.08.15.

В.Б.Кириллов, С.Л.Кириллова, С.В.Борисевич

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ПОСЛЕДСТВИЙ ПОЯВЛЕНИЯ В РОССИИ ЗАВОЗНЫХ СЛУЧАЕВ БОЛЕЗНИ, ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ ЭБОЛА

ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны, Сергиев Посад,
Российская Федерация

Целью исследования явилось прогнозирование масштаба вспышки заболевания в результате прибытия на территорию Российской Федерации лиц, инфицированных вирусом Эбола. Исходные данные для прогнозирования получены в результате ретроспективного анализа вспышек лихорадки Эбола в период с 1976 по 2014 год, а также эпидемии 2014 г. в Гвинее и Мали. Несвоевременное выявление больного и недостаточное соблюдение противоэпидемических мер может вызвать вторичное заболевание у 3–5 человек из числа членов семьи и медицинского персонала. Своевременная диагностика и строгое соблюдение мер безопасности при лечении больных с лихорадкой неясного генеза позволит минимизировать количество вторичных заболеваний до одного случая или вообще их исключить.

Ключевые слова: лихорадка Эбола, эпидемиологическое прогнозирование, вероятность инфицирования.

V.B.Kirillov, S.L.Kirillova, S.V.Borisevich

Analysis of the Impact Consequent to the Emergence of Imported Ebola Virus Disease Cases in the Russian Federation

*The 48th Central Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Sergiev Possad,
Russian Federation*

Objective of the study was to forecast the scale of the outbreak that would emerge after arrival of persons infected with Ebola virus into the Russian Federation. Initial data for the prediction were obtained from retrospective analysis of hemorrhagic Ebola fever outbreaks registered within the period of 1976–2014, and the spread of the virus in the Republic of Guinea and Mali in 2014. Delays in the identification of a patient and the lack of compliance with control measures may result in secondary disease in 3–5 persons from among the members of the family and the medical staff. Timely diagnostics and strict observance of safety regulations for treatment of patients with fever of unknown etiology will minimize the number of secondary diseases to a single case or none at all.

Key words: Ebola fever, epidemiological forecasting, chance of infection.

Вспышка болезни, вызванной вирусом Эбола (БВВЭ), не прекращающаяся с 2013 г. в западных странах Африканского континента, является самой крупной по количеству заболевших и погибших за всю историю наблюдений за данной инфекцией. Продолжающееся расширение ареала болезни на фоне интенсивных миграционных процессов неизбежно увеличивает вероятность выноса возбудителя из природных очагов на эндемичные территории.

С 1976 по 2012 год в странах Африки зафиксированы 24 вспышки БВВЭ. Все они имели относительно небольшой масштаб и были непродолжительны, количество больных колебалось от единичных случаев до нескольких сотен. Во всех случаях вспышки начинались с заболевания одного или нескольких человек в результате разделки погибших диких животных и употребления их инфицированного мяса в пищу или пребывания в местах обитания рукокрылых, являющихся природным источником возбудителя БВВЭ [1]. Дальнейшее распространение болезни в людских популяциях происходило в результате контакта с больным при уходе за ним, многократного использования медицинских инструментов без стерилизации, а также в процессе похорон, включающих прикосновение к телу умершего, обмывание тела умершего и последующего омовения рук участников похоронной церемонии в одной емкости с водой [1, 5].

В 2013 г. началась самая крупная вспышка БВВЭ, которая уже более года продолжается в странах

Западной Африки. Анализ геномов образцов вируса Эбола, выделенного в 2014 г. от больных в Сьерра Леоне, позволил сделать вывод о наличии устойчивой передачи вируса от человека к человеку без участия дополнительных зоонозных источников [11].

Высказывается предположение, что нынешняя вспышка лихорадки Эбола не будет последней в Африке, поскольку, по меньшей мере, в 22 африканских странах имеются экологические условия, виды животных и традиции охоты, способствующие распространению БВВЭ в людских коллективах [10].

Таким образом, прогнозирование последствий заноса вируса Эбола на эндемичные территории, в том числе на территорию Российской Федерации, является актуальной задачей.

Материалы и методы

БВВЭ эндемична для территорий Центральной и Западной Африки, расположенных в зоне влажных тропических лесов. Длительность инкубационного периода может колебаться от 2 до 21 сут., летальность – от 25 до 90 % (в среднем 50 %). Различная тяжесть болезни и доля летальных исходов при эпидемических вспышках в различных регионах связаны с биологическими различиями циркулирующих генотипов вируса, а также уровнем медицинского обслуживания. В 40–50 % случаев болезнь сопровождается кровотечениями слизистых. Смерть на-

ступает обычно на второй неделе болезни на фоне обильных кровотечений и токсического шока [1].

Вирус Эбола передается от человека к человеку гемоконтактным путем при использовании нестерилизованных медицинских инструментов, через микротрещины кожи и слизистые оболочки в результате непосредственных контактов с кровью, выделениями и другими жидкостями тела инфицированных людей. Больные или переболевшие БВВЭ представляют опасность для окружающих, пока их кровь и другие жидкости, включая семенную и грудное молоко, содержат возбудитель. Мужчины, переболевшие БВВЭ, могут передавать вирус при половом контакте до 7 недель после выздоровления [1].

В настоящее время имеется обширная информация об особенностях распространения вируса Эбола в людских коллективах и существенном влиянии противоэпидемических мероприятий на масштабы эпидемия [1, 3]. Своевременное выявление заболевших и их изоляция позволили быстро ликвидировать в 2014 г. вспышки БВВЭ в Демократической Республике Конго [3] и Мали [6, 7].

Анализ лабораторно подтвержденных случаев БВВЭ в Республике Гвинея за период с 10 февраля по 25 августа 2014 г. позволил определить интенсивность передачи возбудителя в различных коллективах. Медицинские работники мало способствовали передаче вируса. В марте 2014 г. один больной БВВЭ инфицировал, в среднем, 2,3 человека (от 1,6 до 3,2 с уровнем вероятности 95 %), в том числе: 1,4 (от 0,9 до 2,2 с уровнем вероятности 0,95) – в общине; 0,4 (от 0,1 до 0,9 с уровнем вероятности 0,95) – в больницах; 0,5 (от 0,2 до 1,0 с уровнем вероятности 0,95) – на похоронах. В апреле, после повышения информированности населения и усиления мер противоэпидемического контроля в общинах, число случаев передачи вируса снизилось на 50 % для пациентов, помещенных в медицинские учреждения, но осталась неизменной для негоспитализированных больных. Количество вторичных случаев болезни в больницах снизилось с 35 до 9 % [4, 8].

На основании опросов выживших во время вспышки БВВЭ в Уганде в 2000 г. была дана оценка вклада в передачу вируса различных видов контактов с больными и погибшими от лихорадки Эбола. Более 30 % случаев инфицирования произошло в результате контактов с телом умершего при его обмывании и в процессе похорон. Уход за больным БВВЭ был причиной инфицирования более четверти мужчин и более половины женщин. В среднем около 10 % вторичных случаев были обусловлены несоблюдением мер предосторожности при доставке больных в лечебное учреждение [5].

Результаты и обсуждение

Анализ данных о вспышках лихорадки Эбола позволяет сделать вывод о том, что возбудитель может распространяться в человеческом коллективе тремя путями: парентерально, с помощью нестерилизованного медицинского инструмента; при хирургических

операциях (лапаротомии) у первичных больных, поступающих в больничное учреждение с симптомами внутреннего кровотечения; за счет тесного физического контакта при непосредственном уходе за больным или выполнении ритуальных обрядов с телом умершего.

В России нет эндемичных очагов и переносчиков вируса Эбола, имеется развитая система здравоохранения, большая часть населения соблюдает гигиенические меры. Поэтому вспышки БВВЭ на территории нашей страны возможны только в результате завоза болезни.

Мы проанализировали два варианта развития вспышки в результате завоза вируса Эбола.

Первый вариант. В условиях настороженности больной БВВЭ выявлен сразу по прибытии на территорию Российской Федерации. В этом случае даже при соблюдении мер предосторожности возможно заражение медицинских работников, осуществляющих лечение и уход за больным, обработку медицинских инструментов. Следует подчеркнуть, что даже при соблюдении требований безопасности при работе с инфекционными больными, риск заражения медперсонала, осуществляющего уход за больным БВВЭ, достаточно велик.

Экспериментальные данные о вероятности инфицирования вирусом БВВЭ при выполнении различных медицинских процедур в процессе лечения больных отсутствуют. Поскольку основные пути передачи возбудителей БВВЭ и Крымской геморрагической лихорадки (КГЛ) и типовые медицинские процедуры при лечении совпадают, нами были использованы ранее полученные данные по вероятности инфицирования вирусом КГЛ, представленные в таблице [2].

В дальнейших расчетах принято допущение, что в процессе лечения больных БВВЭ и КГЛ количество медицинских манипуляций и вероятность инфицирования при их выполнении не различаются.

Поскольку инфицирование в процессе выполнения медицинских манипуляций является совокупностью независимых событий, оценка вероятности инфицирования $P_{инф}$ при лечении больного БВВЭ может быть рассчитана по формуле:

$$P_{инф} = 1 - \prod_{i=1}^N (1 - p_i),$$

где p_i – частота инфицирования при выполнении i -й процедуры, N – общее количество медицинских манипуляций для одного больного.

Расчеты по предложенной формуле показывают, что минимальная вероятность инфицирования $P_{инф\ Min} = 0,06$, максимальная вероятность $P_{инф\ Max} = 0,53$. Следовательно, возможно появление одного вторичного больного – медицинского работника. Реалистичность такого прогноза подтверждается фактом заражения медсестры, ухаживавшей за больным БВВЭ в Испании в сентябре 2014 г. [9].

Второй вариант предполагает, что у прибывшего из-за рубежа человека болезнь выявлена с задержкой в две недели. Распространение вируса может происходить по сценарию, аналогичному началу вспышек

Вероятность инфицирования в процессе выполнения типовых медицинских манипуляций [2]

Название процедуры	Кол-во процедур	Частота травмы		Вероятность инфицирования, доля	
		Минимальная	Максимальная	Минимальная	Максимальная
Переливание крови или кровезамещающего раствора	2	0,20	0,35	0,01	0,14
Подготовка колюще-режущего инструментария к обработке	2	0,10	0,18	0,005	0,07
Перевязки	2	0,05	0,14	0,003	0,06
Подготовка инструментария для предстерилизационной очистки	2	0,08	0,08	0,004	0,03
Внутривенные вливания	4	0,08	0,08	0,004	0,03

БВВЭ в декабре 2013 г. – марте 2014 г. в Гвинее и октябре–ноябре 2014 г. в Мали.

Контакты с больным могут иметь следующие группы населения: члены семьи, бригада скорой помощи, медицинский персонал госпиталя, соседи по больничной палате, участники похорон умершего больного. С учетом вероятности передачи вируса Эбола один больной может заразить от 3 до 5 человек: от 1 до 3 человек из числа членов семьи, 1 человека в больнице и 1 человека на похоронах [8].

Таким образом, появление на территории России завозного случая БВВЭ может привести к следующим последствиям. При отсутствии задержки в выявлении болезни и соблюдении всех требований безопасности при работе с возбудителями особо опасных инфекций возможно появление не более одного вторичного больного из числа медицинского персонала, осуществляющего лечение и уход за первичным больным. При несвоевременном выявлении болезни и несоблюдении требований безопасности возможно заражение от 3 до 5 человек из числа членов семьи и родственников первичного больного, медицинского персонала, участников похорон первичного больного.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Болезнь, вызванная вирусом Эбола. Информ. бюл. 2014; 103. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs103/ru> (дата обращения 20.12.2014).
2. Кириллов В.Б., Кириллова С.Л., Лукин Е.П., Марков В.И., Боловин Д.В. Математическое моделирование вспышки Крымской-Конго геморрагической лихорадки в случае выноса возбудителя из эндемичного района на неэндемичную территорию РФ. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* 2006; 4:21–5.
3. A tale of two outbreaks: Why Congo conquered Ebola. NBC News. <http://www.nbcnews.com/storyline/ebola-virus-outbreak/tale-two-outbreaks-why-congo-conquered-ebola-n253911> (дата обращения 20.12.2014).
4. Baize S., Pannetier D., Oestereich L., Rieger T., Koivogui L., Magassouba N., 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. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371(15):1418–25.
5. Barry S.H., Amola R.P. Cultural contexts of Ebola in Northern Uganda. *Emerg. Infect. Dis.* 2003; 9:1242–8.
6. Mali: Details of the additional cases of Ebola virus disease. Ebola situation assessment. 20 November 2014. <http://www.who.int/mediacentre/news/ebola/20-november-2014-mali/en/> (дата обращения 20.12.2014).
7. Mali: imam's itinerary. Jeune Afrique. 3 Dec 2014. <http://www.jeuneafrique.com/Article/JA2811p036.xml0/sante-virus-ebola-epidemie-ibk-ebola-ebola-le-mali-sur-le-qui-vive.html> (дата обращения 20.12.2014).
8. Faye O., Boëlle P.Y., Heleze E., Faye O., Loucoubar C., Magassouba N., Soropogui B., Keita S., Gakou T., Bah el H.I., Koivogui L., Sall A.A., Cauchemez S. Chains of transmission and control of Ebola virus disease in Conakry, Guinea, in 2014: an obser-

vational study. *Lancet.* 2015; 15(3):320–6.

9. Parra J.M., Salmerón O.J., Velasco M. The first case of Ebola virus disease acquired outside Africa. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371(25):2439–40.

10. Sierra Leone seeing 80–100 new Ebola cases daily. Dec 5, 2014. Associated Press. <http://abcnews.go.com/US/wireStory/sierra-leone-80-100-ebola-cases-daily-27394068> (дата обращения 25.12.2014).

11. Gire S.K., Goba A., Andersen K.G., Sealfon R.S.G., Park D.J., Kanneh L., Jalloh S., Momoh M., Fullah M., Dudas G., Wohl S., Moses L.M., Yozwiak N.L., Winnicki S., Matranga C.B., Malboeuf C.M., Qu J., Gladden A.D., Schaffner S.F., Yang X., Jiang P.-P., Nekoui M., Colubri A., Coomber M.R., Fannie M., Moigboi A., Gbakie M., Kamara F.K., Tucker V., Konuwa E., Saffa S., Sells J., Jalloh A.A., Kovoma A., Koninga J., Mustapha I., Kargbo K., Foday M., Yillah M., Kanneh F., Robert W., Massally J.L.B., Chapman S.B., Boichichio J., Murphy C., Nusbaum C., Young S., Birren B.W., Grant D.S., Scheffelin J.S., Lander E.S., Happi C., Gevao S.M., Gnirke A., Rambaut A., Garry R.F., Khan S.H., Sabeti P.C. Genomic surveillance elucidates Ebola virus origin and transmission during the 2014 outbreak. *Science.* 2014; 345:1369–72.

References

1. [Ebola Virus Disease. WHO Information Bulletin, 2014]. [cited 20 Dec 2014]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs103/ru>.
2. Kirillov V.B., Kirillova S.L., Lukin E.P., Markov V.I., Bolovin D.V. [Mathematical modeling of Crimean-Congo hemorrhagic fever outbreak in case of the agent export from an endemic region into the non-endemic territory of the Russian Federation] *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2006; 4:21–5.
3. A tale of two outbreaks: Why Congo conquered Ebola. NBC News. [cited 20 Dec 2014]. Available from: <http://www.nbcnews.com/storyline/ebola-virus-outbreak/tale-two-outbreaks-why-congo-conquered-ebola-n253911>.
4. Baize S., Pannetier D., Oestereich L., Rieger T., Koivogui L., Magassouba N., 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. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371(15):1418–25.
5. Barry S.H., Amola R.P. Cultural contexts of Ebola in Northern Uganda. *Emerg. Infect. Dis.* 2003; 9:1242–8.
6. Mali: Details of the additional cases of Ebola virus disease. Ebola situation assessment. 20 November 2014 [cited 20 Dec 2014]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/news/ebola/20-november-2014-mali/en/>.
7. Mali: imam's itinerary. Jeune Afrique. 3 Dec 2014 [cited 20 Dec 2014]. Available from: <http://www.jeuneafrique.com/Article/JA2811p036.xml0/sante-virus-ebola-epidemie-ibk-ebola-ebola-le-mali-sur-le-qui-vive.html>.
8. Faye O., Boëlle P.Y., Heleze E., Faye O., Loucoubar C., Magassouba N., Soropogui B., Keita S., Gakou T., Bah el H.I., Koivogui L., Sall A.A., Cauchemez S. Chains of transmission and control of Ebola virus disease in Conakry, Guinea, in 2014: an observational study. *Lancet.* 2015; 15(3):320–6.
9. Parra J.M., Salmerón O.J., Velasco M. The first case of Ebola virus disease acquired outside Africa. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371(25):2439–40.
10. Sierra Leone seeing 80–100 new Ebola cases daily. Associated Press. Dec 5, 2014 [cited 25 Dec 2014]. Available from: <http://abcnews.go.com/US/wireStory/sierra-leone-80-100-ebola-cases-daily-27394068>.
11. Gire S.K., Goba A., Andersen K.G., Sealfon R.S.G., Park D.J., Kanneh L., Jalloh S., Momoh M., Fullah M., Dudas G., Wohl S., Moses L.M., Yozwiak N.L., Winnicki S., Matranga C.B., Malboeuf C.M., Qu J., Gladden A.D., Schaffner S.F., Yang X., Jiang P.-P., Nekoui M., Colubri A., Coomber M.R., Fannie M., Moigboi A., Gbakie M., Kamara F.K., Tucker V., Konuwa E., Saffa S., Sells J., Jalloh A.A., Kovoma A., Koninga J., Mustapha I., Kargbo K., Foday M., Yillah M., Kanneh F., Robert W., Massally J.L.B., Chapman S.B., Boichichio J., Murphy C., Nusbaum C., Young S., Birren B.W., Grant D.S., Scheffelin J.S., Lander E.S., Happi C., Gevao S.M., Gnirke A., Rambaut A., Garry R.F., Khan S.H., Sabeti P.C. Genomic surveillance elucidates Ebola virus origin and transmission during the 2014 outbreak. *Science.* 2014; 345:1369–72.

Authors:

Kirillov V.B., Kirillova S.L., Borisevich S.V. The 48th Central Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation. Sergiev Possad, Russian Federation.

Об авторах:

Кириллов В.Б., Кириллова С.Л., Борисевич С.В. «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны. Российская Федерация, Сергиев Посад.

Поступила 14.08.15.

**В.В.Малеев¹, Tolno Facely², Konomou K. Victor³, Sow Thierno Idy³, Я.Ю.Ицков⁴, Ю.В.Демина⁵,
А.Е.Левковский³, Е.В.Коломоец⁴, Г.А.Ковалев³, В.Ю.Хорошилов⁶, З.М.Омариев⁵**

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БОЛЕЗНИ, ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ ЭБОЛА, В ГВИНЕЙСКОЙ РЕСПУБЛИКЕ

¹ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии», Москва, Российская Федерация; ²Национальный комитет по борьбе с Эбола Республики Гвинея, Конакри, Гвинейская Республика; ³Научный Клинический Диагностический Центр Эпидемиологии и Микробиологии, Киндия, Республика Гвинея; ⁴Объединенная Компания РУСАЛ, Москва, Российская Федерация; ⁵Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация; ⁶Территориальный отдел Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по городу Санкт-Петербургу в Невском и Красногвардейском районах, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Текущая эпидемия лихорадки Эбола в Западной Африке имеет беспрецедентные масштабы – 27550 заболевших, из них 11235 умерших, а также отличается от предыдущих особенностями эпидемиологического и клинического течения. В статье рассматриваются некоторые аспекты эпидемиологии болезни, вызванной вирусом Эбола, на примере эпидемии, начавшейся в 2013 г. и продолжающейся по настоящее время в Гвинейской Республике. Представлен предварительный анализ клинических наблюдений в Научном Диагностическом Клиническом Центре Эпидемиологии и Микробиологии, построенном российской компанией РУСАЛ. Рассматриваются эпидемиологические и клинические особенности болезни, вызванной вирусом Эбола, у 83 пациентов, поступивших на лечение в Центр с 6 марта по 30 июня 2015 г., у 28 из них диагноз подтвержден лабораторно. Основными критериями анализа были летальность, пол, возраст, род занятий, время поступления от начала заболевания, средняя продолжительность пребывания пациента в госпитале, жалобы, симптоматика, осложнения, проводимое лечение.

Ключевые слова: эпидемия, лихорадка Эбола, Западная Африка, вирус Эбола, Гвинейская Республика, Научный клиничко-диагностический центр эпидемиологии и микробиологии, болезнь, вызванная вирусом Эбола.

**V.V.Maleev¹, Tolno Facely², Konomou K. Victor³, Sow Thierno Idy³, Ya.Yu.Itskov⁴, Yu.V.Demina⁵,
A.E.Levkovsky³, E.V.Kolomoets⁴, G.A.Kovalev³, V.Yu.Khoroshilov⁶, Z.M.Omariev⁵**

Epidemiological Peculiarities and Clinical Features of Ebola Virus Disease in the Republic of Guinea

¹Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russian Federation; ²The National Technical Committee for Monitoring and Control of Ebola in the Republic of Guinea, Conakry, Republic of Guinea; ³Scientific Clinical Diagnostic Center of Epidemiology and Microbiology, Kindia, Republic of Guinea; ⁴United Company RUSAL (Russian Aluminum), Moscow, Russian Federation; ⁵Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Moscow, Russian Federation; ⁶Territorial Subdivision of the Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare in Saint-Petersburg, in the Nevsky and Krasnogvardeisky Regions, Saint-Petersburg, Russian Federation

The current outbreak of the Ebola fever in West Africa is unprecedented in terms of its scale. As of today, 27550 suspected cases and 11235 deaths have been reported. The outbreak differs from previous epidemics in terms of epidemiological and clinical progression of the disease. The article covers several epidemiological issues related to Ebola virus disease by the example of the Guinean outbreak, which has been plaguing the country since 2014. Given is the preliminary clinical analysis of the medical observations, performed in the Research and Diagnostic Centre of Epidemiology and Microbiology built by RUSAL. Regarded are epidemiological and clinical features of the Ebola virus disease (EVD) in 83 patients, who were admitted to RUSAL Treatment Center since March 6th till June 30th, 2015. In 28 of the patients, EVD diagnosis was laboratory confirmed. The principle assessment criteria are: morbidity rate, lethality index, gender, age, occupation, time since the onset of the disease until hospitalization, an average duration of the stay at the hospital, complaints, symptoms, complications, and the therapy provided.

Key words: epidemic, Ebola fever, West Africa, Ebola virus, Republic of Guinea, Scientific Medical Diagnostic Centre of Epidemiology and Microbiology, Ebola virus disease.

Первая известная вспышка болезни, вызванной вирусом Эбола (БВВЭ), произошла в 1976 г. в районе реки Эбола в Заире (Демократическая Республика Конго). С 1976 по 2013 год в Центральной Африке зарегистрировано 2390 случаев болезни, вызванных вирусами рода *Ebolavirus*, из них 1590 человек умерли [1]. Предыдущие вспышки, вызванные вирусом

Эбола Заир, характеризовались высокой летальностью: от 44 % в 2008 г. в Демократической Республике Конго до 89–90 % в 2003 г. в Конго и 100 % в 1977 г. в Конго и в 1996 г. в Южной Африке.

Первый случай болезни, вызванной вирусом Эбола, был выявлен в районе Лесной Гвинеи (Гвинейская Республика) 6 декабря 2013 г., однако

этиологический агент-вирус ZEBOV обнаружили только несколько месяцев спустя [3]. В марте 2014 г. Всемирная Организация Здравоохранения (ВОЗ) объявила о вспышке болезни, вызванной вирусом Эбола, в Гвинее. К августу эпидемия охватила несколько стран Западной Африки, включая Гвинею, Либерию и Сьерра-Леоне. По состоянию на 1 июля 2015 г. ВОЗ приводит данные о 27550 заболевших (вероятных, подозрительных и подтвержденных) и 11235 умерших (летальность 41 %) в 3 странах – Гвинее, Сьерра-Леоне и Либерии. По имеющимся данным, инфекция распространяется контактным путем. Особое значение в условиях Африки придается традициям населения массово участвовать в похоронных мероприятиях. Немаловажная роль отводится распространению инфекции, связанному с оказанием медицинской помощи.

По последним данным, в Республике Гвинея на 1 июля 2015 г. БВВЭ лабораторно подтверждена у 3279 больных, из которых 2042 (62,3 %) умерли; возможных случаев, по критериям ВОЗ, было 450 с абсолютной летальностью; среди 21 больного, относимого к категории подозрительных, смертельных исходов не наблюдалось. Всего зарегистрировано с начала эпидемии 3750 больных, из которых 2492 (66,5 %) умерли [11].

Материалы текущей эпидемии анализировались лишь предварительно на основании наблюдений за короткие интервалы времени [4, 6, 10, 12].

Страны, затронутые эпидемией, относятся к беднейшим и наименее благополучным странам мира. По данным ВОЗ, за 2013 г. в Гвинее, с общей численностью населения в 11745 млн жителей, общие расходы на здравоохранение на душу населения составляли 59 \$ США, а общие расходы на здравоохранение – 4,7 % от валового национального дохода.

Активное участие в оказании помощи Гвинейской Республике в борьбе с БВВЭ приняло Правительство Российской Федерации, направившее в туда специализированную противэпидемическую бригаду (СПЭБ) с необходимым оборудованием, специалистами по лабораторной диагностике, эпидемиологами и клиницистами. Значительный и непосредственный вклад в повышение потенциала страны для ликвидации эпидемии внесла компания РУСАЛ, руководство которой в ноябре 2014 г. приняло решение о строительстве специализированного госпиталя повышенной биобезопасности, позволяющего оказывать лечебную помощь больным высококонтагиозными инфекциями. В ходе строительства данный госпиталь был трансформирован в Научный клинико-диагностический центр эпидемиологии и микробиологии (НКДЦЭМ). Его основными функциями являются прием больных с подозрением на особо опасные инфекционные болезни, в том числе и на болезнь, вызванную вирусом Эбола; клиническая и этиологическая диагностика; организация лечения инфицированных больных с проведением противоэпидемических мероприятий; научно-

исследовательская работа, обучение персонала, консультативная помощь специалистам местных лечебных учреждений.

Целью данной публикации явилось обобщение результатов обследования и клинического наблюдения больных в период госпитализации в указанном центре.

Методы и материалы

Материалом для ретроспективного анализа служили эпидемиологические данные, представленные на заседаниях Национального Координационного центра по борьбе с БВВЭ при Министерстве здравоохранения Республики Гвинея с международным участием, информация ВОЗ, в части случаев результаты изучения эпидемиологического анамнеза госпитализированных больных. Клиническая составляющая анализа базировалась на доступных клинико-лабораторных данных пациентов, находившихся на лечении в НКДЦЭМ с 6 марта по 30 июня 2015 г. Использовалось стандартное определение случая БВВЭ, установленное ВОЗ и Министерством здравоохранения Республики Гвинея [5]. Диагноз БВВЭ подтверждался методом выявления вируса в ПЦР с обратной транскрипцией в режиме реального времени. Для выявления РНК вируса Эбола использовалась зарегистрированная в РФ и получившая в сравнительном исследовании положительное заключение ВОЗ коммерческая тест система «АмплиСенс EBOV Zaire-FL». Исследование проводилось на амплификаторе Rotor-Gene Q и Rotor-Gene 6000.

Диагностика осуществлялась лабораторией СПЭБ, которая была валидирована и интегрирована в систему лабораторий, оказывающих помощь по лабораторной диагностике БВВЭ на территории Гвинейской Республики. Согласно Руководству ВОЗ по лабораторной диагностике, тест проводился дважды каждому пациенту с интервалом в 48 ч [2]. Наряду с выявлением вируса Эбола в крови исследовались и другие биологические жидкости: моча, слюна, испражнения, грудное молоко, семенная жидкость. С целью верификации диагноза, а также для диагностики сочетанной патологии проводился поиск других возбудителей инфекционных болезней – вирусного гепатита, малярии, ВИЧ-инфекции и т.д.

Основными доступными критериями для клинического анализа были показатели летальности от БВВЭ, характеристика пациентов (пол, возраст, род занятий, время поступления от начала болезни, территориальное распределение пациентов, средняя продолжительность пребывания пациента в госпитале), жалобы, симптоматика, осложнения, проводимое лечение.

Результаты и обсуждение

По данным Национального Координационного центра по борьбе с БВВЭ Министерства здраво-

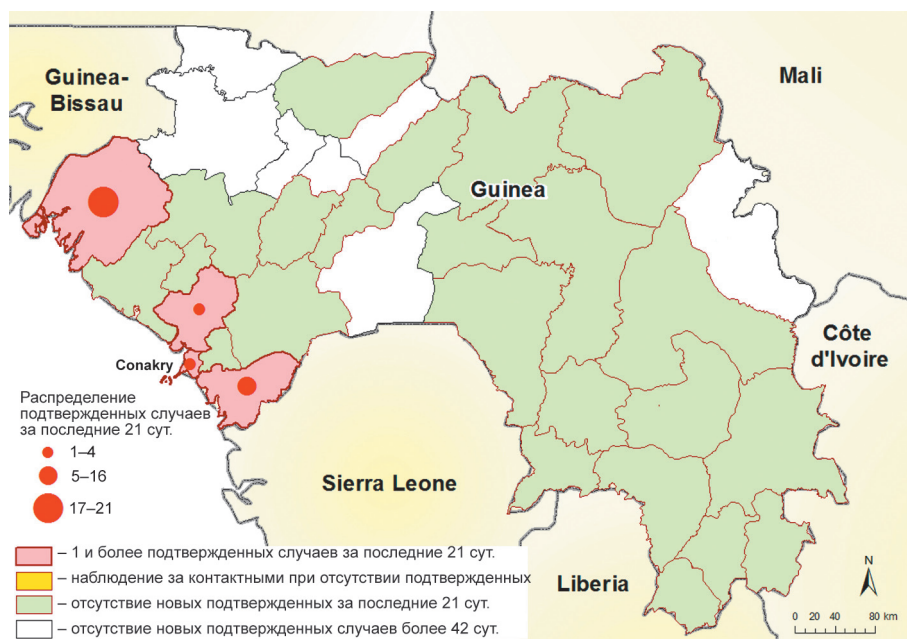


Рис. 1. Распределение подтвержденных случаев БВВЭ по префектурам Гвинейской Республики (по состоянию на 03.07.2015 г.)

охранения Республики Гвинея, для данной эпидемии, в отличие от предыдущих эпидемий в странах Центральной Африки, характерно распространение на значительные территории и охват населения городов. За период с декабря 2013 г. по настоящее время эпидемией были охвачены 26 из 33 провинций Республики Гвинея. Вспышка БВВЭ началась в провинции Гекеду, граничащей с Либерией и Сьерра-Леоне, и распространилась не только на Лесную Гвинею, но и на другие префектуры и соседние страны. Заносы инфекции имели место также в Сенегал и Республику Мали. Эпидемия распространилась не только в небольшие селения в лесных районах, но и в крупные населенные пункты, а также города с миллионным населением, чему способствовала интенсивная миграция жителей.

Распространение инфекции БВВЭ по территории Гвинейской Республики в настоящее время представлено на рис. 1 [11], на котором видно, что наиболее пораженными остаются префектуры Боке, Дюбрека, Форекарья и Койя, где отмечалось от 5 до 20 случаев БВВЭ за последние 21 сут. Наибольшая

заболеваемость регистрировалась в префектуре Боке: от 12 до 20 случаев за последние 21 сут, что представляет собой угрозу распространения эпидемии на пограничную Гвинею-Биссау.

Особенностями текущей эпидемии является также необычно долгое и волнообразное течение (рис. 2) [11]. Некоторые авторы предполагают, что климатические условия могут влиять на распространение БВВЭ [10]. Как видно на рис. 2, эпидемия имеет 4 выраженные волны, самая крупная и продолжительная длилась около 5,5 мес. (с 33 недели 2014 г. по 3 неделю 2015 г.), когда регистрировалось наибольшее количество подтвержденных случаев в неделю. При этом сезон дождей в Гвинее длится с мая по октябрь (с 20 по 40 неделю), сухой сезон соответственно с ноября по май. Во время сезона дождей эффективность противоэпидемических мероприятий заметно снижается из-за бездорожья и соответствующих трудностей с выявлением контактных лиц и проведением профилактики. Возможно, что данная волна заболеваемости объясняется более активным выявлением и регистрацией больных. Способствующим фактором

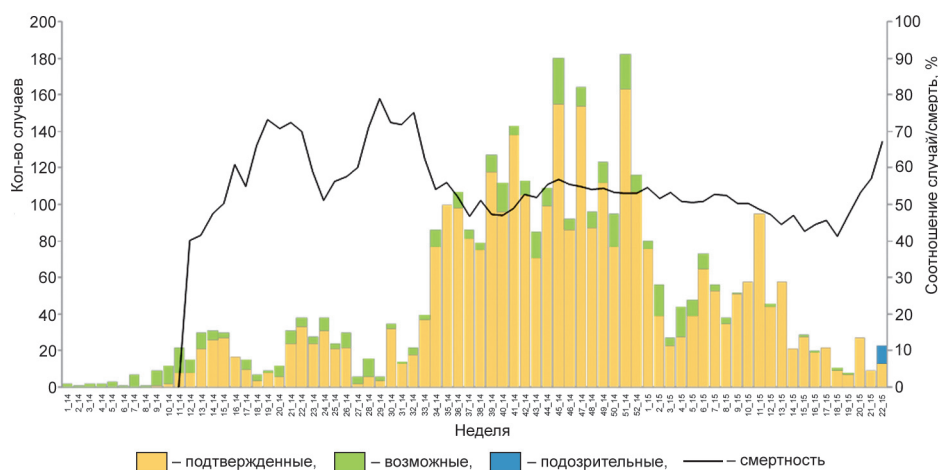


Рис. 2. Распределение подтвержденных случаев БВВЭ (n=3223), возможных (n=419) и подозрительных (n=10) по недельно, смертность среди госпитализированных подтвержденных случаев в Гвинейской Республике

могла явиться и повышенная миграция населения вследствие панических настроений и неэффективности санитарного просвещения.

Смертность, регистрируемая в это время, была несколько ниже, чем в начале эпидемии. Наибольшая смертность наблюдалась на раннем этапе эпидемии (с 11 по 32 неделю 2014 г.), когда противоэпидемические мероприятия проводились в минимальном объеме и возникало большое количество контактных, участвующих в похоронных обрядах, предусматривающих незащищенный контакт с телом умершего (обмывание, сбривание волос на теле и лице, натирание ароматическими маслами).

О ведущей роли контактного распространения инфекции свидетельствуют данные эпидемиологического анамнеза у госпитализированных в НКДЦЭМ. Из 28 пациентов, у которых диагноз БВВЭ был подтвержден лабораторно, в 100 % случаев отмечался контактный путь инфицирования в результате тесного общения с больными родственниками, в дальнейшем подтвержденный лабораторно. Только одна пациентка указала на участие в похоронах. Особо тесный контакт с больными матерями наблюдался у трех детей грудного возраста, у которых впоследствии развилась генерализованная инфекция, приведшая к летальному исходу.

Обращает на себя внимание относительно высокая пораженность медицинских работников. Всего во время текущей эпидемии в Гвинейской Республике, Либерии и Сьерра-Леоне зарегистрировано 874 подтвержденных случая БВВЭ у медицинского персонала, из них 509 человек умерли (смертность составила 58 %) [8]. Ведущей причиной распространения инфекции, связанной с оказанием медицинской помощи, несомненно служит несоблюдение мер безопасности вследствие недостаточной подготовки персонала и дефицита средств защиты и дезинфекции. Определенную роль может также играть тесное общение медицинских работников с местным населением и расположение медицинских учреждений без соответствующей изоляции от жилищ.

Предотвратить заражение медицинского персонала, в отличие от других госпитальных баз в охваченных эпидемией странах, удалось благодаря созданию специализированного госпитального Центра с наивысшим уровнем безопасности, осуществлению постоянного госпитального противоэпидемического мониторинга. Все пациенты НКДЦЭМ получали надлежащий медицинский уход и лечение при помощи персонала, прошедшего специальное обучение. Это обучение включало в себя навыки пользования средствами индивидуальной защиты, оказания помощи высококонтагиозным пациентам, включая инвазивные процедуры, а также обращение с отходами, содержащими вирус Эбола. Действия персонала предварительно отрабатывались на тренингах. Случаев заражения медицинского персонала в НКДЦЭМ не зарегистрировано, хотя одним из госпитализированных был средний медицинский работник, инфициро-

ванный в очаге инфекции.

Затяжному характеру эпидемии, по данным международных организаций, способствовала бедность населения, безграмотность, невозможность полноценного проведения санитарно-гигиенических мероприятий, низкая доступность медицинской помощи, отсутствие доверия медицинским работникам. Вероятно по этой причине очаг лихорадки Эбола был обнаружен только через три месяца после первого (предположительного) случая БВВЭ [1].

Для клинического анализа использовалась информация о 83 пациентах, поступивших в Центр за период его функционирования с подозрением на БВВЭ. Все подозрительные обследовались лабораторно дважды (при поступлении и через 48 ч) и при отрицательных результатах исследования выписывались или переводились в муниципальные госпитали (в 36 случаях в связи с тропической малярией). Диагноз БВВЭ подтвержден лабораторно только у 28 человек (33,7 %), информация о заболеваемости которых представляла интерес для изучения. Среди этой категории больных было 18 женщин и 10 мужчин, что не совсем соответствует структуре заболевших в Гвинейской Республике, где существенных гендерных отличий в заболеваемости не обнаружено.

В половине случаев больные относились к детскому и подростковому возрасту, при этом трое были в возрасте до 5 лет. Среди взрослых большинство относились к среднему трудоспособному возрасту и лишь двое были пожилыми. Только двое занимались сельским хозяйством и могли иметь отношение к природным факторам инфекции. Как указано выше, среди заболевших был медицинский работник. Все больные вели активный образ жизни, часто перемещались по Гвинейской Республике и соседним странам, где и были инфицированы в результате контактов.

В первые три дня болезни, когда возможно своевременно контролировать патологический процесс, госпитализировано только 11 больных (39,3 %), еще 8 поступили на 4–6-е сутки, остальных госпитализировали на второй и третьей неделе болезни. Территориально больные госпитализировались первоначально из очага БВВЭ, расположенного в близлежащем регионе (Kindia), а в дальнейшем, после ликвидации данного очага, доставлялись из зоны продолжающейся эпидемии в префектуре Voke.

Всех пациентов с БВВЭ протестировали на наличие вируса в крови, 14 человек – на наличие вируса в моче. Положительный результат был у 6 пациентов (42,8 %); у 17 пациентов исследовали слюну, 7 из них выделяли вирус (41,2 %); у двух женщин выделили вирус в грудном молоке, у одной из них РНК вируса Эбола обнаруживалась в течение 58 дней. Впервые выявленное российскими специалистами продолжительное выделение РНК вируса с грудным молоком так же, как и известные данные литературы о длительном нахождении вируса в семенной жидкости, без сомнения нужно исследовать с позиции эпиде-

миологической значимости.

Из 28 пациентов с подтвержденным диагнозом БВВЭ скончались 9 человек: трое мужчин и шесть женщин, пять из них – дети в возрасте до 15 лет, четверо – от 18 до 40 лет. Летальность составила 32,1 %. Летальные исходы у детей наблюдались даже несмотря на раннюю госпитализацию, у одного ребенка симптоматика развивалась в госпитале во время нахождения в изоляции с больной матерью. У двух умерших пациентов зарегистрированы гепатит В (женщина, 30 лет) и малярия (ребенок, 16 мес.).

Продолжительность инкубационного периода удалось установить у четырех больных – от 2 до 11 дней.

Симптоматика болезни, представленная в таблице, была аналогичной данным других наблюдений, опубликованных в литературе. Доминировали интоксикационные проявления в виде лихорадки, слабости, анорексии, болях в мышцах, суставах, головной боли. Обращает на себя внимание относительно частая регистрация, в сравнении с предыдущими эпидемиями диареи, тошноты, рвоты, болей в животе. Возникающие при этом потери жидкости часто приводят к значительному обезвоживанию и нарушению электролитного баланса, без коррекции которых угроза летального исхода возрастает [6, 12].

Как видно из приведенной таблицы, частота встречаемости основных симптомов практически одинакова у умерших и выживших пациентов, за исключением несколько более частой диареи и достоверно большей частоты кровотечений у умерших: у двух из них наблюдалось кровотечение из желудочно-кишечного тракта, в одном случае – вагинальное кровотечение.

Всем пациентам проводилась патогенетическая и симптоматическая терапия согласно рекомендациям ВОЗ [9]. Применялось профилактическое назна-

чение антибиотиков широкого спектра в связи с возможностью активизации бактериальных инфекций на фоне вторичного иммунодефицита, характерного для БВВЭ. Большинству больных требовались противомаларийные препараты. Противовирусное, экспериментальное лечение, вакцинация, переливание плазмы доноров, перенесших БВВЭ, в госпитале не проводилось. Среднее время госпитализации больных БВВЭ составило 5,5 дня, хотя в отдельных случаях оно продолжалось до 15 дней.

Текущая эпидемия БВВЭ в Западной Африке имеет ряд особенностей: низкий уровень экономического развития стран, вовлеченных в эпидемический процесс, включение в эпидемию крупных населенных пунктов и столичных городов, высокий уровень миграции населения, неразвитость системы здравоохранения, активное вовлечение в процесс наиболее работоспособной части населения (от 25 до 50 лет), а также детей. Наиболее уязвимой оказалась группа от 25 до 60 лет (56 и 62 случая на 100 тыс. жителей соответственно) [11]. Затяжной и волнообразный характер эпидемии во многом связан с несвоевременным и не систематичным проведением противоэпидемических мероприятий. Относительно высокую заболеваемость и летальность среди медицинских работников и случаев болезни, связанных с оказанием медицинской помощи, удается предотвратить при создании специализированных стационаров, обучении персонала и наличии в достаточном количестве средств защиты, эффективном госпитальном контроле, о чем свидетельствует опыт НКДЦЭМ.

Некоторые исследователи отмечают как благоприятный для выживания молодой возраст пациентов с БВВЭ [12]. Тем не менее, согласно другим исследованиям [10] и данным НКДЦЭМ, летальные исходы среди детей встречаются чаще, несмотря на наличие сопутствующих болезней у пациентов более старшего возраста.

Клиника болезни характеризуется тяжелым течением и, в отличие от предыдущих эпидемий, отличается более частым поражением желудочно-кишечного тракта, более поздним появлением и несколько меньшей частотой геморрагических симптомов [6, 12]. О возможно неблагоприятном исходе болезни свидетельствовала большая частота кровотечений и наличие диареи с развитием обезвоживания. В этой связи в лечении больных, при отсутствии в настоящее время этиотропных средств, основное значение должно отводиться интенсивной патогенетической терапии.

В условиях идентичности многих симптомов при тяжелом течении ряда инфекций, распространенных в Африке, решающее значение имеет своевременная этиологическая диагностика, позволяющая ограничить контакты и предотвратить избыточную госпитализацию. В данном исследовании только у одного из трех больных подтвержден диагноз БВВЭ, хотя схожие симптомы наблюдались во всех случаях.

Необходимо отметить важность соблюдения

Сравнение симптомов у выживших и умерших от БВВЭ пациентов

Симптомы БВВЭ	Частота регистрации у умерших пациентов (N/%)	Частота регистрации у всех лабораторно подтвержденных пациентов (N/%)
Лихорадка	8/88,9	24/85,7
Тошнота/рвота	4/44,5	13/46,4
Диарея	4/44,5	9/32,1
Слабость	8/88,9	21/75
Анорексия	5/55,6	14/50
Боль в животе	4/44,5	10/35,7
Кашель	1/11,1	3/10,7
Сонливость	1/11,1	-----
Головокружение	1/11,1	-----
Кровотечения	3/33,3	5/17,8
Запор	2/22,2	-----
Гематурия	1/11,1	-----
Боль в груди	2/22,2	5/17,8
Боли в мышцах	-----	7/25
Боли в суставах	-----	4/14,3
Головная боль	-----	6/21,4

противоэпидемического режима в инфекционном стационаре, принимающем больных с подозрением на опасные инфекции. Функционирование российско-гвинейского госпиталя в Киндия под строгим эпидемиологическим контролем показало 100 % профилактирование заражения медицинского персонала при соблюдении правил пользования средствами индивидуальной защиты, обращения с отходами, ротации потока больных и выздоравливающих, организации дезинфекции.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.

1. Платонов А.Е., Платонова О.В., Малеев В.В. Эбола, 2014 г. Эпидемиологические и социальные аспекты. *Эпидемиол. и инф. бол. Актуал. вopr.* 2014; 5:34–49.
2. Руководство по лабораторной диагностике болезни, вызванной вирусом Эбола. Временные рекомендации. 19 сентября 2014. http://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0016/262033/Laboratory-guidance-for-the-diagnosis-of-Ebola-virus-disease-Rus-updated.pdf (дата обращения: 01.07.2015).
3. Щелканов М.Ю., Magassuba N.F., Boiro M.Y., Малеев В.В. Причины развития лихорадки Эбола в Западной Африке. *Лечащий врач.* 2014; 11:30–6.
4. Bwaka M.A., Bonnet M.J., Calain P., Colebunders R., De Roo A., Guimard Y., Katwiri K.R., Kibadi K., Kipasa M.A., Kuvula K.J., Mapanda B.B., Massamba M., Mupapa K.D., Muyembe-Tamfum J.J., Ndaberey E., Peters C.J., Rollin P.E., Van den Enden E. Ebola hemorrhagic fever in Kikwit, Democratic Republic of the Congo: clinical observations in 103 patients. *J. Infect. Dis.* 1999; 179(1):S1–7.
5. Case definition recommendations for Ebola or Marburg virus diseases. 9 August 2014. <http://www.who.int/csr/resources/publications/ebola/ebola-case-definition-contact-en.pdf> (дата обращения: 01.07.2015).
6. Chertow D.S., Kleine C., Edwards J.K., Scaini R., Giuliani R., Sprecher A. Ebola virus disease in West Africa – clinical manifestations and management. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371(22):2054–7.
7. Ebola situation report – 1 July 2015. Geneva: WHO; 2015. Available from: <http://apps.who.int/ebola/current-situation/ebola-situation-report-1-july-2015> (дата обращения 01.07.2015).
8. Ebola virus disease. Fast sheet № 103. Updated April 2015. www.who.int/mediacentre/factsheets/fs103/en (дата обращения 06.08.2015).
9. Manual for the care and management of patients in Ebola Care Units. Community Care Centres. Interim emergency guidance. January 2015. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/149781/1/WHO_EVD_Manual_ECU_15.1_eng.pdf (дата обращения 01.07.2015).
10. Qureshi A.I., Chughtai M., Bah E.I., Barry M., Béavogui K., Loua T.O., Malik A.A. High survival rates and associated factors among Ebola virus disease patients hospitalized at Donka National Hospital, Conakry, Guinea. *J. Vasc. Interv. Neurol.* 2015; 8(1.5):S4–S11.
11. Rapport de la Situation Épidémiologique Maladie a Virus Ebola en Guinée 03 Jul 2015. № 444. <http://guinea-ebov.github.io/sitreps.html> (дата обращения 03.07.2015).
12. Schieffelin J.S., Shaffer J.G., Goba A., Gbakie M., Gire S.K., Colubri A., Sealfon R.S., Kanneh L., Moigboi A., Momoh M., Fullah M., Moses L.M., Brown B.L., Andersen K.G., Winnicki S., Schaffner S.F., Park D.J., Yozwiak N.L., Jiang P.P., Kargbo D., Jalloh S., Fonnies M., Sinnah V., French I., Kovoma A., Kamara F.K., Tucker V., Konuwa E., Sellu J., Mustapha I., Foday M., Yillah M., Kanneh F., Saffa S., Massally J.L., Boisen M.L., Branco L.M., Vandi M.A., Grant D.S., Happi C., Gevaio S.M., Fletcher T.E., Fowler R.A., Bausch D.G., Sabeti P.C., Khan S.H., Garry R.F.; KGH Lassa Fever Program; Viral Hemorrhagic Fever Consortium; WHO Clinical Response Team. Clinical illness and outcomes in patients with Ebola in Sierra Leone. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371(22):2092–100. DOI: 10.1056/NEJMoa1411680.

References

1. Platonov A.E., Platonova O.V., Maleev V.V. [Ebola, 2014. Epidemiological and Social Aspects]. *Epidemiol. Infek. Bol. Aktual. vopr.*

2014; 5:34–49.

2. Laboratory guidance for the diagnosis of Ebola virus disease. 19 Sep 2014 [cited 01 Jul 2015]. Available from: http://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0016/262033/Laboratory-guidance-for-the-diagnosis-of-Ebola-virus-disease-Rus-updated.pdf.

3. Shchelkanov M.Yu., Magassuba N.F., Boiro M.Y., Maleev V.V. [Causes of Ebola fever development in West Africa]. *Lechashchiy Vrach.* 2014; 11:30–36.

4. Bwaka M.A., Bonnet M.J., Calain P., Colebunders R., De Roo A., Guimard Y., Katwiri K.R., Kibadi K., Kipasa M.A., Kuvula K.J., Mapanda B.B., Massamba M., Mupapa K.D., Muyembe-Tamfum J.J., Ndaberey E., Peters C.J., Rollin P.E., Van den Enden E. Ebola hemorrhagic fever in Kikwit, Democratic Republic of the Congo: clinical observations in 103 patients. *J. Infect. Dis.* 1999; 179(1):S1–7.

5. Case definition recommendations for Ebola or Marburg virus diseases. 9 August 2014 [cited 01 Jul 2015]. Available from: <http://www.who.int/csr/resources/publications/ebola/ebola-case-definition-contact-en.pdf>.

6. Chertow D.S., Kleine C., Edwards J.K., Scaini R., Giuliani R., Sprecher A. Ebola virus disease in West Africa – clinical manifestations and management. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371(22):2054–7.

7. Ebola situation report – 1 July 2015. [cited 01 Jul 2015]. Geneva: WHO; 2015. Available from: <http://apps.who.int/ebola/current-situation/ebola-situation-report-1-july-2015>.

8. Ebola virus disease. Fast sheet № 103. Updated April 2015 [cited 06 Aug 2015]. Available from: www.who.int/mediacentre/factsheets/fs103/en.

9. Manual for the care and management of patients in Ebola Care Units. Community Care Centres. Interim emergency guidance. January 2015 [cited 01 Jul 2015]. Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/149781/1/WHO_EVD_Manual_ECU_15.1_eng.pdf.

10. Qureshi A.I., Chughtai M., Bah E.I., Barry M., Béavogui K., Loua T.O., Malik A.A. High survival rates and associated factors among Ebola virus disease patients hospitalized at Donka National Hospital, Conakry, Guinea. *J. Vasc. Interv. Neurol.* 2015; 8(1.5):S4–S11.

11. Rapport de la Situation Épidémiologique Maladie a Virus Ebola en Guinée 03 Jul 2015. N 444. [cited 03 Jul 2015]. Available from: <http://guinea-ebov.github.io/sitreps.html>.

12. Schieffelin J.S., Shaffer J.G., Goba A., Gbakie M., Gire S.K., Colubri A., Sealfon R.S., Kanneh L., Moigboi A., Momoh M., Fullah M., Moses L.M., Brown B.L., Andersen K.G., Winnicki S., Schaffner S.F., Park D.J., Yozwiak N.L., Jiang P.P., Kargbo D., Jalloh S., Fonnies M., Sinnah V., French I., Kovoma A., Kamara F.K., Tucker V., Konuwa E., Sellu J., Mustapha I., Foday M., Yillah M., Kanneh F., Saffa S., Massally J.L., Boisen M.L., Branco L.M., Vandi M.A., Grant D.S., Happi C., Gevaio S.M., Fletcher T.E., Fowler R.A., Bausch D.G., Sabeti P.C., Khan S.H., Garry R.F.; KGH Lassa Fever Program; Viral Hemorrhagic Fever Consortium; WHO Clinical Response Team. Clinical illness and outcomes in patients with Ebola in Sierra Leone. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371(22):2092–100. DOI: 10.1056/NEJMoa1411680.

Authors:

Maleev V.V. Central Research Institute of Epidemiology. 3-a, Novogireevskaya St., Moscow, 111123, Russian Federation. E-mail: maleyev@pcr.ru

Tolno Facely. The National Technical Committee for Monitoring and Control of Ebola in the Republic of Guinea. Conakry, Republic of Guinea.

Konomou K. Victor, Sow Thierno Idy, Levkovsky A.E., Kovalev G.A. Scientific Clinical Diagnostic Center of Epidemiology and Microbiology, Kindia, Republic of Guinea;

Itskov Ya.Yu., Kolomoets E.V. United Company RUSAL (Russian Aluminum). Moscow, Russian Federation.

Demina, Yu.V. Omariev Z.M. 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.

Khoroshilov V.Yu. Territorial Subdivision of the Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare in Saint-Petersburg, in the Nevsky and Krasnogvardeysky Regions, Saint-Petersburg, Russian Federation

Об авторах:

Малеев В.В. Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии. Российская Федерация, 111123, Москва, ул. Новогиреевская, 3-а. E-mail: maleyev@pcr.ru

Толно Фасели. Национальный комитет по борьбе с Эбола Гвинейской Республики. Гвинейская Республика, Конакри.

Конотом К. Виктор, Сов Тиерно Иди, Левковский А.Е., Ковалев Г.А. Научный Клинический Диагностический Центр Эпидемиологии и Микробиологии. Гвинейская Республика, Киндия.

Ицков Я.Ю., Коломоец Е.В. Объединенная Компания РУСАЛ, Российская Федерация, Москва.

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

Хорошилов В.Ю. Территориальный отдел Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по городу Санкт-Петербургу в Невском и Красногвардейском районах. Российская Федерация, Санкт-Петербург.

Поступила 29.07.15.

Н.Д.Пакскина¹, А.Е.Шиянова², Л.Н.Дмитриева², И.Г.Карнаухов², Т.Б.Каравая²

МЕРОПРИЯТИЯ В ОТНОШЕНИИ ЛИЦ, КОНТАКТИРОВАВШИХ С БОЛЬНЫМ ЛИХОРАДКОЙ ЭБОЛА

¹Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация; ²ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация

Важным аспектом при обеспечении противоэпидемической готовности на случай завоза лихорадки Эбола в Российскую Федерацию является определение объема мероприятий в отношении лиц, контактировавших с больным. Проведен анализ опубликованных данных по фактам завоза, приведших к вторичной передаче, мероприятиям, проводимым в отношении контактировавших лиц в неэндемичных странах, возможным путям передачи, наличию вируса в биологическом материале больного, риску заражения на борту самолета. На основе анализа публикаций, рекомендаций ВОЗ, CDC, Роспотребнадзора, с учетом действующих документов представлен примерный порядок действий в отношении лиц, контактировавших с больным в самолете, в том числе включающий эвакуацию людей, подвергшихся повышенному риску инфицирования, с самолета в госпиталь для контактных.

Ключевые слова: противоэпидемические мероприятия, лихорадка Эбола.

N.D.Pakskina¹, A.E.Shiyanova², L.N.Dmitrieva², I.G.Karnaukhov², T.B.Karavaeva²

Activities Undertaken toward Individuals Who Have Been in Contact with Ebola Fever Patient

¹Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Moscow, Russian Federation; ²Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

Significant aspect in the provision of anti-epidemic readiness for Ebola fever importation into the Russian Federation is to determine the scope of measures to be undertaken toward individuals who have been in contact with index case. Analyzed have been the published data on the imported case records resultant in the secondary transmission of the disease; measures, performed in relation to contact persons in non-endemic countries; possible mechanisms of transmission; presence of virus in biological material from an infected individual; risk of exposure to virus onboard the aircraft. Based on the results of the analysis of publications, WHO, CDC and Rosпотребнадзор recommendations, with due consideration of the current regulations, put forward is an approximate procedure for individuals who have been in contact with EVD case onboard the plane, including transportation of persons, exposed to the increased risk of infection into a specialized hospital.

Key words: anti-epidemic measures, Ebola fever.

При обеспечении противоэпидемической готовности на случай завоза лихорадки Эбола в Российскую Федерацию важным аспектом является планирование (разработка сценария) проведения первичных противоэпидемических мероприятий во всех возможных местах выявления больного (подозрительного). В данной работе представлен комплекс мероприятий в отношении лиц, контактировавших с больным лихорадкой Эбола в самолете.

Для определения необходимого объема мероприятий в отношении контактировавших лиц проведен анализ опубликованных данных по фактам завоза, приведших к передаче инфекции в стране прибытия, и мероприятиям, проводимым по отношению к контактировавшим лицам в этих странах, возможным путям передачи, наличию вируса в биологическом материале больного, сохранению инфекционности вируса во внешней среде, риску заражения на борту самолета.

Передача инфекции от завозного случая и проведенные мероприятия в отношении контактировавших лиц. На сегодняшний день имеется несколько описаний ситуаций, когда завоз лихорадки Эбола привел к передаче инфекции в стране

прибытия больного. В 1996 г. [26] больной прибыл из Габона в Йоханнесбург, диагноз поставлен и лабораторно подтвержден уже в больнице. Заразилась медсестра, осуществлявшая уход за больным. Во время авиаперелета у больного отмечены лихорадка и желтуха в нетяжелой форме, прослеживание контактов не проводилось.

В 2014 г. имели место два завоза не связанных друг с другом случаев болезни в Мали из Гвинеи. Первый – 2-летняя девочка – 19 октября с клиническими проявлениями в виде кровотечения из носа выехала автобусом из Гвинеи в Мали, 21 октября была госпитализирована в больницу Fousseyni Daou (г. Kayes) с симптомами: лихорадка (температура 39 °C), кашель, носовое кровотечение, кровь в кале. Тесты на брюшной тиф положительные, 23 октября методом ПЦР выявлена РНК вируса Эбола. Близкоконтактировавших лиц, включая 10 медработников, поместили в карантин (табл. 1). Вторым – 70-летнего жителя Гвинеи перевезли 25 октября в клинику Пастера в Бамако (Мали) с острой почечной недостаточностью. Заразились друг, медсестра и врач, работавшие в клинике Пастера, в дальнейшем также послужившие источником заражения.

Мероприятия в отношении лиц, контактировавших с больным лихорадкой Эбола
(по материалам CDC [10], ВОЗ [29], по данным C.L.McCarty *et al.* [23], C.L.Smith *et al.* [27])

Мероприятия в отношении контактных	США, 2014 г.			Испания, 2014 г.	Мали, 2014 г.		Швейцария, 1994 г.
	Техас	Огайо	Нью-Йорк		1-й случай	2-й случай	
Выявлено контактных, всего	177	164	117	232	118	338	52
Изоляция	27	-	1	15	43	28	н/д
Медицинское наблюдение с ограничением передвижения	68	20	-	-	н/д	н/д	н/д
Медицинское наблюдение	20	144	114	217	н/д	303	н/д
Самоконтроль	н/д	-	2	-	н/д	н/д	н/д

Примечание. н/д – нет данных.

По первым случаям выявлено 338 контактных, из них 28 медицинских работников, контактировавших с первым больным в клинике Пастера, поместили в карантин [20, 21].

22 сентября 2014 г. в Испанию из Сьерра-Леоне репатриировали больного лихорадкой Эбола в госпиталь La Paz-Carlos III, где произошло заражение медсестры, входящей в бригаду, обеспечивающую уход за больным. Ее диагноз подтвердили 6 октября в Испанской Национальной Референс-лаборатории, больная выздоровела. Под наблюдением в течение 21 дня находились 87 контактировавших с заразившимся медработником, 15 из которых поместили в карантин в том же госпитале как подвергшихся высокому риску инфицирования. Кроме того, активный мониторинг проводился в отношении 145 сотрудников госпиталя, бывших в контакте с больным [25, 28].

30 сентября 2014 г. CDC подтвердил диагноз лихорадки Эбола у больного, госпитализированного в Пресвитерианскую больницу в Далласе (штат Техас), симптомы у которого начались через 4 дня после приезда из Либерии. Больной скончался. Заразились две медсестры, ухаживавшие за ним, обе выздоровели [10]. Одна из медсестер совершила авиaperелет из Далласа в Кливленд (штат Огайо) и вернулась обратно за 2 дня до подтверждения диагноза. Поскольку дата начала болезни не была точно определена, даты перелетов включили в потенциально инфекционный период, и работа местных органов здравоохранения и CDC была направлена на выявление всех пассажиров и членов экипажа на этих двух рейсах и организацию их опроса и мониторинга по мере необходимости. Перемещения и деятельность больной выявлены и подтверждены в ходе бесед с ней и с контактировавшими лицами, а также на основании данных авиакомпании.

C.L.McCarty *et al.* [23] отмечают более строгий подход в выделении групп риска заражения в Огайо по сравнению с рекомендованным CDC [16]. Лица с высоким риском инфицирования (находившиеся в радиусе 1 м от пациента и в том же замкнутом пространстве в течение 1 ч или более) проходили активный мониторинг 2 раза в день местными органами здравоохранения с ограничением передвижения, из них трое детей подверглись домашнему карантину.

В Далласе поместили в изоляцию с соблюдением юридической процедуры двух работников скорой медпомощи и пятерых контактировавших из числа населения, а также 20 медработников – добровольно; 68 медработников ограничили в передвижении – запретили посещение общественных мест, магазинов, ресторанов, дальние поездки общественным транспортом; 20 контактировавших из числа населения были под наблюдением, в том числе 8 взрослых временно отстранены от работы работодателями, 8 детей не посещали школы, детские сады или ясли во время 21-дневного мониторинга [27]. В данной ситуации при выявлении контактных в самолетах (эпидемиологическом обследовании) CDC расширил существовавший протокол, включив всех пассажиров рейса, не ограничиваясь пассажирами, которые находились в радиусе 1 м от больного в течение длительного времени [24].

24 октября CDC подтвердил диагноз у больного в Нью-Йорке, вернувшегося из Гвинеи, где он работал в команде «Врачи без границ». Пациент выздоровел. Невесту больного поместили в карантин в тот же госпиталь, где лечился больной, двое друзей-медработников прошли добровольный домашний карантин.

В 1994 г. имел место авиaperелет уже болеющего лихорадкой Эбола – репатриация пациента из Кот-д'Ивуар в Швейцарию. В Швейцарии определено 52 контактных, в том числе 4 члена экипажа, 8 членов семьи и друзей, персонал госпиталя. Все были серологически обследованы с отрицательным результатом [12].

Таким образом, имеющиеся данные показывают различный объем проводимых мероприятий в отношении контактных в разных странах: только медицинское наблюдение, в том числе с проведением серологического обследования, самоконтроль, помещение близконтактировавших лиц в изоляцию (карантин).

Риск заражения на борту самолета. Оценка рисков, связанных с передачей инфекционных болезней на борту самолета, в том числе лихорадок Ласса, Эбола и Марбург, проводилась Европейским центром по профилактике и контролю болезней (ECDC) в рамках проекта «Оценка рисков. Руководство для

инфекционных болезней, передающихся на воздушном транспорте» (RAGIDA), начатого в 2007 г. [18]. Результатом стал вывод об отсутствии доказательств передачи этих лихорадок во время авиаперелетов. Среди учитываемых международной экспертной комиссией аспектов были анализ литературных данных и исследования микробного загрязнения воздуха в салоне. Оснащение большинства самолетов системой вентиляции со значительным темпом воздухообмена – с кратностью до 20 в час во время полета – и фильтрацией через набор фильтров твердых частиц высокой эффективности (снимают до 99,97 % переносимых по воздуху частиц от 0,1 до 0,3 мкм в диаметре) обеспечивает лучшее качество воздуха в кабине, чем в большинстве зданий (размер вируса Эбола $0,08 \times 0,95$ мкм).

При наличии нескольких случаев ВКГЛ с клиническими проявлениями во время авиаперелетов, описанных в литературе и проанализированных RAGIDA, нет документально подтвержденной информации о передаче инфекции на борту самолета. Как имеющие непосредственный контакт с больным участниками RAGIDA названы члены экипажа, обслуживающие кабину с больным, и пассажиры, расположенные в прямой близости – +/- 1 место во всех четырех направлениях от больного, а также, если больной сидел на месте у прохода, пассажир, сидящий на первом месте через проход.

Однако при фактическом решении о необходимости выявления контактных лиц (пассажиров и экипажа) и масштабах мер в отношении них участники RAGIDA рекомендовали учитывать не только риск инфицирования и имеющиеся научные данные о передаче болезни, но и такие аспекты как тяжесть болезни, возможности системы общественного здравоохранения, доступность лечения [13].

В период текущей эпидемии в Западной Африке Всемирная организация здравоохранения ужесточила более ранние рекомендации [5], отнеся к лицам с повышенным риском заражения во время авиаперелета пассажиров, сидевших не только рядом с больным (+1/-1 место), но и пассажиров через 1 сиденье от больного (помимо членов экипажа и лиц, отмечавших непосредственный контакт) [6].

Пути передачи, наличие вируса в биологическом материале больного и сохранение инфекционности во внешней среде. Полиорганотропность вируса Эбола обуславливает его наличие и выделение со многими биологическими жидкостями организма. По данным ВОЗ [7] и CDC [11, 25], самыми заразными являются кровь, кал и рвотные массы. Вирус обнаруживается в крови только после появления симптомов, в первую очередь, лихорадки. Вирусный антиген и РНК могут быть обнаружены в крови с 3-го дня и до 7–16-го дня после появления симптомов [22]. Вирус (культура или РНК вируса – методом ОТ-ПЦР) выявили в моче, слизи носоглотки, грудном молоке, сперме, вагинальном секрете, слюне, поте. D.G.Bausch *et al.* [9] показали выделение виру-

са в слюне с начала виремии и до 8-го дня болезни, а также однократный положительный результат ПЦР при анализе мазка с кожи больного. Наличие в биологической жидкости крови усиливает вероятность инфицирования [13].

Тропизм вируса к тканям дыхательной системы показан R.V.Martines *et al.* [22] в обзоре патологоанатомической картины болезни, а также в экспериментальных исследованиях [31] по аэрозольному введению вируса Судан приматам, приведшему к тяжелому течению болезни.

Кроме того, показано эпидемиологическое значение длительности контакта: при расследовании семейных вспышек выявлено, что при кратковременном соприкосновении с больным заболело 23 %, при тесном и длительном (уход за больным) – 81 % лиц [3].

Непрямой контактный путь заражения обусловлен достаточной устойчивостью вируса во внешней среде. Как пример S.P.Leon-Rosales *et al.* [19], со ссылкой на исследования T.J.Piercy *et al.*, (2010 г.) приводят сохранение через 90 мин вирулентности, достаточной для развития болезни, а количество вирусов на сухой поверхности (стекле или пластике) при низкой температуре может превысить минимальную инфекционную дозу в 1000 раз. По данным CDC, вирус на поверхностях может оставаться заразным от нескольких часов до нескольких дней [15, 25]. По данным ВОЗ [15], ограниченные лабораторные исследования (J.L.Sagripanti *et al.*, 2010, 2011) показали жизнеспособность вируса на твердых поверхностях с медленным снижением его концентрации в течение нескольких дней, в благоприятных условиях (в органических остатках) вирус Эбола может оставаться активным до шести дней. Однако D.G.Bausch *et al.* [9] при исследовании объектов внешней среды, находившихся в окружении больных, путем амплификации нуклеиновых кислот не обнаружили вирус ни в одном из 33 образцов, взятых с участков без видимых следов крови.

Воздушно-капельный путь передачи остается спорным. Отсутствуют документально зафиксированные факты заражения лиц, находившихся с больным в одном помещении, но не имевших тесного контакта с ним. С другой стороны, имеется ряд экспериментальных исследований, показывающих возникновение болезни в результате аэрозольного заражения у приматов [17], грызунов [30], передачу вируса Заир от свиней макакам без прямого контакта [32]. S.P.Leon-Rosales *et al.* [19] допускают опасность для заражения аэрозольного воздействия, учитывая низкую инфекционную дозу (достаточно 10 вирусных частиц), сохранение вирусом инфекционных свойств в воздухе и возможность наличия вируса в воздухе в связи с генерированием больным аэрозолей и капель при рвоте, кашле, а также образованием брызг и аэрозолей во время медицинских процедур (бронхоскопия, интубация), при погружении шприцев и т.д.

В США [14] для ведения госпитализирован-

ных больных с подтвержденной или предполагаемой лихорадкой Эбола рекомендуются меры предосторожности, стандартные для случаев контактной и воздушно-капельной передачи инфекции. Отечественные ученые [2, 3, 8] склоняются к тому, что аэрозольный механизм передачи инфекции предположителен.

С позиции определения необходимых противоэпидемических мер наличие вируса в слюне и слывах с носоглотки дает возможность предположить передачу вируса при кашле, приводящем к воздействию брызг на незащищенную кожу или слизистые оболочки. Возможно, для реализации воздушно-капельного пути необходимо больше времени, чем для контактного, при условии нахождения на расстоянии не более метра от больного, что имеет место лишь при уходе за ним.

Несмотря на отсутствие случаев заражения на борту самолета и незначительный риск инфицирования в целом, такие факторы как тяжесть течения болезни и отсутствие средств лечения определяют возможность некоторой чрезмерности противоэпидемических мероприятий в случае выявления больного, в том числе принятия строгих мер – изоляции – в отношении контактировавших лиц. Представленные ниже мероприятия ориентированы именно на максимальный объем действий в отношении контактных (табл. 2).

Лица, подвергшиеся повышенному риску инфицирования, подлежат помещению в изолятор для контактных и медицинскому наблюдению на 21-й день.

К ним отнесены пассажиры, сидевшие в одном ряду с больным, в двух рядах впереди и двух рядах позади него (+2/-2 место), бортпроводники, лица, у которых установлен контакт с биологическими выделениями больного (прямое попадание на одежду и открытые части тела крови, рвотных масс, воздушного потока при чихании, кашле, или не прямое – контакт с загрязненными поверхностями, вещами больного). Эпидемиологически оправдано, учитывая наличие минимального инкубационного периода, изоляцию контактных лиц проводить уже после получения положительных результатов лабораторного исследования материала от больного; до этого при диагнозе «лихорадка неясной этиологии» – медицинское наблюдение по месту жительства (пребывания в стране). Весь багаж подлежит обязательной дезинфекции до выдачи пассажирам.

Ниже представлен порядок действий в отношении контактных лиц, обобщенный с учетом действующих документов [1, 4] и личного опыта участия в учениях по проведению мероприятий в случае выявления больного ООИ:

- сбор специалистами Роспотребнадзора (СКП) эпидемиологического анамнеза, заполненных анкет прибывающего в Российскую Федерацию с проверкой правильности и полноты их заполнения, термометрия – при проведении санитарно-карантинного контроля на борту самолета;

- определение лиц, подвергшихся повышенному риску инфицирования, с последующей их эвакуацией в госпиталь для контактных эвакуотранспортом (опре-

Таблица 2

Объем мероприятий в отношении лиц, контактировавших с больным лихорадкой Эбола на транспортных средствах в пути следования, в стационаре

Вид транспорта, стационар	Лица, подлежащие изоляции на срок инкубационного периода	Лица, подлежащие медицинскому наблюдению
Морские, речные суда	Лица (пассажиры, члены экипажа), находившиеся в контакте с больным или его выделениями*	Остальные лица, не находившиеся в непосредственном контакте
Авиатранспорт	Лица, находившиеся в непосредственном контакте с больным или его выделениями; пассажиры, сидящие в том же ряду, в двух рядах впереди и двух рядах позади больного**, бортпроводники (кабинный экипаж)	Летный экипаж, остальные пассажиры
Железнодорожный транспорт	Пассажиры всего вагона; проводники вагона; все возможные контактировавшие (прямой и не прямой контакт) с больным или его вещами в других вагонах	Пассажиры вагона***, других вагонов, которые посещал больной; пассажиры других вагонов, посещавшие вагон с больным
Автотранспорт	Все пассажиры и водители	—
Стационар, поликлиника	Медработники, выявившие больного, осуществлявшие обследование, лечение и уход без средств индивидуальной защиты; персонал, осуществлявший уборку палаты и мест, посещавшихся больным; персонал лабораторий (клинико-диагностической, серологической, биохимической, бактериологической), проводивший исследования биологического материала от больного; соседи по палате; члены семьи и все посетители палаты; другие лица, находившиеся в контакте с больным или его выделениями	Остальные лица, не находившиеся в непосредственном контакте

*Члены экипажа, проводившие уборку в каюте, соседи по каюте, пассажиры, сидевшие за одним столом при приеме пищи и т.д.

**Ряды кресел до продольного прохода. Если место больного находится с краю от прохода, целесообразно к близконтактировавшим отнести также пассажиров, сидящих на ближайших местах через проход – по одному месту в том же ряду, в одном ряду впереди и одном ряду сзади.

***Если установлено, что они пользовались туалетом, не посещаемым больным, и непосредственно не общались с больным.

деленным Комплексным планом мероприятий по санитарной охране территории субъекта Российской Федерации), подлежащим затем дезинфекции; одежда также подлежит дезинфекции;

- уточнение у лиц, подлежащих медицинскому наблюдению, места пребывания на территории России (фактический адрес пребывания, адрес регистрации, паспортные данные);

- проведение как можно раньше (перед выходом из самолета) экстренной неспецифической личной профилактики (обработка кожи рук, лица, слизистых рта и горла 70 % этиловым спиртом, глаз, носа – 2 % раствором борной кислоты [1]);

- информирование территориальных органов Роспотребнадзора и здравоохранения о прибывших пассажирах для установления за ними медицинского наблюдения в течение 21 дня;

- в случае транзитных пассажиров информация передается в территориальные органы Роспотребнадзора других субъектов Российской Федерации, куда они убывают для организации за ними медицинского наблюдения;

- территориальные медицинские организации осуществляют медицинское наблюдение в течение 21 дня. В случае появления признаков инфекционной болезни, а также по истечению сроков медицинского наблюдения, о его результатах информация передается в территориальные органы Роспотребнадзора и здравоохранения для организации (при необходимости) и контроля за проведением противоэпидемических мероприятий.

Таким образом, анализ материалов ВОЗ, CDC, информации Роспотребнадзора позволил обосновать применимость в Российской Федерации в настоящее время при выявлении больного, подозрительного на лихорадку Эбола, мероприятий, максимальный объем которых ориентирован на возможность ограниченной воздушно-капельной передачи инфекции.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности) СП 1.3.3118-13. М.; 2014. 196 с.
2. Борисевич С.В., Храмов Е.Н., Ковтун А.Л., редакторы. Неэндемические и экзотические вирусные инфекции: этиология, диагностика, индикация и профилактика. М.: Комментарий; 2014. 235 с.
3. Брико Н.И., Зуева Л.П., Покровский В.И., Сергиев В.П., Шкарин В.В. Эпидемиология. Т. 2. М.: ООО «Медицинское информационное агентство»; 2013. 656 с.
4. Организация и проведение первичных противоэпидемических мероприятий в случае выявления больного (трупа), подозрительного на заболевание инфекционными болезнями, вызывающими чрезвычайные ситуации в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения. МУ 3.4.2552-09. М.; 2009. 153 с.
5. Оценка рисков, связанных с поездками и транспортом: руководство для органов общественного здравоохранения и транспортного сектора. ВОЗ, 2014. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/132168/8/WHO_EVD_Guidance_TravelTransportRisk_14.1_rus.pdf (дата обращения 08.04.2015).
6. Промежуточное руководство ВОЗ по управлению мероприятиями по предотвращению распространения лихорадки Эбола в пунктах въезда. ВОЗ, 2014. WHO/EVD/Guidance/PoE/14.1.

http://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0018/262026/Ebola-event-management-at-points-of-entry-Interim-guidance-Rus.pdf (дата обращения 16.04.2015).

7. Что мы знаем о передаче вируса Эбола от человека человеку. Оценка ситуации 6 октября 2014 г. <http://www.who.int/mediacentre/news/ebola/06-october-2014/ru> (дата обращения 11.03.2015).

8. Шкарин В.В., Ковалишена О.В. Новые инфекции: систематизация, проблемы, перспективы. Н. Новгород: НГМА; 2012. 512 с.

9. Bausch D.G., Towner J.S., Dowell S.F., Dowell S.F., Kaducu F., Lukwiya M., Sanchez A., Nichol S.T., Ksiazek T.G., Rollin P.E. Assessment of the Risk of Ebola Virus Transmission from Bodily Fluids and Fomites. *J. Infect. Dis.* 2007; 2(196):142–7. DOI: 10.1086/520545.

10. Cases of Ebola diagnosed in the United States. Centers for Disease Control and Prevention. <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/outbreaks/2014-west-africa/united-states-imported-case.html> (дата обращения 28.05.2015).

11. Ebola Virus Disease. Transmission. Centers for Disease Control and Prevention. http://www.cdc.gov/vhf/ebola/transmission/index.html?s_cid=cs_3923 (дата обращения 21.05.2015).

12. Formenty P., Hatz C., Le Guenno B., Stoll A., Rogenmoser P., Widmer A. Human infection due to Ebola virus, subtype Cote d'Ivoire: clinical and biologic presentation. *J. Infect. Dis.* 1999; 1(179):S48–53.

13. Gilsdorf A., Morgan D., Leitmeyer K. Guidance for contact tracing of cases of Lassa fever, Ebola or Marburg hemorrhagic fever on an airplane: results of a European expert consultation. *BMC Public Health.* 2012; 12:1014. DOI: 10.1186/1471-2458-12-1014.

14. Infection Prevention and Control Recommendations for Hospitalized Patients Under Investigation (PUIs) for Ebola Virus Disease (EVD) in U.S. Hospitals. Centers for Disease Control and Prevention. <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/hcp/infection-prevention-and-control-recommendations.html> (дата обращения 21.05.2015).

15. Interim guidance for environmental infection control in hospitals for Ebola virus. Centers for Disease Control and Prevention. <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/hcp/environmental-infection-control-in-hospitals.html> (дата обращения 29.04.2015).

16. Interim U.S. Guidance for Monitoring and Movement of Persons with Potential Ebola Virus Exposure. Centers for Disease Control and Prevention. <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/exposure/monitoring-and-movement-of-persons-with-exposure.html> (дата обращения 29.04.2015).

17. Johnson E., Jaax N., White J., Jahrling P. Lethal experimental infections of rhesus monkeys by aerosolized Ebola virus. *Int. J. Exp. Pathol.* 1995; 76(4):227–36.

18. Leitmeyer K. European risk assessment guidance for infectious diseases transmitted on aircraft - the RAGIDA project. *Euro Surveill.* 2011; 16(16):pii19845.

19. Leon-Rosales S.P., Arredondo-Hernandez R., Macias A., Wenzel R.P. Ebola, through air or not through air: that is the question. *Frontiers in Public Health.* 2015; 2:292. DOI: 10.3389/fpubh.2014.00292.

20. Mali confirms its first case of Ebola. Ebola situation assessment. 24 October 2014. <http://www.who.int/mediacentre/news/ebola/24-october-2014/en> (дата обращения 22.04.2015).

21. Mali confirms its second fatal case of Ebola virus disease. Ebola situation assessment. 12 November 2014. <http://www.who.int/mediacentre/news/ebola/12-november-2014-mali/en> (дата обращения 22.05.2015).

22. Martinez R.B., Ng D.L., Greer P.W., Rollin P.E., Zaki S.R. Tissue and cellular tropism, pathology and pathogenesis of Ebola and Marburg viruses. *J. Pathol.* 2015; 235(2):153–74. DOI:10.1002/path.4456.

23. McCarty C.L., Basler C., Karwowski M., Erme M., Nixon G., Kippes C., Allan T., Parrilla T., DiOrio M., Fijter S., Stone N.D., Yost D.A., Lippold S.A., Regan J.J., Honein M.A., Knust B., Braden C. Response to Importation of a Case of Ebola Virus Disease. Ohio, October 2014. *MMWR Morb. Mortal Wkly Rep.* 2014; 63(46):1089–91.

24. Regan J.J., Jungerman R., Montiel S.H., Newsome K., Objio T., Washburn F., Roland E., Petersen E., Twentyman E., Olaiya O., Naughton M., Alvarado-Ramy F., Lippold S.A., Tabony L., McCarty C.L., Kinsey C.B., Barnes M., Black S., Azzam I., Stanek D., Sweitzer J., Valiani A., Kohl K.S., Brown C., Pesik N. Public Health Response to Commercial Airline Travel of a Person with Ebola Virus Infection. United States, 2014. *MMWR Morb. Mortal Wkly Rep.* 2015; 64(3):63–6.

25. Review of Human-to-Human Transmission of Ebola Virus. <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/transmission/human-transmission.html> (дата обращения 28.05.2015).

26. Sidley P. Fears over Ebola spread as nurse dies. *BMJ.* 1996; 313(7069):1351.

27. Smith C.L., Hughes S.M., Karwowski M.P., Chevalier M.S., Hall E., Joyner S.N., Ritch J., Smith J.C., Weil L.M., Chung W.M., Schrag S., Santibañez S. Addressing Needs of Contacts of Ebola

Patients During an Investigation of an Ebola Cluster in the United States – Dallas, Texas, 2014. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2015; 64(05):121–3.

28. WHO congratulates Spain on ending Ebola transmission. 2 December 2014. <http://www.who.int/mediacentre/news/statements/2014/spain-ends-ebola/en> (дата обращения 29.04.2015).

29. WHO Releases New Details About Additional Cases of Ebola Virus Disease in Mali. <http://www.infectioncontroltoday.com/News/2014/11/WHO-Releases-New-Details-About-Additional-Cases-of-Ebola-Virus-Disease-in-Mali.aspx> (дата обращения 29.04.2015).

30. Zumbun E.E., Abdeltawab N.F., Bloomfield H.A., Chance T.B., Nichols D.K., Harrison P.E., Kotb M., Nalca A. Development of a murine model for aerosolized ebolavirus infection using a panel of recombinant inbred mice. *Viruses*. 2012; 4(12):3468–93. DOI: 10.3390/v4123468.

31. Zumbun E.E., Bloomfield H.A., Dye J.M., Hunter T.C., Dabisch P.A., Garza N.L., Bramel N.R., Baker R.J., Williams R.D., Nichols D.K., Nalca A. A Characterization of Aerosolized Sudan Virus Infection in African Green Monkeys, *Cynomolgus* Macaques, and Rhesus Macaques. *Viruses*. 2012; 4(10):2115–36. DOI: 10.3390/v4102115.

32. Weingartl H.M., Embury-Hyatt C., Nfon C., Leung A., Smith G., Kobinger G. Transmission of Ebola virus from pigs to non-human primates. *Sci. Rep.* 2012; 2:811. DOI: 10.1038/srep00811.

References

1. [Safety of Works with Microorganisms of the I-II Groups of Pathogenicity (Hazard)]. Sanitary Regulations 1.3.3118-13. M.: 2014. 196 p.

2. Borisevich S.V., Khranov E.N., Kovtun A.L., editors. [Non-endemic and exotic viral infections: etiology, diagnostics, indication, and prophylaxis]. M.: 2014. 235 p.

3. Briko N.I., Zueva L.P., Pokrovsky V.I., Sergiev V.P., Shkarin V.V. [Epidemiology. Volume 2] M.: 2013. 656 p.

4. [Management of the primary anti-epidemic measures in case of detection of an ill (dead) person suspicious for infectious diseases, which trigger emergency situations in the sphere of sanitary-epidemiological welfare of the population]. MR 3.4.2552-09. M.: 2009. 153 p.

5. [Travel and transport risk assessment: guidance for public health authorities and the transport sector]. WHO, 2014. [cited 08 Apr 2015]. Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/132168/8/WHO_EVD_Guidance_TravelTransportRisk_14.1_rus.pdf.

6. [Ebola event management at points of entry. Interim Guidance]. WHO/EVD/Guidance/PoE/14.1. WHO, 2014 [cited 16 Apr 2015]. Available from: http://www.euro.who.int/data/assets/pdf_file/0018/262026/Ebola-event-management-at-points-of-entry-Interim-guidance-Rus.pdf.

7. [What we know about transmission of the Ebola virus among humans. Ebola situation assessment]. October 6, 2014 [cited 11 Mar 2015]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/news/ebola/06-october-2014/en>.

8. Shkarin V.V., Kovalishina O.V. [Emerging Infections: Systematization, Challenging Issues, and Prospective]. N. Novgorod; 2012. 512 p.

9. Bausch D.G., Townner J.S., Dowell S.F., Dowell S.F., Kaducu F., Lukwiyi M., Sanchez A., Nichol S.T., Ksiazek T.G., Rollin P.E. Assessment of the Risk of Ebola Virus Transmission from Bodily Fluids and Fomites. *J. Infect. Dis.* 2007; 2(196):142–7. DOI: 10.1086/520545.

10. Cases of Ebola diagnosed in the United States. Centers for Disease Control and Prevention. [cited 28 May 2015]. Available from: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/outbreaks/2014-west-africa/united-states-imported-case.html>.

11. Ebola Virus Disease. Transmission. Centers for Disease Control and Prevention. [cited 21 May 2015]. Available from: http://www.cdc.gov/vhf/ebola/transmission/index.html?s_cid=cs_3923.

12. Formenty P., Hatz C., Le Guenno B., Stoll A., Rogenmoser P., Widmer A. Human infection due to Ebola virus, subtype Cote d'Ivoire: clinical and biologic presentation. *J. Infect. Dis.* 1999; 1(179):S48–53.

13. Gilsdorf A., Morgan D., Leitmeyer K. Guidance for contact tracing of cases of Lassa fever, Ebola or Marburg haemorrhagic fever on an airplane: results of a European expert consultation. *BMC Public Health*. 2012; 12:1014. DOI: 10.1186/1471-2458-12-1014.

14. Infection Prevention and Control Recommendations for Hospitalized Patients Under Investigation (PUIs) for Ebola Virus Disease (EVD) in U.S. Hospitals. Centers for Disease Control and Prevention. [cited 21 May 2015]. Available from: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/hcp/infection-prevention-and-control-recommendations.html>.

15. Interim guidance for environmental infection control in hospitals for Ebola virus. Centers for Disease Control and Prevention. [cited 29 Apr 2015]. Available from: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/hcp/environmental-infection-control-in-hospitals.html>.

16. Interim U.S. Guidance for Monitoring and Movement of Persons with Potential Ebola Virus Exposure. Centers for Disease Control and

Prevention. [cited 29 Apr 2015]. Available from: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/exposure/monitoring-and-movement-of-persons-with-exposure.html>.

17. Johnson E., Jaax N., White J., Jahrling P. Lethal experimental infections of rhesus monkeys by aerosolized Ebola virus. *Int. J. Exp. Pathol.* 1995; 76(4):227–36.

18. Leitmeyer K. European risk assessment guidance for infectious diseases transmitted on aircraft – the RAGIDA project. *Euro Surveill.* 2011; 16(16):pii19845.

19. Leon-Rosales S.P., Arredondo-Hernandez R., Macias A., Wenzel R.P. Ebola, through air or not through air: that is the question. *Frontiers in Public Health*. 2015; 2:292. DOI: 10.3389/fpubh.2014.00292.

20. Mali confirms its first case of Ebola. Ebola situation assessment. 24 October 2014 [cited 22 Apr 2015]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/news/ebola/24-october-2014/en>.

21. Mali confirms its second fatal case of Ebola virus disease. Ebola situation assessment. 12 November 2014 [cited 22 May 2015]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/news/ebola/12-november-2014-mali/en>.

22. Martinez R.B., Ng D.L., Greer P.W., Rollin P.E., Zaki S.R. Tissue and cellular tropism, pathology and pathogenesis of Ebola and Marburg viruses. *J. Pathol.* 2015; 235(2):153–74. DOI:10.1002/path.4456.

23. McCarty C.L., Basler C., Karwowski M., Erme M., Nixon G., Kippes C., Allan T., Parrilla T., DiOrto M., Fijter S., Stone N.D., Yost D.A., Lippold S.A., Regan J.J., Honein M.A., Knust B., Braden C. Response to Importation of a Case of Ebola Virus Disease. Ohio, October 2014. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2014; 63(46):1089–91.

24. Regan J.J., Jungerman R., Montiel S.H., Newsome K., Objio T., Washburn F., Roland E., Petersen E., Twentyman E., Olaiya O., Naughton M., Alvarado-Ramy F., Lippold S.A., Tabony L., McCarty C.L., Kinsey C.B., Barnes M., Black S., Azzam I., Stanek D., Sweitzer J., Valiani A., Kohl K.S., Brown C., Pesik N. Public Health Response to Commercial Airline Travel of a Person with Ebola Virus Infection. United States, 2014. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2015; 64(3):63–6.

25. Review of Human-to-Human Transmission of Ebola Virus. [cited 28 May 2015]. Available from: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/transmission/human-transmission.html>.

26. Sidley P. Fears over Ebola spread as nurse dies. *BMJ*. 1996; 313(7069):1351.

27. Smith C.L., Hughes S.M., Karwowski M.P., Chevalier M.S., Hall E., Joyner S.N., Ritch J., Smith J.C., Weil L.M., Chung W.M., Schrag S., Santibañez S. Addressing Needs of Contacts of Ebola Patients During an Investigation of an Ebola Cluster in the United States – Dallas, Texas, 2014. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2015; 64(05):121–3.

28. WHO congratulates Spain on ending Ebola transmission. 2 December 2014 [cited 29 Apr 2015]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/news/statements/2014/spain-ends-ebola/en>.

29. WHO Releases New Details About Additional Cases of Ebola Virus Disease in Mali. [cited 29 Apr 2015]. Available from: <http://www.infectioncontroltoday.com/News/2014/11/WHO-Releases-New-Details-About-Additional-Cases-of-Ebola-Virus-Disease-in-Mali.aspx>.

30. Zumbun E.E., Abdeltawab N.F., Bloomfield H.A., Chance T.B., Nichols D.K., Harrison P.E., Kotb M., Nalca A. Development of a murine model for aerosolized ebolavirus infection using a panel of recombinant inbred mice. *Viruses*. 2012; 4(12):3468–93. DOI: 10.3390/v4123468.

31. Zumbun E.E., Bloomfield H.A., Dye J.M., Hunter T.C., Dabisch P.A., Garza N.L., Bramel N.R., Baker R.J., Williams R.D., Nichols D.K., Nalca A. A Characterization of Aerosolized Sudan Virus Infection in African Green Monkeys, *Cynomolgus* Macaques, and Rhesus Macaques. *Viruses*. 2012; 4(10):2115–36. DOI: 10.3390/v4102115.

32. Weingartl H.M., Embury-Hyatt C., Nfon C., Leung A., Smith G., Kobinger G. Transmission of Ebola virus from pigs to non-human primates. *Sci. Rep.* 2012; 2:811. DOI: 10.1038/srep00811.

Authors:

Pakskina N.D. 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.

Shiyanova A.E., Dmitrieva L.N., Karnaukhov I.G., Karavaeva T.B. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Об авторах:

Пакскина Н.Д. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Российская Федерация, 127994, Москва, Вадковский переулок, дом 18, строение 5 и 7.

Шишанова А.Е., Дмитриева Л.Н., Карнаухов И.Г., Караваева Т.Б. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Поступила 28.07.15.

Н.В.Попов, В.А.Сафронов, А.М.Поршаков, В.В.Кутырев

ОЦЕНКА ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ МЕЛКИХ ХИЩНЫХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ В ЦИРКУЛЯЦИИ ВИРУСА ЭБОЛА В ГВИНЕЙСКОЙ РЕСПУБЛИКЕ*ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация*

Целью работы являлась оценка потенциальной роли хищных млекопитающих в циркуляции вируса Эбола на территории Гвинейской Республики. Отмечено совпадение ареалов фоновых видов мелких хищных млекопитающих семейства виверровые с границами распространения эпидемически значимых видов рукокрылых и вируса Эбола в 1976–2014 гг. в странах Западной, Центральной, Восточной и Южной Африки. Обоснована перспективность исследования биологического материала (кровь, пробы внутренних органов) от различных представителей хищных млекопитающих (виверровые, псовые, куны, мангустовые, кошачьи), а также домашних собак для выявления природных очагов лихорадки Эбола. Отмечена необходимость направленного изучения механизма длительного сохранения вируса Эбола в объектах внешней среды, в первую очередь в субстратах дупел деревьев и гротов, используемых в качестве дневных убежищ различными представителями отряда рукокрылых и отряда хищных (сем. виверровые, мангустовые).

Ключевые слова: вирус Эбола, мелкие хищные млекопитающие, рукокрылые, биотопы, объекты внешней среды.

N.V.Popov, V.A.Safronov, A.M.Porshakov, V.V.Kutyrev

Evaluation of Potential Epizootiological Significance of Small Predatory Mammals in Ebola Virus Circulation in the Republic of Guinea*Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation*

The aim of the work is evaluation of potential epizootiological significance of small predatory mammals in Ebola virus circulation in the Republic of Guinea. Registered has been coincidence of the areals of the common species of small predatory mammals of *Viverridae* family with distribution limits of epidemically significant *Chiroptera* species and Ebola virus in 1976–2014 in the countries of West, Central, East and South Africa. Substantiated are prospects of analysis of biological samples (blood, internal organs) from different representatives of predatory mammals (*Viverridae*, *Felidae*, *Canidae*, *Mustelidae*, *Herpestidae*) as well as from domestic dogs, for the purpose to detect natural Ebola fever foci. Pointed out is the necessity of targeted investigation of the mechanism of long-term preservation of Ebola virus in the environmental objects, first of all, in substrates of tree trunks hollows and grotts, which are used as day-time shelters by different representatives of *Chiroptera* and *Carnivora* (families of *Viverridae* and *Herpestidae*).

Key words: Ebola virus, small predatory mammals, *Chiroptera*, biotops, environmental objects.

Ретроспективные данные клинико-эпидемиологических, серодиагностических и сероэпидемиологических исследований, выполненных в Западной Африке в начале 80-х годов XX столетия [1], косвенно подтверждают эндемичность территории Гвинейской Республики по лихорадке Эбола. Однако, несмотря на большой объем полевых и лабораторных исследований, выполненных здесь в 1978–1991 гг. [2, 5], зарегистрировать циркуляцию филовирусов (Эбола, Марбург) в популяциях фоновых видов млекопитающих на территории Гвинейской Республики не удалось. Хотя в 1981–1982 гг. при исследовании методом ИФА 138 сывороток крови сельского населения IgG-антитела к вирусу Эбола выявлены в 11 пробах (7,9 %) [3]. В 1982 г. антитела к вирусам Эбола и Марбург также были обнаружены при исследовании сывороток крови населения Либерии [8]. Позднее, в 2006–2008 гг. при исследовании 253 сывороток крови больных, поступивших в правительственный госпиталь г. Кенема (Сьерра-Леоне) с подозрением на лихорадку Ласса, IgG-антитела к вирусам Эбола и Марбург были обнаружены в 19 (8,6 %) и 8 (3,6 %) пробах соответственно [15]. Более того, в 1994 г. женщина-биолог заразилась во время вскрытия трупа шимпанзе, найденного в национальном парке Тай в Кот-д'Ивуаре. Это был первый случай болезни че-

ловека, связанный с естественно инфицированными обезьянами [10]. Больная выздоровела. С 1994 г. в Африке среди шимпанзе и горилл неоднократно регистрировали вспышки лихорадки Эбола, вызываемые вирусами Заир и Таи Форест.

Все это косвенно свидетельствует о наличии обширного природного очага лихорадки Эбола на территории тропических лесов Гвинеи, Сьерра-Леоне, Либерии, Кот-д'Ивуара. В связи с проблемами диагностики лихорадок Эбола и Марбург в Западной Африке в XX столетии, исключить наличие их скрытых эпидемических проявлений полностью нельзя [15]. Кроме того, многолетняя динамика заболеваемости лихорадками Эбола и Марбург в Западной и Центральной Африке в период 1976–2014 гг. [6] косвенно свидетельствует об относительно низкой частоте передачи их возбудителей из природно-очаговых комплексов к человеку. В пользу отсутствия постоянной циркуляции филовирусов (Эбола, Марбург) в популяциях фоновых видов млекопитающих Западной, Восточной и Центральной Африки свидетельствуют также отрицательные результаты выполненных в 1976–2014 гг. многочисленных вирусологических и серологических исследований полевого материала (около 40 тыс. проб) от различных систематических групп животных [6, 11,

12]. Причем только непосредственно на территории Гвинейской Республики в 1978–1991 гг. методом заражения новорожденных белых мышей исследовано 6664 пробы внутренних органов и крови млекопитающих 9 отрядов: *Primates* (130 экз.), *Chiroptera* (2622), *Artiodactyla* (31), *Pholidota* (2), *Hiracoidea* (9), *Lagomorpha* (11), *Carnivora* (22), *Insectivora* (51), *Rodentia* (3786) [2, 4, 5]. Позднее, в различных странах Западной, Восточной и Центральной Африки неоднократно регистрировали единичные находки фрагментов вирусной РНК и специфические антитела к возбудителю лихорадки Эбола в пробах полевого материала от различных видов млекопитающих [6, 13]. Однако паразитарная система природных очагов лихорадки Эбола так и не установлена.

К настоящему времени в качестве потенциальных резервуаров филовирсов (Марбург, Эбола) в Западной, Центральной и Восточной Африке рассматриваются 17 видов отряда *Chiroptera* – рукокрылых (летучих мышей и крыланов) [6, 13, 14]. Кроме того, первый случай лихорадки Эбола в Гвинейской Республике в 2013 г. также связывают с контактом с летучей мышью *Mops condylurus* [6]. Отмечено также, что *Canis lupus familiaris* – домашние собаки – могут бессимптомно переносить заражение вирусом Эбола [7]. Причем в сельских населенных пунктах Гвинейской Республики, где зарегистрированы вспышки лихорадки Эбола, у собак (более 30 %) также обнаружены специфические антитела к этому вирусу [6]. В связи с этим можно предположить, что роль резервуара вируса Эбола в странах Африки и Юго-Восточной Азии выполняют различные виды мелких хищных млекопитающих, для которых характерно бессимптомное носительство возбудителей целого ряда особо опасных вирусных инфекционных болезней. В частности, в Китае неоднократно регистрировали бессимптомное носительство коронавирусов, близких к тем, которые вызывали здесь в 2003 г. атипичную пневмонию (SARS) у *Chrotogale owstoni* – пальмовой циветты Оутона.

Мелкие хищные млекопитающие являются фоновыми видами лесов и саван Гвинейской Республики, обычны в антропогенных ландшафтах, в том числе и в ближайших окрестностях населенных пунктов. С нашей точки зрения, наибольшее эпизоотологическое значение в циркуляции вируса Эбола здесь имеют многочисленные представители семейства *Viverridae* – виверровые. Среди фоновых видов виверровых на территории Гвинейской Республики зарегистрированы: *Genetta genetta* – обыкновенная генета, *G. thierryi* – западноафриканская генетта, *Nandina binotata* – африканская пальмовая цивета или нандиния, *Civettictis civetta* – африканская циветта и др. [4]. Циветты и генетты всеядны, ведут скрытый, ночной образ жизни. Собственных жилищ или нор не строят. Живут, как правило, в дуплах, пещерах, гротах, корнях крупных деревьев. Нередко эти же биотопы заселяют различные виды рукокрылых. Причем одни и те же биотопы используются, с момента своего формирования, многими поколениями разных видов рукокрылых и хищных млекопитающих. В условиях совместно-

го использования биотопов создаются оптимальные условия для передачи филовирсов через продукты жизнедеятельности. Население использует в пищу различных представителей виверровых. Кроме того, молодые циветты легко одомашниваются. Нередко циветты и генетты становятся добычей полудиких собак в окрестностях сельских населенных пунктов.

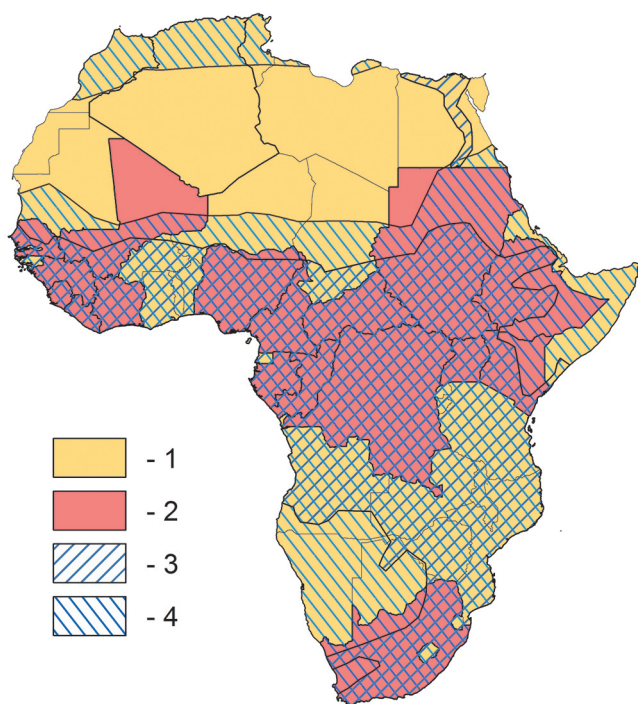
В силу своих экологических особенностей представители семейства *Viverridae* тесно контактируют как с широким спектром видов диких млекопитающих, потенциально зараженных филовирсмами Эбола и Марбург (использование падали в пищу), так и могут служить промежуточным звеном передачи возбудителей инфекционных болезней, в том числе и от рукокрылых к домашним животным и человеку.

Путем последовательного наложения карт ареалов 8 эпидемически значимых видов рукокрылых и 4 фоновых видов виверровых в программе ArcGIS 10.0 была получена итоговая конфигурация территории их распространения на Африканском континенте. В результате установлено, что границы ареалов фоновых видов виверровых в Африке полностью совпадают с границами распространения как эпидемически значимых видов рукокрылых, так и вируса Эбола в 1976–2014 гг. (рисунок).

Среди других представителей отряда *Carnivora* (хищные млекопитающие) определенным интерес, как возможный резервуар вируса Эбола на территории Гвинейской Республики, представляют также различные представители семейства *Canidae* (псовые): *Canus adustus* – полосатый шакал, *Mellivora capensis* – медоед; семейства *Herspestidae* (мангустовые): *Atilax paludinis* – водяной мангуст и *Mungos gambianus* – гамбийский мангуст; *Crossarchus obscurus* – длинноногая кузманза; семейства *Mustelidae* (куны): *Ictonyx striatus* – цорилла или африканский хорек. С нашей точки зрения, исследование биологического материала (кровь, пробы внутренних органов) от различных представителей хищных млекопитающих (виверровые, псовые, куны, мангустовые, кошачьи) и домашних собак является наиболее перспективным тактическим приемом поиска природных очагов лихорадки Эбола на территории Гвинейской Республики.

В свете выдвигаемого положения о большой эпидемиологической значимости представителей отряда хищных в циркуляции вируса Эбола можно также предположить, что первый случай болезни во время текущей эпидемии БВВЭ в Гвинейской Республике в 2013 г. произошел не вследствие гипотетически маловероятного контакта ребенка с летучей мышью *Mops condylurus*, а при общении с домашней собакой или с мелкими хищными млекопитающими (виверровые, мангустовые, куны), которые проникают в жилища человека в поисках многочисленных здесь полусинантропных видов грызунов.

Вполне вероятно, что основой феномена низкой частоты эпидемических проявлений филовирсов является исключительная редкость реализации в природе механизма их попадания в популяции эпидемически значимых видов мелких млекопитающих. В связи с этим особый практический интерес представляет ги-



Современные границы распространения вируса Эбола и потенциальных его резервуаров – мелких хищных млекопитающих (семейство виверровые) и рукокрылых на территории Африканского континента:

1 – территории без регистрации случаев лихорадки Эбола; 2 – государства, на территории которых в 1976–2014 гг. зарегистрированы случаи лихорадки Эбола; 3 – территория совмещения ареалов эпидемически значимых видов крыланов и летучих мышей, в том числе пальмового крылана (*Eidolon helvum*), большого эплетового крылана (*Epomops franqueti*), молотоголового крылана (*Hypsignathus monstrosus*), крылана малого эплетового (*Micropteropus pusillus*), ошейникового крылана (*Myonycteris torquata*), египетского крылана (*Rousettus aegyptiacus*), складчатогуба (*Tadarida condylura*); 4 – территория совмещения ареалов фоновых видов виверровых, в том числе африканской пальмовой циветты (*Nandinia binotata*), африканской циветты (*Civettictis civetta*), обыкновенной генетты (*Genetta genetta*), западноафриканской генетты (*Genetta thierrii*)

потеза вертикальной трансмиссии возбудителей особо опасных инфекционных болезней из почвенной биоты к теплокровным животным [9]. В этом плане весьма актуально изучение возможности сохранения филовирсов во внешней среде, в первую очередь, в простейших, в местах сезонной и многолетней концентрации фоновых видов виверровых и рукокрылых. С нашей точки зрения, именно наличие общей экологической ниши филовирсов с фоновыми видами рукокрылых и виверровых служит отправной точкой в механизме их передачи к теплокровным животным.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бутенко А.М. Ретроспективные данные по изучению лихорадки Эбола в Африке. *Эпидемиол. и инф. бол.* 2015; 20:39–43.
2. Бутенко А.М. Изучение циркуляции арбовирусов в Гвинейской Республике. *Мед. паразитол. и паразитарн. бол.* 1996; 2:40–5.
3. Иванов А.П., Ткаченко Е.А., Ван-дер Гроен Г., Бутенко А.М., Константинов О.К. Непрямой иммуноферментный метод для лабораторной диагностики геморрагических лихорадок Ласса и Эбола. *Вопр. вирусол.* 1986; 2:186–90.
4. Константинов О.К., Инапоги А.П., Лабзин В.В., Попов Н.В. Фауна млекопитающих Гвинейской Республики как резервуаров и носителей возбудителей природно-очаговых инфекций. *Мед. паразитол. и паразитарн. бол.* 2004; 2:20–4.

5. Константинов О.К., Диало С.М., Инапоги А.П., Ба А., Камара С.К. Млекопитающие Гвинеи как резервуары и носители арбовирусов. *Мед. паразитол. и паразитарн. бол.* 2006; 1:34–24.
6. Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Эпидемиология, профилактика и лабораторная диагностика болезни, вызванной вирусом Эбола. Саратов: Буква; 2015. 244 с.
7. Allela L., Boury O., Pouillot R., Délicat A., Yaba P., Kumulungui B., Rouquet P., Gonzalez J.P., Leroy E.M. Ebola virus antibody prevalence in dogs and human risk. *Emerg. Infect. Dis.* 2005; 11:385–90.
8. Knobloch J., Albierz E.J., Schmitz H. A serological survey on viral hemorrhagic fevers in Liberia. *Ann. Virol.* 1982; 2:125–8.
9. Kutyrev V.V., Eroshenko G.A., Popov N.V., Vidyayeva N.A., Konnov N.P. Molecular mechanisms of interactions of plague causative agents with invertebrates. *Mol. genetics, microbiology and virology.* 2009; 24(4):169–76.
10. Le Guenno B., Formenty P., Wyers M., Boesch C. Isolation and partial characterization of a new Ebola strain. *Lancet.* 1995; 345:1271–4.
11. Leroy E.M., Epelboin A., Mondonge V., Pourrut X., Gonzalez J.P., Muyembele-Tamfum J.J., Formenty P. Human Ebola outbreak resulting from direct exposure to fruit bats in Luebo, Democratic Republic of Congo, 2007. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2009; 9(6):723–8.
12. Lahm S.A., Kombila M., Swanepoel R., Barnes R.F. Morbidity and mortality of wild animals in relation to outbreaks of Ebola haemorrhagic fever in Gabon, 1994–2003. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2007; 101:64–78.
13. Olival K.J., Hayman D.T. Filoviruses in bats: current knowledge and future directions. *Viruses.* 2014; 6:1759–88.
14. Pourrut X., Souris M., Towner J.S., Rollin P.E., Nichol S.T., Gonzalez J.P., Leroy E.M. Large serological survey showing cocirculation of Ebola and Marburg viruses in gabonese bat populations and a high seroprevalence of both viruses in *Rousettus aegyptiacus*. *BMC Infect. Dis.* 2009; 9:159. DOI: 10.1186/1471-2334-9-159.
15. Schoepp R.J., Rossi C.A., Khan S.H., Goba A., Fair J.N. Undiagnosed acute viral febrile illnesses, Siero Leone. *Emerg. Infect. Dis.* 2014; 20(7):1176–82.

References

1. Butenko A.M. [Retrospective data on Ebola fever study in Africa]. *Epidemiol. Infekt. Bol.* 2015; 20:39–43.
2. Butenko A.M. [Study of arboviruses circulation in the Republic of Guinea]. *Med. Parazit. Parazit. Bol.* 1996; 2:40–5.
3. Ivanov A.P., Tkachenko E.A., Van-der-Groen G., Иванов А.П., Ткаченко Е.А., Ван-дер-Гроен Г., Butenko A.M., Konstantinov O.K. [Indirect enzyme-linked assay for laboratory diagnosis of hemorrhagic Lassa and Ebola fevers]. *Vopr. Virusol.* 1986; 2:186–90.
4. Konstantinov O.K., Inapogi A.P., Labzin V.V., Popov N.V. [Mammals fauna in the Republic of Guinea as reservoirs and carriers of natural-focal infections]. *Med. Parazit. Parazit. Bol.* 2004; 2:20–4.
5. Konstantinov O.K., Dialo S.M., Inapogi A.P., Ba A., Kamara S.K. [Mammals of Guinea as reservoirs and carriers of arboviruses]. *Med. Parazit. Parazit. Bol.* 2006; 1:34–24.
6. Popova A.Yu., Kutyrev V.V., editors. [Epidemiology, prophylaxis and laboratory diagnostics of Ebola virus disease]. Sartov: Bukva; 2015. 244 p.
7. Allela L., Boury O., Pouillot R., Délicat A., Yaba P., Kumulungui B., Rouquet P., Gonzalez J.P., Leroy E.M. Ebola virus antibody prevalence in dogs and human risk. *Emerg. Infect. Dis.* 2005; 11:385–90.
8. Knobloch J., Albierz E.J., Schmitz H. A serological survey on viral hemorrhagic fevers in Liberia. *Ann. Virol.* 1982; 2:125–8.
9. Kutyrev V.V., Eroshenko G.A., Popov N.V., Vidyayeva N.A., Konnov N.P. Molecular mechanisms of interactions of plague causative agents with invertebrates. *Mol. genetics, microbiology and virology.* 2009; 24(4):169–76.
10. Le Guenno B., Formenty P., Wyers M., Boesch C. Isolation and partial characterization of a new Ebola strain. *Lancet.* 1995; 345:1271–4.
11. Leroy E.M., Epelboin A., Mondonge V., Pourrut X., Gonzalez J.P., Muyembele-Tamfum J.J., Formenty P. Human Ebola outbreak resulting from direct exposure to fruit bats in Luebo, Democratic Republic of Congo, 2007. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2009; 9(6):723–8.
12. Lahm S.A., Kombila M., Swanepoel R., Barnes R.F. Morbidity and mortality of wild animals in relation to outbreaks of Ebola haemorrhagic fever in Gabon, 1994–2003. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2007; 101:64–78.
13. Olival K.J., Hayman D.T. Filoviruses in bats: current knowledge and future directions. *Viruses.* 2014; 6:1759–88.
14. Pourrut X., Souris M., Towner J.S., Rollin P.E., Nichol S.T., Gonzalez J.P., Leroy E.M. Large serological survey showing cocirculation of Ebola and Marburg viruses in gabonese bat populations and a high seroprevalence of both viruses in *Rousettus aegyptiacus*. *BMC Infect. Dis.* 2009; 9:159. DOI: 10.1186/1471-2334-9-159.
15. Schoepp R.J., Rossi C.A., Khan S.H., Goba A., Fair J.N. Undiagnosed acute viral febrile illnesses, Siero Leone. *Emerg. Infect. Dis.* 2014; 20(7):1176–82.

Authors:

Popov N.V., Safronov V.A., Porshakov A.M., Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Об авторах:

Попов Н.В., Сафронов В.А., Поршаков А.М., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Поступила 10.09.15.

А.Ю.Попова^{1,2}, В.А.Сафронов³, М.У.Boiro⁴, Е.В.Куклев³, О.В.Кедрова³, С.К.Удовиченко³, А.А.Лопатин³,
А.С.Раздорский³, Е.Б.Ежлова¹, В.Ю.Смоленский¹, В.В.Кутырев³

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БОЛЕЗНИ, ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ ЭБОЛА, В СТРАНАХ ЗАПАДНОЙ АФРИКИ В 2013–2015 гг.

¹Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация; ²Российская медицинская академия последиplomного образования, Москва, Российская Федерация; ³ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация, ⁴Институт Пастера Гвинеи, Киндия, Гвинейская Республика

В публикации представлены результаты анализа продолжающейся эпидемии лихорадки Эбола в Западной Африке 2013–2015 гг. Определены эпидемиологические особенности, главными из которых являются масштаб распространения эпидемии, социальные причины широкого распространения, регистрация заболеваний БВВЭ на новых территориях Африканского континента – в Западной Африке (Гвинея, Либерия, Сьерра-Леоне), генетическое отличие вируса Эбола от штаммов того же вируса вида *Zaire ebolavirus*, вызвавших предыдущие вспышки, превалирование лихорадочного синдрома над геморрагическим, высокий риск заражения БВВЭ среди медицинских работников. Наиболее вероятными носителями вируса Эбола могут являться крыланы трех видов – *Hypsignathus monstrosus*, *Myonycteris torquata* и *Epomops franqueti*. Выделены ключевые этапы и факторы развития эпидемии БВВЭ.

Ключевые слова: эпидемия БВВЭ, Западная Африка, природный резервуар, противоэпидемические мероприятия, факторы распространения.

A.Yu.Popova^{1,2}, V.A.Safronov³, M.Y.Boiro⁴, E.V.Kouklev³, O.V.Kedrova³, S.K.Udovichenko³, A.A.Lopatin³,
A.S.Razdorsky³, E.B.Ezhlova¹, V.Yu.Smolensky¹, V.V.Kutyrev³

Epidemiological Peculiarities of Ebola Virus Disease Epidemic, 2013–2015 in West Africa Countries

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; ³Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation; ⁴Pasteur Institute of Guinea, Kindia, Republic of Guinea

Represented are the results of analysis of the on-going EVD epidemic, 2013–2015 in West Africa countries. Identified have been epidemiological peculiarities, the principal ones of which are: the scale of epidemic transmission; social factors of widespread occurrence; registration of EVD cases in the new territories of the African continent – West Africa (Guinea, Liberia, Sierra-Leone); genetic distinction between Ebola virus and the strains of the same virus, species *Zaire ebolavirus*, that caused previous outbreaks; prevalence of febrile syndrome over hemorrhagic; high risk of infection with EVD among the healthcare workers. Most probable carriers of Ebola virus may be fruit-bats of the three species – *Hypsignathus monstrosus*, *Myonycteris torquata*, and *Epomops franqueti*. Outlined are the key stages and factors of EVD epidemic development.

Key words: EVD epidemic, West Africa, natural reservoir, anti-epidemic measures, factors of transmission.

Болезнь, вызванная вирусом Эбола (БВВЭ), или лихорадка Эбола, известна с 1976 г., когда первые документально подтвержденные случаи БВВЭ были зарегистрированы в Южном Судане и на севере Заира (Демократическая Республика Конго), где впервые идентифицировали вирус Эбола.

В течение последующих 37 лет (1976–2013 гг.), несмотря на отсутствие средств специфической профилактики и лечения, лихорадка Эбола не представляла собой масштабную проблему для мирового сообщества. В этот период регистрировались периодические вспышки БВВЭ в странах Центральной Африки – Заире (Демократической Республики Конго), Судане, Габоне, Уганде – всего более 20 вспышек с количеством заболевших от 7 до 425 человек. Общее количество больных до возникновения эпидемических осложнений 2014 г. составило 2433 человека, из них 1581 случай закончился летально (65 %).

Текущая эпидемия БВВЭ в Западной Африке берет свое начало в декабре 2013 г., когда в юго-восточном районе Гвинеи (Лесная Гвинея) на границе с Либерией в деревне Meliandou около населенного пункта Guekedou (префектура Guekedou) 26 декабря 2013 г. заболел 1,5-летний мальчик. С симптомами лихорадки, стула с кровью и тошноты ребенок болел до 28 декабря 2013 г. после чего скончался, заразив всю семью. Предположительно ребенок имел контакт с летучими мышами *Mops condylurus*, жившими в дупле дерева в центре деревни [6].

После этого случая инфекция быстро распространилась в соседние деревни. В феврале вирус завезли в столицу Гвинеи Conakry, города Guekedou и Macenta. 10 марта 2014 г. поступили первые сообщения о вспышке неизвестной болезни из больниц и медицинских учреждений в Министерство здравоохранения Гвинеи, а 13 марта – в Региональное бюро

ВОЗ для стран Африки. Эпидемиологическое исследование, проведенное с 14 по 25 марта с участием сотрудников министерства здравоохранения Гвинеи, Регионального бюро ВОЗ для стран Африки и организации «Врачи без границ», позволило установить эпидемиологические связи между зарегистрированными вспышками болезни в различных населенных пунктах. Собранные образцы крови от больных с лихорадкой неясной этиологии послали для анализа в лаборатории Лиона (Франция) и Гамбурга (Германия). 23 марта 2014 г. ВОЗ официально объявила о вспышке БВВЭ в Гвинее. В конце марта стало окончательно ясно, что лихорадка Эбола пересекла границу Гвинеи и распространилась на территорию соседней Либерии. В мае случаи лихорадки Эбола лабораторно подтвердили в Сьерра-Леоне.

Динамика развития эпидемических проявлений БВВЭ в отдельных странах Западной Африки выглядит следующим образом.

Гвинея. Прирост числа новых случаев в Гвинее происходил в марте и до середины апреля 2014 г. с примерной частотой от 3 до 7 случаев в день. К концу мая интенсивность прироста снизилась до 0–1 случая в день. В дальнейшем число случаев вновь стало расти, снижение отмечено в середине июня. С августа 2014 г. определился рост болезни в среднем до 150 и более случаев в неделю. В середине ноября зарегистрировано некоторое снижение прироста новых случаев до 50 в неделю. В декабре 2014 г. в Гвинее на фоне общей тенденции снижения заболеваемости прирост новых случаев составлял около 35 в неделю. С середины февраля отмечена стойкая тенденция снижения еженедельной заболеваемости. В первой половине мая зарегистрировано самое низкое число больных с начала года.

По состоянию на 22 июля 2015 г. зарегистрировано в общей сложности 3783 случая БВВЭ и 2512 случаев смерти (летальность 66,4 %), из них лабораторно подтверждено 3322 и 2062 соответственно (летальность 62,1 %).

Либерия. Первые случаи лихорадки Эбола отмечены 27 марта. Обстановка на протяжении апреля и мая оставалась стабильной. В июне произошел рост заболеваемости со значительным подъемом в середине августа, когда регистрировалось до 500 случаев в неделю. Далее определилось стойкое снижение прироста до 100 и менее в неделю со стабилизацией на этих цифрах в ноябре. В последующем уровень заболеваемости продолжил снижаться. Случаи болезни в Либерии не регистрировались с конца февраля по 20 марта, последний подтвержденный случай отмечен 27 марта. 9 мая 2015 г. ВОЗ официально объявила об окончании эпидемии лихорадки Эбола в Либерии, после чего страна вступила в новый период – режим повышенной бдительности на протяжении 3 месяцев. Однако с 29 июня в графстве Маргиби выявили 6 новых случаев заражения БВВЭ.

В Либерии в общей сложности зарегистрировано 10672 случая БВВЭ и 4808 смертельных исходов

(летальность 45 %). На протяжении всей эпидемии отмечался низкий процент лабораторно подтвержденных случаев (29,5 %). Данные о подтвержденных случаях смертельных исходов отсутствуют.

Сьерра-Леоне. Первые подтвержденные случаи болезни в Сьерра-Леоне зарегистрированы в конце мая. С конца июня и до начала августа отмечался значительный прирост, который определялся несколькими десятками случаев в день и продлился в таком темпе до конца августа. Пик заболеваемости пришелся на ноябрь, когда регистрировалось более 500 случаев в неделю. Тенденция замедления роста заболеваемости в Сьерра-Леоне появилась в конце декабря 2014 г. С начала января отмечено снижение заболеваемости быстрыми темпами. Небольшой рост заболеваемости зарегистрирован в конце января со стабилизацией на уровне от 60 до 100 подтвержденных случаев еженедельно в последующем. С середины марта 2015 г. уровень заболеваемости продолжил снижаться.

В Сьерра-Леоне зарегистрировано в общей сложности 13250 случаев БВВЭ и 3949 случаев смерти (летальность 29,8 %), из них лабораторно подтверждено 8692 и 3583 соответственно (летальность – 41,2 %).

По состоянию на 22 июля 2015 г. зарегистрировано 27705 случаев БВВЭ (в 11,4 раза больше чем за предыдущие 37 лет) и 11269 случаев смерти (включая подтвержденные, вероятные и подозрительные). Летальность составила 40,7 %. Зарегистрированы заносы инфекции в сопредельные страны Африканского региона (Нигерию, Сенегал, Мали) и на другие континенты – в США, Испанию, Италию и Великобританию.

Обращает на себя внимание масштаб распространения эпидемии. По данным Всемирной организации здравоохранения, за период с декабря 2013 г. по конец июля 2015 г. БВВЭ заболело более 27 тыс. человек, более 11 тыс. из них умерло (данные ВОЗ на 22.07.2015 г.). Причины столь широкого распространения – результат сочетания ряда факторов.

Прежде всего, это социально-экономические факторы. Страны пораженного региона (Гвинея, Либерия, Сьерра-Леоне) относятся к беднейшим и наименее благополучным в мире. По оценкам ООН, они занимают последние места из 187 стран мира: Гвинея – 178-е, Сьерра-Леоне – 177-е, Либерия – 174-е [4]. Поэтому неудивительно, что здравоохранение этих стран находится в плачевном состоянии (что напрямую связано с гражданскими войнами, политической нестабильностью и экономическим упадком): на 100 тыс. населения приходится лишь 1–2 врача, не хватает больниц, лабораторий, среднего медицинского персонала, средств индивидуальной защиты и оборудования [7, 8]. Как результат – отсутствие санитарно-эпидемиологического надзора за очагами лихорадки неясной этиологии и позднее начало проведения целенаправленных (против БВВЭ) противоэпидемических мероприятий и выход инфекции в густонаселенные районы Западной Африки.

Можно отметить, что центральноафриканские страны, при аналогично невысоком уровне развития систем здравоохранения, обладают решающим преимуществом в виде прицельной настороженности медицинских работников к появлению больных лихорадкой Эбола. В Демократической Республике Конго до 2014 г. отмечалось уже 7 вспышек БВВЭ, что позволило сформировать устойчивое отношение к проблеме и выработать позитивное понимание противоэпидемических мероприятий как у медицинского персонала, так и у населения.

Среди социальных факторов следует отметить и высокий темп роста численности населения в странах Западной Африки. Только за последние 25 лет население Гвинеи увеличилось в 2,1 раза, Либерии – 2,2, Сьерра-Леоне – 1,6. Рост численности населения неизменно сопровождался усилением антропогенного воздействия на среду обитания. Так, вырубка лесов в Гвинее (площадь лесного покрова сократилась на 83–86 %) привела к тому, что места обитания вероятных носителей вируса Эбола приблизились к населенным пунктам.

С другой стороны, повышение численности городского населения и увеличение его плотности оказали немаловажное значение в распространении вируса от человека к человеку. Так, в Guekedou, где началась эпидемия БВВЭ, плотность населения в 2014 г. составила 533,8 жителей на 1 км², что на порядок выше среднего показателя по Гвинее (46,7 жителей на 1 км²).

Кроме того, в странах Западной Африки отмечается высокий уровень миграционной активности населения, превышающий в 7 раз аналогичный показатель в других регионах мира. По оценкам, 11 % населения Западной Африки проживают за пределами страны рождения, а около 30–40 % – за пределами места рождения [5]. Среди причин высокой мобильности населения в регионе следует отметить:

- прозрачность границ в пределах Экономического сообщества западно-африканских государств (ECOWAS) (Протокол о свободном перемещении 1979 г.);

- колоссальную бедность основной части населения Западной Африки, вынуждающую перемещаться в поисках работы или продуктов питания.

При этом, благодаря строительству новых дорог и росту количества автомобилей, жители Гвинеи и Сьерра-Леоне обладают высокой транспортной доступностью, а среднее время в пути до ближайшего населенного пункта с численностью более 50 тыс. человек составляет не более четырех часов [11]. По этому показателю страны Западной Африки отличаются от центральноафриканского региона, где эпидемические проявления, как правило, не получали распространения в крупных населенных пунктах и локализовались в деревнях географически изолированных районов, что упрощало отслеживание контактных лиц и реализацию ограничительных мероприятий.

В трех наиболее пораженных БВВЭ странах Западной Африки сложились прочные и интенсивные миграционные связи. Так, в Гвинею 58,8 % мигрантов прибывает из Сьерра-Леоне, а 43,8 % – из Либерии. Свободное трансграничное перемещение населения послужило существенным препятствием при проведении мероприятий по локализации очага инфекции. Миграция населения во время эпидемии происходила как на территории, где отмечалась стабилизация эпидемиологической обстановки, с целью получения квалифицированной медицинской помощи в освобождающихся лечебных центрах, так и в родную деревню, для того, чтобы умереть и быть погребенным рядом с могилами предков. Все это затрудняло отслеживание контактных лиц и способствовало возникновению новых цепочек передачи вируса.

Широкому распространению инфекции способствуют местные обычаи и верования. Это и участие в традиционных погребальных обрядах [7], и боязнь мести местных колдунов, и недоверие населения врачам, а иногда и враждебность, и, как следствие, сокрытие больных и контактных от медицинского осмотра и госпитализации, обращение за помощью к народным целителям. Важно и то, что грамотность населения в пораженном БВВЭ регионе не превышает 40–60 % [19] при низком уровне санитарно-гигиенической культуры населения.

Природно-климатические условия также способствовали возникновению эпидемии БВВЭ. Об этом свидетельствуют не только данные о локализации прошлых вспышек БВВЭ в Центральной Африке в пределах $\pm 10^\circ$ широты от экватора [12], но и то, что характерные для риска развития вспышки БВВЭ природные условия сложились в Западной Африке еще в конце 1994 г. [16, 17].

В качестве наиболее вероятных носителей вируса Эбола рассматриваются рукокрылые семейства *Pteropodidae* (крылановые) [1]. Они могут образовывать смешанные колонии, где происходит их первичное заражение вирусом Эбола и возможен обмен различными штаммами. Мигрирующие виды крыланов могут обеспечивать дальние (до 2500 км) заносы различных штаммов вируса Эбола на новые (ранее не очаговые) территории.

Отмечается совпадение ареалов обитания крыланов и мест эпидемических проявлений БВВЭ. К настоящему времени на основе пространственного анализа экологических ниш трех видов крыланов (*Hypsignathus monstrosus*, *Myonycteris torquata* и *Epomops franqueti*) [15] определены 22 страны Африканского континента, относящиеся к зоне повышенного риска возникновения вспышек БВВЭ. Страны, расположенные в регионе риска, разделены на две группы:

- страны с зарегистрированными вспышками и случаями БВВЭ (Гвинея, Либерия, Сьерра-Леоне, Кот-Д'Ивуар, Судан, Габон, Конго, Демократическая Республика Конго, Уганда);

- страны с наиболее вероятной передачей вируса Эбола среди животных (Ангола, Нигер, Буркина-Фасо, Того, Бенин, Камерун, ЦАР, Эфиопия, Танзания, Мозамбик, Гана, Мадагаскар).

Доказано, что заражения людей в природных условиях вирусом Эбола (первичные заражения) представляют собой достаточно редкое событие и возникающие затем вспышки БВВЭ обусловлены передачей инфекции от человека к человеку. В то же время установлены единичные находки маркеров эболавируса методами ПЦР и ИФА у различных видов обезьян, крыланов, летучих мышей, лесных антилоп, дикообразов [10, 14, 18].

Другой особенностью эпидемии 2013–2015 гг. является регистрация эпидемических проявлений инфекции – в Западной Африке (Гвинея, Либерия, Сьерра-Леоне). Характерно и место начала эпидемии – деревня Meliandou префектуры Guekedou. Деревня расположена в Лесной Гвинее, где сходятся границы трех пораженных БВВЭ стран, – один из немногих географических районов, где сохранились влажнотропические леса с ландшафтными зонами галерейного (по берегам рек) или сплошного тропического леса со своим животным миром. При этом в Лесной Гвинее, в отличие от других физико-географических районов республики, проживает много небольших по численности народностей (большая часть которых населяет и соседние страны – Либерию и Сьерра-Леоне), которые отличаются не только вероисповеданием, но и структурой поселений.

Так, в Лесной Гвинее поселения скученные, численность населения деревни не превышает 100 человек. В Верхней Гвинее деревни насчитывают более 1000 человек, в Средней Гвинее, населенной фульбе, поселение состоит из нескольких усадеб, в каждой из которых живет семья. Характерны также особенности ритуалов похоронных обрядов. У мусульман в Приморской, Средней и Верхней Гвинее хоронят на следующий день после смерти, а в Лесной Гвинее похоронный обряд может длиться более месяца.

Именно эти обстоятельства, а также наличие «прозрачных» границ и активная миграция населения пораженных стран, в том числе и трансграничная, способствовали быстрому распространению инфекции, в том числе в столицах стран и среди городского населения [2].

В ходе прошлых вспышек основной причиной первоначального взрывного распространения вируса была внутрибольничная передача инфекции. Передача вируса среди членов местных сообществ играла меньшую роль. Единственным заметным исключением была практика погребения умерших без принятия необходимых мер предосторожности. В Западной Африке после того как в результате широкого распространения вируса внутри местных общин погибло или заразилось большое число людей, целые деревни оказались брошены напуганными жителями, вынужденными спасаться бегством.

Кроме того, в прошлом вспышки Эбола не выходили за пределы отдаленных сельских районов, и в городах было зарегистрировано лишь несколько единичных случаев. В Западной Африке, напротив, крупные города, в том числе столицы всех трех стран – Конакри, Монровия, Фритаун – стали эпицентрами интенсивной передачи вируса. Вспышка БВВЭ в Западной Африке показала, насколько быстро вирус может распространяться, попав в условия городов и густонаселенных трущоб [2].

Эпидемия БВВЭ в странах Западной Африки в 2013–2015 гг. стала беспрецедентной по количеству случаев болезни и смертельных исходов среди медицинских работников. К настоящему времени (по состоянию на 22 июля 2015 г.) зарегистрировано 898 подтвержденных случаев БВВЭ и 517 летальных исходов среди работников здравоохранения (летальность 57,6 %). В Гвинее, Либерии и Сьерра-Леоне заболело 879 медицинских работников, 510 из них умерло (58,0 %). В Нигерии зарегистрировано 11 случаев болезни и 5 случаев смерти, в Мали – 2 и 2 соответственно, в США – 3 случая болезни, в Испании, Великобритании и Италии – по 1 случаю.

В странах Западной Африки тяжелые последствия для сотрудников медицинской помощи создали еще больше препятствий по борьбе с эпидемией БВВЭ. Это, в свою очередь, связано как с истощением и без того скудных кадровых ресурсов местных систем здравоохранения, так и с повышением уровня напряженности в обществе.

Среди причин такой заболеваемости медицинского персонала следует отметить:

- высокий риск заражения, связанный с непосредственным контактом с кровью и инфицированными выделениями больных при оказании медицинской помощи, исследовании клинического материала, проведении инвазивных вмешательств. По оценкам ВОЗ, вероятность заражения работников системы здравоохранения лихорадкой Эбола в 21–32 раза выше по сравнению с населением в целом;

- отсутствие в большинстве лечебных учреждений надлежащих условий, способных обеспечить адекватную защиту персонала (средства индивидуальной защиты, дезинфектанты);

- низкий уровень обеспеченности населения врачами, соответственно, высокая нагрузка и повышение вероятности возникновения ошибок;

- заражение при оказании помощи пациентам с лихорадкой Эбола, обратившихся в медицинские учреждения по поводу других болезней.

Еще одна особенность эпидемии 2013–2015 гг. связана с вирусом Эбола. Недавние вирусологические исследования позволили установить, что вирус, циркулирующий в Западной Африке, генетически отличается от заирских эболавирусов, с которыми связаны вспышки болезни в прошлом, в том числе вспышка 2014 г. в Демократической Республике Конго [13].

Текущая эпидемия БВВЭ в Западной Африке

этиологически связана с вариантом вируса Эбола вида *Zaire ebolavirus*. Это наиболее вирулентный вид вируса Эбола с летальностью от 60 до 90 %. Полное секвенирование генома и филогенетический анализ показали, что исходный штамм эболавируса был занесен из Центральной Африки в последнее десятилетие, а не представляет собой результат эволюции эндемичного вируса. Каким путем и кем был занесен вирус в Западную Африку, а также точное время заноса остается неизвестным [4, 9].

Геномы изолятов вируса, выделенных в Гвинее, Либерии, Сьерра-Леоне, имеют высокое подобие между собой (99,9–100 %), а также содержат около 390 единичных нуклеотидных замен, отличающих их геномы от всех геномов изолятов данного вируса, выделенных ранее в Центральной Африке (степень подобия около 97,8 %). Следует отметить, что скорость нуклеотидных замен у циркулирующих в Западной Африке геновариантов вируса Эбола значительно выше таковой по сравнению со штаммами, выделенными во время предыдущих вспышек БВВЭ. Большинство нуклеотидных замен оказались несинонимичными, потенциально способными привести к изменению генома вируса, а значит, повлиять на его патогенность и вирулентность. Тем не менее, сходство ключевых эпидемиологических показателей (продолжительность инкубационного периода, летальность, контагиозность, общая продолжительность болезни) эпидемии БВВЭ и предыдущих вспышек болезни в Центральной Африке позволяет говорить о том, что существенных изменений в структуре генома вируса Эбола в настоящее время не произошло [5].

Что касается клинических проявлений БВВЭ, то в странах Западной Африки наиболее распространенными клиническими симптомами были: лихорадка (87,1 %), астения/слабость (76,4 %), потеря аппетита (64,5 %), рвота (67,6 %), диарея (65,6 %), головная боль (53,4 %) и боли в животе (44,3 %). Геморрагические проявления болезни отмечались редко (у <1–5,7 % больных), причем указанные показатели сходны во всех пораженных странах [20].

Сравнительный анализ клинических проявлений и их частоты при различных вспышках болезни, вызванных вирусом Эбола вид *Zaire ebolavirus* показал, что ведущие симптомы при эпидемии 2013–2015 гг. в Западной Африке близки тем, что регистрировались ранее. Обращает на себя внимание уменьшение частоты проявлений геморрагического синдрома (с 20–40 % до < 20 %). Это расхождение может быть связано с более эффективной диагностикой БВВЭ с вовлечением в статистику легких и среднетяжелых форм болезни.

Необычна и большая продолжительность эпидемии, которая продемонстрировала нехватку международных возможностей для реагирования на крупную, устойчивую и масштабную кризисную ситуацию в области здравоохранения. Правительства и их партнеры, включая ВОЗ, оказались не готовы отреагировать

для решения беспрецедентных задач, продиктованных культурными и географическими особенностями региона, а также решить возникшие проблемы с материально-техническим обеспечением [2].

Эпидемическая ситуация по лихорадке Эбола в странах Западной Африки 8 августа 2014 г. была признана чрезвычайным событием, представляющим угрозу общественному здравоохранению других государств [3].

К этому оказались не готовы не только системы здравоохранения стран, вследствие их разрушенности, но и в целом системы государственной власти.

Таким образом, неблагоприятный сценарий развития эпидемии БВВЭ в Западной Африке в 2013–2015 гг. можно проследить в виде ключевых этапов, на каждом из которых складывался соответствующий спектр влияния причин и условий:

1. Первичная передача вируса человеку из природного резервуара (декабрь 2013 г.). Увеличение тесноты контакта местных жителей с дикой природой на энзоотичной территории вследствие роста численности и плотности населения, которое вынуждено вырубать леса и осваивать новое жизненное пространство, нарушая при этом экологическое равновесие носителей и переносчиков инфекционных болезней, общих для человека и животных (в природном районе Лесной Гвинеи максимальная плотность населения отмечается в Guekedou, где зарегистрирован первый случай БВВЭ в 2013 г.).

2. Распространение от человека к человеку на местном уровне в регионе Лесной Гвинеи среди родственников, врачей и целителей (январь–февраль 2014 г.). Запаздывание расшифровки первых случаев, возникшее в результате сочетания отсутствия настороженности у местного населения и медперсонала к БВВЭ и традиций контактирования с умершим во время похорон (локальная вспышка оставалась незамеченной, в то время как введение ограничительных мероприятий могло привести к ее купированию).

3. Распространение на национальном уровне, вовлечение соседних стран и взрывной рост заболеваемости (март–май 2014 г.). Реализация завозов ВБВЭ в столицу (Conakry) с населением свыше 2 млн человек, в Либерию и Сьерра-Леоне явилась следствием высокой транспортной доступности на территории Гвинеи и отсутствия контроля при пересечении границ. Ведущим фактором резкого роста заболеваемости на данном этапе явилось сопротивление местных жителей проведению противоэпидемических мероприятий. Данное явление выражалось в устойчивом отрицании частью населения эпидемии лихорадки Эбола, негативном отношении к медицинским работникам (вплоть до агрессивного поведения), продолжении опасной практики ритуальных захоронений, сокрытии больных и умерших.

4. Потеря контроля над эпидемическим процессом на уровне региона Западной Африки (август 2014 г.). На данном этапе подъем заболеваемости БВВЭ определялся увеличением среднего числа за-

раженных от одного больного с 1,4 до 1,7, что свидетельствует о неэффективности проводимых противоэпидемических мероприятий. Основной причиной подъема эпидемической кривой явился недостаток имевшихся на тот момент ресурсов по сравнению с масштабом эпидемии. Наблюдалась нехватка лечебных центров, диагностических лабораторий, подготовленного персонала и средств индивидуальной защиты. Эффективное реагирование осложнялось наличием множества цепочек распространения БВВЭ, многие из которых, в том числе в крупных городах, оставались нераспознанными в силу невозможности отследить все контакты больных. Широкое географическое распространение затрудняло доставку проб, перевозку больных к лечебным центрам и бесперебойное материальное обеспечение противоэпидемических мероприятий.

Наращивание потенциала реагирования за счет международных партнеров при непосредственном участии Российской Федерации позволило значительно усилить проводимый комплекс профилактических (противоэпидемических) мероприятий, что привело к снижению заболеваемости и стабилизации к маю 2015 г. на низких цифрах выявления больных лихорадкой Эбола.

Тем не менее, осложнение эпидемиологической ситуации в Западно-Африканском регионе остается возможным, что, прежде всего, связано с распространением в крупных населенных пунктах и завозами в соседние страны за счет интенсивной маятниковой миграции в приграничных районах. В долгосрочной перспективе, с учетом полученного опыта и реализации планов по восстановлению систем здравоохранения наиболее пострадавших стран, программ вакцинации можно ожидать снижение вероятности эпидемических осложнений при появлении спорадических случаев БВВЭ.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Болезнь, вызванная вирусом Эбола. Информационный бюллетень ВОЗ. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs103/ru> (дата обращения 22.04.2015).
2. Год спустя с начала эпидемии болезни, вызванной вирусом Эбола. ВОЗ; 2015. <http://www.who.int/csr/disease/ebola/one-year-report/introduction/ru> (дата обращения 28.01.2015).
3. Заявление ВОЗ по итогам совещания Комитета Международных медико-санитарных правил по чрезвычайной ситуации в отношении вспышки Эболы 2014 г. в Западной Африке. <http://www.who.int/mediacentre/news/statements/2014/ebola-20140808/ru> (дата обращения 08.08.2014).
4. Платонов А.Е., Платонова О.В., Малеев В.В. Эбола, 2014 г. Эпидемиологические и социальные аспекты. *Эпидемиол. и инф. бол.* 2014; 5:34–49.
5. Alexander K.A., Sanderson C.E., Marathe M., Lewis B.L., Rivers C.M., Shaman J., Drake J.M., Lofgren E., Dato V.M., Eisenberg M.C., Eubank S. What factors might have led to the emergence of Ebola in West Africa? *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015; 9(6):e0003652. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003652.
6. Baize S., Pannetier D., Oestereich L., Rieger T., Koivogui L., Magassouba N., 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. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371(15):1418–25.

7. Chan M. Ebola virus disease in West Africa – No early end to the outbreak. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371(13):1183–5.

8. Del Rio C., Mehta A.K., Lyon G.M., Guarner J. Ebola hemorrhagic fever in 2014: The tale of an evolving epidemic. *Ann. Intern. Med.* 2014; 161 (10):746–8.

9. Gire S.K., Goba A., Andersen K.G., Sealfon R.S., Park D.J., Kanneh L., Jalloh S., Momoh M., Fullah M., Dudas G., Wohl S., Moses L.M., Yozwiak N.L., Winnicki S., Matranga C.B., Malboeuf C.M., Qu J., Gladden A.D., Schaffner S.F., Yang X., Jiang P.P., Nekoui M., Colubri A., Coomber M.R., Fonnies M., Moigboi A., Gbakie M., Kamara F.K., Tucker V., Konuwa E., Saffa S., Sellu J., Jalloh A.A., Kovoma A., Koninga J., Mustapha I., Kargbo K., Foday M., Yillah M., Kanneh F., Robert W., Massally J.L., Chapman S.B., Bochiechio J., Murphy C., Nusbaum C., Young S., Birren B.W., Grant D.S., Scheffelin J.S., Lander E.S., Hapji C., Gevaio S.M., Gnirke A., Rambaut A., Garry R.F., Khan S.H., Sabeti P.C. Genomic surveillance elucidates Ebola virus origin and transmission during the 2014 outbreak. *Science.* 2014; 345(6202):1369–72.

10. Leroy E.M., Epelboin A., Mondonge V., Pourrut X., Gonzalez J.P., Muyembe-Tamfum J.J., Formenty P. Human Ebola outbreak resulting from direct exposure to fruit bats in Luebo, Democratic Republic of Congo, 2007. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2009; 9(6):723–8.

11. Linard C., Gilbert M., Snow R.W., Noor A.M., Tatem A.J. Population distribution, settlement patterns and accessibility across Africa in 2010. *PLoS ONE* 2012; 7(2):e31743. DOI:10.1371/journal.pone.0031743.

12. MacNeil A., Farnon E.C., Morgan O.W., Gould P., Boehmer T.K., Blaney D.D., Wiersma P., Tappero J.W., Nichol S.T., Ksiazek T.G., Rollin P.E. Filovirus outbreak detection and surveillance: lessons from Bundibugyo. *J. Infect. Dis.* 2011; 204(3):761–7.

13. Maganga G.D., Kapetshi J., Berthet N., Ilunga B.K., Kabange F., Kingebeni P.M., Mondonge V., Muyembe J.T., Bertherat E., Briand S., Cabore J., Epelboin A., Formenty P., Kobinger G., González-Angulo L., Labouba I., Manuguerra J., Okwo-Bele J., Dye C., Leroy E.M. Ebola virus disease in the Democratic Republic of Congo. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371(22): 2083–91.

14. Olival K.J., Hayman D.T. Filoviruses in bats: current knowledge and future directions. *Viruses.* 2014; 6:1759–88.

15. Pigott D.M., Golding N., Mylne A., Huang Z., Henry A.J., Weiss D.J., Brady O.J., Kraemer M., Smith D.L., Moyes C.L., Bhatt S., Gething P.W., Horby P.W., Bogoch I.I., Brownstein J.S., Mekaru S.R., Tatem A.J., Khan K., Hay S.I. Mapping the zoonotic niche of Ebola virus disease in Africa. *Elife.* 2014 Sep 8; 3:e04395. DOI: 10.7554/eLife.04395.

16. Pinzon J.E., Wilson J.M., Tucker C.J., Arthur R., Jahrling P.B., Formenty P. Trigger events: environmental coupling of Ebola hemorrhagic fever outbreaks. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2004; 71(5):664–74.

17. Tucker C.J., Wilson J.M., Mahoney R., Anyamba A., Linthicum K., Myers M.F. Climatic and ecological context of the 1994–1996 Ebola outbreaks. *Photogrammetric Eng. Remote Sens.* 2002; 68(2):147–52.

18. Walsh P.D., Abernethy K.A., Bermejo M., Beyers R., Wachter P.D., Akou M.E., Huijbregts B., Mambounga D.I., Toham A.K., Kilbourn A.M., Lahm S.A., Latour S., Maisels F., Mbina C., Mihindou Y., Obiang S.N., Effa E.N., Starkey M.P., Telfer P., Thibault M., Tutin C., Whitek L., Wilkie D.S. Catastrophic ape decline in western equatorial Africa. *Nature.* 2003; 422:611–4.

19. Weingartl H.M., Nfon C., Kobinger G. Review of Ebola virus infections in domestic animals. *Dev. Biol. (Basel).* 2013; 135:211–8.

20. WHO 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.

References

1. [Ebola Virus Disease]. [cited 22 Apr 2015]. WHO Information Bulletin. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs103/ru>
2. [One year into the Ebola epidemic: a deadly, tenacious and unforgiving virus]. WHO; 2015 [cited 28 Jan 2015]. Available from: <http://www.who.int/csr/disease/ebola/one-year-report/introduction/ru>
3. [Statement on the 1st meeting of the IHR Emergency Committee on the 2014 Ebola outbreak in West Africa]. WHO; 2014 [cited 08 Aug 2014]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/news/statements/2014/ebola-20140808/ru>
4. Platonov A.E., Platonova O.V., Maleev V.V. [Ebola, 2014. Epidemiological and social aspects]. *Epidemiol. Infek. Bol.* 2014; 5:34–49.
5. Alexander K.A., Sanderson C.E., Marathe M., Lewis B.L., Rivers C.M., Shaman J., Drake J.M., Lofgren E., Dato V.M., Eisenberg M.C., Eubank S. What factors might have led to the emergence of Ebola in West Africa? *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015; 9(6):e0003652. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003652.
6. Baize S., Pannetier D., Oestereich L., Rieger T., Koivogui L., Magassouba N., 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

- Tappe D., Schmidt-Chanasi J., Impouma B., Diallo A.K., Formenty P., Van Herp M., Günther S. Emergence of Zaire Ebola virus disease in Guinea. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371(15):1418–25.
7. Chan M. Ebola virus disease in West Africa – No early end to the outbreak. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371(13):1183–5.
8. Del Rio C., Mehta A.K., Lyon G.M., Guarner J. Ebola hemorrhagic fever in 2014: The tale of an evolving epidemic. *Ann. Intern. Med.* 2014; 161(10):746–8.
9. Gire S.K., Goba A., Andersen K.G., Sealfon R.S., Park D.J., Kanneh L., Jalloh S., Momoh M., Fullah M., Dudas G., Wohl S., Moses L.M., Yozwiak N.L., Winnicki S., Matranga C.B., Malboeuf C.M., Qu J., Gladden A.D., Schaffner S.F., Yang X., Jiang P.P., Nekoui M., Colubri A., Coomber M.R., Fonnie M., Moigboi A., Gbakie M., Kamara F.K., Tucker V., Konuwa E., Saffa S., Sellu J., Jalloh A.A., Kovoma A., Koninga J., Mustapha I., Kargbo K., Foday M., Yillah M., Kanneh F., Robert W., Massally J.L., Chapman S.B., Boichichio J., Murphy C., Nusbaum C., Young S., Birren B.W., Grant D.S., Scheiffelin J.S., Lander E.S., Hapfi C., Gevaio S.M., Gnirke A., Rambaut A., Garry R.F., Khan S.H., Sabeti P.C. Genomic surveillance elucidates Ebola virus origin and transmission during the 2014 outbreak. *Science.* 2014; 345(6202):1369–72.
10. Leroy E.M., Epelboin A., Mondonge V., Pourrut X., Gonzalez J.P., Muyembe-Tamfum J.J., Formenty P. Human Ebola outbreak resulting from direct exposure to fruit bats in Luebo, Democratic Republic of Congo, 2007. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2009; 9(6):723–8.
11. Linard C., Gilbert M., Snow R.W., Noor A.M., Tatem A.J. Population distribution, settlement patterns and accessibility across Africa in 2010. *PLoS ONE* 2012; 7(2):e31743. DOI:10.1371/journal.pone.0031743.
12. MacNeil A., Farnon E.C., Morgan O.W., Gould P., Boehmer T.K., Blaney D.D., Wiersma P., Tappero J.W., Nichol S.T., Ksiazek T.G., Rollin P.E. Filovirus outbreak detection and surveillance: lessons from Bundibugyo. *J. Infect. Dis.* 2011; 204(3):761–7.
13. Maganga G.D., Kapetshi J., Berthet N., Ilunga B.K., Kabange F., Kingebeni P.M., Mondonge V., Muyembe J.T., Bertherat E., Briand S., Cabore J., Epelboin A., Formenty P., Kobinger G., González-Angulo L., Labouba I., Manuguerra J., Okwo-Bele J., Dye C., Leroy E.M. Ebola virus disease in the Democratic Republic of Congo. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371(22): 2083–91.
14. Olival K.J., Hayman D.T. Filoviruses in bats: current knowledge and future directions. *Viruses.* 2014; 6:1759–88.
15. Pigott D.M., Golding N., Mylne A., Huang Z., Henry A.J., Weiss D.J., Brady O.J., Kraemer M., Smith D.L., Moyes C.L., Bhatt S., Gething P.W., Horby P.W., Bogoch I.I., Brownstein J.S., Mekaru S.R., Tatem A.J., Khan K., Hay S.I. Mapping the zoonotic niche of Ebola virus disease in Africa. *Elife.* 2014 Sep 8; 3:e04395. DOI: 10.7554/eLife.04395.
16. Pinzon J.E., Wilson J.M., Tucker C.J., Arthur R., Jahrling P.B., Formenty P. Trigger events: enviroclimatic coupling of Ebola hemorrhagic fever outbreaks. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2004; 71(5):664–74.
17. Tucker C.J., Wilson J.M., Mahoney R., Anyamba A., Llinthum K., Myers M.F. Climatic and ecological context of the 1994–1996 Ebola outbreaks. *Photogrammetric Eng. Remote Sens.* 2002; 68(2):147–52.
18. Walsh P.D., Abernethy K.A., Bermejo M., Beyers R., Wachter P.D., Akou M.E., Huijbregts B., Mambounga D.I., Toham A.K., Kilbourn A.M., Lahm S.A., Latour S., Maisels F., Mbina C., Mihindou Y., Obiang S.N., Effa E.N., Starkey M.P., Telfer P., Thibault M., Tutin C., Whitek L., Wilkie D.S. Catastrophic ape decline in western equatorial Africa. *Nature.* 2003; 422:611–4.
19. Weingartl H.M., Nfon C., Kobinger G. Review of Ebola virus infections in domestic animals. *Dev. Biol. (Basel).* 2013; 135:211–8.
20. WHO 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.

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.

Safronov V.A., Kouklev E.V., Kedrova O.V., Udovichenko S.K., Lopatin A.A., Razdorsky A.S., Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru

Boiro M.Y. Pasteur Institute of Guinea. Kindia, Republic of Guinea.

Ezhlova E.B., Smolensky V.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.

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 последилового образования; Российская Федерация, 125993, Москва, ул. Баррикадная, 2/1.

Сафронов В.А., Куклев Е.В., Кедрова О.В., Удовиченко С.К., Лопатин А.А., Раздорский А.С., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrap@microbe.ru

Боиро М.Ю. Институт Пастера Гвинеи. Гвинейская Республика, Киндия.

Ежлова Е.Б., Смоленский В.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.

Поступила 27.07.15.

А.Ю.Попова^{1,2}, А.Е.Шиянова³, Е.Б.Ежлова¹, Ю.В.Демина¹, Н.Д.Пакскина¹, О.В.Кедрова³,
Л.Н.Дмитриева³, И.Г.Карнаухов³

КОМПЛЕКС МЕРОПРИЯТИЙ В РАМКАХ САНИТАРНОЙ ОХРАНЫ ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО НЕДОПУЩЕНИЮ ЗАВОЗА И РАСПРОСТРАНЕНИЯ БОЛЕЗНИ, ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ ЭБОЛА

¹Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация; ²Российская медицинская академия последилового образования, Москва, Российская Федерация; ³ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация

Планируемый объем мероприятий по недопущению завоза и распространения болезни, вызванной вирусом Эбола, на территории страны ориентирован на максимальный уровень ее опасности для населения. Мероприятия носят комплексный межведомственный характер при координирующей и основной исполнительной роли Роспотребнадзора и осуществляются по следующим направлениям: нормативное и методическое обеспечение, усиление санитарно-карантинного контроля в пунктах пропуска через государственную границу Российской Федерации, усиление противоэпидемической готовности органов и организаций Роспотребнадзора и здравоохранения, в том числе обеспечение готовности лабораторной базы к проведению исследований, информационное обеспечение в рамках эпидемиологического надзора, деятельность в формате международного сотрудничества по противодействию эпидемии болезни. Оработана технология проведения всего комплекса мероприятий от момента выявления больного: специфика первичных мероприятий, порядок эвакуации больных и контактных, проведение дезинфекционной обработки, мероприятия в отношении контактных лиц и готовность к проведению противоэпидемических мероприятий.

Ключевые слова: санитарная охрана территории, противоэпидемические мероприятия, лихорадка Эбола.

A.Yu.Popova^{1,2}, A.E.Shiyanova³, E.B.Ezhlova¹, Yu.V.Demina¹, N.D.Pakskina¹, O.V.Kedrova³, L.N.Dmitrieva³,
I.G.Karnaukhov³

Complex of Measures Aimed at Prevention of Ebola Virus Disease Importation and Transmission, Performed within the Frames of Sanitary Protection of the Territories of the Russian Federation

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; ³Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

An estimated scope of measures, aimed at the prevention of Ebola virus disease importation and transmission in the territory of the Russian Federation, targets the maximum level of hazard to the population. It has a complex interagency character, whereby the Federal service for surveillance in the sphere of consumers rights protection and human welfare functions as coordinator and principal executing agency. The measures affect the following areas: regulatory compliance and methodological support, sanitary-quarantine control reinforcement at the entry points on the state border of the Russian Federation, strengthening of anti-epidemic preparedness of the Rospotrebnadzor and public healthcare institutions and authorities, including operational preparedness of the laboratory facilities, information support within the framework of epidemiological surveillance, and involvement in the activities under the international collaboration for epidemic response and control. Practices have been completed as regards series of actions conducted from the time of the case identification and further on; evacuation of the infected and suspected individuals, procedures for sanitary disinfection, interventions in the relation to contact persons, and readiness for anti-epidemic measures performance.

Key words: sanitary protection of the territories, anti-epidemic measures, Ebola fever.

Проведенные в Российской Федерации к настоящему моменту мероприятия по модернизации методологической, технологической, материально-технической базы и кадрового ресурса позволили создать адекватные для современных угроз эпидемиологического характера силы, соответствующие требованиям Международных медико-санитарных правил (ММСП) 2005 г. Внедрение ММСП (2005 г.) на территории Российской Федерации осуществлено на разработанной методологической основе, имеющей унифицированный характер и принципиально применимой на национальном и международном уровне (в том числе для стран СНГ, Таможенного со-

юза и др.) [5] и включающей научное и материально-техническое обеспечение их интеграции в методологию эпидемиологического надзора, содержание и принципы санитарной охраны, развитие межведомственного взаимодействия.

Вместе с тем в России продолжается решение вопросов методологической и технологической модернизации, что соответствует озвученной на 68-й сессии Всемирной Ассамблеи Здравоохранения позиции Всемирной организации здравоохранения, рассматривающей укрепление национальных возможностей как непрерывный процесс, не ограничивающийся поставленными сроками имплементации

ММСП (2005 г.) [7].

Одной из первоочередных задач стало планирование и обеспечение противоэпидемической готовности на случай завоза болезни, вызванной вирусом Эбола (БВВЭ, лихорадка Эбола). Возможность завоза болезни обусловлена, помимо туристических и деловых связей, прибытием граждан государств Африки с целью обучения в учебных заведениях Российской Федерации. По данным Роспотребнадзора, в 1370 высших учебных заведениях 50 субъектов Российской Федерации обучается 7630 студентов из стран Африки, в том числе 162 человека из Гвинеи, 1042 – из Нигерии, 18 – из Сьерра-Леоне.

При организации мероприятий по недопущению завоза и распространения болезни на территории России учитывались информационные материалы и рекомендации ВОЗ, CDC, а также опыт, полученный в период эпидемии ТОРС (2003 г.), когда географическое расположение страны и интенсивные миграционные связи потребовали принятия чрезвычайных мер – ограничения передвижения через государственную границу с Китаем [6]. Предпринятые меры были оправданы – в России зарегистрирован единственный случай ТОРС, не приведший к дальнейшему распространению инфекции.

В Российской Федерации БВВЭ включена в перечень болезней, которые могут привести к возникновению чрезвычайных ситуаций в области общественного здравоохранения санитарно-эпидемиологического характера. Учитывая недостаточную изученность эпидемиологии возбудителя, планируемый объем мероприятий в случае завоза болезни ориентирован на максимальный уровень ее опасности для населения.

Мероприятия по недопущению завоза и распространения БВВЭ носят комплексный межведомственный характер и осуществляются по следующим направлениям (рисунок): научное, нормативное и методическое обеспечение мероприятий; усиление санитарно-карантинного контроля в пунктах пропуска через государственную границу Российской Федерации; усиление противоэпидемической готовности органов и организаций Роспотребнадзора и здравоохранения, в том числе обеспечение готовности лабораторной базы к проведению исследований; подготовка кадров (обучение, семинары, учения и др.); информационное обеспечение в рамках эпидемиологического надзора; деятельность в формате международного сотрудничества по противодействию эпидемии БВВЭ.

В процессе реализации мероприятий Роспотребнадзором направлены в адрес территориальных управлений Роспотребнадзора, органов государственной власти субъектов Российской Федерации в сфере охраны здоровья, иных органов и учреждений более 100 информационно-методических писем. С учетом проведенных учений Роспотребнадзором подготовлены изменения в СП 3.4.2318-08 «Санитарная охрана территории» и Административный регла-

мент исполнения Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека государственной функции по осуществлению санитарно-карантинного контроля в пунктах пропуска на российском участке внешней границы Таможенного союза. Разработан и утвержден ряд методических рекомендаций по организации лабораторной диагностики лихорадки Эбола, а также организации противоэпидемических мероприятий.

В адрес Министерства транспорта Российской Федерации направлены рекомендации по действиям членов экипажей и мерам защиты в ходе обслуживания пассажиров в условиях возможного наличия больных опасными инфекционными болезнями на борту судна.

Руководителям органов государственной власти субъектов Российской Федерации в сфере охраны здоровья направлены инструкции по отбору материала от больных с подозрением на лихорадку Эбола. С целью недопущения завоза инфекции приняты меры по усилению санитарно-карантинного контроля в пунктах пропуска (ПП) через государственную границу Российской Федерации.

В Российской Федерации 46 аэропортов принимают транзитные рейсы из Испании, Германии, Франции, Великобритании, Италии, ОАЭ, Турции, Египта, Нидерландов, США, Иордании, Марокко, которыми в Россию прибывают пассажиры из стран, неблагополучных по лихорадке Эбола.

По результатам проведенного Роспотребнадзором мониторинга обустройства и оснащения пунктов пропуска, готовности изоляторов, в адрес Федерального агентства по обустройству государственной границы Российской Федерации (Росграница) направлены предложения для корректировки технических заданий при реконструкции и строительстве пунктов пропуска, по оснащению воздушных пунктов пропуска в первоочередном порядке с учетом наличия стационарных или переносных тепловизоров, проведено дооснащение 22 воздушных пунктов пропуска стационарным тепловизионным оборудованием и 31 – переносным оборудованием.

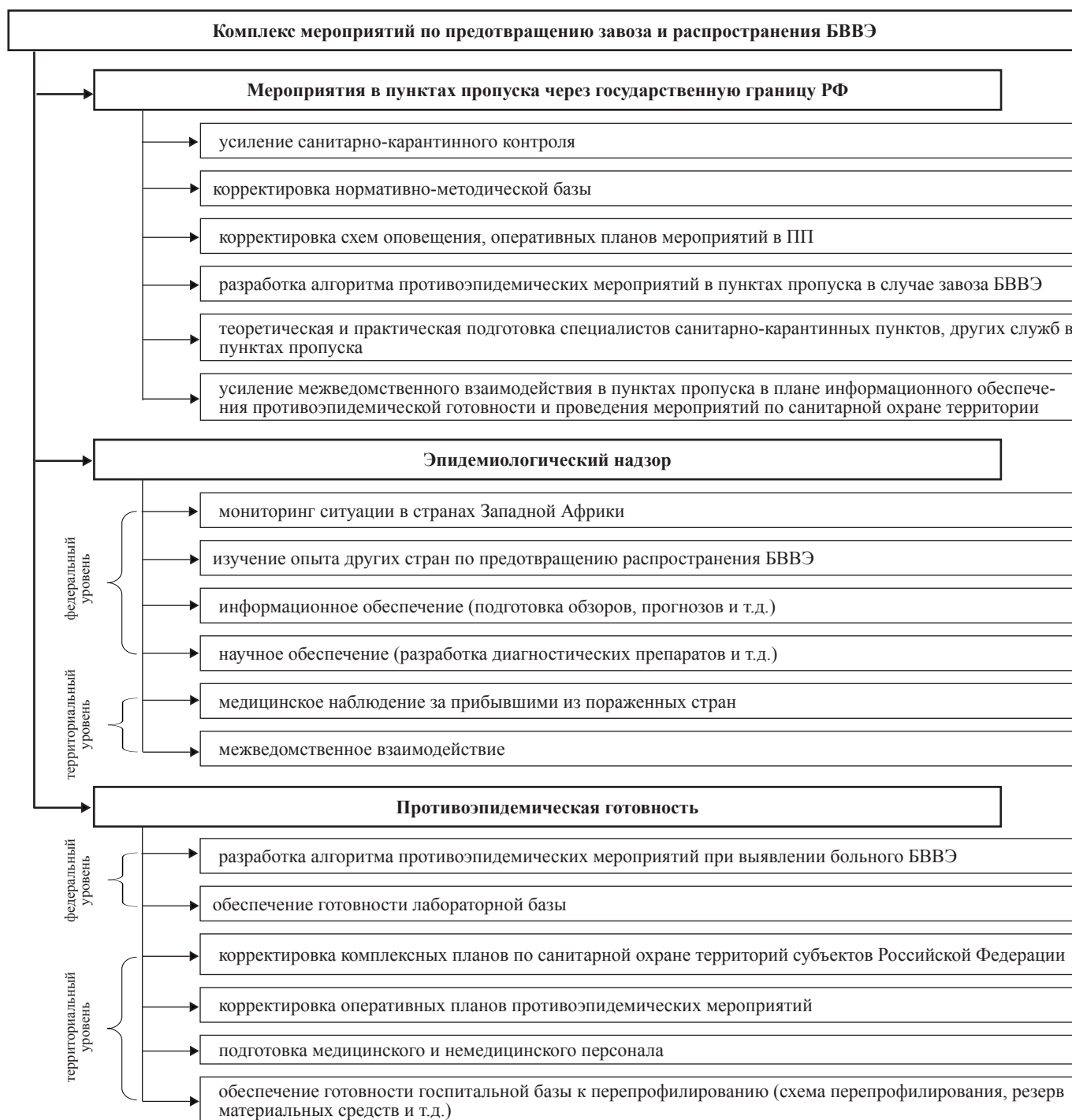
Составляющие обеспечения готовности в ПП к возможному завозу лихорадки Эбола:

- оперативное информирование государственных контрольных органов пунктов пропуска, медицинских служб об эпидемической ситуации по лихорадке Эбола и мерах по предотвращению ее завоза и распространения;

- инициация территориальными органами Роспотребнадзора соответствующих заседаний Координационных советов ПП;

- корректировка планов организации противоэпидемических мероприятий в ПП, разработанных и согласованных в межведомственном формате, актуализация схем оповещения в случае выявления больного ООИ;

- разработка алгоритма действий специалистов санитарно-карантинного пункта и медицинского



Комплекс мероприятий по предотвращению завоза и распространения БВВЭ

персонала в случае выявления больного ООИ (в том числе лихорадкой Эбола);

- проведение тактико-специальных (тренировочных) учений в пунктах пропуска с отработкой межведомственного взаимодействия, порядка эвакуации больных и контактировавших лиц, проведения дезинфекционных мероприятий. При проведении учений задействованы администрация пунктов пропуска (Федеральное агентство по обустройству государственной границы), представители транспортных организаций, медицинская служба, служба безопас-

ности транспортного предприятия, государственные контрольные органы в пунктах пропуска, территориальные управления Роспотребнадзора по субъекту, ФБУЗ «ЦГиЭ» в субъекте, противочумные учреждения, учреждения здравоохранения, в том числе скорая медицинская помощь, организации дезинфекционного профиля.

На федеральном уровне отработана технология проведения всего комплекса мероприятий от момента выявления больного: специфика первичных мероприятий, порядок эвакуации больных и контактных,

проведение дезинфекционной обработки багажа, международного транспортного средства, санитарного транспорта, мероприятия в отношении контактных лиц, готовность к проведению противоэпидемических мероприятий, обеспечение средствами защиты и профилактическими препаратами.

При подозрении на БВВЭ проведение санитарно-карантинного контроля на транспортном средстве предшествует другим видам контроля. После получения от медработника «извещения о случае инфекционного заболевания» (058-у), подозрительного на лихорадку Эбола, сотрудник СКП принимает решение о введении в действие Оперативного плана противоэпидемических мероприятий, приостановлении всех видов контроля, аэродромного обслуживания воздушного судна. Машина скорой помощи встречает больного непосредственно у трапа и транспортирует его в инфекционный стационар. Контактных эвакуируют непосредственно с прибывшего транспортного средства в изолятор (госпиталь) для контактных [8, 10].

На уровне административной территории (область, республика, муниципальные районы) вопросы противоэпидемической готовности, в том числе вопросы межведомственного взаимодействия, решаются в рамках деятельности межведомственной санитарно-противоэпидемической Комиссии (СПЭК) и Комплексного плана по санитарной охране соответствующей территории. Ситуация по БВВЭ в мире потребовала проведения в субъектах Российской Федерации внеочередных заседаний СПЭК, посвященных вопросам готовности на случай завоза лихорадки Эбола. Комплексные планы изначально предназначены для планирования действий различных ведомств в случае возникновения болезней, требующих проведения мероприятий по санитарной охране территории, включая лихорадку Эбола. Актуализация Комплексных планов осуществляется ежегодно в плановом режиме. Вместе с тем возникающие новые угрозы могут требовать их дополнительной корректировки.

В текущей ситуации потребовалось подтвердить (уточнить) перечень медицинских организаций, предназначенных для госпитализации больных и размещения контактных.

Осуществлена корректировка Оперативных планов противоэпидемических мероприятий в случае выявления больного ООИ, составляемых в медицинских организациях, предназначенных для госпитализации больных лихорадкой Эбола. Разработаны алгоритмы действий и тактика медперсонала при переводе отделения больницы на строгий противоэпидемический режим, функциональные обязанности для каждого должностного лица, специфические для лихорадки Эбола и учитывающие архитектурные, структурные и функциональные особенности учреждения. Сформированы резервы средств индивидуальной защиты, лекарственных препаратов и дезинфицирующих средств,

обладающих вирулицидной активностью.

Контроль готовности медицинских организаций, входящих в состав основной госпитальной базы для приема пациентов с подозрением на БВВЭ, включал в себя оценку обеспеченности госпиталей боксированными палатами, дезинфицирующими средствами, средствами индивидуальной защиты (защитные костюмы, респираторы, панорамные маски, перчатки повышенной прочности), лекарственными препаратами, адекватности системы вентиляции, оценку уровня подготовки персонала, готовности бригад служб скорой медицинской помощи к организации и проведению эвакуации и транспортировки больных: теоретическая и практическая подготовка к работе с больными опасными инфекционными болезнями, их оснащенность средствами индивидуальной защиты, дезинфицирующими средствами. Ряд вопросов потребовал оказания целенаправленной методической помощи со стороны научных учреждений Роспотребнадзора: схема перепрофилирования инфекционных отделений госпиталей на случай госпитализации больного лихорадкой Эбола, расчет необходимого запаса адекватной защитной одежды, действия медперсонала в случае нарушения режима безопасности во время работы с больным (повреждение перчатки и т.д.). На федеральном уровне разработаны типовые пошаговые алгоритмы действий при проведении первичных противоэпидемических мероприятий при выявлении больных лихорадкой Эбола в каждом возможном месте: в медицинской организации (стационаре, поликлинике, патологоанатомическом отделении), по месту проживания (на дому, в учреждении, гостинице), на транспортных средствах (в вагоне пассажирского поезда, самолете, на судне) в пути следования и на вокзале (железнодорожном, морском, речном, аэровокзале, автостанции).

За всеми прибывающими российскими и иностранными гражданами, проживающими в неблагополучных по лихорадке Эбола регионах или посещавшими эти регионы, устанавливают обязательное медицинское наблюдение сроком на 21 день с момента выезда из неблагополучной страны. В течение года (с 1 августа 2014 г. по 1 августа 2015 г.) из стран западной Африки в Российскую Федерацию прибыло 11444 чел., из них в 2015 г. – 7092 чел. За всеми прибывшими студентами из стран Африки установлено медицинское наблюдение.

Соответствующий акцент сделан на обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия в период проведения в России массовых мероприятий с международным участием – составлены информационные сообщения и прогнозы с учетом эпидемиологической ситуации по БВВЭ, проведен обучающий семинар «Эпидемиологическая ситуация по инфекционным болезням, значимым для санитарной охраны территории. Обеспечение готовности специализированных медицинских организаций к приему больных особо опасными инфекциями» (XVI Чемпионат

мира ФИНА по водным видам спорта, Казань, 2015; Саммиты стран ШОС и БРИКС, Уфа, 2015).

Большое внимание уделено соответствующей подготовке как медицинского персонала – сотрудников медицинских организаций, специалистов Управлений Роспотребнадзора и ФБУЗ «Центры гигиены и эпидемиологии», в субъектах Российской Федерации, так и специалистов не медицинского профиля – сотрудников туристических фирм, авиакомпаний, экипажей воздушных судов и т.д. В тематике проводимой на регулярной основе теоретической подготовки (курсы, семинары) сделан акцент на вопросах эпидемиологии, раннего выявления больных, профилактики и проведения противоэпидемических мероприятий. Практически 100 % медицинского персонала прошло специальную теоретическую подготовку. В обязательном порядке в каждом субъекте Российской Федерации в соответствии с приказами органов исполнительной власти в области охраны здоровья в 2014–2015 гг. проведены практические занятия (тренировочные учения) в медицинских организациях, предусмотренных для госпитализации больных БВВЭ, с вводом условных больных. Особое внимание уделено теоретическому обучению и отработке практических навыков надевания и снятия защитного костюма, правилам забора, упаковки и транспортировки биологического материала для лабораторного исследования, режимам обеззараживания.

Лабораторная база для исследования биологического материала от больных с подозрением на БВВЭ представлена двумя учреждениями: ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» и ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России. В оперативном режиме решен вопрос обеспеченности диагностическими препаратами. В Российской Федерации разработаны, зарегистрированы и в настоящее время разрешены к применению набор реагентов для определения РНК вируса Эбола, вариант Заир в биологическом материале методом ПЦР для диагностики *in vitro* «АмплиСенс EBOV Zaire FL» производства ФБУН «ЦНИИЭ» и набор реагентов для амплификации кДНК вируса Эбола (Заир, Судан) с детекцией в режиме реального времени (для приборов Rotor-Gene 6000/3000) «Вектор-ПЦРРВ-Эбола-RG» производства ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор». В ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» и ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России разработаны наборы реагентов для выявления антигена вируса Эбола и антител к нему с помощью ИФА.

Практическая составляющая комплекса мероприятий по противодействию БВВЭ базируется на своевременном и адекватном информационном обеспечении. Результаты перманентно проводимого мониторинга эпидемической ситуации по БВВЭ в странах Западной Африки и в мире, получила отражение на регулярной основе на сайте Роспотребнадзора и в соответствующих обзорах [1, 2, 3, 9, 11].

Важную роль играет обмен опытом на международном уровне. Тема противодействия БВВЭ зани-

мала значительное место в повестке дня межгосударственных и международных конференций по вопросам обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения (XII Межгосударственная научно-практическая конференция государственных участников СНГ, Саратов, 2014 г.; Международная конференция государств-членов ШОС, Сочи, 25–26 мая 2015 г.; БРИКС, Москва 23–24 июня 2015 г.). Получен беспрецедентный за последнюю четверть века опыт в области международного сотрудничества – вклад в международные усилия по противодействию БВВЭ на эндемичной территории, что, в свою очередь, способствует предотвращению выноса инфекции из очага.

В ходе мероприятий по недопущению завоза и распространения БВВЭ накоплен опыт установления оперативного межведомственного взаимодействия Роспотребнадзора и Минобрнауки России, МИД России, Минобороны России, МВД России, ФСБ России, Минкомсвязи России, ФМС России, Минспорта России. Оперативная передислокация СПЭБ Роспотребнадзора в Гвинейскую Республику и в дальнейшем материальное обеспечение ее функционирования стало возможным благодаря взаимодействию с МЧС России.

В материалах ВОЗ неоднократно обращается внимание на необходимость участия в осуществлении ММСП (2005 г.) иных секторов помимо сектора здравоохранения [4, 12]. В Российской Федерации данный тезис получил безусловную реализацию, примером которой может служить межведомственный характер проведения мероприятий по недопущению завоза и распространения на территории страны БВВЭ при координирующей и основной исполнительной роли Роспотребнадзора – Национального координатора по ММСП (2005 г.). Осуществляемый комплекс мероприятий можно рассматривать как модель действий при угрозе завоза малоизученной инфекционной болезни, потенциально представляющей значительную опасность для населения.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кедрова О.В. Информация об эпидемиологической ситуации по опасным инфекционным болезням, требующим проведения мероприятий по санитарной охране территории, в мире, странах СНГ и Российской Федерации. http://www.microbe.ru/files/inf_epid2015_1.pdf (дата обращения 29.07.2015).
2. Кедрова О.В. Обзор современной эпидемиологической ситуации по некоторым наиболее актуальным опасным инфекционным болезням, требующим проведения мероприятий по санитарной охране территории Российской Федерации. http://www.microbe.ru/files/Rev_epidsit_jul14.pdf (дата обращения 29.07.2015).
3. Кедрова О.В., Топорков В.П., Куклев Е.В. Материалы к семинарам по лихорадке Эбола, проводимым в связи с напряженной эпидемической обстановкой в Западной Африке. http://www.microbe.ru/files/ebola_semin.pdf (дата обращения 29.07.2015).
4. ММСП и Эбола. 136 сессия Исполкома ВОЗ EB136/INF/7. http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/EB136/B136_INF7-ru.pdf (дата обращения 22.07.2015).
5. Онищенко Г.Г., Пакскина Н.Д., Топорков В.П., Топорков А.В., Шиянова А.Е., Кутырев В.В. Научно-методические и норма-

тивные аспекты реализации Международных медико-санитарных правил (2005 г.) на территории Российской Федерации. *Пробл. особо опасных инф.* 2010; 3(105):5–12.

6. Онищенко Г.Г., Федоров Ю.М., Топорков В.П., Куличенко А.Н., Караваева Т.Б., Шиянова А.Е., Куклев Е.В., Кутырев В.В. Атипичная пневмония (SARS, ТОРС) и санитарная охрана территории. *Пробл. особо опасных инф.* 2003; 1(85):3–19.

7. Осуществление Международных медико-санитарных правил (2005 г.). Доклад Генерального директора на 68 сессии ВЗ А68/22. ВОЗ; 2015. http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA68/A68_22-ru.pdf (дата обращения 22.07.2015).

8. Пакскина Н.Д., Шиянова А.Е., Дмитриева Л.Н., Карнаухов И.Г., Караваева Т.Б. Мероприятия в отношении лиц, контактировавших с больным лихорадкой Эбола. *Пробл. особо опасных инф.* 2015; 3:33–8.

9. Платонов А.Е., Платонова О.В., Малеев В.В. Эбола, 2014 г. Эпидемиологические и социальные аспекты. *Эпидемиол. и инф. бол. Актуал. вопр.* 2014; 5:34–49.

10. Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Эпидемиология, профилактика и лабораторная диагностика болезни, вызванной вирусом Эбола. Саратов: Буква; 2015. 244 с.

11. Топорков В.П., Куклев Е.В., Попов Н.В., Шилова Л.Д. Информационное сообщение о лихорадке Эбола в связи с резким ухудшением эпидемиологической обстановки в странах Западной Африки. http://www.microbe.ru/files/Ebola_Jul14.pdf (дата обращения 23.07.2015).

12. Эбола: Прекращение текущей вспышки, усиление глобальной готовности и обеспечение потенциала ВОЗ по готовности к будущим масштабным и устойчивым вспышкам и чрезвычайным ситуациям с медико-санитарными последствиями и принятию ответных мер. Специальная сессия Исполкома ВОЗ по болезни, вызванной вирусом Эбола. Пункт 3. EBSS3.R1. http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/EBSS3/EBSS3_R1-ru.pdf (дата обращения 06.08.2015).

References

1. Kedrova O.V. [Information on epidemiological situation as regards dangerous infectious diseases requiring measures on sanitary protection to be carried out, in the world, CIS countries and Russian Federation]. [cited 29 Jul 2015]. Available from: http://www.microbe.local/files/inf_epid2015_1.pdf.

2. Kedrova O.V. [Review of the current epidemiological situation as regards some most actual dangerous infectious diseases requiring measures on sanitary protection of the Russian Federation to be carried out]. [cited 29 Jul 2015]. Available from: http://www.microbe.local/files/Rev_epidsit_jul14.pdf.

3. Kedrova O.V. [Materials for the workshops on Ebola fever carried out in view of the tense epidemic situation in West Africa]. [cited 29 Jul 2015]. Available from: http://www.microbe.local/files/ebola_semin.pdf.

4. [IHR and Ebola. 136th Session of the WHO Executive Committee EB136/INF/7. [cited 22 Jul 2015]. Available from: http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/EB136/B136_INF7-ru.pdf.

5. Onischenko G.G., Pakskina N.D., Toporkov V.P., Toporkov A.V., Shiyanova A.E., Kutyrev V.V. [Methodological principles of implementation of International Health Regulations (2005) in the territory of the Russian Federation]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2010; 3(105):5–12.

6. Onischenko G.G., Feodorov Yu.M., Toporkov V.P., Kulichenko A.N., Karavaeva T.B., Shiyanova A.E., Kuklev E.V., Kutyrev V.V. [Atypical pneumonia (SARS) and sanitary protection of the territory]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2003;1 (85):3–19.

7. [Execution of International Health Regulations (2005). Report of the Director General at the 68th World Health Assembly A68/22]. [cited 22 Jul 2015]. Available from: http://who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA68/A68_22-ru.pdf.

8. Pakskina N.D., Shiyanova A.E., L.N. Dmitrieva, I.G. Karnaukhov, T.B. Karavaeva [Activities undertaken toward individuals who have been in contact with Ebola fever patient]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2015; 3:33–8.

9. Platonov A.E., Platonova O.V., Maleev V.V. [Ebola, 2014. Epidemiological and social aspects]. *Epidemiol. Infek. Bol. Aktual. Vopr.* 2014; 5:34–49.

10. Popova A.Yu., Kutyrev V.V., editors. [Epidemiology, prophylaxis and laboratory diagnostics of Ebola virus disease]. Sartov: Bukva; 2015. 244 p.

11. Toporkov V.P., Kuklev E.V., Popov N.V., Shilova L.D. [Report on Ebola fever in view of deterioration of epidemiological situation in West Africa countries]. [cited 23.07.2015]. Available from: http://www.microbe.local/files/Ebola_Jul14.pdf.

12. [Ebola: ending the current outbreak, strengthening global preparedness and ensuring WHO's capacity to prepare for and respond to future large-scale outbreaks and emergencies with health consequences]. EBSS3.R1. [cited 06.08.2015]. Available from: http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/EBSS3/EBSS3_R1-ru.pdf.

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.

Shiyanova A.E., Kedrova O.V., Dmitrieva L.N., Karnaukhov I.G. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru

Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Pakskina N.D. 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.

Шиянова А.Е., Кедрова О.В., Дмитриева Л.Н., Карнаухов И.Г. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrap@microbe.ru

Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Пакскина Н.Д. 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 19.08.15.

В.Г.Дедков^{1,2}, М.В.Сафонова¹, С.А.Боднев³, А.С.Кабанов³, В.А.Сафронов⁴, А.А.Лопатин⁴, В.Е.Куклев⁴, Д.В.Уткин⁴, В.В.Малеев¹, Г.А.Шипулин¹

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В ФОРМАТЕ ОТ-ПЦР В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ «АМПЛИСЕНС EBOV (ZAIRE)-FL» ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ РНК ВИРУСА ЭБОЛА ЗАИР

¹ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии», Москва, Российская Федерация; ²ФБГУ «Научно-исследовательский институт медицины труда РАН», Москва, Российская Федерация; ³ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», п. Кольцово, Российская Федерация; ⁴ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация

С учетом опыта практического применения системы «Амплисенс EBOV(Zaire)-Fl» в условиях мобильной лаборатории СПЭБ проведено ее усовершенствование с целью сокращения времени проведения исследования и повышения предела аналитической чувствительности. Осуществленная модификация позволила увеличить значение аналитической чувствительности системы до уровня 200 копий в мл, что в 10 раз выше предыдущего показателя аналитической чувствительности, составлявшей $2 \cdot 10^3$ копий в 1 мл. Кроме того, удалось сократить время проведения исследования до 1 ч 25 мин, что на 25 % меньше времени, необходимого для проведения исследования по стандартной программе. Модификация диагностической системы «Амплисенс EBOV(Zaire)-Fl» будет способствовать совершенствованию надзорных мероприятий по пресечению распространения вируса Эбола Заир в Западной Африке и недопущению его завоза на территорию Российской Федерации.

Ключевые слова: Вирус Эбола Заир, лихорадка Эбола, ОТ-ПЦР в реальном времени.

V.G.Dedkov, M.V.Safonova, S.A.Bodnev, A.S.Kabanov, V.A.Safronov, A.A.Lopatin, V.E.Kuklev, D.V.Utkin, V.V.Maleev, G.A.Shipulin

Improvement of Diagnostic System in a Real-Time RT-PCR “AmpliSens EBOV (ZAIRE)-FL” Format for Zaire ebolavirus RNA Detection

¹Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russian Federation; ²RAS Research Institute of Occupational Medicine, Moscow, Russian Federation; ³State Scientific Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Kol'tsovo, Russian Federation; ⁴Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation

Taking into consideration experience in utilization of “AmpliSens EBOV (ZAIRE)-FL” in the setting of SAET mobile laboratory complex, carried out has been the improvement of the panel with a view to elapsed time reduction and analytical sensitivity enhancement. It provides for the analytical sensitivity increase up to 200 copies per ml, which is 10 times higher than the previous measurement, that accounted for $2 \cdot 10^3$ copies per ml. The timing of the assay has been reduced up to 1 h 25 min, which is 25 % less than the time needed for the standard study. Modification of “AmpliSens EBOV (ZAIRE)-FL” panel benefits to the enhancement of epidemiological surveillance activities intended to stop the spread of Zaire ebolavirus in West Africa and prevent its importation into the Russian Federation.

Key words: Ebola virus Zaire, Ebola fever, real-time RT-PCR.

Прошло уже более года с момента начала эпидемии лихорадки Эбола, возникшей в Западной Африке и охватившей сначала Гвинею, затем Либерию и Сьерра Леоне [3]. За это время общее количество зарегистрированных случаев составило, по данным на 26.08.15 г., 28041 случай, 11302 из которых закончились смертельным исходом [2]. Эпидемия 2014–2015 гг. является самой крупной с момента знакомства человечества с вирусами Эбола в 1976 г. и многократно превосходит совокупное количество случаев болезни, зарегистрированных в ходе 22 предшествующих вспышек.

Беспрецедентный масштаб эпидемии и угроза дальнейшего распространения лихорадки Эбола, вызванной вирусом Эбола Заир, в том числе и за пределы Африканского континента, вынудили мировое сообщество предпринять значительные усилия по локализации и ликвидации этой смертельно опасной

болезни. С большим трудом распространение вируса удалось локализовать и прекратить в Либерии, а затем практически свести к нулю и в Сьерра-Леоне. Однако в Гвинейской Республике все еще регистрируются новые случаи болезни. Наличие такого «эпидемического хвоста» обусловлено рядом природных и социальных факторов, к которым следует отнести обширную территорию, наличие труднодоступных районов, скученность населения, проживающего в городах, низкий уровень экономического развития страны и, как следствие, плохо развитую систему здравоохранения и чрезвычайно низкий уровень санитарно-эпидемического благополучия населения.

Правительством Российской Федерации принято решение об оказании помощи в ликвидации эпидемии Гвинейской Республике. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации направи-

ла в Гвинейскую Республику мобильную лабораторию Специальной противоэпидемической бригады (СПЭБ), укомплектованную специалистами ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» и ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор». Также для работы в составе СПЭБ привлекались сотрудники других организаций, входящих в структуру Роспотребнадзора. Более полугода лаборатория СПЭБ осуществляла свою деятельность в госпитале Донка (г. Конакри), где открыт крупнейший госпиталь для больных лихорадкой Эбола.

Одним из критически важных факторов, позволивших нашим специалистам успешно осуществлять свою миссию, стало наличие диагностической системы в формате ОТ-ПЦР в реальном времени для выявления РНК вируса Эбола Заир «Амплисенс EBOV(Zaire)-Fl». Система разработана в ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора в рамках осуществления мероприятий по предотвращению распространения лихорадки Эбола на территории Российской Федерации и зарегистрирована в качестве изделия медицинского назначения (рег. уд. № РЗН 2014/2036 от 16.10.2014) [1]. Хорошие аналитические характеристики данной системы обеспечили ее успешное применение не только в рамках деятельности СПЭБ в Республике Гвинея, но и на территории Российской Федерации при тестировании образцов биологического материала, прибывших на территорию нашей страны из неблагополучных регионов с подозрением на лихорадку Эбола.

При проектировании данной тест-системы мы ориентировались на ее применение на территории Российской Федерации. Кроме того, в момент разработки олигонуклеотидных праймеров и зонда еще отсутствовали сиквенсы изолятов текущей вспышки. Поэтому дизайн осуществляли на основании сиквенсов, опубликованных ранее, в надежде на консервативность региона, выбранного в качестве мишени для амплификации. В силу вышеперечисленных обстоятельств нами принято решение выбрать в качестве мишени для амплификации фрагмент гена полимеразы (L-ген) длиной 372 н.т. (позиции 13997–14368 н.т. референсного сиквенса EBOV, номер доступа в Gen Bank NCBI – HQ613402). Выбор таргетного фрагмента такой протяженности не является оптимальным с точки зрения проведения реакции ОТ-ПЦР в реальном времени, однако предоставляет возможность проверить результат исследования методом капиллярного секвенирования, что является важной опцией в случае возникновения спорной ситуации.

Как показало время, опасения оказались не беспочвенными. Применение большинства диагностических систем, разработанных ранее для детекции вируса Эбола Заир, оказалось невозможным в силу наличия замен в областях посадки праймеров и зондов у изолятов, циркулирующих в Западной Африке [4]. К счастью, выбор таргетной области системы «Амплисенс EBOV(Zaire)-Fl» оказался удачным, что подтверждено как анализом сиквенсов изолятов текущей вспышки, появившимися в международной базе Gen Bank NCBI, так и практическими результатами тестирования на реальных клинических образцах от

больных лихорадкой Эбола.

В ходе изучения опыта практического применения системы «Амплисенс EBOV(Zaire)-Fl» в условиях мобильной лаборатории и с учетом специфики условий окружающей среды, в которой осуществляет свою деятельность СПЭБ, проведено ее усовершенствование с целью сокращения времени проведения исследования и повышения предела аналитической чувствительности.

Материалы и методы

Мишень, используемую в диагностической системе «Амплисенс EBOV(Zaire)-Fl» (консервативный фрагмент первичной нуклеотидной последовательности гена полимеразы длиной 372 н.т.), укоротили до 168 н.т. (позиции 13997–14165 н.т. референсного сиквенса EBOV, номер доступа в GenBank NCBI – HQ613402).

С этой целью выбрали новый обратный олигонуклеотидный праймер EBOV-shr (5'-AGCTGCGGTTATYCTGCAAG-3', позиции 14146–14165 н.т. референсного сиквенса EBOV, номер доступа в GenBank NCBI – HQ613402). Выбор сделали на основании выравнивания всех представленных в GenBank NCBI первичных нуклеотидных последовательностей вируса Эбола Заир. Выравнивание провели с помощью пакета программ BioEdit 7.2.5 software package (Ibis Biosciences).

Оценку температуры плавления праймера рассчитывали при помощи программы Oligonucleotide Properties Calculator [6].

Реакцию ОТ-ПЦР в реальном времени проводили в объеме 25 мкл. Реакционная смесь содержала следующие компоненты: 10 мкл РНК-пробы, 1 мкл праймера rt_EBOV-f (5 пмоль/мкл), 1 мкл праймера rt_EBOV-rsh (5 пмоль/мкл), 1 мкл зонда EBOV_prb (5 пмоль/мкл), 2,5 мкл дНТФ (1,76 мМ, АмплиСенс, Россия), 5 мкл смеси RT-PCR mix2 FEP/FRT (АмплиСенс, Россия), 0,25 мкл MMLV-ревертазы (АмплиСенс, Россия), 0,25 мкл RTG-mix2 (АмплиСенс, Россия) и 0,5 мкл TaqF полимеразы (АмплиСенс, Россия). Реакцию осуществляли в приборе RotorGene 6000 (Qiagen, Germany). Структура праймера rt_EBOV-f и зонда EBOV_prb не претерпели изменений [1].

Амплификацию проводили в следующем режиме: 50 °C – 15 мин, 95 °C – 15 мин, далее 45 циклов 95 °C – 10 с, 55 °C – 20 с. Детекция флуоресцентного сигнала осуществлялась при 55 °C по каналу Yellow.

Специфичность диагностической системы оценивали с помощью кДНК из высокотитражных культур 23 видов вирусов, принадлежащих к 10 различным семействам, а также 30 образцов клинического материала (плазма) от клинически здоровых людей [1].

С целью оценки аналитической чувствительности готовили с десятикратным шагом разведения положительного контрольного образца (ПКО) известной концентрации. Для получения разведений использовали плазму крови здоровых доноров. Полученные образцы выделяли с помощью набо-

ра для экстракции нуклеиновых кислот Рибо-преп (АмплиСенс, Россия) согласно рекомендациям производителя и исследовали с помощью обычной и модифицированной диагностических систем для выявления минимального порогового разведения, при котором образец детектируется как положительный.

Сравнительное тестирование осуществляли на выборке из 21 клинического образца (сыворотка, кровь, моча, буккальный соскоб) от пациентов с лабораторно подтвержденным диагнозом «лихорадка Эбола». РНК выделяли с помощью набора Рибо-преп (АмплиСенс, Россия) согласно рекомендациям производителя и тестировали модифицированной системой «Амплисенс EBOV(Zaire)-Fl». Реакцию проводили на одном приборе, в реакцию брали одинаковое количество РНК.

Результаты и обсуждение

Анализ показал 100 % идентичность структур праймеров и зонда первичным нуклеотидным последовательностям изолятов из Западной Африки (текущая эпидемия) [4], а также изолятов из ДРК, полученных в 2014 г. [5]. Короткий размер таргетной области позволил модифицировать программу амплификации, исключив из нее стадию элонгации при 72 °С.

Замена обратного праймера в системе «Амплисенс EBOV(Zaire)-Fl» также позволила сократить размер таргетного фрагмента более чем в два раза, что привело к увеличению порога чувствительности с $2 \cdot 10^3$ ГЭ (копий ПКО) в 1 мл до $2 \cdot 10^2$ ГЭ, что в 10 раз выше, чем до проведения модификации. В результате исследования специфичности системы ложноположительных результатов не зафиксировано.

Сравнительный анализ данных, полученных при тестировании клинических образцов от больных лихорадкой Эбола, выявил сдвиг порогового значения $\Delta Ct = 4 \pm 2,2$ цикла, где $\Delta Ct = (Ct_{\text{станд}} - Ct_{\text{мод}})$. Диагностическая чувствительность модифицированной системы также возросла в 8–10 раз, что соотносится с результатами оценки изменения аналитической чувствительности после модификации. Кроме того, время проведения анализа составило 1 ч 25 мин, что на 35 мин меньше, чем при проведении анализа с помощью стандартной системы «Амплисенс EBOV(Zaire)-Fl».

Таким образом, проведенная модификация диагностической системы «Амплисенс EBOV(Zaire)-Fl» позволила добиться существенных улучшений аналитических характеристик и снижения сроков проведения анализа, что способствует совершенствованию надзорных мероприятий по пресечению распространения вируса Эбола Заир в Западной Африке и недопущению его завоза на территорию Российской Федерации.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дедков В.Г., Сафонова М.В., Девяткин А.А., Долгова А.С., Пьянков О.В., Сергеев А.А., Агафонов А.П., Малеев В.В., Шипулин Г.А. Разработка диагностической системы в формате ОТ-ПЦР в реальном времени для выявления РНК вируса Эбола

Заир. *Эпидемиол. инф. бол. Акт. вопр.* 2015; 2:26–32.

2. Ebola situation report, 26 August 2015. <http://apps.who.int/ebola/current-situation/ebola-situation-report-26-august-2015> (дата обращения 02.09.2015).

3. Faye Ous., Bolle P., Heleze E., Faye Oum., Loucoubar Ch., Magassouba N., Soropogui B., Keita S., Gakou T., Bah I., Koivogui L., Sall A., Cauchemez S. Chains of transmission and control of Ebola virus disease in Conakry, Guinea, in 2014: an observational study. *Lancet Inf. Dis.* 2015; 15(3):320–6.

4. Gire K.S., Goba A., Andersen G.K., Sealfon R.S.G., Park D.J., Kanneh L., Jalloh S., Momoh M., Fullah M., Dudas G., Wohl S., Moses L.M., Yozwiak N.L., Winnicki S., Matranga Ch.B., Malboeuf J.Q., Gladden A.D., Schaffner S.F., Jiang Y.X., Nekoui M., Colubri A., Coomber M.R., Fannie M., Moigboi A., Gbakie M., Kamara F.K., Tucker V., Konuwa E., Saffa S., Sellu J., Jalloh A.A., Kovoma A., Koninga J., Mustapha I., Kargbo K., Foday M., Yillah M., Kanneh F., Robert W., Massally J.L., Chapman S.B., Bochicchio J., Murphy C., Nusbaum C., Young S., Birren B.W., Grant D.S., Scheffelin J.S., Lander E.S., Happi Ch., Gevao S.M., Gnirke A., Rambaut A., Garry R.F., Humarr Khan S., Sabeti P.C. Genomic surveillance elucidates Ebola virus origin and transmission during the 2014 outbreak. *Science*. 2014; 345(6202):1369–72.

5. Maganga G.D., Kapetshi J., Berthet N., Kebela Ilunga B., Kabange F., Mbala Kingebeni P., Mondonge V., Muyembe J.J., Bertherat E., Briand S., Cabore J., Epelboin A., Formenty P., Kobinger G., González-Angulo L., Labouba I., Manuguerra J.C., Okwo-Bele J.M., Dye C., Leroy E.M. Ebola virus disease in the Democratic Republic of Congo. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371(22):2083–91.

6. Oligonucleotide Properties Calculator. <http://www.basic.northwestern.edu/biotools/OligoCalc.html> (дата обращения 02.09.2015).

References

1. Dedkov V.G., Safonova M.V., Devyatkin A.A., Dolgova A.S., P'yankov O.V., Sergeev A.A., Agafonov A.P., Maleev V.V., Shipulin G.A. [Development of diagnostic real-time RT-PCR system for Ebola virus Zaire RNA detection]. *Epidemiol. Infekt. Bol. Aktual. Vopr.* 2015; 2:26–32.

2. Ebola situation report, 26 August 2015 [cited 02 Sep 2015]. Available from: <http://apps.who.int/ebola/current-situation/ebola-situation-report-26-august-2015>.

3. Faye Ous., Bolle P., Heleze E., Faye Oum., Loucoubar Ch., Magassouba N., Soropogui B., Keita S., Gakou T., Bah I., Koivogui L., Sall A., Cauchemez S. Chains of transmission and control of Ebola virus disease in Conakry, Guinea, in 2014: an observational study. *Lancet Inf. Dis.* 2015; 15(3):320–6.

4. Gire K.S., Goba A., Andersen G.K., Sealfon R.S.G., Park D.J., Kanneh L., Jalloh S., Momoh M., Fullah M., Dudas G., Wohl S., Moses L.M., Yozwiak N.L., Winnicki S., Matranga Ch.B., Malboeuf J.Q., Gladden A.D., Schaffner S.F., Jiang Y.X., Nekoui M., Colubri A., Coomber M.R., Fannie M., Moigboi A., Gbakie M., Kamara F.K., Tucker V., Konuwa E., Saffa S., Sellu J., Jalloh A.A., Kovoma A., Koninga J., Mustapha I., Kargbo K., Foday M., Yillah M., Kanneh F., Robert W., Massally J.L., Chapman S.B., Bochicchio J., Murphy C., Nusbaum C., Young S., Birren B.W., Grant D.S., Scheffelin J.S., Lander E.S., Happi Ch., Gevao S.M., Gnirke A., Rambaut A., Garry R.F., Humarr Khan S., Sabeti P.C. Genomic surveillance elucidates Ebola virus origin and transmission during the 2014 outbreak. *Science*. 2014; 345(6202):1369–72.

5. Maganga G.D., Kapetshi J., Berthet N., Kebela Ilunga B., Kabange F., Mbala Kingebeni P., Mondonge V., Muyembe J.J., Bertherat E., Briand S., Cabore J., Epelboin A., Formenty P., Kobinger G., González-Angulo L., Labouba I., Manuguerra J.C., Okwo-Bele J.M., Dye C., Leroy E.M. Ebola virus disease in the Democratic Republic of Congo. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371(22):2083–91.

6. Oligonucleotide Properties Calculator. [cited 02 Sep 2015]. Available from: <http://www.basic.northwestern.edu/biotools/OligoCalc.html>.

Authors:

Dedkov V.G. Central Research Institute of Epidemiology; 3-a, Novogireevskaya St., Moscow, Russian Federation. RAS Research Institute of Occupational Medicine; Moscow, Russian Federation. E-mail: info@pcr.ru

Safonova M.V., Maleev V.V., Shipulin G.A. Central Research Institute of Epidemiology. 3-a, Novogireevskaya St., Moscow, Russian Federation. E-mail: info@pcr.ru

Bodnev S.A., Kabanov A.S. State Research Centre of Virology and Biotechnology "Vector". Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru

Safronov V.A., Lopatin A.A., Kuklev V.E., Utkin D.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru

Об авторах:

Дедков В.Г. Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии; Российская Федерация, Москва, ул. Новогиреевская 3-а. Научно-исследовательский институт медицины труда РАН; Российская Федерация, Москва. E-mail: vgededkov@yandex.ru

Сафонова М.В., Малеев В.В., Шипулин Г.А. Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии. Российская Федерация, Москва, ул. Новогиреевская 3-а. E-mail: info@pcr.ru

Боднев С.А., Кабанов А.С. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., п. Кольцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru

Сафронов В.А., Лопатин А.А., Кулев В.Е., Уткин Д.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrap@microbe.ru

Поступила 17.08.15.

Е.И.Казачинская^{1,3}, Ю.В.Никонорова¹, В.Б.Локтев^{1,2,3}

МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА И РЕКОМБИНАНТНЫЕ БЕЛКИ ДЛЯ ИММУНОДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНИ, ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ ЭБОЛА

¹ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», п. Кольцово, Российская Федерация; ²ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Российская Федерация; ³Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Российская Федерация

В обзоре обобщены литературные данные по исследованию вирусных антигенов и антител, специфичных к вирусу Эбола, пригодных для разработки тест-систем для иммунодиагностики вызываемого им заболевания. Представлены результаты работ авторов по получению гибридомных моноклональных антител (МКА), специфичных к структурным вирусным белкам NP, VP40 и VP35, рекомбинантных белков NP, VP40 и VP35 в прокариотической системе *E. coli*, а также возможность использования панелей МКА для выявления вирусных и рекомбинантных белков ВЭ в иммуноферментном анализе.

Ключевые слова: вирус Эбола, рекомбинантные белки, моноклональные антитела, иммунодиагностика.

E.I.Kazachinskaya^{1,3}, Yu.V.Nikonorova¹, V.B.Loktev^{1,2,3}

Monoclonal Antibodies and Recombinant Proteins for Immune-Diagnostics of Ebola Virus Disease

¹State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector", Kol'tsovo, Russian Federation; ²Federal Research Center, Institute of Cytology and Genetics of the RAS Siberian Branch, Novosibirsk, Russian Federation; ³Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russian Federation

The review summarizes the literature data on the studies of viral antigens and antibodies, specific to Ebola virus, suitable for the development of a test-system for immune-diagnostics of the disease caused by them. Represented are the results of investigations on the obtainment of hybridoma monoclonal antibodies (MCA), specific to structural viral proteins NP, VP40, and VP35; recombinant proteins NP, VP40, and VP35 in prokaryotic system of *E. coli*; as well as the possibility to utilize MCA panels for EV viral and recombinant proteins' detection in ELISA.

Key words: Ebola virus, recombinant proteins, monoclonal antibodies, immune-diagnostics.

В декабре 2013 г. в Африке (Либерия, Гвинея, Сьерра-Леоне, Нигерия) началась очередная вспышка болезни, вызванной вирусом Эбола (БВВЭ). ВОЗ 8 августа 2014 г. объявила вспышку БВВЭ важнейшей угрозой для общественного здравоохранения мира. На 24 июня 2015 г. зарегистрировано 27479 случаев болезни, из которых 11217 закончились летально. Изучение молекулярной эпидемиологии этой вспышки БВВЭ показало, что ее возникновение было связано с передачей вируса Эбола (ВЭ) от летучей мыши двухлетнему мальчику, и далее ВЭ распространялся от человека к человеку [14, 16]. Быстрая и точная индикация ВЭ стала принципиально важным условием для успешной борьбы с этой опасной вирусной болезнью.

Номенклатура, классификация, инфекционный агент. Вирус Эбола (род *Ebolavirus*) относится к семейству *Filoviridae*, как и род *Marburgvirus* (BM). К роду *Ebolavirus* относятся четыре вида вирусов: *Zaire ebolavirus*, *Sudan ebolavirus*, *Reston ebolavirus*, *Ivory Coast ebolavirus* и недавно описанный *Bundibugyo ebolavirus*. За время, прошедшее с обнаружения ВЭ в 1976 г., было зафиксировано несколько вспышек болезни с высоким уровнем летальности. Вспышки возникали, в основном, в таких африканских странах как Заир, Судан, Конго, Уганда, Гвинея, Сьерра-Леоне, Либерия, Нигерия. Также зафиксировано не-

сколько завозных случаев болезни и лабораторного заражения ВЭ. БВВЭ характеризуется тяжелым течением болезни и высоким уровнем летальности, которая может достигать 90 %. Эпидемиологическая опасность филовирусов связана с их способностью распространяться через прямой контакт с биологическими жидкостями и воздушно-капельным путем. Специфические иммуно- и генодиагностические препараты на момент возникновения вспышки фактически отсутствовали или существовали в виде экспериментальных лабораторных прописей. Это делало диагностику БВВЭ фактически недоступной для широкого использования органами общественного здравоохранения.

Организация генома, структура и функции белков. Виреоны филовирусов имеют сложную структуру: вирусная частица покрыта наружной липидной оболочкой, в которой локализуется 2 структурных белка (VP24 и гликопротеин (GP)), а нуклеокапсид сформирован белками NP, VP30, VP40, VP35 и L (РНК-зависимая РНК-полимераза). Геном филовирусов представлен несегментированной негативной одноцепочечной РНК, которая составляет 1,1 % от массы вириона. Геном ВЭ состоит из 18959 нуклеотидов и содержит 7 расположенных по порядку генов: 3'leader-NP-VP35-VP40-GP-P30-VP24-L-5'-trailer, кодирующих соответствующие белки – NP, VP35, VP40,

GP, VP30, VP24, L [11]. Ген GP ВЭ кодирует 3 белка с различными функциями: GP₁ (33–501 а.о.) ответствен за рецепторное связывание и является мишенью для специфических антител; GP₂ (502–676 а.о.) содержит мембранносливающий и иммуносупрессивный домены; секреторный гликопротеин sGP (1–295 а.о.), идентичный GP на 90 % [38]. Гликопротеин формирует шипики на поверхности вириона, которые опосредуют проникновение вируса в чувствительные клетки путем рецепторного связывания и слияния с мембраной клеток [45]. Длина белковой цепи GP ВЭ составляет 676 а.о., молекулярная масса около 150 кДа. В составе белка GP выявлено наличие иммуногенных эпитопов, связывающих нейтрализующие антитела [42, 43]. Процентное содержание белка GP ВЭ в вирионе невысокое – 4,7 %, но различия в структуре и антигенности GP позволяют выделять субтипы филовиров, и он является одним из основных вирусных белков, на котором сконцентрированы современные исследования по получению вакцины против БВВЭ [13]. sGP исследовали на возможность его использования для разработки вакцинного препарата [15]. В крови пациентов с БВВЭ и экспериментально зараженных животных обнаружено большое количество белков GP и sGP [17]. Нуклеопротеин (NP) филовиров является одним из мажорных структурных белков, его содержание в вирионе составляет 17 %. Длина белка 739 а.о., рассчитанная молекулярная масса 83 кДа, однако фосфорилирование и О-гликозилирование, необходимое для формирования нуклеокапсидного комплекса, увеличивают его электрофоретическую подвижность до 115 кДа. При исследовании вклада филовировных белков в формирование вирусоподобных частиц (VLPs) показано, что NP ВЭ самостоятельно, без помощи VP40, не выходит из клеток, поэтому предположили формирование комплекса этих белков. Комбинация VP40 с GP или NP в 5 раз увеличивала выход VLPs. Обнаружено лучшее сочетание для экспрессии: VP40+GP+NP [25]. Во взаимодействии предположительно участвуют 2–150 и 601–739 а.о., что показано при использовании делеционных вариантов рекомбинантного белка NP ВЭ. Район 1–450 а.о. нуклеопротеина важен для образования белковых агрегатов из молекулы NP [34]. NP принципиально важен для диагностики вследствие его высокого содержания в вирионе и выраженной антигенности [20]. Матриксный белок VP40 филовиров является мажорной молекулой, что соответствует значительному содержанию его в вирионе – 37,7 %. Длина белка составляет 326 а.о., молекулярная масса – 40 кДа, имеет гидрофобный аминокислотный профиль [11]. По аналогии с матриксными белками других вирусов, филовировный VP40 содействует формированию вириона в плазматической мембране, являясь посредником между нуклеокапсидными белками (NP и VP30) и оболочечными (GP и VP24). VP40 играет ключевую роль в процессе сборки вирионов [8]. Он самостоятельно формирует VLPs и выходит из клеток, но совместная экспрессия с другими белками повышает количе-

ственный уровень выхода вирусоподобных частиц из трансфицированных клеток [25].

Белок VP35 филовиров является одним из трех мажорных компонентов, составляя 24,5 % от массы вириона. Длина белка 340–351 а.о., молекулярная масса 35 кДа. Являясь ко-фактором полимеразы, белок VP35 играет важную роль в процессе транскрипции, репликации и инкапсидации ВЭ [11]. Предполагается, что белок VP35 может быть важен для проявления вирулентности филовиров, блокируя синтез интерферона в зараженных клетках [12]. Мутации в гене VP35 приводят к потере вирулентности ВЭ, что показано на модели морских свинок [37]. Многофункциональность VP35 (ко-фактор полимеразы, ингибитор интерферона, наличие домена на С-конце для связывания РНК) указывает на его значимость в качестве мишени для терапевтических средств [10] и вакцинный потенциал [47]. Минорный нуклеопротеин VP30 локализован в рибонуклеокапсидном комплексе, выполняет функцию инкапсидации совместно с NP [12]. Процентное содержание белка в вирионе – 6,6. Незначительные изменения в структуре белка VP30 (в кластере для взаимодействия с нуклеопротеином) снижают вирулентность ВЭ [19]. L-белок (РНК-зависимая РНК полимераз) – компонент рибонуклеинового комплекса [30] – самый большой белок (180–205 кДа) филовиров, но присутствующий в наименьшем количестве (2 % от массы вириона). Функция мембранно-ассоциированного белка VP24 пока неясна, но единичные аминокислотные замены влияют на изменение патогенных свойств дикого типа ВЭ.

Маркеры и методы для лабораторной диагностики БВВЭ. Список болезней, которые могут вызывать симптомы, подобные филовировным лихорадкам, довольно велик [32]. Это малярия, тифозная лихорадка, шигеллез, менингококковый сепсис, чума, лептоспироз, сибирская язва, возвратный тиф, риккетсиозы, желтая лихорадка, лихорадка Чикунгунья, геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, Крымская лихорадка Конго, лихорадка Ласса и фульминантные вирусные гепатиты. В связи с этим для подтверждения диагноза необходимы данные лабораторных исследований. Получение данных вирусологических и иммунологических исследований исключительно важно еще и потому, что при геморрагических лихорадках в качестве средства специфической терапии (а иногда и ранней серопротекции) могут быть применены препараты иммунной плазмы или сыворотки, содержащие специфические антитела. Классическим методом детекции ВЭ является его выявление в чувствительной культуре клеток Vero с последующей идентификацией вируса методом иммунофлуоресценции, а также для первичной изоляции могут быть использованы мыши сосунки [9]. Недостатком этих методов является длительность проведения исследования – 5–7 сут, что ограничивает их значение как быстрого и эффективного диагностического инструмента.

Сыворотки крови пациентов, заболевших лихорадкой Эбола в Киквике в 1995 г., исследованы на наличие антигена и специфических IgG и IgM в ИФА. Вирусный антиген обнаружен фактически у всех пациентов в течение острого периода, в то время как антитела иногда обнаруживались даже перед смертью. В сыворотках выживших IgG и IgM появлялись приблизительно в одно время от начала болезни (8–10-е сутки), но IgM сохранялись более короткое время. IgG обнаруживали в сыворотках переболевших и через два года хранения. Авторы делают вывод, что обнаружение вирусной РНК методом ПЦР и вирусного антигена служит надежным средством для постановки диагноза у пациентов с подозрением на БВВЭ [24]. Поэтому в настоящее время метод ПЦР успешно развивается и используется для выявления генетического материала филовирусов. При ПЦР-индикации ВЭ чаще используют специфические праймеры для фрагмента гена NP [21].

ИФА является важным инструментом при изучении различных аспектов инфекционного процесса: для обнаружения возбудителя в различных органах и физиологических жидкостях, времени его появления и концентрации, динамики появления и накопления специфических антител. При определении специфических антител к ВЭ установлено, что они могут быть выявлены в реакции связывания комплемента (РСК) на 12-е сутки болезни. В ИФА специфические антитела в низких титрах выявляются уже на 8–9-е сутки, что позволяет подтвердить диагноз и наблюдать динамику накопления специфических антител [6].

Высокая концентрация антигенов ВЭ в крови больных позволяет эффективно выявлять вирусные антигены в ИФА [6, 44]. Поликлональные или моноклональные антитела являются основой для разработки методов иммунологической детекции ВЭ. Для скрининга специфичных антивирусных антител могут быть использованы рекомбинантные белки NP, VP40, VP35 и VP30 в связи с тем, что антитела к этим белкам появляются в крови переболевших обезьян и людей. Первая тест-система иммуоферментная для выявления ВЭ в тканях инфицированных приматов описана в 1992 г. Пул из восьми видов МКА, специфичных к ВЭ-Заир и ВЭ-Судан, использовали для «захвата» антигена. Порог ее чувствительности составил 10^2 – 10^3 БОЕ/мл. [24]. Эту же тест-систему авторы использовали в исследованиях образцов сывороток крови, собранных от пациентов при вспышках БВВЭ и кори в 2004 г. в Судане [35]. Для обнаружения очищенного и концентрированного антигена ВЭ-Заир разработали экспериментальную ИФА-тест-систему с использованием поликлональных специфических антител кролика [6]. Ее применение дало возможность установить специфический диагноз на 5–6-е сутки после инфицирования, фактически в конце инкубационного периода и до развития основных клинических симптомов болезни. МКА, полученные к рекомбинантному NP ВЭ-Заир, узнающие антигенный сайт, использовали в ИФА

для обнаружения различных штаммов ВЭ в материалах от лабораторно инфицированных обезьян. Чувствительность анализа составила 30 нг/100 мкл рекомбинантного NP-Заир [33]. Тест-система успешно апробирована для выявления ВЭ-Рестон в архивных замороженных образцах печени, селезенки и сыворотках крови, собранных во время вспышки БВВЭ среди обезьян на Филиппинах в 1996 г. [22]. ИФА с использованием двух видов МКА, специфичных к белку VP40 ВЭ, обеспечила выявление вирусного антигена в концентрации 1–2 нг/мл по очищенному антигену или по инфекционному титру 10^2 БОЕ/мл. Эти же МКА были успешно использовали при полевом испытании метода иммуофилтрации для выявления ВЭ в образцах сывороток крови, мочи, слюны и пота, собранных во время вспышки БВВЭ в 2003 г. в Республике Конго [27, 28]. Совместное использование МКА и поликлональных антител к белку VP40 также обеспечивало высокую чувствительность выявления вирусного антигена, в том числе в плазме крови лабораторно инфицированных обезьян [23].

Рекомбинантные белки вируса Эбола. Рекомбинантные NP вируса Эбола, экспрессированные в виде полноразмерных копий в бакуловирусной системе и в виде С-концевых фрагментов в *E. coli*, обладали антигенностью и были использованы в ИФА для обнаружения IgG в сыворотках переболевших людей. Специфичность определения IgG была 100 %, без ложноположительных результатов. Кроме того обнаружено, что рекомбинантный NP ВЭ, полученный на основе гена NP ВЭ-Заир, можно использовать для выявления IgG к другим штаммам вируса Эбола: Судан, Рестон и Берег Слоновой Кости [39]. Эти же белки использовали в качестве положительного контроля при разработке ИФА для выявления антигена на основе МКА [33]. В качестве антигена при разработке лабораторной ИФА-тест-системы для выявления специфических антител использовали рекомбинантный NP белок [36]. Получение рекомбинантного белка VP40 ВЭ для целей иммунодиагностики также описано [23, 25, 26]. Рекомбинантный белок VP35 ВЭ-Заир получен в бакуловирусной системе экспрессии гена VP35 [18] и успешно использован для тестирования сывороток крови обезьян и человека. Его использование обеспечило 100 % чувствительность и специфичность. Для исследования вирулентности ВЭ получен рекомбинантный белок VP35 при трансфекции клеток 293Т плазмидами с мутациями в гене VP35 [37]. Способ получения рекомбинантного белка VP35 ВЭ в клетках *E. coli* описан в работе L.Zinzula *et al.* [50].

Рекомбинантный GP может быть также использован в составе ИФА тест-системы для определения титров специфических антител в сыворотках реконвалесцентов [27, 36]. Описан эпитоп-блокирующий лабораторный тест ИФА для выявления антител в сыворотках крови людей, обезьян и мышей на основе МКА и рекомбинантного белка GP, полученного при

трансфекции клеток 293Т плазмидами, кодирующими ген GP [31]. Также известен способ получения рекомбинантной плазмидной ДНК, обеспечивающей экспрессию гена GP ВЭ и получение рекомбинантного белка GP в клетках *E. coli* [36]. Рекомбинантный sGP, полученный с использованием вируса осповакцины со встройкой соответствующего гена [46] и при трансфекции клеток 293Т плазмидой, кодирующей GP-ВЭ-Заир, узнавался МКА в иммуноблоттинге [48].

Коллекции МКА, специфичных к вирусу Эбола.

Высокая специфичность МКА и их доступность, в отличие от поликлональных антител, является большим преимуществом для развития иммунодиагностики. Метод ИФА на основе МКА для раннего выявления антигенов ВЭ и подтверждения результатов ПЦР просто необходим [26]. В 1999 г. по технологии фагового дисплея была получена панель рекомбинантных человеческих МКА, специфичных к белкам sGP и GP ВЭ (субтип Заир), эффективно нейтрализующих вирус в культуре клеток и полностью защищающих морских свинок от заражения [29]. Следующее сообщение было о получении мышинных МКА, специфичных к пяти уникальным эпитопам рекомбинантного GP ВЭ (Заир), способных обеспечивать защиту мышей при введении через 2 дня после заражения [47]. МКА, полученные в результате иммунизации животных плазмидами, кодирующими рекомбинантный GP ВЭ-Заир, были двух типов: нейтрализующие вирус и усугубляющие течение инфекции у инфицированных животных, что ставит серьезные вопросы об использовании МКА к GP в профилактике и терапии, а также возможности получения вакцины против БВВЭ [41]. МКА, полученные к рекомбинантному NP ВЭ-Заир, узнавали антигенный сайт, состоящий из 26 аминокислотных С-концевых остатков. Эти МКА использовали для обнаружения антигенов разных штаммов ВЭ-Заир, Рестон и Судан в ИФА [33]. Известны МКА к белку GP ВЭ, используемые в составе ИФА-тест-системы при индикации и идентификации ВЭ, обеспечивающие аналитическую чувствительность тест-системы на их основе приблизительно $1,0 \cdot 10^3$ БОЕ/мл. Интересное исследование посвящено характеристике и использованию МКА, специфичных к матричному белку VP40 ВЭ-Заир (штамм Mayinga), инактивированного 1,5 % тритоном X100. Из 9 МКА, взаимодействующих с белком VP40 в иммуноблоттинге, четыре взаимодействовали и с рекомбинантным белком, полученным при инфицировании клеток HeLa рекомбинантным вирусом вакцины MVA-T7 с плазмидами, содержащими ген VP40. Два вида МКА использовали для формирования ИФА-тест-системы в формате «сэндвич» [26]. Другая работа этих же авторов посвящена получению и использованию МКА, специфичных GP, для разработки ИФА-тест-системы в формате «сэндвич» для выявления антигена ВЭ-Заир [27]. Для изучения отличий наружного вирусного белка разных штаммов ВЭ и использования их в качестве диагностических реагентов получены МКА к пепти-

дам GP [49]. Описано получение МКА при иммунизации мышей вирусоподобными частицами, несущими фрагменты вирусных белков. 17 видов МКА были специфичны: два – к разным эпитопам белка VP40, три – к секреторному гликопротеину (sGP) и двенадцать – к GP₁. Авторы предлагают использовать МКА, специфичные к VP40, в качестве потенциальных кандидатов для быстрой диагностики, а МКА, специфичные к разным эпитопам GP, могут найти применение для терапии БВВЭ [40]. При иммунизации мышей рекомбинантным GP получены восемь видов нейтрализующих МКА, один вид специфичен к эпитопу 1–295 а.о. sGP [38].

В ГНЦ ВБ «Вектор» получены гибридные клеточные линии, продуцирующие МКА, специфичные к белку VP35. 2 клеточных линии: к VP40 – 20 гибридом и к NP – 15 гибридом [3, 4, 5]. Для их получения мыши и крысы – доноры селезеночных лимфоцитов – были иммунизированы вирулентным штаммом ВЭ-Заир (ВЭ-IS) или адаптированным к морским свинкам штаммом 8МС ВЭ-Заир. Панель очищенных МКА была исследована в ИФА в формате «сэндвич» на способность «захватывать» вирусные и рекомбинантные антигены из раствора и формировать иммунные комплексы на полистироловой поверхности микропланшетов, а МКА, конъюгированные с биотином, на способность выявлять образовавшийся иммунный комплекс. Всего исследовано 19 наиболее высокотитражных МКА, специфичных к белкам ВЭ: два – к VP35, семь – к VP40, десять – к нуклеопротеину. Из них сформировано 399 различных сочетаний пар МКА. Инактивированный антиген ВЭ удовлетворительно выявляли 115 пар МКА (ОП в диапазоне от 1,0 до 3,5), 29 из них выявляли рекомбинантные белки: 16 – выявляли рек. VP40 и 13 – рек. NP. Интересен был факт выявления инактивированного ВЭ парами МКА, специфичными к разным вирусным белкам. Эти данные предполагают высокую стабильность комплексов белков в вирусном препарате после его очистки и инактивации. Использование очищенных антигенов и рекомбинантных белков позволяет более точно определять чувствительность выявления индивидуальных антигенов. Чувствительность выявления рекомбинантных антигенов разными парами МКА колебалась от 1 до 150 нг/мл. Наиболее высокую чувствительность обеспечивали МКА 1B2+7B11* (конъюгат с биотином), специфичные к нуклеопротеину ВЭ, и МКА 4A2+1C1* (конъюгат с биотином), специфичные к белку VP40. Эти виды МКА позволяли эффективно выявлять антигены в концентрации 1–2 нг/мл [5].

Рекомбинантные белки ВЭ в ГНЦ ВБ «Вектор». Для получения рекомбинантных аналогов вирусных белков нами изолирована вирусная РНК из инактивированного очищенного препарата ВЭ, штамм Mayinga. Полноразмерный ген белка VP35 ВЭ был получен полимеразной цепной реакцией (ПЦР) с вирусспецифической кДНК с использованием специфических праймеров. Полученный ПЦР-

фрагмент клонировали в составе плазмиды pQE-31 (Qiagen). Рекombинантная плазмидная ДНК pQE-VP35 обеспечивает экспрессию гена VP35 ВЭ с 3128 по 4148 нуклеотид, который кодирует белок VP35 ВЭ длиной 340 а.о. с полигистидиновым (6xHis) трактом на N конце. Электрофоретическая подвижность в 15 % SDS-ПААГ синтезируемого рекомбинантного белка 35 кДа совпадала с литературными данными и нашими теоретическими расчетами (36,941 кДа) [3, 7]. Геномные фрагменты, кодирующие белки NP и VP40, получили методом ОТ-ПЦР с использованием специфических праймеров для этих генов. Гибридные плазмиды содержали открытые рамки трансляции, кодирующие белки длиной 751 аминокислотный остаток для NP и 338 аминокислотных остатков для VP40. Подлинность полученных плазмид проверяли рестриктивным картированием и секвенированием. Для экспрессии рекомбинантных белков использовали штамм *E. coli* JM 103, трансформированный плазмидной ДНК pQE-VP40 и pQE-NP. Уровень синтеза рекомбинантных полипептидов оценивался до 70 мг на 1 л культуральной среды с выходом целевого белка 25 и 40 % от суммарного клеточного белка. Рекombинантные белки исследовали на антигенную специфичность и иммуногенность в ИФА и иммуноблоте (ИБ). Рекombинантные аналоги вирусных белков обладали иммуногенностью, вызывая синтез антител до титра 1:2000000 в организме иммунизированных аутбредных мышей линии ICR. Рекombинантные белки NP, VP40 и VP35 ВЭ эффективно взаимодействуют с антителами сывороток крови мышей, иммунизированных инактивированным вирусом и, что наиболее важно, с антителами кроликов и лошадей, иммунизированных инфекционным вирусом [1]. В ИФА и иммуноблоттинге показано, что очищенные в денатурирующих условиях рекомбинантные белки NP, VP40 и VP35 ВЭ распознаются моноклональными антителами. Таким образом, иммунохимическое исследование рекомбинантных белков NP, VP40 и VP35 ВЭ показало, что они антигенно подобны структурным белкам ВЭ. Полученные рекомбинантные антигены и МКА могут быть использованы для конструирования иммунодиагностических тест-систем [2, 3]. В нашей лаборатории продолжаются работы по пополнению клонотеки филовиральных генов, необходимых для получения профилактической вакцины против БВВЭ и коллекции МКА, возможно нейтрализующих вирус, которые смогут стать основой для получения терапевтических препаратов гуманизированных антител.

В настоящее время полученные панели МКА и рекомбинантные белки используются для разработки быстрого (время анализа 15–20 мин) и простого иммунохроматографического экспресс-метода для выявления антигенов ВЭ в полевых условиях без использования сложного оборудования.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Борисевич В.Н., Михайлов В.В., Краснянский Б.П., Градобоев В.Н., Лебединская Е.В., Потрываева Н.В., Тиманькова Г.Д. Разработка и изучение свойств иммуноглобулинов против лихорадки Эбола. *Вопр. вирусол.* 1996; 6:270–3.
2. Иванова А.В., Казачинская Е.И., Качко А.А., Субботина Е.Л., Сорокин А.В., Разумов И.А., Нетесов С.В., Локтев В.Б. Получение и иммунологическая характеристика рекомбинантных белков VP40 и NP филовирусов. *Пробл. особо опасных инф.* 2010; 106:32–3.
3. Казачинская Е.И., Терновой В.А., Рудзевич Т.Н., Нетесов С.В., Чепурнов А.А., Разумов И.А. Исследование антигенной структуры белка VP35 вируса Эбола. *Вопр. вирусол.* 2001; 5:25–31.
4. Казачинская Е.И., Перебоев А.В., Чепурнов А.А., Беланов Е.Ф., Разумов И.А. Моноклональные антитела к вирусу Эбола: получение, характеристика и изучение перекрестной реактивности с вирусом Марбург. *Вопр. вирусол.* 2000; 3:40–4.
5. Казачинская Е.И., Иванова А.В., Сорокин А.В., Качко А.А., Субботина Е.Л., Разумов И.А., Локтев В.Б. Моноклональные антитела и рекомбинантные белки филовирусов. Иммунохимические свойства и оценка возможности их использования для иммунодиагностики. *Мед. иммунол.* 2010; 3(12):177–90.
6. Мерзликин Н.В., Чепурнов А.А., Истомина Н.Н., Офицеров В.И., Воробьева М.С. Разработка и применение иммуноферментных тест-систем для диагностики лихорадки Эбола. *Вопр. вирусол.* 1995; 40(1):31–5.
7. Рудзевич Т.Н., Терновой В.А., Казачинская Е.И., Разумов И.А., Чепурнов А.А., Локтев В.Б., Нетесов С.В. Выявление антигенных детерминант на N – конце белка VP35 вируса Эбола с помощью коротких рекомбинантных фрагментов этого белка. *Мол. генет., микробиол. и вирусол.* 2003; 2:38–41.
8. Aman M., Bosio C.M., Panchal R.G., Burnett J.C., Schmaljohn A., Bavari S. Molecular mechanisms of filovirus cellular trafficking. *Microbes Infect.* 2003; 5(7):639–49.
9. Bente D., Gren J., Strong J.E., Feldmann H. Disease modeling for Ebola and Marburg viruses. *Dis. Model. Mech.* 2009; 2(1–2):12–7.
10. Binning J.M., Wang T., Luthra P., Shabman R.S., Borek D.M., Liu G., Xu W., Leung D.W., Basler C.F., Amarasinghe G.K. Development of RNA aptamers targeting Ebola virus VP35. *Biochemistry.* 2013; 52(47):8406–19.
11. Bukreyev A.A., Volchkov V.E., Blinov V.M., Netesov S.V. The VP35 and VP40 proteins of filoviruses. Homology between Marburg and Ebola viruses. *FEBS Lett.* 1993; 322(1):1–6.
12. Bukreyev A.A. Characteristics of Filoviridae: Marburg and Ebola Viruses. *Naturwissenschaften.* 1999; 6:8–17.
13. Bukreyev A., Rollin P.E., Tate M.K., Yang L., Zaki S.R., Shieh W.J., Murphy B.R., Collins P.L., Sanchez A. Successful topical respiratory tract immunization of primates against Ebola virus. *J. Virol.* 2007; 81(12):6379–88.
14. Carroll M.W., Matthews D.A., Hiscox J.A., Elmore M.J., Pollakis G., Rambaut A., Hewson R., García-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., Echichioya D., Ellerbrok H., Fernandez-Garcia M.D., Fizet 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., Molkenhuth 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., Kretscher B., Hall Y., Kenny J.G., Rickett N.Y., Dudas G., Coltart C.E., Kerber B., 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 Jun 17; doi: 10.1038/nature14594.
15. de La Vega M.A., Wong G., Kobinger G.P., Qiu X. The multiple roles of sGP in Ebola pathogenesis. *Viral Immunol.* 2015; 28(1):3–9.
16. Dhama K., Malik Y.S., Malik S.V., Singh R.K. Ebola from emergence to epidemic: the virus and the disease, global preparedness and perspectives. *J. Infect. Dev. Ctries.* 2015; 9(5):41–55.
17. Dolnik O., Volchkova V., Garten W., Carbonnelle C., Becker S., Kahnt J., Ströher U., Klenk H.D., Volchkov V. Ectodomain shedding of the glycoprotein GP of Ebola virus. *EMBO J.* 2004; 23:2175–84.

18. Groen J., van den Hoogen B.G., Burghoorn-Maas C.P., Fooks A.R., Burton J., Clegg C.J., Zeller H., Osterhaus A.D. Serological reactivity of baculovirus-expressed Ebola virus VP35 and nucleoproteins. *Microbes Infect.* 2003; 5(5):379–85.
19. Hartlieb B., Muziol T., Weissenhorn W., Becker S. Crystal structure of the C-terminal domain of Ebola virus VP30 reveals a role in transcription and nucleocapsid association. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007; 104(2):624–9.
20. Huang Y., Wei H., Wang Y., Shi Z., Raoul H., Yuan Z. Rapid detection of filoviruses by real-time TaqMan polymerase chain reaction assays. *Virol. Sin.* 2012; 27(5):273–7.
21. Huang Y., Zhu Y., Yang M., Zhang Z., Song D., Yuan Z. Nucleoprotein-based indirect enzyme-linked immunosorbent assay (indirect ELISA) for detecting antibodies specific to Ebola virus and Marburg virus. *Virol. Sin.* 2014; 29(6):372–80.
22. Ikegami T., Niikura M., Saijo M., Miranda M.E., Calaor A.B., Hernandez M., Acosta L.P., Manalo D.L., Kurane I., Yoshikawa Y., Morikawa S. Antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay for specific detection of Reston Ebola virus nucleoprotein. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2003; 10(4):552–7.
23. Kalstrom G., Warfield K.L., Swenson D.L., Mort S., Panchal R.G., Ruthel G., Bavari S., Aman J. Analysis of Ebola virus and VLP release using an immunocapture assay. *J. Virol. Meth.* 2005; 127(1):1–9.
24. Ksiazek T.G., Rollin P.E., Jahrling P.B., Johnson E., Dalgard D.W., Peters C.J. Enzyme immunoassay for Ebola virus antigens in tissues of infected primates. *J. Clin. Microbiol.* 1992; 30(4):947–50.
25. Licata J.M., Johnson R.F., Han Z., Hart R.N. Contribution of ebola virus glycoprotein, nucleoprotein, and VP24 to budding of VP40 virus-like particles. *J. Virol.* 2004; 78(14):7344–51.
26. Luch A., Grunov R., Moller P., Feldman H., Becker S. Development, characterization and use of monoclonal VP40-antibodies for the detection of Ebola virus. *J. Virol. Meth.* 2003; 111:21–8.
27. Luch A., Grunov R., Otterbein C., Moller P., Feldman H., Becker S. Production of monoclonal antibodies and development of an antigen capture ELISA directed against envelope glycoprotein GP of Ebola virus. *Med. Microbiol. Immunol.* 2004; 193:81–7.
28. Lucht A., Formenty P., Feldmann H., Gotz M., Leroy E., Bataboukila P., Grolla A., Feldmann F., Wittmann T., Campbell P., Atsangandoko C., Boumandoki P., Finke E.J., Miethe P., Becker S., Grunov R. Development of an immunofiltration-based antigen-detection assay for rapid diagnosis of Ebola virus infection. *J. Infect. Dis.* 2007; 196(2):184–92.
29. Maruyama T., Rodriguez L.L., Jahrling P.B., Sanchez A., Khan A.S., Nichol S.T., Peters C.J., Parren P.W., Burton D.R. Ebola virus can be effectively neutralized by antibody produced in natural human infection. *J. Virol.* 1999; 73(7):6024–30.
30. Muhlberger E., Lotfering B., Klenk H.-D. Becker S. Three of the four nucleocapsid proteins of Marburg virus, NP, VP35, and L, are sufficient to mediate replication and transcription of Marburg virus-specific monocistronic minigenomes. *J. Virol.* 1998; 72(11):8756–84.
31. Nakayama E., Yokoyama A., Miyamoto H., Igarashi M., Kishida N., Matsuno K., Marzi A., Feldmann H., Ito K., Saijo M., Takada A. Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of filovirus species-specific antibodies. *Clin. Vaccine Immunol.* 2010; 17(11):1723–8.
32. Ndayimirije N., Kindhauser M.K. Marburg hemorrhagic fever in Angola-fighting fear and a lethal pathogen. *N. Engl. J. Med.* 2005; 352(21):2155–7.
33. Niikura M., Ikegami T., Saijo M., Kurane I., Miranda M.E., Morikawa S. Detection of Ebola viral antigen by enzyme-linked immunosorbent assay using a novel monoclonal antibody to nucleoprotein. *J. Clin. Microbiol.* 2001; 39(9):3267–71.
34. Noda T., Watanabe S., Sagara H., Kawaoka Y. Mapping of the VP40-binding regions of the nucleoprotein of Ebola virus. *J. Virol.* 2007; 81(7):3554–62.
35. Onyango C.O., Opoka M.L., Ksiazek T.G., Formenty P., Ahmed A., Tukey P.M., Sang R.C., Ofula V.O., Konongoi S.L., Coldren R.L., Grein T., Legros D., Bell M., De Cock K.M., Bellini W.J., Towner J.S., Nichol S.T., Rollin P.E. Laboratory diagnosis of Ebola hemorrhagic fever during an outbreak in Yambio, Suda, 2004. *J. Infect. Dis.* 2007; 196(2):193–8.
36. Prehaud C., Hellebrand E., Coudrier D., Volchkov V.E., Volchkova V.A., Feldmann H., Le Guenno B., Bouloy M. Recombinant Ebola virus nucleoprotein and glycoprotein (Gabon 94 strain) provide new tools for the detection of human infections. *J. Gen. Virol.* 1998; 79(11):2565–72.
37. Prins K.C., Delpeut S., Leung D.W., Reynard O., Volchkova V.A., Reid S.P., Ramanan P., Cardenas W.B., Amarasinghe G.K., Volchkov V.E., Basler C.F. Mutations abrogating VP35 interaction with double-stranded RNA render Ebola virus avirulent in guinea pigs. *J. Virol.* 2010; 84(6):3004–15.
38. Qiu X., Alimonti J.B., Melito P.L., Fernando L., Stroher U., Jones S.M. Characterization of Zaire ebolavirus glycoprotein-specific monoclonal antibodies. *Clin. Immunol.* 2011; 141(2):218–27.
39. Saijo M., Niikura M., Morikawa S., Ksiazek T.G., Meyer R.F., Peters C.J., Kurane I. Enzyme-linked immunosorbent assays for detection of antibodies to Ebola and Marburg viruses using recombinant nucleoproteins. *J. Clin. Microbiol.* 2001; 39(1):1–7.
40. Shahhosseini S., Das D., Qiu X., Feldmann H., Jones S.M., Suresh M.R. Production and characterization of monoclonal antibodies against different epitopes of Ebola virus antigens. *J. Virol. Methods.* 2007; 143(1):29–37.
41. Takada A., Watanabe S., Okazaki K., Kida H., Kawaoka Y. Infectivity-Enhancing Antibodies to Ebola virus glycoprotein. *J. Virol.* 2001; 75(5):2324–30.
42. Takada A., Feldmann H., Stroher U., Bray M., Watanabe S., Ito H., McGregor M., Kawaoka Y. Identification of protective epitopes on ebola virus glycoprotein at the single amino acid level by using recombinant vesicular stomatitis viruses. *J. Virol.* 2003; 77(2):1069–74.
43. Takada A., Feldmann H., Stroher U., Bray M., Watanabe S., Ito H., McGregor M., Kawaoka Y. Identification of protective epitopes on ebola virus glycoprotein at the single amino acid level by using recombinant vesicular stomatitis viruses. *J. Virol.* 2003; 77(2):1069–74.
44. Townner J.S., Sealy T.K., Khristova M.L., Albarrino C.G., Conlan S., Reeder S.A., Quan P.L., Lipkin W.I., Downing R., Tappero J.W., Okware S., Lutwama J., Bakamutumaho B., Kayiwa J., Comer J.A., Rollin P.E., Ksiazek T.G., Nichol S.T. Newly Discovered Ebola Virus Associated with Hemorrhagic Fever Outbreak in Uganda. *PLoS Pathog.* 2008; 4(11):e1000212.
45. Volchkov V.E., Volchkova V.A., Slenczka W., Klenk H.D., Feldmann H. Release of viral glycoproteins during Ebola virus infection. *Virology.* 1998; 245(1):110–9.
46. Volchkova V.A., Klenk H.D., Volchkov V.E. Delta-peptide is the carboxy-terminal cleavage fragment of the nonstructural small glycoprotein sGP of Ebola virus. *Virology.* 1999; 265(1):64–71.
47. Wilson J.A., Bray M., Bakken R., Hart M.K. Vaccine potential of Ebola virus VP24, VP30, VP35 and VP40 proteins. *Virology.* 2001; 286(2):384–90.
48. Wolf K., Beiforde N., Falzarano D., Feldmann H., Schnittler H.J. The Ebola virus soluble glycoprotein (sGP) does not affect lymphocyte apoptosis and adhesion to activated endothelium. *J. Infect. Dis.* 2011; 204(3):947–52.
49. Yu J.S., Liao H.X., Gerdon A.E., Huffman B., Searce R.M., McAdams M., Alam S.M., Popernack P.M., Sullivan N.J., Wright D., Cliffl D.E., Nabel G.J., Haynes B.F. Detection of Ebola virus envelope using monoclonal and polyclonal antibodies in ELISA, surface plasmon resonance and a quartz crystal microbalance immunosensor. *J. Virol. Methods.* 2006; 137(2):219–28.
50. Zinzula L., Esposito F., Muhlberger E., Trunschke M., Conrad D., Piano D., Tramontano E. Purification and functional characterization of the full length recombinant Ebola virus VP35 protein expressed in *E. coli*. *Protein Expr. Purif.* 2009; 66(1):113–9.

References

1. Borisevich V.N., Mikhailov V.V., Krasnyansky B.P., Gradoboev V.N., Lebedinskaya E.V., Potryvaeva N.V., Timan'kova G.D. [Development and investigation of properties of immunoglobulins against Ebola fever]. *Vopr. Virusol.* 1996; 6:270–3.
2. Ivanova A.V., Kazachinskaya E.I., Kachko A.V., Subbotina E.L., Sorokin A.V., Razumov I.A., Neteosov S.V., Loktev V.B. [Obtaining and immunologic characterization of filoviruses recombinant proteins VP40 and NP]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2010; 106:32–6.
3. Kazachinskaya E.I., Ternovoy V.A., Rudzevich T.N., Neteosov S.V., Chepurinov A.A., Razumov I.A. [Studies of antigen structure of Ebola virus VP35 protein]. *Vopr. Virusol.* 2001; 5: 25–31.
4. Kazachinskaya E.I., Pereboev A.V., Chepurinov A.A., Belanov E.F., Razumov I.A. [Monoclonal antibodies to Ebola virus: production, identification, and investigation of cross reactivity with Marburg virus]. *Vopr. Virusol.* 2000; 3:40–4.
5. Kazachinskaya E.I., Ivanova A.V., Sorokin A.V., Kachko A.A., Subbotina E.L., Razumov I.A., Loktev V.B. [Monoclonal antibodies and recombinant proteins of filoviruses. Immunochemical properties and evaluation of possibility of their usage for immunodiagnostics]. *Med. Immunol.* 2010; 3(12):177–90.
6. Merzlikin N.V., Chepurinov A.A., Istomina N.N., Ofitserov V.I., Vorob'eva M.S. [Development and application of immune-enzyme test-systems for diagnostics of Ebola fever]. *Vopr. Virusol.* 1995; 40(1):31–5.
7. Rudzevich T.N., Ternovoy V.A., Kazachinskaya E.I., Razumov I.A., Chepurinov A.A., Loktev V.B., Neteosov S.V. [Detection of antigen determinants on the N-terminus of Ebola virus VP35 protein, using its short recombinant fragments]. *Mol. Genet. Mikrobiol. Virusol.* 2003; 2:38–41.
8. Aman M., Bosio C.M., Panchal R.G., Burnett J.C., Schmaljohn A., Bavari S. Molecular mechanisms of filovirus cellular trafficking. *Microbes Infect.* 2003; 5(7):639–49.
9. Bente D., Gren J., Strong J.E., Feldmann H. Disease modeling for Ebola and Marburg viruses. *Dis. Model. Mech.* 2009; 2(1–2):12–7.
10. Binning J.M., Wang T., Luthra P., Shabman R.S., Borek D.M., Liu G., Xu W., Leung D.W., Basler C.F., Amarasinghe G.K. Development of RNA aptamers targeting Ebola virus VP35. *Biochemistry.* 2013; 52(47):8406–19.
11. Bukreyev A.A., Volchkov V.E., Blinov V.M., Neteosov S.V. The VP35 and VP40 proteins of filoviruses. Homology between Marburg and Ebola viruses. *FEBS Lett.* 1993; 322(1):1–6.

12. Bukreyev A.A. Characteristics of Filoviridae: Marburg and Ebola Viruses. *Naturwissenschaften*. 1999; 6:8–17.
13. Bukreyev A., Rollin P.E., Tate M.K., Yang L., Zaki S.R., Shieh W.J., Murphy B.R., Collins P.L., Sanchez A. Successful topical respiratory tract immunization of primates against Ebola virus. *J. Virol.* 2007; 81(12):6379–88.
14. 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., Fizet 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., Lütke A., Maes P., McCowen J., Mély S., Mertens M., Meschi S., Meyer B., Michel J., Molkenthin P., Muñoz-Fontela C., Muth D., Newman E.N., Ngabo D., Oestereich L., Okosun J., Olorok T., Omiunu R., Omomoh E., Pallach 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 Jun 17; doi: 10.1038/nature14594.
15. de La Vega M.A., Wong G., Kobinger G.P., Qiu X. The multiple roles of sGP in Ebola pathogenesis. *Viral Immunol.* 2015; 28(1):3–9.
16. Dhama K., Malik Y.S., Malik S.V., Singh R.K. Ebola from emergence to epidemic: the virus and the disease, global preparedness and perspectives. *J. Infect. Dev. Ctries.* 2015; 9(5):41–55.
17. Dolnik O., Volchkova V., Garten W., Carbonnelle C., Becker S., Kahnt J., Ströher U., Klenk H.D., Volchkov V. Ectodomain shedding of the glycoprotein GP of Ebola virus. *EMBO J.* 2004; 23:2175–84.
18. Groen J., van den Hoogen B.G., Burghoorn-Maas C.P., Fooks A.R., Burton J., Clegg C.J., Zeller H., Osterhaus A.D. Serological reactivity of baculovirus-expressed Ebola virus VP35 and nucleoproteins. *Microbes Infect.* 2003; 5(5):379–85.
19. Hartlieb B., Muziol T., Weissenhorn W., Becker S. Crystal structure of the C-terminal domain of Ebola virus VP30 reveals a role in transcription and nucleocapsid association. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2007; 104(2):624–9.
20. Huang Y., Wei H., Wang Y., Shi Z., Raoul H., Yuan Z. Rapid detection of filoviruses by real-time TaqMan polymerase chain reaction assays. *Viral Sin.* 2012; 27(5):273–7.
21. Huang Y., Zhu Y., Yang M., Zhang Z., Song D., Yuan Z. Nucleoprotein-based indirect enzyme-linked immunosorbent assay (indirect ELISA) for detecting antibodies specific to Ebola virus and Marburg virus. *Viral Sin.* 2014; 29(6):372–80.
22. Ikegami T., Niikura M., Saijo M., Miranda M.E., Calaor A.B., Hernandez M., Acosta L.P., Manalo D.L., Kurane I., Yoshikawa Y., Morikawa S. Antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay for specific detection of Reston Ebola virus nucleoprotein. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2003; 10(4):552–7.
23. Kalstrom G., Warfield K.L., Swenson D.L., Mort S., Panchal R.G., Ruthel G., Bavari S., Aman J. Analysis of Ebola virus and VLP release using an immunocapture assay. *J. Virol. Meth.* 2005; 127(1):1–9.
24. Ksiazek T.G., Rollin P.E., Jahrling P.B., Johnson E., Dalgard D.W., Peters C.J. Enzyme immunoassay for Ebola virus antigens in tissues of infected primates. *J. Clin. Microbiol.* 1992; 30(4): 947–50.
25. Licata J.M., Johnson R.F., Han Z., Harty R.N. Contribution of ebola virus glycoprotein, nucleoprotein, and VP24 to budding of VP40 virus-like particles. *J. Virol.* 2004; 78(14):7344–51.
26. Luch A., Grunov R., Moller P., Feldman H., Becker S. Development, characterization and use of monoclonal VP40-antibodies for the detection of Ebola virus. *J. Virol. Meth.* 2003; 111:21–8.
27. Luch A., Grunov R., Otterlein C., Moller P., Feldman H., Becker S. Production of monoclonal antibodies and development of an antigen capture ELISA directed against envelope glycoprotein GP of Ebola virus. *Med. Microbiol. Immunol.* 2004; 193:81–7.
28. Lucht A., Formenty P., Feldmann H., Gotz M., Leroy E., Bataboukila P., Grolla A., Feldmann F., Wittmann T., Campbell P., Aisangandoko C., Boumandoki P., Finke E.J., Miethe P., Becker S., Grunov R. Development of an immunofiltration-based antigen-detection assay for rapid diagnosis of Ebola virus infection. *J. Infect. Dis.* 2007; 196(2):184–92.
29. Maruyama T., Rodriguez L.L., Jahrling P.B., Sanchez A., Khan A.S., Nichol S.T., Peters C.J., Parren P.W., Burton D.R. Ebola virus can be effectively neutralized by antibody produced in natural human infection. *J. Virol.* 1999; 73(7):6024–30.
30. Muhlberger E., Lotfing B., Klenk H.-D., Becker S. Three of the four nucleocapsid proteins of Marburg virus, NP, VP35, and L, are sufficient to mediate replication and transcription of Marburg virus-specific monocistronic minigenomes. *J. Virol.* 1998; 72(11):8756–84.
31. Nakayama E., Yokoyama A., Miyamoto H., Igarashi M., Kishida N., Matsuno K., Marzi A., Feldmann H., Ito K., Saijo M., Takada A. Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of filovirus species-specific antibodies. *Clin. Vaccine Immunol.* 2010; 17(11):1723–8.
32. Ndayimirije N., Kindhauser M.K. Marburg hemorrhagic fever in Angola-fighting fear and a lethal pathogen. *N. Engl. J. Med.* 2005; 352(21):2155–7.
33. Niikura M., Ikegami T., Saijo M., Kurane I., Miranda M.E., Morikawa S. Detection of Ebola viral antigen by enzyme-linked immunosorbent assay using a novel monoclonal antibody to nucleoprotein. *J. Clin. Microbiol.* 2001; 39(9):3267–71.
34. Noda T., Watanabe S., Sagara H., Kawaoka Y. Mapping of the VP40-binding regions of the nucleoprotein of Ebola virus. *J. Virol.* 2007; 81(7):3554–62.
35. Onyango C.O., Opoka M.L., Ksiazek T.G., Formenty P., Ahmed A., Tukey P.M., Sang R.C., Ofula V.O., Konongoi S.L., Coldren R.L., Grein T., Legros D., Bell M., De Cock K.M., Bellini W.J., Towner J.S., Nichol S.T., Rollin P.E. Laboratory diagnosis of Ebola hemorrhagic fever during an outbreak in Yambio, Sudan, 2004. *J. Infect. Dis.* 2007; 196(2):193–8.
36. Prehaud C., Hellebrand E., Coudrier D., Volchkov V.E., Volchkova V.A., Feldmann H., Le Guenno B., Bouloy M. Recombinant Ebola virus nucleoprotein and glycoprotein (Gabon 94 strain) provide new tools for the detection of human infections. *J. Gen. Virol.* 1998; 79(11): 2565–72.
37. Prins K.C., Delpout S., Leung D.W., Reynard O., Volchkova V.A., Reid S.P., Ramanan P., Cardenas W.B., Amarasinghe G.K., Volchkov V.E., Basler C.F. Mutations abrogating VP35 interaction with double-stranded RNA render Ebola virus avirulent in guinea pigs. *J. Virol.* 2010; 84(6):3004–15.
38. Qiu X., Alimonti J.B., Melito P.L., Fernando L., Ströher U., Jones S.M. Characterization of Zaire ebolavirus glycoprotein-specific monoclonal antibodies. *Clin. Immunol.* 2011; 141(2):218–27.
39. Saijo M., Niikura M., Morikawa S., Ksiazek T.G., Meyer R.F., Peters C.J., Kurane I. Enzyme-linked immunosorbent assays for detection of antibodies to Ebola and Marburg viruses using recombinant nucleoproteins. *J. Clin. Microbiol.* 2001; 39(1):1–7.
40. Shahhosseini S., Das D., Qiu X., Feldmann H., Jones S.M., Suresh M.R. Production and characterization of monoclonal antibodies against different epitopes of Ebola virus antigens. *J. Virol. Methods*. 2007; 143(1):29–37.
41. Takada A., Watanabe S., Okazaki K., Kida H., Kawaoka Y. Infectivity-Enhancing Antibodies to Ebola virus glycoprotein. *J. Virol.* 2001; 75(5):2324–30.
42. Takada A., Feldmann H., Stroehrer U., Bray M., Watanabe S., Ito H., McGregor M., Kawaoka Y. Identification of protective epitopes on ebola virus glycoprotein at the single amino acid level by using recombinant vesicular stomatitis viruses. *J. Virol.* 2003; 77(2):1069–74.
43. Takada A., Feldmann H., Stroehrer U., Bray M., Watanabe S., Ito H., McGregor M., Kawaoka Y. Identification of protective epitopes on ebola virus glycoprotein at the single amino acid level by using recombinant vesicular stomatitis viruses. *J. Virol.* 2003; 77(2):1069–74.
44. Towner J.S., Sealy T.K., Khristova M.L., Albarrino C.G., Conlan S., Reeder S.A., Quan P.L., Lipkin W.I., Downing R., Tappero J.W., Okware S., Lutwama J., Bakamutumaho B., Kayiwa J., Comer J.A., Rollin P.E., Ksiazek T.G., Nichol S.T. Newly Discovered Ebola Virus Associated with Hemorrhagic Fever Outbreak in Uganda. *PLoS Pathog.* 2008; 4(11):e1000212.
45. Volchkov V.E., Volchkova V.A., Slenczka W., Klenk H.D., Feldmann H. Release of viral glycoproteins during Ebola virus infection. *Virology*. 1998; 245(1):110–9.
46. Volchkova V.A., Klenk H.D., Volchkov V.E. Delta-peptide is the carboxy-terminal cleavage fragment of the nonstructural small glycoprotein sGP of Ebola virus. *Virology*. 1999; 265(1):64–71.
47. Wilson J.A., Bray M., Bakken R., Hart M.K. Vaccine potential of Ebola virus VP24, VP30, VP35 and VP40 proteins. *Virology*. 2001; 286(2):384–90.
48. Wolf K., Beimforde N., Falzarano D., Feldmann H., Schnittler H.J. The Ebola virus soluble glycoprotein (sGP) does not affect lymphocyte apoptosis and adhesion to activated endothelium. *J. Infect. Dis.* 2011; 204(3):947–52.
49. Yu J.S., Liao H.X., Gerdon A.E., Huffman B., Searce R.M., McAdams M., Alam S.M., Popernack P.M., Sullivan N.J., Wright D., Cliffl D.E., Nabel G.J., Haynes B.F. Detection of Ebola virus envelope using monoclonal and polyclonal antibodies in ELISA, surface plasmon resonance and a quartz crystal microbalance immunosensor. *J. Virol. Methods*. 2006; 137(2):219–28.
50. Zinzula L., Esposito F., Muhlberger E., Trunschke M., Conrad D., Piano D., Tramontano E. Purification and functional characterization of the full length recombinant Ebola virus VP35 protein expressed in *E. coli*. *Protein Expr. Purif.* 2009; 66(1):113–9.

Authors:

Kazachinskaya E.I. State Research Centre of Virology and Biotechnology “Vector”, Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. Novosibirsk State University; Novosibirsk, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru

Nikonorova Yu.V. State Research Centre of Virology and Biotechnology “Vector”, Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru

Loktev V.B. State Research Centre of Virology and Biotechnology “Vector”, Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. Federal Research Center, Institute of Cytology and Genetics of the RAS Siberian Branch; Novosibirsk, Russian Federation. Novosibirsk State University; Novosibirsk, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru

Об авторах:

Казачинская Е.И. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»; Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., п. Кольцово. Новосибирский государственный университет; Новосибирск, Российская Федерация. E-mail: vector@vector.nsc.ru

Никонорова Ю.В. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., п. Кольцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru

Локтев В.Б. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., п. Кольцово. Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук; Российская Федерация, Новосибирск. Новосибирский государственный университет; Российская Федерация, Новосибирск. E-mail: vector@vector.nsc.ru

Поступила 01.07.15.

Я.М.Краснов¹, В.А.Сафронов¹, Н.Ю.Носов¹, В.В.Кутырев¹, А.Ю.Попова^{2,3}**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СЕКВЕНИРОВАННЫХ ОБРАЗЦОВ ВИРУСА *ZAIRE EBOLAVIRUS* ИЗ ГВИНЕЙСКОЙ РЕСПУБЛИКИ**¹ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация; ²Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация; ³Российская медицинская академия последипломного образования, Москва, Российская Федерация

В 2013–2015 гг. в Западной Африке зарегистрирована крупнейшая в истории эпидемия лихорадки Эбола, вызванная вирусом вида *Zaire ebolavirus*. Из Гвинейской Республики вирус быстро распространился на соседние страны. В статье представлены результаты сравнительного анализа трех геномов *Zaire ebolavirus*, кДНК которых получена из клинического материала от больных лихорадкой Эбола с лабораторно подтвержденным диагнозом на территории Гвинейской Республики в 2014 г. Полученные нуклеотидные последовательности геномов позволили установить их филогенетическую близость к определенным вариантам, представленным в базе данных NCBI GenBank. Общий филогенетический анализ с использованием репрезентативной выборки показал два направления эволюционного развития генома от одного исходного предка. Первая ветвь эволюции представлена относительно небольшим числом изолятов *Zaire ebolavirus*, получивших распространение в Гвинее. Второе, наиболее многочисленное направление эволюции, вызвано 4 вариантами генома *Zaire ebolavirus*, которые первоначально начали выделяться в конце мая – начале июня 2014 г. в Сьерра-Леоне. За короткий период времени они охватили территорию Сьерра-Леоне, Гвинеи и Либерии.

Ключевые слова: геном возбудителя БВВЭ, лихорадка Эбола, секвенирование, филогенетический анализ, Гвинейская Республика, Западная Африка.

Ya.M.Krasnov¹, V.A.Safronov¹, N.Yu.Nosov¹, V.V.Kutyrev¹, A.Yu.Popova^{2,3}**Comparative Analysis of the Sequenced *Zaire ebolavirus* Samples from the Republic of Guinea**¹Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation; ²Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Moscow, Russian Federation; ³Russian Medical Academy for Post-Graduate Training, Moscow, Russian Federation

An unprecedented on its scale Ebola fever epidemic, caused by *Zaire ebolavirus*, has been registered in the territory of West Africa in 2014–2015. The virus quickly spread from the Republic of Guinea into the neighboring countries. Presented are the results of comparative analysis between three *Zaire ebolavirus* genomes, the complementary DNA of which was obtained from the samples from Ebola fever patients in the Republic of Guinea in 2014. The nucleotide sequences of the genomes received have allowed for identification of phylogenetic affinity to certain references, displayed in the database of NCBI GenBank. General phylogenetic analysis by means of representative sampling has revealed two trends of genome evolutionary development from one and the same ancestral form. The first branch of evolution is represented by a relatively small number of *Zaire ebolavirus* isolates, disseminated in Guinea. The second one, the most numerous trend, is generated by four variants of *Zaire ebolavirus* genome, which have been identified starting from May – early June, 2014 in Sierra-Leone, but within a short period of time they have won the whole territory of the country and the neighboring Guinea and Liberia.

Key words: EVD agent genome, Ebola fever, sequencing, phylogenetic analysis, Republic of Guinea, West Africa.

Текущая эпидемия лихорадки Эбола в Западной Африке, о начале которой было сообщено в марте 2014 г., является на данный момент крупнейшей из зафиксированных для данной инфекционной болезни. На 9 августа 2015 г. известно о 27965 случаях болезни, 11298 из них закончились летально [4]. В отдельные временные периоды смертность от болезни, вызванной вирусом Эбола (БВВЭ), составляла порядка 90 %. Чрезвычайная ситуация в области общественного здравоохранения, вызванная текущей эпидемией БВВЭ, осложняется отсутствием средств специфической профилактики и лечения.

Этиологическим агентом данной эпидемии является вирус вида *Zaire ebolavirus*, по видимому, однократно попавший в удаленном районе Лесной Гвинеи из неизвестного природного резервуара в че-

ловеческую популяцию [2, 5].

Вирус вида *Zaire ebolavirus* (ZE) принадлежит роду *Ebolavirus* (семейство *Filoviridae*), вызывающему лихорадку Эбола у высших приматов. К роду *Ebolavirus* принадлежат еще 4 вида: *Sudan ebolavirus*, *Bundibugyo ebolavirus* (для которых отмечены неоднократные эпидемические осложнения, локализованные на Африканском континенте), *Reston ebolavirus* (отмеченный только на Филиппинах) и *TaiForest ebolavirus*. Морфологические признаки *Ebolavirus* схожи с вирусом *Marburgvirus*, также принадлежащим семейству *Filoviridae* и вызывающим подобную болезнь [7].

В этой связи важен своевременный мониторинг эволюции вирусного генома, который позволяет выявлять мутации, происходящие в геноме вируса, и

устанавливать филогенетические связи с его изолятами, выделенными ранее. Нами проведен сравнительный анализ трех геномов ZE, кДНК которых для секвенирования получена из клинического материала от больных лихорадкой Эбола в Гвинейской Республике в 2014 г.

Материалы и методы

Исходный клинический материал для диагностического анализа в виде сыворотки крови от лиц с подозрением на БВВЭ на территории Гвинейской Республики направлялся в мобильную лабораторию СПЭБ Роспотребнадзора. Проводилась инаktivация материала в соответствии с МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности» [1]. Диагностический тест на наличие вирусной РНК ZE определяли с помощью технологии ПЦР-РВ и набора «АмплиСенс EBOV Zaire-FL» (ЦНИИ Эпидемиологии). Из образцов материала с положительным ответом проводили выделение вирусной РНК с помощью набора «QIAamp Viral RNA Mini Kit» (Qiagen) и последующий синтез кДНК с помощью набора «Реверта-Л» (ЦНИИ Эпидемиологии).

В исследовании нами использовались три образца кДНК:

- 211 (13.10.2014, Конакри), житель района Ратома, больной «И.», мужчина, 34 года, торговый агент. Поступил с лихорадкой, астенией, головной болью, миалгией и артралгией. Болезнь закончилась выздоровлением;

- 223 (14.10.2014, Конакри), житель района Колома, больной «Д.», женского пола, 14 лет, учащаяся. Поступила с лихорадкой, астенией и артралгией. Болезнь закончилась выздоровлением;

- 802 (18.12.2014, Киндиа), больной «К.», мужчина, 45 лет, водитель. Поступил в общемедицинскую сеть в тяжелом состоянии с лихорадкой и подозрением на малярию. Болезнь закончилась летальным исходом.

Получение необходимых фрагментов ДНК для секвенирования проводили в два этапа, используя гнездовую ПЦР. С помощью рассчитанных нами двух комплектов перекрывающихся пар праймеров сначала получали более протяженные фрагменты ДНК (1000–2900 п.н.), которые в дальнейшем использовали для амплификации более мелких частей ДНК (500–750 п.н.). Учет результатов ПЦР проводили методом гель-электрофореза в 1,5 % агарозном геле. Секвенирование полученных специфичных фрагментов ДНК проводили с использованием генетического анализатора «ABI 3500xl» (LifeTechnologies), согласно стандартному протоколу производителя. Часть фрагментов генома визуально не детектируемых при учете результатов ПЦР в агарозном геле секвенировали после целевого обогащения исходной

кДНК, используя систему высокопроизводительного секвенирования PGM (IonTorrent), согласно стандартному протоколу производителя. Фрагменты генома после секвенирования собирали в единую последовательность с помощью выравнивая на референс – изолят Makona-Kissidougou-C15 (KJ660346, 17.03.2014, Гвинея) с использованием программ SeqMan Pro 11 (DNASTAR Lasergene, <http://www.dnastar.com/t-seqmanpro.aspx>) и MEGA 6.0. (<http://www.megasoftware.net>).

Для проведения сравнительного анализа полученных данных нами использована репрезентативная выборка из международной базы данных NCBI GenBank, содержащая 645 геномов ZE, полученных из клинического материала от больных лихорадкой Эбола на территории стран Западной Африки (Гвинейская Республика, Сьерра-Леоне, Либерия и Мали), взятого с марта 2014 по март 2015 года.

Поиск единичных нуклеотидных полиморфизмов (SNP) для всей группы из 648 геномов ZE проводили с помощью программы Wombac 2.0.

Для построения филогенетических дендрограмм и дальнейшего анализа использовали программный пакет Bionumerics 7.5.

Результаты и обсуждение

Нами было собрано 18867 (99,5 %) нуклеотидов первичной структуры полного генома вируса ZE для образца 223; 18747 (98,9 %) – для образца 802 и 16679 (88 %) – для образца 211.

Полный геном РНК вируса ZE составляет от 18956 до 18961 нуклеотидов [9].

Полученные нуклеотидные последовательности геномов этих образцов депонированы в международную базу данных NCBI GenBank под следующими номерами доступа: 802 – KT633509, 223 – KT633510 и 211 – KT633511.

С помощью Интернет-ресурса BLAST найдены ближайшие к ним по подобию геномы вируса ZE из базы данных NCBI.

Образец 223 (14.10.14, Конакри, Республика Гвинея – здесь и далее по тексту указывается дата и место забора клинического материала) максимально близок с изолятами Conakry-1481 (KR534575, 15.10.14, Гвинейская Республика) и 076192 (KR817142, 18.10.14, Гвинейская Республика), отличаясь от них только 1 SNP. Так же они близки как по времени, так и по месту получения материала от больных.

Ближайшими по подобию к образцу 211 (13.10.14, Конакри, Гвинейская Республика), является изолят Conakry-1651 (KR534570, 24.10.14, Конакри, Гвинейская Республика), отличие составляет 1 SNP, что также соотносится с информацией о месте и времени выделения материала от больных.

Ближайшими по подобию к 802 (18.12.14, Киндиа, Гвинейская Республика) являются 3 изолята ZE, выделенные в середине октября 2014 г. в Гвинее

(Коя) под номерами доступа в NCBI GenBank: KR534591, KR534590 и KR534571. Образец 802 отличается от них на 5–6 SNP. Забор материала от больного для образца 802 сделан на 2 месяца позже, чем от ближайших вариантов из базы данных NCBI, а территориально районы Коя и Киндиа находятся по соседству.

Следует отметить, что секвенированные нами три генома *ZE* и другие варианты первичной структуры геномов *ZE* из стран Западной Африки отличаются более чем на 600 SNP от вариантов изолированных летом 2014 г. при вспышке БВБЭ в Центральной Африке (Демократическая Республика Конго). Такое значительное отличие (3 % и более) говорит о не зависимости друг от друга возникновения данных эпидемических ситуаций.

С помощью выравнивания относительно референса (Makona-Kissidougou-C15, KJ660346) нуклеотидных последовательностей трех полученных нами геномов *ZE*, установлены SNP, отличающие от референса исследуемые геномы (таблица).

Как видно из таблицы, образцы 802, 211 и 223 имеют 14, 11 и 12 SNP соответственно относительно референса. При этом 211 и 223 часто имеют одинаковые SNP, а 802 отличен от них в большинстве позиций. Сравнение геномов попарно показало, что 223 и 211 отличаются по 8 SNP, 223 и 802 – по 27 SNP, 211 и 802 – по 23 SNP (принимая во внимание, что анализ был сделан только по 88 % полученного генома 211 и 98,9 % для 802). Помимо этого в геноме образца 802 в некодирующей части гена VP24 обнаружена вставка единичного нуклеотида А (после позиции 10342), где расположен гомополимерный фрагмент из 6 адениловых остатков подряд.

В генетическом банке данных NCBI представлены всего 4 изолята вируса *ZE*, из более чем 830, имеющих аналогичную мутацию: 13625 Kikwit (KC242796, выделен в 1995 г. от больного в г. Киквит, Демократическая Республика Конго); Mayinga (AF499101, адаптированный на мышах вариант из Центральной Африки, депонирован в 2002 г.); Makona-20140910 (KR653269, выделен 18.09.14 от больного из Сьерра-Леоне, провинция Кенема); Makona-20142127 (KR653234, выделен 12.10.14 от больного из Сьерра-Леоне, провинция Бомбали).

Ближайшие по времени и территории выделения два изолята из Сьерра-Леоне, имеющие вставку +А после позиции 10342 существенно отличаются от 802 по другим позициям в геноме (21 и 24 SNP). Согласно литературным данным, скорость накопления мутаций в геноме *ZE* составляет $1\text{--}2 \cdot 10^{-3}$ на один нуклеотид в год [5, 8], соответственно для всего генома *ZE* нужно не менее 7 месяцев, чтобы приобрести 21 SNP. Вероятно, 802, Makona-20140910 и Makona-20142127 имели общего предка, получившего эту мутацию в начале 2014 г., на территории Гвинейской Республики, затем попавшего в Сьерра-Леоне.

Используя данные работы H.Ebihara *et al.* [3] по адаптации генома вируса *ZE* на мышах, приво-

дящей к появлению уникальной вставки +А в некодирующей области гена VP24, которая может повлиять на репликацию и эффективность транскрипции, мы провели сравнение для 802, Makona-20140910 и Makona-20142127 по другим 12 SNP, которыми сопровождается адаптация на мышах генома вируса *ZE* и выявили несовпадение по 11 из 12 SNP. В данном случае вариант приобретения вставки +А в геноме *ZE* при многократной передаче вируса от человека к мышевидным грызунам и обратно маловероятен.

Мы провели филогенетический анализ полученных геномов с геномами *ZE* из международной базы данных NCBI GenBank, для этого сделана репрезентативная выборка 645 геномов *ZE*, нуклеотидная последовательность каждого из которых содержала не менее 99 % полного генома вируса. Эти геномы получены из клинического материала, выделенного с марта 2014 по март 2015 года от больных лихорадкой Эбола на территории стран Западной Африки (Гвинейская Республика, Сьерра-Леоне, Либерия и Мали).

Сначала мы провели выравнивание и поиск SNP в группе из 646 последовательностей геномов (645 геномов из GenBank и образец 223). В качестве референсной последовательности использовался геном изолята Makona-Kissidougou-C15. В результате для этой группы на протяжении всего генома получен профиль из 931 SNP по каждому из геномов. Большинство из этих 931 SNP, а именно 587 точечных мутаций, являются уникальными (каждая из них встречалась однократно в сравниваемой группе из 646 геномов).

Затем в группу из 646 геномов добавили нуклеотидные последовательности образцов 211 и 802, провели выравнивание и поиск SNP. Для данной группы из 648 геномов поиск SNP был ограничен длиной последовательности наименьшего в ней генома (88 % от полного генома у образца 211), поэтому полученный профиль составил 825 SNP.

Полученные профили из 931 и 825 SNP мы использовали для построения не укорененных филогенетических дендрограмм (рисунок, А, В).

Филогенетическое дерево А (рисунок) делится на 5 кластеров. Кластер 1 состоит из 77 геномов *ZE* (март–октябрь 2014 г., Гвинейская Республика, 76 геномов), из Либерии – 1 геном, 01.04.14. Геном референс Makona-Kissidougou-C15 (17.03.14, Гвинейская Республика) расположен у основания данного кластера (отмечен фиолетовой точкой), то есть является его родоначальником.

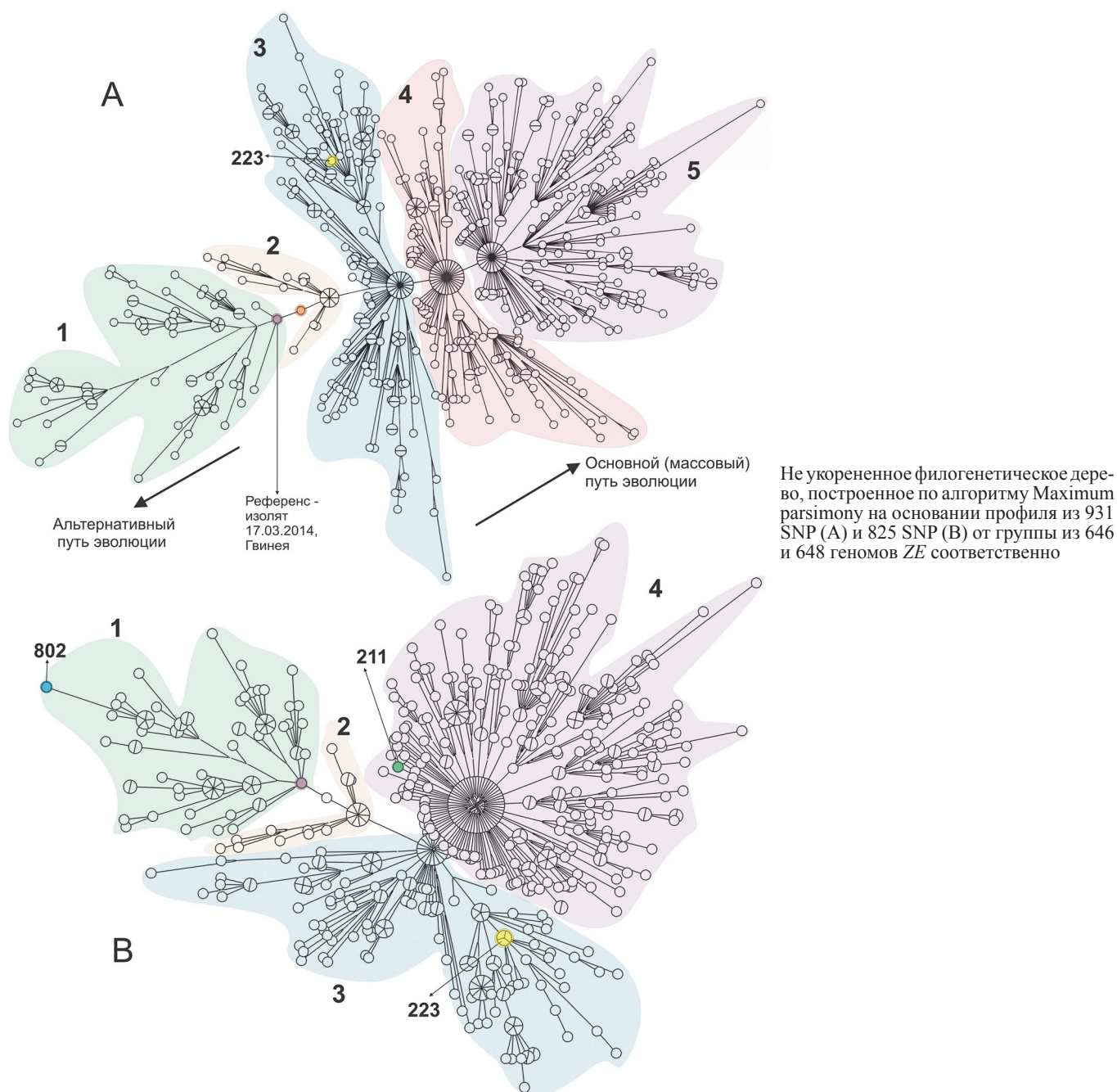
Кластер 2 образуют в общей сложности 22 генома *ZE*, на дендрограмме он отходит в правую сторону от референса и имеет выраженный центр из 8 одинаковых геномов (7 из Сьерра-Леоне, май–июнь 2014 г.) и 1 изолят из Гвинеи (06.06.14). Из центра расходятся ответвления – варианты дальнейшей эволюции генома с более поздними датами выделения от исходного единого варианта в центре, распространившиеся по Сьерра-Леоне, Гвинее и Либерии.

Кластер 3 представлен 176 геномами *ZE*, среди

Единичные нуклеотидные замены (выделены жирным шрифтом), отличающие анализируемые геномы образцов 211, 223 и 802 от референса (KJ660346, 17.03.14, Гвинейская Республика)

Позиция по референсу	Референс	Образец 802	Образец 211	Образец 223	Свойство замены
800 ген NP	C	C	T	T	Несиноним. Аргинин – Цистеин
1602 ген NP	A	A	G	A	Несиноним. Аспарагин – Серин
1777 ген NP	C	T	C	C	Синоним.
1849 ген NP	T	T	C	C	Синоним.
2373 ген NP	G	G	A	G	Несиноним. Аргинин – Лизин
4116 ген NP	C	T	C	C	Несиноним. Лейцин – Фенилаланин
5312 VP40	C	T	C	C	Синоним.
6056 ген GP	A	A	C	C	Синоним.
6283 ген GP	C	C	T	T	Несиноним. Аланин – Валин
6357 ген GP	A	G	A	A	Несиноним. Аспарагин – Аспарагиновая кислота
7476 ген GP	G	A	G	G	Несиноним. Глицин – Аспарагиновая кислота
7777 ген GP	A	G	A	A	Синоним.
8263 НОГ, ген GP	C	T	C	C	-
8928 ген VP30	A	A	C	C	Синоним.
9264 ген VP30	A	A	A	G	Синоним.
10087 НОГ, ген VP24	A	T	A	A	-
10218 НОГ, ген VP24	G	G	A	G	-
10315 НОГ, ген VP24	C	C	C	T	-
После 10342 НОГ, ген VP24	-	вставка A	-	-	-
13794 ген L	T	C	н.д.	T	Синоним.
13856 ген L	G	A	н.д.	G	Несиноним. Глицин – Аспарагиновая кислота
14253 ген L	C	C	C	T	Синоним.
14613 ген L	C	T	C	C	Синоним.
14724 ген L	A	A	н.д.	G	Синоним.
14943 ген L	T	C	н.д.	T	Синоним.
15660 ген L	C	T	C	C	Синоним.
15963 ген L	G	G	A	A	Синоним.
16446 ген L	C	T	н.д.	C	Синоним.
16514 ген L	G	G	н.д.	A	Несиноним. Серин – Аспарагин
17142 ген L	T	T	C	C	Синоним.
18813 5'-трейлерная нетранслируемая область	T	T	C	T	-

Примечания: А – аденин, G – гуанин, T – тимин, C – цитозин, НОГ – некодирующая область гена.



которых 110 геномов из Гвинеи (август 2014 – январь 2015 г.), 37 – из Сьерра-Леоне (май–сентябрь 2014 г.), 25 – из Либерии (июнь 2014 – январь 2015 г.) и 4 – из Мали (октябрь–ноябрь 2014 г.). KP260799 (23.10.14) из Мали полностью совпадает с KR817135 (10.10.14) из Гвинеи, другие 3 изолята из Мали (ноябрь 2014 г.) имеют ближайшие по подобию 4 изолята из Гвинеи (август 2014 г.), что подтверждает Гвинейское происхождение вспышки БВВЭ осенью 2014 г. в Мали. Центр кластера 3 состоит из 17 одинаковых геномов *ZE* из Сьерра-Леоне (май–сентябрь 2014 г.), от которых происходят все остальные варианты эволюции геномов *ZE* данного кластера.

На верхней ветви кластера 3, вместе с другими изолятами из Гвинеи (64 генома, август 2014 – январь 2015), расположен образец 223 (отмечен желтой

точкой). Ближайшие по расположению к нему оказались геномы Conakry-1481 (KR534575, 15.10.14, Гвинейская Республика) и 076192 (KR817142, 18.10.14, Гвинейская Республика), что полностью соответствует полученным нами данным при сравнении образца 223 с базой данных NCBI с помощью BLAST. На этой же ветви находятся 4 генома *ZE* из Мали и 4 из Либерии (август 2014 г.).

Кластер 4 состоит из 148 геномов *ZE*, причем 144 из Сьерра-Леоне (май–ноябрь 2014 г.) и 4 генома из Гвинеи (август и октябрь 2014 г.). Центр кластера состоит из 30 одинаковых геномов *ZE* из Сьерра-Леоне (май–июль 2014 г.).

Кластер 5 состоит из 221 генома *ZE*, из них 191 получен из материала, взятого с июня по ноябрь 2014 г. от больных лихорадкой Эбола на территории

Сьерра-Леоне и 30 геномов *ZE* из Гвинеи (материал взят в июле–октябре 2014 г.). Центр кластера состоит из 22 одинаковых геномов, среди которых 13 геномов *ZE* из Сьерра-Леоне (июнь–сентябрь 2014 г.) и 9 геномов из Гвинеи (июль–сентябрь 2014 г.).

Общей для ответвлений, расходящихся от центров (оснований) всех 5 кластеров, является связь с определенным периодом взятия материала от больных, часто имеется территориальная обобщенность с тенденцией расположения геномов, полученных от материала с более поздним временем сбора к концу ветвей.

Мы провели сравнительный анализ между группами геномов, составляющих центры кластеров 2–5, которые являются исходными вариантами для отходящих от каждого из центров десятков и сотен их эволюционных потомков. При сравнении с референсом Makona-Kissidougou-C15 геномов *ZE* из центра кластеров 2–5 были найдены 7 ключевых SNP, образующих эти центры кластеров. Все геномы, составляющие центр кластера 2, отличаются от генома референса только появлением 2 SNP – первая мутация в позиции 1849 (синонимичная замена Т на С в гене NP), вторая – 6283 (несинонимичная замена С на Т, приводящая к замене аминокислоты Аланина на Валин в позиции 82 от начала кодирующей последовательности в гене GP). Гликопротеин – белок гена GP – имеет поверхностное расположение, осуществляет связывание вирусной частицы с мембранными рецепторами клетки-мишени и опосредует проникновение вируса внутрь клетки [11]. Геномы *ZE* в центре кластера 3 имеют помимо 2 SNP как у геномов из центра кластера 2, еще 3 SNP: в позиции 800 (несинонимичная замена С на Т, приводящая к замене аминокислоты Аргинин на Цистеин в позиции 111 от начала кодирующей последовательности в гене NP). Белок нуклеопротеин гена NP важен для образования стабильного рибонуклеопротеинового комплекса в процессе сборки вирусной частицы *ZE* [6]. Следующие две синонимичные замены в позиции 15963 (G на A в гене L) и в позиции 17142 (T на C в гене L). Геномы *ZE* в центре кластера 4 отличаются от геномов *ZE* в центре кластера 3 только появлением у них еще 1 SNP – в позиции 10218 (замена G на A в некодирующей части гена VP24).

Геномы в центре кластера 5 имеют на 1 SNP больше в позиции 14019 (синонимичная замена Т на С в гене L) относительно геномов в центре кластера 4.

Полученные нами результаты согласуются с работой D.J.Park *et al.* [8], в которой исследователи анализировали эволюционные изменения среди 232 геномов *ZE*, полученных из материала, выделяемого в течение семи месяцев от больных лихорадкой Эбола на территории Сьерра-Леоне, и выявили подобные 4 кластера (соответствуют кластерам 2–5, рисунок, А). В работе E.Simon-Lorier *et al.* [10] провели сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей 85 геномов *ZE*, полученных от пациентов, инфицированных на территории Гвинеи с июля по ноябрь 2014 г., со 110 геномами *ZE*, представленными в

базе данных NCBI (пробы взяты от больных на территории Гвинеи, Мали и Сьерра-Леоне). Авторами получены 3 большие генетические линии *ZE*, первая из которых соответствует кластеру 1 (рисунок, А) – вариантам распространенным только в Гвинеи с марта по октябрь 2014 года. Две другие генетические линии *ZE* изначально представлены изолятами из Сьерра-Леоне (май–июнь 2014 г.) и в дальнейшем распространились на территорию Гвинеи и Мали. При детальном рассмотрении каждая из этих двух больших генетических линий *ZE* может быть разбита на 2 подкластера, соответствующих полученным нами кластерам 2–5 (рисунок, А).

Проведенный нами анализ доступных данных в NCBI GenBank показывает, что из вариантов, выделенных еще в конце марта 2014 г. на территории Гвинеи, в базе данных NCBI представлен изолят KR817182 (31.03.14, Гвинейская Республика), который содержит одну (в позиции 6283) из описанных 7 SNP и, возможно, является исходным для линии изолятов *ZE* из Сьерра-Леоне, представленных в банке данных NCBI с 25 мая 2014 г. На рисунке (А) данный изолят отмечен оранжевой точкой и располагается на прямой между референсом и центром кластера 2. От генома референса (KJ660346, 17.03.14, Гвинейская Республика) изолят KR817182 отличается только одной заменой в позиции 6283.

Первый по дате материал, выделенный от больных лихорадкой Эбола на территории Сьерра-Леоне, из которого получены геномы KM034549 и KM034550 (NCBI GenBank), находящиеся в центре кластера 2, относится к 25 мая 2014 г. Уже 26 мая 2014 г. на территории Сьерра-Леоне от больных выделен материал, из которого получены геномы KM034552 и KM034556 из центра кластера 3, отличающиеся 4 SNP от генома KR817182. В центре кластера 4 уже 31 мая 2014 г. на территории Сьерра-Леоне от больных выделен материал, из которого секвенирован геном KM233049, отличающийся 5 SNP от генома KR817182. В центре кластера 5 расположен геном KM233048, который был секвенирован из материала, выделенного 9 июня 2014 г. от больных на территории Сьерра-Леоне, данный геном отличается 6 SNP от генома KR817182.

Таким образом, если исходить от даты выделения предполагаемого предшественника (KR817182, 31.03.14, Республика Гвинея), то все 4 геноварианта с 1, 4, 5 и 6 SNP из Сьерра-Леоне, которые отличают их от генома KR817182, могли приобрести данное количество единичных мутаций в течение 2 месяцев. В случае появления 5 и 6 SNP за этот период, скорость приобретения единичных мутаций высока и близка к $2 \cdot 10^{-3}$ на один нуклеотид в год. В то же время, исходя из представленных в базе NCBI данных, рассматриваемые 4 геноварианта не имеют тенденции к последовательному накоплению описанных 7 ключевых SNP, образующих центры кластеров с переходом к своей конечной форме – геномам из центра кластера 5. Они эволюционируют независимо, приобретая

мутации в других точках генома, на фоне сохраняющихся в течение второй половины 2014 и начала 2015 года исходных 1, 4, 5 и 6 SNP.

В базе данных NCBI GenBank не представлено ни одного из описываемых 4 геновариантов *ZE* до 25 мая 2014 г., или промежуточных вариантов, отличающихся от KR817182 (31.03.14, Республика Гвинея), например, на 2 или 3 SNP. Появление данных 4 геновариантов совпадает со стремительным обострением эпидемиологической ситуации в Сьерра-Леоне, после чего происходит их распространение в Гвинею и Либерию. Причина столь интенсивного дальнейшего распространения лихорадки Эбола на основе 4 геновариантов *ZE* заключается в их генетических особенностях и/или в результате сложившейся эпидемической ситуации.

Нами найдены всего 2 изолята, которые представляют дополнительные варианты генома для описанных выше 4 геновариантов *ZE*, но не получивших существенного распространения, – изолят KR105215 (06.07.2014, Сьерра-Леоне, Кенема), который имеет 2 SNP из описанных 7 относительно референса, но в другой комбинации точек – 10218 и 17142, вместо 1849 и 6283; изолят KP342330 (октябрь 2014 г., Республика Гвинея) имеет 5 SNP относительно референса, но тоже в другой комбинации – позиции 800, 6283, 10218, 15963 и 17142, вместо 800, 1849, 6283, 15963 и 17142.

В этой связи кластер 1 (рисунок, А) представляется как альтернативный вариант эволюции *ZE*. Ни один из входящих в его состав 77 геномов (все получены из материала, взятого от больных на территории Гвинеи, за исключением одного из Либерии), начиная от референса, выделенного в середине марта 2014 г. и заканчивая вариантами генома *ZE*, полученными из материала, взятого от пациентов в октябре 2014 г., не имеют ни одной из 7 ключевых SNP, образующих центры кластеров 2–5, сформированных первоначально изолятами *ZE* из Сьерра-Леоне. Отличие геномов, расположенных максимально далеко в этом кластере от исходного варианта (референса), достигает 12 SNP, но в других точках на геноме. Геномы *ZE*, относящиеся к кластеру 1, составляют не более 10 % от всех представленных в базе NCBI GenBank геномов этого вируса, а по дате изоляции последний из подобных вариантов относится к 25 октября 2014 г. (Гвинейская Республика).

Филогенетическое дерево, построенное на основании профиля из 825 SNP (рисунок, В), во многом подобно варианту А. Присутствуют кластеры с 1 по 4. Но последний кластер 5 объединен с кластером 4 из-за отсутствия данных по некоторым участкам генома у образца 211, в частности, по фрагменту, содержащему 7-ю кластерообразующую SNP (позиция 14019), исключенную из анализа по всему профилю у всех остальных 648 геномов группы сравнения. Так же из-за уменьшения количества точек различия (SNP) часто происходит объединение ранее отдельных ближайших геномов в общие круги.

Геном образца 211 расположился в кластере 4 недалеко от центрального круга (выделен зеленым цветом), геном образца 802 (18.12.2014) оказался продолжением эволюции вируса *ZE* в альтернативном направлении и располагается в самой отдаленной точке от референса в кластере 1 (рисунок, В). Номера ближайших по расположению в кластерах геномов (соответственно и подобию) из NCBI GenBank для образцов 802 и 211 полностью совпали с найденными для них ранее с помощью Интернет-ресурса BLAST NCBI.

Таким образом, полученные нуклеотидные последовательности геномов для исследуемых образцов 211, 223 и 802 позволили установить их филогенетическую близость к Западно-Африканским вариантам *ZE*, представленным в базе данных NCBI GenBank. Отмечена высокая степень совпадения по времени и месту выделения сходных с ними изолятов *ZE*.

Первоначально выделяемые в конце мая – начале июня 2014 г. в Сьерра-Леоне 4 варианта генома *ZE*, в силу своих генетических особенностей и/или в результате сложившейся эпидемической ситуации, послужили мощным толчком для развития эпидемии лихорадки Эбола в Западно-Африканском регионе.

Общий филогенетический анализ с использованием репрезентативной выборки генов *ZE* из базы данных NCBI GenBank показал два направления эволюционного развития генома *ZE* от одного исходного предка. Первая ветвь эволюции (кластер 1, рисунок, А) представлена относительно небольшим числом изолятов (77), получивших распространение только в Гвинею, и характеризуется постепенным характером приобретения SNP. Второе, наиболее многочисленное направление эволюции (568 геномов, рисунок, А, кластеры 2–5), получило свое развитие одновременно со стремительным появлением в конце мая – начале июня 2014 г. на территории Сьерра-Леоне 4 вариантов одного исходного генома *ZE* (возможно, изолята KR817182, 31.03.14, Гвинейская Республика), которые за короткий период времени охватили не только территорию Сьерра-Леоне, но и соседние с ней страны – Гвинею и Либерию.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности: МУ 1.3.2569-09. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2010. 51 с.
2. Baize S., Pannetier D., Oestereich L., Rieger T., Koivogui L., Magassouba N'Faly, Soropogui B., Sow M.S., Keita S., 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. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371:1418–25.
3. Ebihara H., Takada A., Kobasa D., Jones S., Neumann G., Theriault S., Bray M., Feldmann H., Kawaoka Y. Molecular determinants of Ebola virus virulence in mice. *PLoS Pathog.* 2006; 2(7):e73.
4. Ebola response roadmap – Situation report. <http://www.who.int/emergencies/ebola/situation-reports/>

who.int/csr/disease/ebola/situation-reports/en. (дата обращения 12.08.2015).

5. Gire S.K., Goba A., Andersen K.G., Sealfon R.S., Park D.J., Kanneh L., Jalloh S., Momoh M., Fullah M., Dudas G., Wohl S., Moses L.M., Yozwiak N.L., Winnicki S., Matranga C.B., Malboeuf C.M., Qu J., Gladden A.D., Schaffner S.F., Yang X., Jiang P.P., Nekoui M., Colubri A., Coomber M.R., Fonnier M., Moigboi A., Gbakie M., Kamara F.K., Tucker V., Konuwa E., Saffa S., Sellu J., Jalloh A.A., Kovoma A., Koninga J., Mustapha I., Kargbo K., Foday M., Yillah M., Kanneh F., Robert W., Massally J.L., Chapman S.B., Bochicchio J., Murphy C., Nusbaum C., Young S., Birren B.W., Grant D.S., Scheffelin J.S., Lander E.S., Hapci C., Gevao S.M., Gnirke A., Rambaut A., Garry R.F., Khan S.H., Sabeti P.C. Genomic surveillance elucidates Ebola virus origin and transmission during the 2014 outbreak. *Science*. 2014; 345(6202):1369–72.

6. Huang Y., Xu L., Sun Y., Nabel G.J. The assembly of Ebola virus nucleocapsid requires virion-associated proteins 35 and 24 and posttranslational modification of nucleoprotein. *Mol. Cell*. 2002; 10:307–16.

7. Kuhn J.H., Andersen K.G., Baize S., Bao Y., Bavari S., Berthet N., Blinkova O., Brister J.R., Clawson A.N., Fair J., Gabriel M., Garry R.F., Gire S.K., Goba A., Gonzalez J.P., Günther S., Hapci C.T., Jahrling P.B., Kapetshi J., Kobinger G., Kugelman J.R., Leroy E.M., Maganga G.D., Mbala P.K., Moses L.M., Muyembe-Tamfum J.J., N'Faly M., Nichol S.T., Omilabu S.A., Palacios G., Park D.J., Paweska J.T., Radoshitzky S.R., Rossi C.A., Sabeti P.C., Schieffelin J.S., Schoepp R.J., Sealfon R., Swanepoel R., Towner J.S., Wada J., Wauquier N., Yozwiak N.L., Formenty P. Nomenclature- and database-compatible names for the two Ebola virus variants that emerged in Guinea and the Democratic Republic of the Congo in 2014. *Viruses*. 2014; 6(11):4760–99.

8. 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., 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., Nusbaum C., Schieffelin J.S., Birren B.W., Forget M., Nichol S.T., Palacios G.F., Ndiaye D., Hapci C., Gevao S.M., Vandi M.A., Kargbo B., Holmes E.C., Bedford T., Gnirke A., Stroher 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.

9. Sanchez A., Kiley M.P., Holloway B.P., Auperin D.D. Sequence analysis of the Ebola virus genome: organization, genetic elements, and comparison with the genome of Marburg virus. *Virus Res*. 1993; 29(3):215–40.

10. Simon-Loriere E., Faye O., Faye O., Koivogui L., Magassouba N., Keita S., Thiberge J.M., Diancourt L., Bouchier C., Vandenbogaert M., Caro V., Fall G., Buchmann J.P., Matranga C.B., Sabeti P.C., Manuguerra J.C., Holmes E.C., Sall A.A. Distinct lineages of Ebola virus in Guinea during the 2014 West African epidemic. *Nature*. 2015; 524(7563):102–4.

11. Volchkov V.E., Becker S., Volchkova V.A., Ternovoj V.A., Kotov A.N., Netesov S.V., Klenk H.-D. GP mRNA of Ebola virus is edited by the Ebola virus polymerase and by T7 and Vaccinia virus polymerases. *Virology*. 1995; 214:421–30.

References

- [Organization of works of laboratories utilizing nucleic acids amplification methods while handling materials containing microorganisms of I–IV pathogenicity groups]. MU 1.3.2569–09. M.; 2010. 51 p.
- Baize S., Pannetier D., Oestereich L., Rieger T., Koivogui L., Magassouba N'Faly, Soropogui B., Sow M.S., Keita S., 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. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371:1418–25.
- Ebihara H., Takada A., Kobasa D., Jones S., Neumann G., Theriault

S., Bray M., Feldmann H., Kawaokaet Y. Molecular determinants of Ebola virus virulence in mice. *PLoS Pathog.* 2006; 2(7):e73.

4. Ebola response roadmap – Situation report. [cited 12 Aug 2015]. Available from: <http://www.who.int/csr/disease/ebola/situation-reports/en>.

5. Gire S.K., Goba A., Andersen K.G., Sealfon R.S., Park D.J., Kanneh L., Jalloh S., Momoh M., Fullah M., Dudas G., Wohl S., Moses L.M., Yozwiak N.L., Winnicki S., Matranga C.B., Malboeuf C.M., Qu J., Gladden A.D., Schaffner S.F., Yang X., Jiang P.P., Nekoui M., Colubri A., Coomber M.R., Fonnier M., Moigboi A., Gbakie M., Kamara F.K., Tucker V., Konuwa E., Saffa S., Sellu J., Jalloh A.A., Kovoma A., Koninga J., Mustapha I., Kargbo K., Foday M., Yillah M., Kanneh F., Robert W., Massally J.L., Chapman S.B., Bochicchio J., Murphy C., Nusbaum C., Young S., Birren B.W., Grant D.S., Scheffelin J.S., Lander E.S., Hapci C., Gevao S.M., Gnirke A., Rambaut A., Garry R.F., Khan S.H., Sabeti P.C. Genomic surveillance elucidates Ebola virus origin and transmission during the 2014 outbreak. *Science*. 2014; 345(6202):1369–72.

6. Huang Y., Xu L., Sun Y., Nabel G.J. The assembly of Ebola virus nucleocapsid requires virion-associated proteins 35 and 24 and posttranslational modification of nucleoprotein. *Mol. Cell*. 2002; 10:307–16.

7. Kuhn J.H., Andersen K.G., Baize S., Bao Y., Bavari S., Berthet N., Blinkova O., Brister J.R., Clawson A.N., Fair J., Gabriel M., Garry R.F., Gire S.K., Goba A., Gonzalez J.P., Günther S., Hapci C.T., Jahrling P.B., Kapetshi J., Kobinger G., Kugelman J.R., Leroy E.M., Maganga G.D., Mbala P.K., Moses L.M., Muyembe-Tamfum J.J., N'Faly M., Nichol S.T., Omilabu S.A., Palacios G., Park D.J., Paweska J.T., Radoshitzky S.R., Rossi C.A., Sabeti P.C., Schieffelin J.S., Schoepp R.J., Sealfon R., Swanepoel R., Towner J.S., Wada J., Wauquier N., Yozwiak N.L., Formenty P. Nomenclature- and database-compatible names for the two Ebola virus variants that emerged in Guinea and the Democratic Republic of the Congo in 2014. *Viruses*. 2014; 6(11):4760–99.

8. 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., 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., Nusbaum C., Schieffelin J.S., Birren B.W., Forget M., Nichol S.T., Palacios G.F., Ndiaye D., Hapci C., Gevao S.M., Vandi M.A., Kargbo B., Holmes E.C., Bedford T., Gnirke A., Stroher 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.

9. Sanchez A., Kiley M.P., Holloway B.P., Auperin D.D. Sequence analysis of the Ebola virus genome: organization, genetic elements, and comparison with the genome of Marburg virus. *Virus Res*. 1993; 29(3):215–40.

10. Simon-Loriere E., Faye O., Faye O., Koivogui L., Magassouba N., Keita S., Thiberge J.M., Diancourt L., Bouchier C., Vandenbogaert M., Caro V., Fall G., Buchmann J.P., Matranga C.B., Sabeti P.C., Manuguerra J.C., Holmes E.C., Sall A.A. Distinct lineages of Ebola virus in Guinea during the 2014 West African epidemic. *Nature*. 2015; 524(7563):102–4.

11. Volchkov V.E., Becker S., Volchkova V.A., Ternovoj V.A., Kotov A.N., Netesov S.V., Klenk H.-D. GP mRNA of Ebola virus is edited by the Ebola virus polymerase and by T7 and Vaccinia virus polymerases. *Virology*. 1995; 214:421–30.

Authors:

Krasnov Ya.M., Safronov V.A., Nosov N.Yu., Kutuyev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe" 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru

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.

Об авторах:

Краснов Я.М., Сафронов В.А., Носов Н.Ю., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

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.

Поступила 19.08.15.

А.А.Лопатин¹, Е.В.Найденова¹, В.А.Сафронов¹, А.С.Раздорский¹, Д.В.Уткин¹, Ж.А.Касьян¹,
А.А.Крицкий¹, В.А.Терновой², А.Е.Нестеров², А.А.Сергеев², А.Л.Сыла³, V.Kanomou³, M.Y.Boiro⁴,
Ю.В.Демина⁵, В.Ю.Хорошилов⁶, А.Ю.Попова^{5,7}, В.В.Кутырев¹

ИЗУЧЕНИЕ СОХРАНЕНИЯ ВИРУСА ЭБОЛА В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ ПАЦИЕНТА НА ПОЗДНИХ СТАДИЯХ ВЫЗДОРОВЛЕНИЯ

¹ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация; ²ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», Кольцово, Российская Федерация; ³Научный клинико-диагностический центр эпидемиологии и микробиологии, Киндия, Гвинейская Республика; ⁴Институт Пастера Гвинеи, Киндия, Гвинейская Республика; ⁵Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация; ⁶Управление Роспотребнадзора по городу Санкт-Петербург, Санкт-Петербург, Российская Федерация; ⁷Российская медицинская академия последилового образования, Москва, Российская Федерация

В настоящее время в странах Западной Африки продолжается эпидемия БВВЭ, унесшая более 10000 жизней. Своевременность и качество лабораторной диагностики, наряду с проводимыми противоэпидемическими мероприятиями, обуславливают эффективность мер по борьбе с этой опасной инфекционной болезнью. Ввиду отсутствия способов специфической профилактики и лечения, пациенты, не имея клинических проявлений, выписываются на основании критериев, предложенных ВОЗ, которые могут быть не достаточными. Вирусная РНК выявляется у больных в различном клиническом материале даже на поздних стадиях выздоровления, что требует обязательного изучения особенностей персистенции вируса Эбола в различных биологических жидкостях. В статье приведены данные исследований различными методами проб биологического материала, полученных от пациентки с диагнозом «болезнь, вызванная вирусом Эбола».

Ключевые слова: вирус Эбола, методы лабораторной диагностики, выявление РНК в биологических жидкостях, выделение вируса, грудное молоко.

A.A.Lopatin¹, E.V.Naidenova¹, V.A.Safronov¹, A.S.Razdorsky¹, D.V.Utkin¹, Zh.A.Kas'yan¹, A.A.Kritsky¹,
V.A.Ternovoy², A.E.Nesterov², A.A.Sergeev², A.L.Sylla³, V.Kanomou³, M.Y.Boiro⁴, Yu.V.Demina⁵,
V.Yu.Khoroshilov⁶, A.Yu.Popova^{5,7}, V.V.Kutyrev¹

Studies of Ebola Virus Persistence in the Body Fluids of a Patient at Advanced Stages of Convalescence

¹Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation; ²State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector", Kol'tsovo, Russian Federation; ³Scientific Clinical-Diagnostic Center of Epidemiology and Microbiology, Kindia, Republic of Guinea; ⁴Pasteur Institute of Guinea, Kindia, Republic of Guinea; ⁵Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Moscow, Russian Federation; ⁶Rospotrebnadzor Administration in Saint-Petersburg, Saint-Petersburg, Russian Federation; ⁷Russian Medical Academy for Post-Graduate Training, Moscow, Russian Federation

At present EVD epidemic, which claimed the lives of more than 10000 people, is still underway in West Africa Countries. Promptness and quality of laboratory diagnostics, alongside with delivered anti-epidemic measures predetermine efficacy of Ebola response operation. Due to a lack of means for the specific prophylaxis and treatment of the disease, asymptomatic patients are discharged from hospitals, based on criteria recommended by WHO, which might be insufficient. Viral RNA is detected in different clinical samples taken from the patients even at the advanced stages of convalescence, which requires essential investigation of peculiarities of Ebola persistence in various biological fluids. The article contains the data on the studies of biological samples, obtained from a female patient diagnosed with Ebola virus disease, applying various methods and techniques.

Key words: Ebola virus, methods of laboratory diagnostics, RNA detection in body fluids, virus isolation, breast milk.

Начиная с конца 2013 г. и по настоящее время на территории трех стран Западной Африки (Гвинейская Республика, Либерия, Сьерра-Леоне) продолжается эпидемия болезни, вызванной вирусом Эбола (БВВЭ). За это время (по состоянию на 09.08.2015 г.) официально зарегистрировано 27965 случаев, 11298 из них закончились летальным исходом [1]. Беспрецедентный масштаб и длительность текущей эпидемии БВВЭ, которая получила статус чрезвычайной ситуации в области общественного здравоохранения, определяют необходимость всесторон-

него изучения риска, связанного с переболевшими лицами. В настоящее время в Западно-Африканском регионе насчитывается свыше 16000 человек, перенесших БВВЭ, большая часть из которых испытывает остаточные клинические проявления.

Данные о персистенции возбудителя БВВЭ важны, в особенности для позднего периода выздоровления, для определения опасности, которую может представлять человек после того, как его выписывают из лечебного учреждения. Согласно действующим рекомендациям ВОЗ, пациенты считаются вы-

здоровевшими и выписываются после купирования клинических симптомов и двукратного (с интервалом 48 ч) отрицательного результата исследования крови методом полимеразой цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) [3]. Каждый выздоровевший получает сертификат безопасности, что юридически подтверждает отсутствие риска для окружающих и дает возможность вернуться к трудовой деятельности. При этом литературные данные свидетельствуют о периодических находках возбудителя и маркеров БВВЭ у лиц без клинических проявлений болезни в течение длительного времени [4, 5, 6, 7, 8]. Маркеры вируса Эбола сохраняются в слюне, моче, грудном молоке, слезной, семенной, влагалищной и амниотической жидкостях [4, 7]. Возможность сохранения жизнеспособного вируса в различных биологических жидкостях, а также их способность выступать в качестве фактора передачи БВВЭ, до конца не изучена [4, 5, 6]. Некоторые авторы не исключают возможность заражения детей от инфицированной матери в процессе грудного вскармливания [4, 5]. Эпидемиологическое значение феномена персистенции также требует научной оценки, поскольку в настоящее время территория считается свободной от БВВЭ после истечения двукратного инкубационного периода (42 дня), чего оказалось недостаточно для Либерии, где спустя 52 дня после официального объявления о прекращении эпидемии были зарегистрированы 6 новых случаев БВВЭ с неустановленной эпидемиологической связью с известными на тот момент цепочками распространения в Сьерра-Леоне и Гвинейской Республике. Указанные факты и неоднократные положительные находки при случайном исследовании проб грудного молока у кормящих женщин с БВВЭ в Республике Гвинея определили актуальность данной работы [5].

С целью изучения возможности сохранения вируса Эбола в различных биологических жидкостях проведено исследование проб биологического материала пациентки с подтвержденным диагнозом «БВВЭ», проходившей лечение в госпитале Научного клинико-диагностического центра эпидемиологии и микробиологии (НКДЦЭМ) и выписанной из стационара без клинических симптомов после двукратного отрицательного результата проб крови (с интервалом 48 ч).

Материалы и методы

Лабораторная диагностика проводилась в стационарном инфекционном госпитале НКДЦЭМ на территории Института Пастера Гвинеи, который был построен и введен в эксплуатацию в результате совместной работы Роспотребнадзора и компании РУСАЛ. Диагностическую работу проводили российские специалисты на базе мобильного комплекса специализированной противоэпидемической бригады (МК СПЭБ Роспотребнадзора) [2].

Клинический материал исследовали методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени с набором реагентов «АмплиСенс EBOV Zaire-FL» (регистрационное удостоверение РЗН2014/2036 от 16.10.2014)

(ИнтерЛабСервис, Россия). Выделение РНК осуществляли с использованием набора реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «АмплиПрайм РИБО-Преп» (регистрационное удостоверение ФСР № 2012/14017) (ИнтерЛабСервис, Россия). Всего методом ОТ-ПЦР протестировано 12 проб сыворотки крови, 13 – грудного молока, 5 – слюны, 5 – мочи, 2 мазка из влагалища и 1 образец слезной жидкости, взятые в разные сроки от начала болезни.

Работа по выделению вируса из проб биологического материала проводилась на базе ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» в условиях максимального уровня биологической защиты (BSL-4). Материал для работы доставлен на основании Договора о научно-техническом сотрудничестве с Институтом Пастера Гвинеи. Материал получен как во время активной фазы болезни, сопровождавшейся клиническими симптомами, так и в период реконвалесценции. Для выделения вируса использовали культуры клеток линии *Vero* и 4647, а также новорожденных белых мышей (н.б.м.) линии BALB/c, для чего были взяты 4 пробы крови и 6 проб грудного молока от этой же больной. Репликацию вируса в культуре клеток, органах и тканях биопробных животных подтверждали методом ОТ-ПЦР.

Результаты и обсуждение

Пациентка Ф., 20 лет, кормящая мать, проживающая в городе Киндиа (Гвинейская Республика), поступила в госпиталь НКДЦЭМ 10 апреля 2015 г. с симптомами, характерными для БВВЭ (лихорадка с подъемом температуры до 38,4 °С, рвота, диарея, астения, анорексия и боли в животе). Впервые симптомы появились 7 апреля 2015 г., то есть за 3 дня до госпитализации. Методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени в крови пациентки была выявлена РНК вируса Эбола. В семье пациентки Ф. и среди ее близких контактов в Киндиа на момент госпитализации случаев БВВЭ не отмечено, при этом известно, что незадолго до госпитализации она посещала г. Конакри, где, по-видимому, и произошло заражение.

Спустя 9 сут после госпитализации Ф. (19 апреля 2015 г.), в НКДЦЭМ поступил сын пациентки в возрасте 1 год 4 мес. с подозрением на БВВЭ. Исследование методом ОТ-ПЦР пробы крови показало наличие РНК вируса Эбола в высокой концентрации. С учетом того, что ребенок в течение трех суток (с момента появления симптомов у Ф. и до ее госпитализации) контактировал с матерью, находящейся в активной фазе БВВЭ, и был на грудном вскармливании, наиболее вероятным фактором передачи инфекции могло явиться грудное молоко. Но, несмотря на предпринятые меры, 22 апреля 2015 г. ребенок скончался. В последующем, при заражении культуры клеток *Vero* и н.б.м. клиническим материалом от этого пациента, был получен положительный результат.

С учетом продолжающейся лактации, 20 апреля (через 14 дней после начала болезни и через 9 дней после первого выявления РНК в крови) была отобрана и исследована проба грудного молока, в которой

впервые обнаружена РНК вируса Эбола.

Выраженных симптомов болезни не отмечалось с 22 апреля, а к 27 апреля (на 21-й день) самочувствие пациентки значительно улучшилось. В этот же день получен первый отрицательный лабораторный анализ крови. При исследовании проб крови 29 апреля РНК вируса Эбола так же не выявлена, в то время как в пробе грудного молока она продолжала обнаруживаться. Пациентка продолжала находиться под наблюдением врачей в госпитале до 31 мая 2015 г. и была выписана из стационара по настойчивой рекомендации Национального координационного комитета, несмотря на выявление РНК вируса Эбола в грудном молоке.

Последний положительный результат лабораторного исследования грудного молока был зарегистрирован 3 июня 2015 г. При тестировании проб, поступивших на исследование 8 и 30 июня 2015 г., РНК вируса Эбола не обнаружена. Таким образом, период выявления РНК вируса Эбола в пробах грудного молока составил 58 дней от начала болезни, 43 дня – с даты клинического выздоровления и 37 дней – с даты отрицательного результата исследования крови.

При исследовании других биологических жид-

костей (5 проб слюны, 5 – мочи, 2 мазка из влагалища и 1 пробы слезной жидкости) РНК вируса Эбола не обнаружена.

При заражении клеточных культур линии *Vero* репликация вируса Эбола происходила в 2 пробах крови и 1 пробе грудного молока. Размножение вируса в клеточной культуре 4647 выявлено только в 1 образце грудного молока. Метод интрацеребрального заражения н.б.м. в данном случае оказался более эффективным. При исследовании методом ОТ-ПЦР органов биопробных животных жизнеспособность вируса подтверждена в 2 пробах грудного молока и 2 образцах крови.

Таким образом, в образце грудного молока, полученного от пациентки 7 мая 2015 г., то есть на 12-й день после отсутствия клинических симптомов болезни и получения отрицательного результата методом ОТ-ПЦР, была зарегистрирована репликация вируса Эбола как в двух клеточных культурах, так и в органах биопробных животных. Это подтверждает наличие жизнеспособного возбудителя в грудном молоке пациентки в период, который, исходя из действующих критериев, считается безопасным. Все данные лабораторных исследований представлены в таблице.

Результаты выявления маркеров вируса Эбола в биологическом материале с использованием различных методов исследования

Дата забора материала	День от начала заболевания	Вид материала	Методы исследования			
			ОТ-ПЦР	Выделение вируса		
				Культура клеток <i>Vero</i>	Культура клеток 4647	Н.б.м.
11.04.15	5	Кровь	+	+	-	+
16.04.15	10	Кровь	+	+	-	+
20.04.15	14	Кровь	+			
		Молоко	+	-	-	+
22.04.15	16	Кровь	+	-	-	-
27.04.15	21	Кровь	-			
29.04.15	23	Кровь	-			
		Молоко	+	-	-	-
		Слюна	-			
		Моча	-			
30.04.15	24	Кровь	-			
		Молоко	+	-	-	-
		Слюна	-			
		Моча	-			
04.05.15	28	Кровь	-			
		Молоко	+	-	-	-
07.05.15	31	Кровь	-			
		Молоко	+	+	+	+
		Слюна	-			
		Моча	-			
		Мазок из влагалища	-			
14.05.15	38	Молоко	+			
19.05.15	43	Молоко	+			
24.05.15	48	Кровь	-			
		Молоко	+			
		Слюна	-			
		Моча	-			
29.05.15	53	Молоко	+	-	-	-
03.06.15	58	Молоко	+			
08.06.15	63	Молоко	-			
30.06.15	85	Кровь	-			
		Молоко	-			

В качестве решающего аргумента в пользу выписки пациентов по двум отрицательным анализам крови в ПЦР можно привести относительную простоту такого подхода и сокращение сроков пребывания в стационаре, что исключительно важно в условиях нехватки мест в специализированных лечебных центрах [6]. Вместе с тем, текущая фаза эпидемии в Западной Африке характеризуется низкими цифрами выявления новых больных БВВЭ и достаточным запасом лечебных коек и лабораторных мощностей. В данных обстоятельствах на первый план выходит обеспечение биологической безопасности на более высоком уровне, в том числе при выписке с учетом достоверного подтверждения отсутствия вируса Эбола во всех биологических жидкостях организма. Так же необходима организация мониторинга за реконвалесцентами после их выписки из стационара с целью предотвращения случаев заражения БВВЭ.

Полученные результаты указывают на необходимость дальнейшего изучения особенностей сохранения вируса Эбола в различных биологических средах с целью совершенствования критериев выписки и алгоритма ведения пациентов на поздних стадиях выздоровления.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Болезнь, вызванная вирусом Эбола. Информационный бюллетень ВОЗ № 103. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs103/ru> (дата обращения 17.04.2015).
2. Попова А.Ю., Сафронов В.А., Марасуба Н.Ф., Уткин Д.В., Одинокоев Г.Н., Пьянков О.В., Сергеев А.А., Боднев С.А., Кабанов А.С., Куклев В.Е., Лопатин А.А., Раздорский А.С., Никифоров К.А., Щербак 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. Clinical Management of Patients with Viral Hemorrhagic Fever: A Pocket Guide for the Front-line Health Worker. Geneva: World Health Organization; March 2014. 61 p.
4. Bausch D.G., Towner J.S., Dowell S.F., Kaducu F., Lukwiya M., Sanchez A. Assessment of the risk of Ebola virus transmission from bodily fluids and fomites. *J. Infect. Dis.* 2007; 196(Suppl 2):S142–7.
5. Moreau M., Spencer C., Gozalbes J.G., Colebunders R., Lefevre A., Gryseels S., Borremans B., Gunther S., Becker D., Bore J.A., Koundouno F.R., Di Caro A., Wölfel R., Decroo T., Van Herp M., Peetermans L., Camara A.M. Lactating mothers infected with Ebola virus: EBOV RT-PCR of blood only may be insufficient. *Euro Surveill.* 2015; 20(3):pii 21017.
6. O'Dempsey T., Khan S.H., Bausch D.G. Rethinking the Discharge Policy for Ebola Convalescents in an Accelerating Epidemic. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2015; 92(2):238–9.
7. Rowe A.K., Bertolli J., Khan A.S., Mukunu R., Muyembe-Tamfum J.J., Bressler D., Williams A.J., Peters C.J., Rodriguez L., Feldmann H., Nichol S.T., Rollin P.E., Ksiazek T.G. Clinical, virologic, and immunologic follow-up of convalescent Ebola hemorrhagic fever patients and their household contacts, Kikwit, Democratic Republic of the Congo. *Commission de Lutte contre les Epidémies à Kikwit. J. Infect. Dis.* 1999; 179(Suppl 1):S28–35.
8. Strecker T., Palyi B., Ellerbrok H., Jonckheere S., de Clerck H., Bore J.A., Gabriel M., Stoecker K., Eickmann M., van Herp M., Formenty P., Di Caro A., Becker S. Field Evaluation of Capillary Blood Samples as a Collection Specimen for the Rapid Diagnosis of Ebola Virus Infection During an Outbreak Emergency. *Clin. Infect. Dis.* 2015; 61(5):669–75. DOI: 10.1093/cid/civ397.

References

1. [Ebola virus disease]. WHO Information Bulletin No 103. [cited 17 Apr 2015]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs103/ru>.
2. Popova A.Yu., Safronov V.A., Magasuba N.F., Utkin D.V., Odiнокоев G.N., P'yankov O.V., Sergeev A.S., Bodnev S.A., Kabanov A.S., Kuklev 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. Infek.* 2014; 4:5–8.
3. Clinical Management of Patients with Viral Hemorrhagic Fever: A Pocket Guide for the Front-line Health Worker. Geneva: World Health Organization; March 2014. 61 p.
4. Bausch D.G., Towner J.S., Dowell S.F., Kaducu F., Lukwiya M., Sanchez A. Assessment of the risk of Ebola virus transmission from bodily fluids and fomites. *J. Infect. Dis.* 2007; 196(Suppl 2):S142–7.
5. Moreau M., Spencer C., Gozalbes J.G., Colebunders R., Lefevre A., Gryseels S., Borremans B., Gunther S., Becker D., Bore J.A., Koundouno F.R., Di Caro A., Wölfel R., Decroo T., Van Herp M., Peetermans L., Camara A.M. Lactating mothers infected with Ebola virus: EBOV RT-PCR of blood only may be insufficient. *Euro Surveill.* 2015; 20(3):pii 21017.
6. O'Dempsey T., Khan S.H., Bausch D.G. Rethinking the Discharge Policy for Ebola Convalescents in an Accelerating Epidemic. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2015; 92(2):238–9.
7. Rowe A.K., Bertolli J., Khan A.S., Mukunu R., Muyembe-Tamfum J.J., Bressler D., Williams A.J., Peters C.J., Rodriguez L., Feldmann H., Nichol S.T., Rollin P.E., Ksiazek T.G. Clinical, virologic, and immunologic follow-up of convalescent Ebola hemorrhagic fever patients and their household contacts, Kikwit, Democratic Republic of the Congo. *Commission de Lutte contre les Epidémies à Kikwit. J. Infect. Dis.* 1999; 179(Suppl 1):S28–35.
8. Strecker T., Palyi B., Ellerbrok H., Jonckheere S., de Clerck H., Bore J.A., Gabriel M., Stoecker K., Eickmann M., van Herp M., Formenty P., Di Caro A., Becker S. Field Evaluation of Capillary Blood Samples as a Collection Specimen for the Rapid Diagnosis of Ebola Virus Infection During an Outbreak Emergency. *Clin. Infect. Dis.* 2015; 61(5):669–75. DOI: 10.1093/cid/civ397.

Authors:

Lopatin A.A., Naidenova E.V., Safronov V.A., Razdorsky A.S., Utkin D.V., Kas'yan Zh.A., Kritsky A.A., Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Ternovoy V.A., Nesterov A.E., Sergeev A.A. State Research Centre of Virology and Biotechnology "Vector". Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru

Sylla A.L., Kanomou V. Scientific Clinical-Diagnostic Center of Epidemiology and Microbiology. Kindia, Republic of Guinea.

Boiro M.Y. Pasteur Institute of Guinea. Kindia, Republic of Guinea.

Demina Yu.V. 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.

Khoroshelev V.Yu. Rosпотребнадзор Administration in Saint-Petersburg. Saint-Petersburg, Russian Federation.

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.

Об авторах:

Лопатин А.А., Найденова Е.В., Сафронов В.А., Раздорский А.С., Уткин Д.В., Касьян Ж.А., Критский А.А., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Терновой В.А., Нестеров А.Е., Сергеев А.А. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., п. Кольцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru

Sylla A.L., Kanomou V. Научный клинико-диагностический центр эпидемиологии и микробиологии. Гвинейская Республика, Киндия.

Boiro M.Y. Институт Пастера Гвинеи. Гвинейская Республика, Киндия.

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

Хорошилов В.Ю. Управление Роспотребнадзора по городу Санкт-Петербургу. Российская Федерация, 191025, Санкт-Петербург, ул. Стремянная, 19. E-mail: uprav@78rosptrebnadzor.ru

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.

Поступила 19.08.15.

А.А.Петров, В.Н.Лебедев, Л.Ф.Стовба, Т.Е.Сизикова, Т.М.Плеханова, О.Н.Сидорова, Н.С.Пышная, Д.И.Павельев, С.В.Борисевич

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ ГЕНОМА ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *EBOLAVIRUS*

ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны, Сергиев Посад, Российская Федерация

Рассмотрены молекулярно-генетические особенности структуры генома представителей рода *Ebolavirus*. Отмечено, что эпидемические вспышки лихорадки Эбола в Африке представляют потенциальную угрозу для здравоохранения не только стран этого континента, но и всего мира, вследствие возможности завоза возбудителя в неэндемичные регионы. Представители рода *Ebolavirus* обладают различной патогенностью для человека, что определяет различия показателей смертности и тяжести болезни. Между представителями рода *Ebolavirus* имеется значительная генетическая дивергенция. Изменение патогенного потенциала представителей рода *Ebolavirus* может быть объяснено мутациями в генах структурных белков вируса. Вероятно, некоторые мутации в этих генах могут оказывать влияние на вирулентность штаммов в пределах одного вида вируса. Поскольку наиболее эффективные имеющиеся на сегодняшний день средства экстренной профилактики и лечения имеют строго дифференцированную направленность, генотипирование представляет большое значение при разработке стратегии создания таких препаратов.

Ключевые слова: вирус Эбола, филловирусы, секвенирование, ген, генотипирование.

A.A.Petrov, V.N.Lebedev, L.F.Stovba, T.E.Sizikova, T.M.Plekhanova, O.N.Sidorova, N.S.Pyshnaya, D.I.Paveliev, S.V.Borisevich

The Molecular Genetic Peculiarities of Genomic Structure of Members of the *Ebolavirus* Genus

48 Central Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Sergiev Possad, Russian Federation

The molecular genetic peculiarities of genomic structure of the *Ebolavirus* genus members are viewed in the review. The Ebola virus disease outbreaks in West African countries constitute a threat not only for Africa, but for the whole world in view of possible introduction of the agent in non-endemic regions. The members of the *Ebolavirus* genus have different pathogenicity for humans, thus differ severity and mortality of the disease they cause. There is a significant genetic divergence among members of the *Ebolavirus* genus. The differences of pathogenic potential of members of the *Ebolavirus* genus may be explained as the result of mutations in the genes of virus structural proteins. It is possible, that some of these mutations may affect virulence of strains within one virus species. So far as most effective modern medicines for specific prophylaxis and treatment of Ebola fever are target-oriented, genotyping of the agent will promote elaboration of strategy of such preparations development.

Key words: Ebola virus, filoviruses, sequencing, gene, genotyping.

Лихорадка, вызываемая вирусами, входящими в род *Ebolavirus* семейства *Filoviridae*, является особо опасной вирусной болезнью, характеризующейся шоком, геморрагиями, мультиорганной недостаточностью и заканчивающейся летальным исходом в 50–90 % случаев [8, 17].

Всего на конец апреля 2015 г. зарегистрировано около 26 тыс. случаев болезни, погибли свыше 12 тыс. человек.

В настоящее время считают, что вирус Эбола Заир дивергировал от общего для филловирусов предка около 10000 лет назад [5, 9]. Число нуклеотидных замен за год для различных представителей рода *Ebolavirus*, определенное при анализе 97 полноразмерных геномных последовательностей с применением методологии Bagesian, колеблется от $0,46 \cdot 10^{-4}$ (для вируса Эбола Судан) до $8,21 \cdot 10^{-4}$ (для вируса Эбола Рестон) [6].

Строение генома вируса Эбола сходно с таковыми для других представителей семейства *Filoviridae*.

Вирион содержит нефрагментированную минус РНК, содержащую приблизительно 18900 нуклеотидов и кодирующую 7 структурных и 1 неструктурный белок. Порядок генов на геноме: 3'-концевая лидерная область, гены нуклеопротеина, вирусных белков VP35, VP40, гликопротеина, VP30, VP24, РНК-зависимой РНК-полимеразы (L белок), 5'-конец. Нуклеопротеин, белки VP30, VP35 и L – ассоциированы с вирусной геномной РНК в рибонуклеопротеиновый комплекс. L белок и белок VP35 образуют полимеразный комплекс, который транскрибирует и реплицирует вирусный геном [1].

Вирусные белки играют ключевую роль во взаимодействии вирус-хозяин при лихорадке Эбола, соответствующие гены при этом могут подвергаться селективному давлению. У человека NP и VP40 вызывают сильный иммунный ответ (индуцирование формирования специфических иммуноглобулинов изотипа IgG) [14]. Гликопротеин вируса Эбола индуцирует разрушение эндотелиальных клеток и ци-

тотоксичность в кровеносных сосудах [24] и опосредует входение в хозяйскую клетку [16]. Мутации в гене белка VP24 ассоциированы с адаптацией вируса Эбола к различным хозяевам [23].

H.Ebihara *et al.* [7] провели определение молекулярных детерминант вирулентности вируса Эбола Заир для белых мышей. Изучены исходный штамм Mayanga-76 и адаптированные к белым мышам варианты MA-ZEBOV, созданный с помощью серийных пассажей вируса в данных лабораторных животных, и вариант MA-RG, полученный с помощью методов обратной генетики. В таблице представлено сравнение геномных последовательностей родительского штамма и вариантов на его основе.

Авторы делают вывод, что одиночные замены нуклеотидов (по сравнению с вирусом дикого типа) в генах белков VP35, GP и L обуславливают различия по вирулентности для мышей.

M.Mateo *et al.* [15] установили, что проведенная с помощью методов обратной генетики адаптация вируса Эбола к морским свинкам, приводящая к повышению вирулентности возбудителя для данных лабораторных животных, достигается за счет трех аминокислотных замен в структурном белке VP24 (метионина на изолейцин в позиции 71, лейцина на пролин в позиции 147 и треонина на изолейцин в позиции 187).

Из представленных данных следует, что наиболее перспективными вариabельными участками генома для проведения генотипирования различных штаммов и изолятов вируса Эбола Заир являются гены белков VP35 и VP24.

Оба эти белка обладают ингибирующим эффектом на хозяйский интерферонный ответ типа 1. Кроме того, VP35 функционирует как антагонист интерферона типа 1, блокируя активацию регуляторного фактора 3 интерферона и, таким образом, предотвращает транскрипцию интерферона β [3, 4]. Мутации в гене белка VP35 приводят к адаптации вируса к морским свинкам и белым мышам [7, 18].

Экспрессия VP24 подавляет сигнальные пути интерферона типа 1 [19], а мутация в этом гене связана с адаптацией вируса Эбола к мышам [7] и морским свинкам [22].

Поскольку имеется значительная генетическая дивергенция между представителями рода *Ebolavirus*, то более низкий патогенный потенциал вируса Эбола Судан по сравнению с вирусом Эбола Заир может быть объяснен мутациями в генах вирусных белков. Вероятно, некоторые мутации вируса в генах структурных белков могут оказывать влияние на вирулентность штаммов в пределах одного вида вируса.

При идентификации представителей рода *Ebolavirus*, выделенных в ходе эпидемических вспышек, весьма большое значение имеет проведение генотипирования. Поскольку наиболее эффективные имеющиеся на сегодняшний день средства экстренной профилактики и лечения (гуманизированные моноклональные антитела к гликопротеину вируса Эбола Заир и малые интерферирующие РНК) имеют строго дифференцированную направленность, генотипирование играет определяющую роль при разработке стратегии проведения последующих противоэпидемических мероприятий [2, 10, 12].

В ходе исследований проведен анализ последовательностей геномных РНК представителей рода *Ebolavirus*, депонированных в GenBank. Для вируса Эбола Заир опубликованы 22 полноразмерные последовательности генома. Это образцы, содержащие геномные последовательности изолятов, выделенных во время вспышки в Заире в период с 1976 по 1979 год около г. Ямбуку (3 последовательности), в 1995 г. около г. Киквит (3 последовательности), в 2007–2008 гг. около г. Луебо (9 последовательностей). Семь последовательностей представляют изоляты от больных лихорадкой Эбола в Габоне с 1995 по 2002 год.

Вспышки в Ямбуку и Киквите были самыми большими из известных зарегистрированных до

Несинонимические и синонимические замены между диким типом вируса Эбола Заир и адаптированными к белым мышам вариантами [7]

Позиция нуклеотида	Ген белка	Нуклеотиды для геномов вируса Эбола Заир			Аминокислотные замены
		штамм Mayanga-76	вариант MA-ZEBOV	вариант MA-RG	
683	NP	U	C	C	Серин→глицин
2425	NP	A	G	A	Нет
3163	VP35	G	A	A	Аланин→валин
5219	VP40	A	G	G	Нет
6231	GP	A	G	G	Серин→пролин
6774	GP	A	G	G	Серин→пролин
7668	GP	A	G	G	Изолейцин→триптофан
9563	VP30 NCR	U	C	C	Нет
10243–10244	VP24 NCR	Делеция	U	U	Вставка
10493	VP24	G	A	A	Триптофан→изолейцин
14380	L	A	C	C	Фенилаланин→лейцин
16174	L	U	C	C	Изолейцин→валин
16755	L	A	C	A	Нет

2014 г. вспышек лихорадки Эбола (более чем 300 случаев каждая). Обе вспышки связаны с нозокомиальной инфекцией, в результате которой вирус быстро распространялся между пациентами, обслуживающим персоналом и членами их семей. Во время вспышки 1995 г. в г. Киквит проведено секвенирование GP гена из изолятов вируса, полученных в начале и в конце вспышки от больных с летальным и нелетальным исходом заболевания. Оно показало высокую генетическую однородность гена GP различных изолятов [13].

Анализ структуры генов GP, NP, VP40 и VP24 вируса Эбола, выделенных во время вспышки 1995 г. в г. Киквит (Демократическая Республика Конго), показал отсутствие различий между изолятами вируса, выделенными от умерших, выживших и лиц с бессимптомной формой инфекции [20].

Меньшие по масштабу вспышки в Габоне эпидемиологически и генетически связаны с повторяющимися контактами с инфицированными низшими приматами или другими млекопитающими, являющимися резервуаром инфекции [13].

Максимальные нуклеотидные различия между последовательностями в пределах вида Эбола Заир не превышают 3,2 %. Генетическое разнообразие между изолятами в пределах одной вспышки было даже меньшим. Например, расхождение между последовательностями изолятов от пациентов в г. Луебо (Заир), собранных в 2007 и 2008 гг., было менее чем 0,07 %. При разделении геномных последовательностей вируса Эбола Заир на кластеры важную роль играют пространственные (место выделения) и временные (год выделения) факторы. Последние, видимо, имеют более существенное значение. Так, изоляты из г. Луебо более близки к изолятам, выделенным в г. Ямбуку, нежели к изолятам, выделенным в 1995 г. в г. Киквит.

Последовательности вируса Эбола Судан представлены пятью полногеномными последовательностями вируса Судан, по одной из каждой вспышки. Для генетического разнообразия данных последовательностей пространственные факторы играют более важную роль, чем временные. Так, изоляты, выделенные в Судане, были генетически стабильными на протяжении приблизительно 30 лет. Изоляты из Уганды образуют кластер, отличающийся от Суданского. Генетическое разнообразие изолятов в пределах каждого кластера было низким (менее 0,4 % для Судана и приблизительно 0,6 % для Уганды). Максимальное разнообразие изолятов в пределах вида Эбола Судан было также низким, максимальная нуклеотидная дивергенция (5,2 %) выявлена между изолятами, выделенными в Судане в 2004 г. и в Уганде в 2011 г.

E.M.Leroy *et al.* [13] определили полные открытые рамки трансляции генов белков GP, NP, VP40 и VP24 в изолятах вируса Эбола Заир, выделенных от умерших больных, пациентов, выживших после перенесенной болезни с выраженными клиническими симптомами и инфицированных людей, у которых

отсутствовали манифестные признаки болезни при вспышке лихорадки Эбола в 1996 г. в Габоне. Пробы крови получали рандомизированно на протяжении вспышки. Девять подвергшихся исследованию проб получены от трех пациентов, болезнь которых завершилась летальным исходом, трех выживших пациентов с выраженными симптомами болезни и трех инфицированных людей без выраженных симптомов. В каждой группе одна вирусная последовательность определялась в пробе, отобранной в начале эпидемии, а две другие получены из проб на протяжении эпидемии. В результате ПЦР-амплификации получены фрагменты, равные 2174 (GP), 1767 (NP), 1069 (VP40) и 853 (VP24) пар нуклеотидов (п.н.). Различий в нуклеотидных последовательностях гена белка NP трех категорий пациентов не обнаружено. В гене белка VP40 выявлена только одна синонимическая замена (C→T) в изолятах от трех пациентов без клинических симптомов болезни. Анализ гена белка VP24 выявил только одну обратную мутацию G→A в одном изоляте от пациента без клинических симптомов болезни.

Выравнивание последовательностей в секвенированной области GP гена (2174 п.н.) между штаммами Booue-96 и Mayinga-76 вируса Эбола Заир показало только 36 нуклеотидных замен, приводящих к 15 аминокислотным изменениям. Большинство этих мутаций было локализовано в середине GP гена в варибельной области, которая является субтипоспецифической. В этой гиперварибельной области размером 180 нуклеотидов выявлено 14 нуклеотидных замен (включая 10 несинонимических) между штаммами Booue-96 и Mayinga-76. Почти 40 % замен локализованы на участке, составляющем менее чем 9 % последовательностей гена GP.

Два изолята вируса Эбола из Габона образуют субкластер в пределах вируса Эбола Заир. Уровень нуклеотидных замен в GP гене между данными изолятами составляет только 0,39 %, в то время как соответствующий показатель между изолятами из Габона и штаммами Mayinga-76 и Kikwit-95 составляет 0,79 и 1,04 % (8 и 21 замена соответственно). При анализе различий между штаммами из Заира и Габона на аминокислотном уровне выявлен только один сайт, локализованный в гиперварибельной области (замена аспарагиновой кислоты на аланин).

Генетическое разнообразие, наблюдаемое между генами NP белка различных вирусов, входящих в род *Ebolavirus*, было меньшим, чем выявленное при анализе гена GP. Уровень варибельности NP гена вирусов Эбола Заир и Эбола Судан составляет около 30 % по сравнению с 70 % для гена GP. Варибельность между вирусами Эбола Заир и Эбола Судан локализована, в основном, в N-концевой части NP гена. Замены среди изолятов вируса Эбола Заир не локализованы в специфической области, но наблюдались на всем протяжении гена белка NP. Уровень варибельности между штаммами Booue-96 и Gabon-94 вируса Эбола Заир составил 0,91 % (18 нуклеотид-

ных замен) [13].

В результате проведенных исследований не выявлены различия в нуклеотидных последовательностях GP и NP генов среди изолятов, выделенных у погибших, выживших и пациентов без проявления клинических признаков болезни. Авторы идентифицировали только по одной синонимической замене в генах белков VP40 и VP24 между пациентами с симптомами и инфицированными пациентами, у которых болезнь протекала бессимптомно. Гены белков GP, NP, VP40 и VP24 изолятов вируса Эбола Заир от трех категорий пациентов являются идентичными и предполагают, что инфицирующий агент во всех случаях был одним и тем же. Авторы делают вывод, что различия в клинике эболавирусной инфекции у людей не обусловлены вирусными мутациями. Эти данные согласуются с теми, которые наблюдались на протяжении вспышки в Киквите в 1995 г., когда не было идентифицировано замен в самой большой дивергентной области GP гена (249 нуклеотидов) между изолятами от погибших и изолятами от выживших [13].

В отличие от больших РНК-содержащих вирусов возбудитель лихорадки Эбола характеризуется высокой генетической стабильностью, которая может быть обусловлена четырьмя основными факторами: низкой погрешностью специфического действия РНК-полимеразы, достаточно медленной репликацией в природном резервуаре инфекции, ограниченном числе чувствительных природных хозяев и слабым иммунным давлением [1, 2, 5, 6, 8].

Уровень несинонимических замен в NP гене при сравнении двух изолятов вируса Эбола Заир из Габона значительно больше, чем между штаммами Booue-96 и Mayinga-76 и штаммами Booue-96 и Kikwit-95 (1,27 против 0,95 и 0,63 % соответственно) [13].

Для объяснения этого факта предлагаются две основные гипотезы:

- два штамма вируса Эбола Заир из Габона могли дивергировать намного раньше, чем это предполагается на основе данных структуры гена GP [13]. Однако сосуществование двух различных штаммов без раздельной генетической рекомбинации в подобных географических и временных условиях могло быть возможным, если вирусы имели свои собственные экологические ниши;

- данные штаммы дивергировали недавно, но разделение сопровождалось изменением в природном хозяине (виды или гены), приводящим к разнообразным иммунным давлениям на NP ген [21].

Свойства генетической структуры вируса Эбола могут быть применены при создании профилактических и лечебных средств против лихорадки Эбола. Ген NP белка является потенциальной мишенью для антивирусных препаратов. Экстремально высокая генетическая стабильность каждого вируса, входящего в род *Ebolavirus*, может быть использована при разработке вакцин нового поколения.

S.K.Gure *et al.* [11] провели генотипирование 99

изолятов вируса Эбола Заир, выделенных от 78 больных в Сьерра-Леоне с подтвержденным диагнозом «лихорадка Эбола». Между последовательностями геномной РНК изолятов, выделенных во время эпидемической вспышки 2014 г., и уже опубликованными 20 геномными последовательностями вируса Эбола из более ранних вспышек выявлена 341 нуклеотидная замена (35 несинонимических, 173 синонимических и 133 в области некодирующих регионов). При анализе изолятов, выделенных от больных пациентов в ходе вспышки 2014 г., выявлено 55 однонуклеотидных замен (15 несинонимических, 25 синонимических и 15 в области некодирующих регионов).

Секвенирование с глубоким покрытием (более 2000 раз) геномной РНК изолятов, выделенных от пациентов из Сьерра-Леоне, позволило идентифицировать 263 внутривидовых варианта генома с заменой одного нуклеотида (73 несинонимических, 108 синонимических, 70 в области некодирующих регионов и 12 с изменением рамки считывания) [11].

Филогенетическое сравнение изолятов, выделенных в период вспышки 2014 г., со всеми ранее опубликованными последовательностями геномной РНК вируса Эбола показывает, что возбудители, вызвавшие 3 последних вспышки болезни, имеют общего предшественника, а различия между их геномами проявились не ранее 2004 г.

Генетическое подобие секвенированных в 2014 г. изолятов предполагает наличие простой трансмиссии из природного резервуара с последующей передачей от человека к человеку на протяжении вспышки. В то же время анализ полученных результатов дает основание предположить, что вспышка в Сьерра-Леоне произошла из двух генетически различающихся между собой вариантов вируса Эбола, распространившихся из Гвинеи приблизительно в одно и то же время.

Изоляты от первых 12 заболевших лихорадкой Эбола в Сьерра-Леоне распадались на два различных кластера. Результаты генотипирования позволяют утверждать, что генетическое расхождение этих изолятов произошло только в конце апреля 2014 г. Повторно эти линии выявлены в Сьерра-Леоне в конце мая. Эти данные дают основание предполагать, что инфицирование последующих больных проходило на похоронных процессиях. При анализе новых вспышек болезни в Сьерра-Леоне неизменно выявляли только эти 2 линии вируса Эбола Заир. Это согласуется с эпидемиологической информацией, полученной в результате отслеживания контактов больных [11].

Наблюдаемые уровни нуклеотидных замен при эпидемии 2014 г. характеризуются как высокие. На протяжении эпидемии чаще проявляются несинонимические мутации. Вопрос о том, являются ли индивидуальные мутации вредными или даже адаптивными, потребует углубленного изучения, однако скорость несинонимических мутаций дает основание предположить, что дальнейшее развитие этой

эпидемической вспышки может привести к адаптации вируса, что, в свою очередь, указывает на необходимость как можно более быстрой ликвидации эпидемической вспышки лихорадки Эбола.

Анализ многочисленных генетических изменений изолятов, выделенных при эпидемии 2014 г., не дает ответа на вопрос о том, действительно ли эти изменения связаны с тяжестью вспышки.

Анализ данных литературы по секвенированию генома представителей рода *Ebolavirus* дает возможность сделать следующие выводы:

- уровень геномных различий между отдельными вирусами, входящими в род *Ebolavirus*, дает возможность дифференцировать их с помощью ОТ-ПЦР (при выявлении в последней различных участков генома, например, генов белков L, GP, NP);

- дифференциация геномных различий между изолятами, относящимися к одному и тому же виду вируса, может быть проведена только с помощью генотипирования. Данное обстоятельство имеет особое значение хотя бы потому, что с учетом продолжающейся эпидемии, начавшейся в ряде стран Западной Африки еще в декабре 2013 г., этиологическим агентом лихорадки Эбола более чем в 90 % случаев является вирус Эбола Заир;

- влияние пространственных и временных факторов на изменение структуры генома не дает однозначно трактуемых результатов;

- генотипирование изолятов вируса Эбола Заир, выделенных от больных в Сьерра-Леоне с подтвержденным диагнозом «лихорадка Эбола», позволило выявить общего предшественника эпидемической вспышки 2014 г. и трех предшествующих вспышек;

- данные генотипирования позволяют выявить вероятные источники распространения инфекции в ходе эпидемических вспышек болезни.

Таким образом, представители рода *Ebolavirus* обладают стабильным геномом, сходным с другими вирусами семейства *Filoviridae*. Нуклеотидные различия в пределах вида Эбола Заир не превышают 3,2 %. Генетическое разнообразие нуклеотидных последовательностей для вида Эбола Судан также является низким.

Вирусные белки VP35 и VP24 играют первостепенную роль во взаимодействии вирус-хозяин. Мутации в них оказывают влияние на вирулентность штаммов в пределах вида. Так, нуклеотидные замены в гене белка VP35 обеспечивают, в основном, адаптацию вируса Эбола Заир к белым мышам, а в гене белка VP24 – к морским свинкам. Кроме того, различия в нуклеотидных последовательностях наблюдаются в середине GP гена, причем эта область является субтипоспецифической. Поскольку ген NP белка относительно стабилен, то он является наиболее перспективной мишенью при создании антивирусных препаратов.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Albarino C.G., Shoemaker T., Khristova M.L., Wamala J.F., Muyembe J.J., Balinandi S. Genomic analysis of filoviruses associated with four viral hemorrhagic fever outbreaks in Uganda and the Democratic Republic of the Congo in 2012. *Virology*. 2013; 442:97–100.
2. Bao Y., Chetverin V., Tatusova T. Pairwise sequence comparison (PASC) and its application in the classification of filoviruses. *Viruses*. 2012; 4:1318–27.
3. Basler C., Mikulasova A., Masrtinez-Sobrido L., Paragas J., Muhlberger E., Bray M., Klenk H.D., Pales P., Garcia-Sastre A., The Ebola virus VP35 protein inhibits activation of interferon regulatory factor 3. *J. Virol.* 2003; 77:7945–56.
4. Basler C., Wang X., Muhlberger E., Volchkov V., Paragas J., Klenk H., Garcia-Sastre A., Palese P. The Ebola virus VP35 protein functions as a type I IFN antagonist. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2000; 97:12289–94.
5. Biek R., Walsh P.D., Leroy E.M., Real L.A., Recent common ancestry of Ebola Zaire virus found in a bat reservoir. *PLoS Pathog.* 2006; 2:90.
6. Carroll S.A., Towner J.S., Sealy T.K., McMullan L.K., Khristova M.L., Burt F.J., Swanepoel R., Rollin P.E., Nichol S.T. Molecular evolution of viruses of the family Filoviridae based on 97 whole-genome sequences. *J. Virol.* 2013; 87:2608–16.
7. Ebihara H., Takada A., Kobassa D., Jones S., Neumann G., Theriault S., Bray M., Feldmann H., Kawaoka Y. Molecular determinants of Ebola virus virulence in mice. *PLoS Pathog.* 2006; 2(7):73.
8. Feldmann H., Geisbert T.W. Ebola hemorrhagic fever. *Lancet*. 2011; 377:849–62.
9. Grard G., Biek R., Tamfum J.J., Fair J., Wolfe N., Formenty P., Paweska J., Leroy E. Emergence of divergent Zaire Ebola virus strains in Democratic Republic of the Congo in 2007 and 2008. *J. Infect. Dis.* 2011; 204(3):776–84.
10. Grolla A., Lucht A., Dick D., Strong J.E., Feldman H. Laboratory diagnosis of Ebola and Marburg hemorrhagic fever. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 2005; 98:205–9.
11. Gure S.K., Goba A., Andersen K.G., Sealfon R.S.G., Parc D.J., Kanneh L., Jalloh S., Momoh M., Fullah M., Dudas G., Wohl S., Moses L.M., Yozwiak N.L., Winnicki S., Matanga C.B., Malboeuf C.M., Qu J., Gladden A.D., Schaffner S.F., Yang X., Jiang P.P., Nekoui M., Colubri A., Coomber M.R., Fonnies M., Moigboi A., Gbakie M., Kamara F.K., Tucker V., Yillah M., Kanneh F., Robert F., Massally J.L., Chapman S.B., Bochicchio J., Murphy C., Nusbaum C., Young S., Birren B.W., Grant D.S., Scheffellin L.S., Lander E.S., Hapli C., Gevaio S.M., Gnirke A., Rambaut A., Garry R.F., Khan S.H., Sabeti P.C. Genomic surveillance elucidates Ebola virus origin and transmission during the 2014 outbreak. *Science*. 2014; 345:1369–72.
12. Lauber C., Gorbalenya A.E. Genetics-Based Classification of Filoviruses Calls for Expanded Sampling of Genomic Sequences. *Viruses*. 2012; 4:1425–37.
13. Leroy E.M., Baize S., Mavoungou E., Apetre C. Sequence analysis of the GP, NP, VP40 and VP24 genes of Ebola virus isolated from deceases, surviving and asymptotically infected individuals during the 1996 outbreak in Gabon: comparative studies and phylogenetic characterization. *J. Gen. Virol.* 2002; 83:56–73.
14. Leroy E.M., Baize S., Volchkov V.E., Fisher-Hoch S. P., Georges-Courbot M. C., Lansoud-Soukate J., Capron M., Debre P., McCormick J. B., Georges A. J. Human asymptomatic Ebola infection and strong inflammatory response. *Lancet*. 2000; 355:2210–15.
15. Mateo M., Carbonelle C., Reynard O., Kolesnikova L., Nemirov K., Page A., Volchkova V.A., Volchkov V.E. VP24 is a molecular determinant of Ebola virus virulence in guinea pigs. *J. Infect. Dis.* 2011; 204(3):1011–20.
16. Mingo R.M., Simmons J.A., Shoemaker C.J., Nelson E.A., Schornberg K.L., D'Souza R., Casanova J.E., White J.M. Ebola virus and severe acute respiratory syndrome Coronavirus display late cell entry kinetics: evidence that transport to NPC1⁺ endolysosomes is a rate-defining step. *J. Virol.* 2015; 89(5):2931–43.
17. Pourrut X., Kumulungui B., Wittmann T., Moussavou G., Delic A., Yaba P., Nkoghe D., Gonzalez J.P., Leroy E.M. The natural history of Ebola virus in Africa. *Microbes Infect.* 2005; 7(7–8):1005–14.
18. Prins K.S., Delpeut S., Leung D.W., Reunard O., Volebkova V.A., Reid S.P., Ramanan P., Cardenas W.B., Amarasinghe G.K., Volchov V.E., Basler C.F. Mutations abrogating VP 35 interaction with double stranded RNA render Ebola virus avirulent in guinea pigs. *J. Virol.* 2010; 84:3004–15.
19. Reid S.P., Leung D.W., Hartman A.L., Martinez O., Shaw M.L., Carbonelle C., Volchov V.E., Nichol S.T., Basler C.F. Ebola virus VP24 binds karyopherin alpha 1 and blocks STATi nuclear accumulation. *J. Virol.* 2006; 80:5156–67.
20. Rodriguez L., De Roo A., Guimard Y., Trappier S., Sanchez A., Bressler D., Williams A., Rowe A., Bertolli J., Khan A., Ksiazek T., Peters C., Nichol S. Persistence and genetic stability of Ebola virus during the outbreak in the Democratic Republic of the Congo, 1995. *J. Infect. Dis.* 1995; 179:170–6.
21. Suzuki Y., Gojobori T. The origin and evolution of Ebola

and Marburg viruses. *Mol. Biol. Evol.* 1997; 14:800–6.

22. Volchov V.E., Chepurnov A.A., Volchova V.A., Ternovoj V.A., Klenk H.D. Molecular characterization guinea pig-adapted variants of Ebola virus. *Virology*. 2000; 277:147–55.

23. Volchov V.E., Feldmann H., Volchkova V.A., Klenk H.D. Processing of Ebola virus glycoprotein by polypeptide convertase furin. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 1998; 95:5762–67.

24. Yang Z.Y., Duckers H.J., Sullivan N.J., Sanchez A., Nabel E.G., Nabel G.J. Identification of the Ebola virus glycoprotein as main viral determinant of vascular cell cytotoxicity and injury. *Nat. Med.* 2000; 6:886–9.

References

1. Albarino C.G., Shoemaker T., Khristova M.L., Wamala J.F., Muyembe J.J., Balinandi S. Genomic analysis of filoviruses associated with four viral hemorrhagic fever outbreaks in Uganda and the Democratic Republic of the Congo in 2012. *Virology*. 2013; 442:97–100.
2. Bao Y., Chetverin V., Tatusova T. Pairwise sequence comparison (PASC) and its application in the classification of filoviruses. *Viruses*. 2012; 4:1318–27.
3. Basler C., Mikulasova A., Masrtinez-Sobrido L., Paragas J., Muhlberger E., Bray M., Klenk H.D., Pales P., Garcia-Sastre A. The Ebola virus VP35 protein inhibits activation of interferon regulatory factor 3. *J. Virol.* 2003; 77:7945–56.
4. Basler C., Wang X., Muhlberger E., Volchov V., Paragas J., Klenk H., Garcia-Sastre A., Palese P. The Ebola virus VP35 protein functions as a type I IFN antagonist. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2000; 97:12289–94.
5. Biek R., Walsh P.D., Leroy E.M., Real L.A., Recent common ancestry of Ebola Zaire virus found in a bat reservoir. *PLoS Pathog.* 2006; 2:90.
6. Carroll S.A., Townner J.S., Sealy T.K., McMullan L.K., Khristova M.L., Burt F.J., Swanepoel R., Rollin P.E., Nichol S.T. Molecular evolution of viruses of the family Filoviridae based on 97 whole-genome sequences. *J. Virol.* 2013; 87:2608–16.
7. Ebihara H., Takada A., Kobassa D., Jones S., Neumann G., Theriault S., Bray M., Feldmann H., Kawaoka Y. Molecular determinants of Ebola virus virulence in mice. *PLoS Pathog.* 2006; 2(7):73.
8. Feldmann H., Geisbert T.W. Ebola hemorrhagic fever. *Lancet*. 2011; 377:849–62.
9. Grard G., Biek R., Tamfum J.J., Fair J., Wolfe N., Formenty P., Paweska J., Leroy E. Emergence of divergent Zaire Ebola virus strains in Democratic Republic of the Congo in 2007 and 2008. *J. Infect. Dis.* 2011; 204(3):776–84.
10. Grolla A., Lucht A., Dick D., Strong J.E., Feldman H. Laboratory diagnosis of Ebola and Marburg hemorrhagic fever. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 2005; 98:205–9.
11. Gure S.K., Goba A., Andersen K.G., Sealfon R.S.G., Parc D.J., Kanneh L., Jalloh S., Momoh M., Fullah M., Dudas G., Wohl S., Moses L.M., Yozwiak N.L., Winnicki S., Matranga C.B., Malboeuf C.M., Qu J., Gladden A.D., Schaffner S.F., Yang X., Jiang P.P., Nekoui M., Colubri A., Coomber M.R., Fonnie M., Moigboi A., Gbokie M., Kamara F.K., Tucker V., Yillah M., Kanneh F., Robert F., Massally J.L., Chapman S.B., Bochicchio J., Murphy C., Nusbaum C., Young S., Birren B.W., Grant D.S., Scheffelin L.S., Lander E.S., Hapli C., Gevaio S.M., Gnirke A., Rambaut A., Garry R.F., Khan S.H., Sabeti P.C. Genomic surveillance elucidates Ebola virus origin and transmission during the 2014 outbreak. *Science*. 2014; 345:1369–72.
12. Lauber C., Gorbalenya A.E. Genetics-Based Classification of Filoviruses Calls for Expanded Sampling of Genomic Sequences. *Viruses*. 2012; 4:1425–37.

13. Leroy E.M., Baize S., Mavoungou E., Apetre C. Sequence analysis of the GP, NP, VP40 and VP24 genes of Ebola virus isolated from deceased, surviving and asymptotically infected individuals during the 1996 outbreak in Gabon: comparative studies and phylogenetic characterization. *J. Gen. Virol.* 2002; 83:56–73.

14. Leroy E.M., Baize S., Volchov V.E., Fisher-Hoch S. P., Georges-Courbot M. C., Lansoud-Soukate J., Capron M., Debre P., McCormick J. B., Georges A. J. Human asymptomatic Ebola infection and strong inflammatory response. *Lancet*. 2000; 355:2210–15.

15. Mateo M., Carbonelle C., Reynard O., Kolesnikova L., Nemirov K., Page A., Volchkova V.A., Volchov V.E. VP24 is a molecular determinant of Ebola virus virulence in guinea pigs. *J. Infect. Dis.* 2011; 204(3):1011–20.

16. Mingo R.M., Simmons J.A., Shoemaker C.J., Nelson E.A., Schornberg K.L., D'Souza R., Casanova J.E., White J.M. Ebola virus and severe acute respiratory syndrome Coronavirus display late cell entry kinetics: evidence that transport to NPC1⁺ endolysosomes is a rate-defining step. *J. Virol.* 2015; 89(5):2931–43.

17. Pourrut X., Kumulungui B., Wittmann T., Moussavou G., Delicat A., Yaba P., Nkoghe D., Gonzalez J.P., Leroy E.M. The natural history of Ebola virus in Africa. *Microbes Infect.* 2005; 7(7–8):1005–14.

18. Prins K.S., Delpet S., Leung D.W., Reunard O., Volebkova V.A., Reid S.P., Ramanan P., Cardenas W.B., Amarasinghe G.K., Volchov V.E., Basler C.F. Mutations abrogating VP 35 interaction with double stranded RNA render Ebola virus avirulent in guinea pigs. *J. Virol.* 2010; 84:3004–15.

19. Reid S.P., Leung D.W., Hartman A.L., Martinez O., Shaw M.L., Carbonelle C., Volchov V.E., Nichol S.T., Basler C.F. Ebola virus VP24 binds karyopherin alpha 1 and blocks STAT1 nuclear accumulation. *J. Virol.* 2006; 80:5156–67.

20. Rodriguez L., De Roo A., Guimard Y., Trappier S., Sanchez A., Bressler D., Williams A., Rowe A., Bertolli J., Khan A., Ksiazek T., Peters C., Nichol S. Persistence and genetic stability of Ebola virus during the outbreak in the Democratic Republic of the Congo, 1995. *J. Infect. Dis.* 1995; 179:170–6.

21. Suzuki Y., Gotohori T. The origin and evolution of Ebola and Marburg viruses. *Mol. Biol. Evol.* 1997; 14:800–6.

22. Volchov V.E., Chepurnov A.A., Volchova V.A., Ternovoj V.A., Klenk H.D. Molecular characterization guinea pig-adapted variants of Ebola virus. *Virology*. 2000; 277:147–55.

23. Volchov V.E., Feldmann H., Volchkova V.A., Klenk H.D. Processing of Ebola virus glycoprotein by polypeptide convertase furin. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 1998; 95:5762–67.

24. Yang Z.Y., Duckers H.J., Sullivan N.J., Sanchez A., Nabel E.G., Nabel G.J. Identification of the Ebola virus glycoprotein as main viral determinant of vascular cell cytotoxicity and injury. *Nat. Med.* 2000; 6:886–9.

Authors:

Petrov A.A., Lebedev V.N., Stovba L.F., Sizikova T.E., Plekhanova T.M., Sidorova O.N., Pyshnaya N.S., Paveliev D.I., Borisevich S.V. 48 Central Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation. Sergiev Possad, Russian Federation.

Об авторах:

Петров А.А., Лебедев В.Н., Стомба Л.Ф., Сизикова Т.Е., Плеханова Т.М., Сидорова О.Н., Пышная Н.С., Павельев Д.И., Борисевич С.В. «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны. Российская Федерация, Сергиев Посад.

Поступила 02.07.15.

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 последиplomного 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 мышах, 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.Agaonov³, 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 БВВЭ направлен мобильный комплекс специализированной противоэпидемической 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 пневмокапюльонов на базе ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор».

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

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

²Секвенирование генома вируса Эбола осуществлено из клинического материала.

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-Л» (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 ($C_t < 25$) 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.

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 кластеру 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	...ATTGACCT...	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 подтверждаются. 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 человека 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 приходится на некодирующие участки генома эболавируса, не приводя к возникновению замен аминокислотных. Уровень вариативности 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., Одинок 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., Щербакова 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., Fizet 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., Molkenhuth 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., Matrangola 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., Townner J., Mamoh M., Gbakie M., Kanneh 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., Nusbaum 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., Saifonov V.A., Magasuba N.F., Utkin D.V., Odiakov G.N., Pyankov O.V., Sergeev A.S., Bodnev S.A., Kabanov A.S., Kulev 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., 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., Fizet 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., Molkenhuth 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/NEJMoa1411100.

7. Hoenen T., Groseth A., Feldmann F., Marzi A., Ebihara H., Kobinger G., Günther 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., Sells 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., Boichicchio 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., Gevaio 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.

Ternovoy 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 последилового образования; Российская Федерация, 125993, Москва, ул. Баррикадная, 2/1.

Терновой В.А., Пьянков О.В., Чаусов Е.В., Сергеев Ар.А., Кабанов А.С., 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.

Т.Е.Сизикова, В.Н.Лебедев, В.Б.Пантюхов, С.В.Борисевич

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПРОНИКНОВЕНИЯ ВИРУСА ЭБОЛА
В ПЕРМИССИВНЫЕ КЛЕТКИ***ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны, Сергиев Посад,
Российская Федерация*

Вирус Эбола, являющийся представителем рода *Ebolavirus* семейства *Filoviridae*, вызывает у человека лихорадку с летальностью до 90 %. Представители рода *Ebolavirus* инфицируют многие виды клеток млекопитающих. Недавно проведенные исследования показали, что при проникновении вируса Эбола в клетку задействованы многочисленные белковые взаимодействия и молекулярные механизмы, часть из которых являются уникальными для филовирусов, а некоторые используются всеми вирусными гликопротеинами. Клеточные факторы, используемые филовирусами при их проникновении в перmissive клетки, полностью не изучены. Целью данного обзора является анализ особенности проникновения вируса Эбола в перmissive клетки на молекулярном уровне. Проникновение вируса Эбола в клетки инициируется взаимодействием вирусного гликопротеина с одним или несколькими рецепторами на поверхности клетки-хозяина. Главные клеточные факторы, задействованные в процессе проникновения филовирусов в клетки, это факторы прикрепления (клеточные лектины и Т-клеточный муцин 1 (TIM-1) человека), сигнальные факторы (рецепторы тирозинкиназы и $\alpha_3\beta_1$ -интегрин), эндолизосомальные факторы клетки-хозяина (катепсины В и L, а также белок Неймана-Пика С1). Изучение особенностей проникновения вируса в клетки открывает потенциальные подходы к созданию средств профилактики и лечения болезни, вызванной вирусом Эбола.

Ключевые слова: вирус Эбола, филовирусы, проникновение вируса, эндоцитоз, факторы присоединения, сигнальные факторы, эндолизосомальные факторы, клетка-хозяин.

Т.Е.Sizikova, V.N.Lebedev, V.B.Pantukhov, S.V.Borisevich

Molecular Mechanisms of Ebola Virus Entry into Permissive Cells*The 48th Central Research Institute of the RF Ministry of Defense, Sergiev Possad, Russian Federation*

Ebola virus, representative of the *Ebolavirus* genus, *Filoviridae* family, causes severe hemorrhagic fever in humans, with lethality rates amounting up to 90 %. The members of *Ebolavirus* genus infect a broad range of mammalian cells. Recent studies indicate that entry of Ebola virus into cells requires a series of cellular protein interactions and molecular mechanisms, some of which are unique to filoviruses, while others are commonly used by all viral glycoproteins. The cellular factors deployed by filoviruses for their entry into permissive cells are defined incompletely. The aim of this review is to analyze peculiarity of the Ebola virus penetration into permissive cells at molecular level. The Ebola virus entry into cells is initiated by the interaction of viral glycoprotein with one or more receptors on the surface of host-cell. The main host-cell factors, involved in filovirus entry, are: attachment factors (cell lectins and human T-cell mucin 1 (TIM-1)), signaling factors (tyrosinase receptors and $\alpha_3\beta_1$ -integrin), and endolysosomal host-cell factors (cathepsins B and L and Niemann-Pick C1 protein). The study of the complex set of virus entry events provides potential avenues for the development of antiviral therapies against Ebola fever.

Key words: Ebola virus, hemorrhagic fever, filovirus, virus entry, endocytosis, attachment factors, signaling factors, endolysosomal factors, host-cell.

Лихорадка Эбола, вызываемая представителями рода *Ebolavirus* семейства *Filoviridae*, является особо опасной вирусной инфекционной болезнью, характеризующейся шоком, геморрагиями, мультиорганной недостаточностью и заканчивающейся летально в 50–90 % случаев [23].

Род *Ebolavirus* включает пять видов, в состав каждого из которых входит по одному возбудителю (*Zaire ebolavirus*, *Sudan ebolavirus*, *Tai forest ebolavirus*, *Bundibugio ebolavirus*, *Reston ebolavirus*) [15, 16].

Филовирусы представляют угрозу для здравоохранения, что особенно ярко продемонстрировала крупнейшая эпидемическая вспышка лихорадки Эбола, начавшаяся в декабре 2013 г. в Гвинее и продолжающаяся до сих пор [2]. На начало мая 2015 г. от болезни погибло свыше 15 тыс. человек.

Строение вируса Эбола сходно с таковым для

других представителей семейства *Filoviridae*. Вирион содержит нефрагментированную «минус» РНК, содержащую приблизительно 19000 нуклеотидов и кодирующую 7 структурных и 1 неструктурный белок. Порядок генов на геноме: 3'-концевая лидерная область, гены нуклеопротеина (NP), вирусных белков VP35, VP40, гликопротеина (GP), VP30, VP24, РНК-зависимой РНК-полимеразы (L белок), 5'-конец. NP, белки VP30, VP35 и L ассоциированы с вирусной геномной РНК в рибонуклеопротеиновый комплекс. L белок и белок VP35 образуют полимеразный комплекс, который транскрибирует и реплицирует вирусный геном [1].

Несмотря на то, что в настоящее время хорошо изучены многие молекулярно-биологические характеристики филовирусов, до сих пор недостаточно изучены факторы вирулентности и патогенеза болез-

ней, вызываемых данной группой возбудителей.

Целью данного обзора является анализ особенностей проникновения вируса Эбола в перmissive клетки на молекулярном уровне.

Детальное изучение патогенеза филовирсов предполагает знание механизма взаимодействия последних с чувствительными клетками.

Первым этапом жизненного цикла филовирсов в макроорганизме является проникновение возбудителя в чувствительные клетки. Выявление вирусных и клеточных факторов, вовлеченных в данный процесс, во многом определяет пути поиска эффективных средств экстренной профилактики и лечения филовирсусных инфекций [11].

Ответственным за адсорбцию вирионов на чувствительные клетки является гликопротеин – единственный структурный белок липопротеидной оболочки, а потому становится единственной мишенью для вируснейтрализующих антител. Следовательно, определение конкретных участков гликопротеина, ответственных за вход в клетку, является необходимым для создания эффективных вакцин и других медицинских средств защиты. В настоящее время идентифицированы ключевые механизмы каскада взаимодействий, обеспечивающих проникновение филовирсов в клетки. Некоторые из них использованы при создании противовирусных препаратов, обладающих противовирусной активностью *in vitro* и *in vivo* при использовании мелких лабораторных животных [3, 4, 5, 21, 24].

Гликопротеин филовирсов относится к классу 1 белков, проникающих через мембрану. Данный белок в процессе репродукции филовирса в клетке формируется из гликопротеина-предшественника (GP_0). При транспорте последнего в аппарат Гольджи происходит преобразование предшественника белка в две субъединицы (поверхностная субъединица GP_1 и трансмембранная субъединица GP_2). Обе субъединицы остаются связанными дисульфидными связями ($GP_{1,2}$), и тримеры гетеродимеров GP_1 - GP_2 образуют шипики на оболочке вириона [29]. Субъединица GP_1 гликопротеина $GP_{1,2}$ позволяет филовирсам проникать в эндосому при условиях, благоприятных для формирования активной формы гликопротеина $GP_{1,2}$.

Субъединица GP_2 гликопротеина $GP_{1,2}$ содержит формирующий петлю N-концевой участок из 45 аминокислотных остатков. Данный участок формируется благодаря дисульфидной связи между молекулами цистеина в положениях 511 и 556. Коровая гидрофобная последовательность, состоящая из 16 аминокислотных участков и расположенная в пределах данного участка, инициирует процесс проникновения филовирсов через эндосомальную мембрану чувствительных клеток [17, 18].

Гликопротеин филовирсов является высокогликозилированным и содержит многочисленные сайты для гликозилирования. Мутагенный анализ и исследования структуры гликопротеина филовирсов на атомном уровне показали его сходство (по

присутствию остатков цистеина в областях, обеспечивающих присоединение к клеточной мембране) со многими другими вирусными гликопротеинами, в том числе вируса иммунодефицита человека и вируса гриппа [17]. Белки указанного класса формируют тримеры, располагающиеся перпендикулярно клеточной мембране. Каждый мономер содержит N-концевую поверхностную субъединицу, содержащую рецептор-связывающий участок, C-концевую трансмембранную последовательность, связанную с оболочкой вируса, белок, обеспечивающий проникновение через мембрану инфицированных клеток и два гептидных повторяющихся участка.

Рецептор-связывающий участок осуществляет взаимодействие гликопротеина с хозяйскими клетками [28, 30, 31]. Данный участок локализован на N-конце гликопротеина и является относительно консервативным среди представителей семейства *Filoviridae* (уровень гомологии по первичной структуре белка между вирусами Марбург и Эбола составляет 47 %) [14].

Белок, обеспечивающий проникновение через мембрану инфицированных клеток, играет важнейшую роль при инфицировании вирусом чувствительных клеток. K.Konduru *et al.* [13] в клетках млекопитающих экспрессировали внеклеточный участок гликопротеина вируса Эбола-Заир, взаимодействующий с Fc-фрагментом человеческого иммуноглобулина изотипа G1 (ZEBOVGP-Fc), и показали, что гликопротеин вызывает расщепление и процессинг фуринового комплекса. Данные процессы происходят при естественном взаимодействии гликопротеина с чувствительными клетками. У белых мышей, внутрибрюшинно иммунизированных ZEBOVGP-Fc (первая иммунизация в дозе 100 мкг с полным адъювантом Фрейнда, последующие иммунизации в дозе 25 мкг с неполным адъювантом Фрейнда на 21, 45, 60-е сутки), развивался Т-клеточный иммунитет в отношении гликопротеина вируса Эбола. Животные были защищены от инфицирования заведомо летальной дозой вируса Эбола (1000 БОЕ), проведенного через 74 дня после первой иммунизации.

N-концевой гептидный повторяющийся участок (HR1) гликопротеина GP_2 является высокоорганизованной альфа-геликообразной структурой, которая служит платформой для посадки гликопротеина GP_1 и содержит остатки, необходимые для связывания с другими участками HR1.

Гептидный повторяющийся участок HR2 расположен около C-конца гликопротеина GP_2 . При проникновении гликопротеина GP_2 через клеточную мембрану гептидные повторяющиеся участки формируют петлю, состоящую из трех участков HR1 и трех участков HR [17, 18].

На первой стадии инфекции основными мишенями являются моноклеарные фагоциты, в частности, макрофаги и дендритные клетки селезенки, лимфатических узлов и печени [27]. Инфицирование этих клеток не только приводит к амплификации ви-

руса и его быстрому распространению в организме, но и к массовому выбросу цитокинов (цитокиновый шторм), обуславливая развитие ряда патологических процессов, что является характерной чертой филовиральной инфекции [10].

Вторичными клетками-мишенями филовиральной инфекции являются клетки фибробластов и эндотелиальные клетки различных внутренних органов, в том числе печени, почек и тестикул. Репродукция вируса в этих клетках сопровождается их лизисом. Репродукция вируса Эбола в васкулярном эндотелии приводит к появлению геморрагий при инфекции человека, но не низших приматов [9]. Помимо фибробластов и эндотелиальных клеток к филовиральной инфекции чувствительны почти все виды клеток, ввиду этого вирусы Марбург и Эбола можно выделить из всех исследуемых тканей [7, 9]. Единственными нечувствительными к филовирусам клетками являются лимфоциты, поскольку они не содержат рецепторов для вирусного гликопротеина, что играет немаловажную роль в патогенезе лихорадки Эбола [8].

Проникновение оболочечных вирусов в чувствительные клетки начинается с прикрепления вируса к клеточной оболочке, которое часто осуществляется за счет относительно неспецифического взаимодействия вирусного гликопротеина с клеточными факторами связывания [11]. Вход филовирусов в организм регулирует широкий спектр хозяйских клеток. Наиболее распространенными способами проникновения вирусов в чувствительные клетки являются кальвеолин-зависимый эндоцитоз, клатрин-зависимый эндоцитоз и макропиноцитоз [12]. При входе филовирусов в клетки задействованы все три механизма. Ранее считали, что наиболее значимым является кальвеолин-зависимый эндоцитоз [6]. Однако в исследованиях G. Simmons *et al.* [26] это положение не нашло подтверждения. В настоящее время считают, что основным механизмом проникновения филовирусов в чувствительные клетки является макропиноцитоз [24, 25].

Важно отметить, что процесс входа филовирусов в чувствительные клетки определяют различные молекулярные механизмы, часть из которых является общей для всех оболочечных вирусов, а некоторые – уникальными для представителей семейства *Filoviridae* [12]. Для прочного связывания вириона и последующего его проникновения через клеточную мембрану необходимо наличие в последней высокоспецифичных факторов связывания. Это факторы, ответственные за прикрепление вируса, а также сигнальные факторы, индуцирующие подготовку проникновения вируса через клеточную мембрану и эндолизосомальные факторы.

Проникновение филовирусов в инфицированные клетки обеспечивают:

- факторы, ответственные за прикрепление вируса к клеточной мембране. Сюда входят: клеточные лектины DC-SIGN (в дендритных клетках, макрофагах, тромбоцитах), DC-SIGNR (в эндотели-

альных клетках плаценты, печени, лимфатических узлов), LSECtin (в синусоидальных эндотелиальных клетках печени, лимфатических узлов и костного мозга), ASPGR-1 (в гепатоцитах), hMCL (в моноцитах и предшественниках макрофагов), человеческий Т-клеточный муцин (TIM-1) (в эпителиальных клетках) [12]. Следует отметить, что мутации в гликопротеине филовирусов могут привести к утрате способности прикрепления вируса к чувствительным клеткам. Так, вирусоподобные частицы, содержащие мутантный гликопротеин вируса Эбола, были неспособны проникать в различные клетки человека, в том числе в такие антигенпрезентирующие клетки, как макрофаги и дендритные. В то же время данные частицы сохранили способность к проникновению в антигенпрезентирующие клетки мышей CD 11b+ [19];

- сигнальные факторы, к которым относятся рецепторы тирозинкиназы и $\alpha_5\beta_1$ -интегрин (трансмембранный гликопротеин, состоящий из двух субъединиц (α и β)) [11];

- эндолизосомальные хозяйские клеточные факторы (катепсины В и L), в состав которых входят сериновая, аспарагиновая и цистеиновая протеазы, белок Неймана-Пика [11].

Удельный вес указанных факторов является различным. Исследование влияния на репродукцию вируса Эбола в чувствительных клетках *in vitro* и *in vivo* катепсинов В и L выявило, что катепсин В оказывал положительный эффект на внедрение вируса Эбола-Заир в чувствительные клетки [20]. Интересно отметить, что на аналогичный процесс для других представителей рода *Ebolavirus* (*Sudan ebolavirus*, *Tai forest ebolavirus*, *Bundibugio ebolavirus*, *Reston ebolavirus*) ни катепсин В, ни катепсин L влияния не оказывали. При изучении влияния катепсинов В и L на процесс репродукции вируса Эбола-Заир *in vivo* использовали мышей, инфицированных адаптированным к данным животным вариантом возбудителя. Установлено, что чувствительность животных контрольной группы не отличалась от таковой для групп животных с отсутствием катепсина В и/или катепсина L. Различий не выявлено ни по уровню репродукции вируса, ни по среднему сроку гибели животных [20].

По данным зарубежных специалистов, именно белок Неймана-Пика является критическим для филовирусов рецептором [22]. Человеческий белок Неймана-Пика обладает всеми свойствами вирусного рецептора: он придает чувствительность к филовиральной инфекции нечувствительных к возбудителям данного семейства клеток рептилий, содержит участок, обеспечивающий прямое специфическое связывание с гликопротеином филовирусов. Очищенный белок Неймана-Пика связывает только расщепленную форму гликопротеина, которая образуется при входе вируса в клетку.

Следовательно, на основании представленной информации можно предложить следующие направления (таблица) создания профилактических средств, направленных на предотвращение первых

Перспективные направления создания профилактических средств, направленных на предотвращение взаимодействия вируса Эбола с пермиссивными клетками

Воздействие препарата на	Мишень	Место нахождения	Направленность действия препаратов, используемых в качестве профилактических средств
Клеточные структуры	Лектины типа C: DC-SIGN DC-SIGNR LSECtin ASPGR-1 hMCL	Дендритные клетки, макрофаги, тромбоциты Эндотелиальные клетки плаценты, печени, лимфатических узлов Синусоидальные эндотелиальные клетки, печень, лимфатические узлы, костный мозг Гепатоциты Моноциты и предшественники макрофагов	Блокаторы лектинов типа C
	T-клеточный муцин	Эпителиальные клетки	Блокатор T-клеточного муцина
	Сигнальные факторы: рецепторы тирозинкиназы, $\alpha_5\beta_1$ -интегрин	Клеточные мембраны	Блокаторы сигнальных факторов
	Эндолизосомальные хозяйские клеточные факторы	«	Препараты, интерферирующие с катапсинами (например, ингибитор катапсина CA074, относящейся к классу дипептиднитрилов)
	Катапсин В	«	
	Катапсин L	«	
	Белок Неймана-Пика C1	Эндоплазматический ретикулум	Ингибитор белка Неймана-Пика U18666A, (механизм действия – блокирование репродукции вируса в результате транспорта холестерина через эндосомы)
Вирусные структуры	Гептидные повторяющиеся участки HR1 и HR2	Гликопротеин вируса	Препараты, блокирующие взаимодействие HR1 и HR2
Клеточные и вирусные структуры	Макропиноцитоз	Гликопротеин вируса, клеточные мембраны	Препараты, блокирующие процесс макропиноцитоза

этапов инфекции, вызываемой вирусом Эбола (этапы адсорбции вируса на клетку и проникновения вируса в пермиссивные клетки).

Проведенные лабораторные и доклинические испытания препаратов указанных классов выявили, что многие не обладают (или обладают минимальной) цитотоксичностью, что обычно является существенным фактором, ограничивающим применение ряда противовирусных химиопрепаратов. Поэтому дальнейшее изучение противовирусной эффективности перечисленных в таблице классов препаратов, наряду с разработкой высокоэффективных вакцин и средств экстренной профилактики и лечения, будет важным этапом борьбы с представляющей глобальную угрозу для здравоохранения болезнью, вызванной вирусом Эбола.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Albarino C.G., Shoemaker T., Khristova M.L., Wamala J.F., Muyembe J.J., Balinandi S., Tumusiime A., Campbell S., Cannon D., Gibbons A., Bergeron E., Bird B., Dodd K., Spiropoulou C., Erickson B.R., Guerrero L., Knust B., Nichol S.T., Rollin P.E., Stroher U. Genomic analysis of filoviruses associated with four viral hemorrhagic fever outbreaks in Uganda and the Democratic Republic of the Congo in 2012. *Virology*. 2013; 442:97–100.
2. Baize S., Pannetier D., Oestereich L., Rieger T., Koivogui L. Emergence of Zaire Ebola Virus Disease in Guinea. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371(15):1418–25.
3. Barrientos L.G., O'Keefe B.R., Bray M., Sanches A., Gronenborn A.M., Boyd M.R. Cyanovirin-N binds to viral surface glycoprotein, G1,2 and inhibits infectivity of Ebola virus. *Antivirus Res.* 2003; 58:47–56.
4. Basu A., Li B., Mills D.M., Panchal R.G., Cardinale S.C., Butler M.M., Peet N.P. Identification of small molecule entry inhibi-

tor for filoviruses. *J. Virol.* 2011; 85:3106–19.

5. Cote M., Misasi J., Ren T., Bruches A., Lee K., Filone C.M., Hensley L., Li Q., Ory D., Chandran K. Small molecule inhibitors reveal Niemann-Pick C1 is essential for Ebola virus infection. *Nature*. 2011; 477:344–8.

6. Empig C.J., Goldsmith M.A. Association of the calveola vesicular system with cellular entry by filoviruses. *J. Virol.* 2003; 76:5266–70.

7. Feldmann H., Geisbert T.W. Ebola hemorrhagic fever. *Lancet*. 2011; 377:849–62.

8. Geisbert T.W., Hensley L.E., Gibb T.R., Steele K.E., Jaax N.K., Jahrling P.B. Apoptosis induced *in vitro* and *in vivo* during infection by Ebola and Marburg viruses. *Lab. Invest.* 2000; 80:171–86.

9. Geisbert T.W., Hensley L.E., Larsen T., Young H.A., Reed D.S., Geisbert J.B., Scott D.P., Kagan E., Jahrling P.B., Davis K.J. Pathogenesis of Ebola hemorrhagic fever in cynomolgus macaques: evidence that dendritic cells are early and sustained targets of infection. *Am. J. Pathol.* 2003; 163:2347–70.

10. Hartman A.L., Towner J.S., Nichol S.T. Ebola and Marburg hemorrhagic fever. *Clin. Lab. Med.* 2010; 30:161–77.

11. Hofmann-Winkler H., Kauf F., Pohlman S. Host cell factors in filovirus entry; novel players, new insights. *Viruses*. 2012; 4:3336–62.

12. Hunt C.L., Lennenmann N.J., Maury W. Filovirus entry: a novelty in the virofusion world. *Viruses*. 2012; 4:258–75.

13. Konduru K., Bradfute S.B., Jasquess J., Manangeeswaran M., Nakamura S., Morshed S., Wood S.C., Bavary S., Kaplan G.G. Ebola virus glycoprotein Fc fusion protein confer protection against lethal challenge in vaccinated mice. *Vaccine*. 2011; 29:2968–77.

14. Kuhn J.H., Radoshitzky S.R., Guth A.C., Warfield K.L., Li W., Vincent M.J., Towner J.S., Nichol S.T., Bavary S., Choe H. Conserved receptor-binding domains of Lake Victoria marburgvirus and Zaire ebolavirus bind a common receptor. *J. Biol. Chem.* 2006; 281:15951–8.

15. Kuhn J.H., Becker S., Ebihara H., Geisbert T.W., Johnson K.M., Kawaoka Y., Lipkin W.I., Negro A.I., Netesov S.V., Nichol S.T., Palacios G., Peters C.J., Tenorio A., Volchkov V.E., Jahrling P.B. Proposal for a revised taxonomy of the family Filoviridae: Classification, names of taxa and viruses, and virus abbreviations. *Arch. Virol.* 2010; 155:2083–103.

16. Kuhn J.H., Bao Y., Bavari S., Becker S., Bradfute S., Brauburger K., Rodney Brister J., Bukreyev A.A., Cai Y., Chandran K., Davey R.A., Dolnik O., Dye J.M., Enterlein S., Gonzalez J.P., Formenty P., Freiberg A.N., Hensley L.E., Hoenen T., Honko A.N., Ignatyev G.M., Jahrling P.B., Johnson K.M., Klenk H.D., Kobinger G., Lackmeyer M.G., Leroy E.M., Lever M.S., Mühlberger E., Netesov S.V., Olinger G.G., Palacios G., Patterson J.L., Paweska

J.T., Pitt L., Radoshitzky S.R., Ryabchikova E.I., Saphire E.O., Shestopalov A.M., Smither S.J., Sullivan N.J., Swanepoel R., Takada A., Townner J.S., van der Groen G., Volchikov V.E., Volchkova V.A., Wahl-Jensen V., Warren T.K., Warfield K.L., Weidmann M., Nichol S.T. Virus nomenclature below the species level: a standardized nomenclature for filovirus strains and variants rescued from cDNA. *Arch. Virol.* 2014; 159(5):1229–37.

17. Lee J.E., Fusco M.L., Hessel A.J., Oswald W.B., Burton D.R., Saphire E.O. Structure of Ebola virus glycoprotein bound to an antibody from a human survivor. *Nature*. 2008; 454:177–82.

18. Lee J.E., Saphire E.O. Ebolavirus glycoprotein structure and mechanism of entry. *Future Virol.* 2009; 4:621–35.

19. Martinez O., Ndungo E., Tantral L., Miller E.H., Leung L.W., Chandran K., Basler C.F. A mutation in the Ebola virus envelope glycoprotein restricts viral entry in a host species- and cell-type – specific manner. *J. Virol.* 2013; 87:3324–34.

20. Marzi A., Reinheckel T., Feldmann H. Cathepsin B and L are not required for Ebola virus replication. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2012; 6:1–9.

21. Muller E.H., Harrison J.S., Radoshitzky S.R., Huggins C.D., Chi X., Dong L., Kuhn J.H., Bavari S., Lai J.R., Chanran K. Inhibition of Ebola virus entry by a C-peptide targeted to endosomes. *J. Biol. Chem.* 2011; 286:15854–61.

22. Muller E.H., Obernoster G., Raaben M., Herbert A.S., Deffieu M.S., Krishnan A., Ndungo E., Sandesara R.G., Carette J.E., Kuehne A.I., Ruthel G., Pfeffer S.R., Due J.R., Whelan S.P., Brummelkamp T.R., Chandran K. Ebola virus entry requires the host-programmed recognition of an intracellular recognition of an intracellular receptor. *EMBO J.* 2012; 31:1947–60.

23. Sanchez A., Geisbert T.W., Feldmann H. Filoviridae: Marburg and Ebola Viruses. In: Fields virology. Philadelphia, PA, USA: Lippincott Williams and Wilkins; 2007. P. 1279–304.

24. Saseed M.F., Kolokoltsov A.A., Freiberg A.N., Holbrook M.R., Davey R.A. Phosphoinositide-3 kinase -act pathway controls cellular entry of Ebola virus. *PLoS Pathog.* 2008; 4(8):1–11.

25. Saseed M.F., Kolokoltsov A.A., Albrecht T., Davey R.A. Cellular entry of Ebola virus involves uptake by macropinocytosis-like mechanism and subsequent trafficking through early and late endosomes. *PLoS Pathog.* 2010; 6(9):1–15.

26. Simmons G., Rennekamp A.J., Chai N., Vandenberghe L.H., Riley J.L., Bates P. Folate receptor alpha and calveola are not required for Ebola virus glycoprotein-mediated virus infection. *J. Virol.* 2003; 77:13433–8.

27. Stroher U., West E., Bugany H., Klenk H.D., Schnittler H.J., Feldman H. Infection and activation of monocytes by Marburg and Ebola viruses. *J. Virol.* 2001; 75:11025–33.

28. Takada A., Robinson G., Goto H., Sanchez A., Murty R.G., Whitt M.A., Kawaoka Y.A. A system for functional analysis of Ebola virus glycoprotein. *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 1997; 94:14764–9.

29. Volchikov V.E., Feldmann H., Volchkova V.A., Klenk H.D. Processing of Ebola virus glycoprotein by polypeptide convertase furin. *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 1998; 95:5762–7.

30. Wool-Lewis R.J., Bates P. Characterization of Ebola virus entry by using pseudotyped viruses: identification of receptor – deficient cell lines. *J. Virol.* 1998; 72(4):3155–60.

31. Yang Z.Y., Duckers H.J., Sullivan N.J., Sanchez A., Nabel E.G., Nabel G.J. Identification of the Ebola virus glycoprotein as main viral determinant of vascular cell cytotoxicity and injury. *Nat. Med.* 2000; 6:886–9.

References

1. Albarino C.G., Shoemaker T., Khristova M.L., Wamala J.F., Muyembe J.J., Balinandi S., Tumusiime A., Campbell S., Cannon D., Gibbons A., Bergeron E., Bird B., Dodd K., Spiropoulou C., Erickson B.R., Guerrero L., Knust B., Nichol S.T., Rollin P.E., Stroher U. Genomic analysis of filoviruses associated with four viral hemorrhagic fever outbreaks in Uganda and the Democratic Republic of the Congo in 2012. *Virology*. 2013; 442:97–100.

2. Baize S., Pannetier D., Oestereich L., Rieger T., Koivogui L. Emergence of Zaire Ebola Virus Disease in Guinea. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371(15):1418–25.

3. Barrientos L.G., O'Keefe B.R., Bray M., Sanches A., Gronenborn A.M., Boyd M.R. Cyanovirin-N binds to viral surface glycoprotein, G 1,2 and inhibits infectivity of Ebola virus. *Antiviral Res.* 2003; 58:47–56.

4. Basu A., Li B., Mills D.M., Panchal R.G., Cardinale S.C., Butler M.M., Peet N.P. Identification of small molecule entry inhibitor for filoviruses. *J. Virol.* 2011; 85:3106–19.

5. Cote M., Misasi J., Ren T., Bruchas A., Lee K., Filone C.M., Hensley L., Li Q., Ory D., Chandran K. Small molecule inhibitors reveal Niemann-Pick C1 is essential for Ebola virus infection. *Nature*. 2011; 477:344–8.

6. Empig C.J., Goldsmith M.A. Association of the calveola vesicular system with cellular entry by filoviruses. *J. Virol.* 2003; 76:5266–70.

7. Feldmann H., Geisbert T.W. Ebola hemorrhagic fever. *Lancet.* 2011; 377:849–62.

8. Geisbert T.W., Hensley L.E., Gibb T.R., Steele K.E., Jaax N.K., Jahrling P.B. Apoptosis induced *in vitro* and *in vivo* during infection by Ebola and Marburg viruses. *Lab. Invest.* 2000; 80:171–86.

9. Geisbert T.W., Hensley L.E., Larsen T., Young H.A., Reed D.S., Geisbert J.B., Scott D.P., Kagan E., Jahrling P.B., Davis K.J. Pathogenesis

of Ebola hemorrhagic fever in cynomolgus macaques: evidence that dendritic cells are early and sustained targets of infection. *Am. J. Pathol.* 2003; 163:2347–70.

10. Hartman A.L., Townner J.S., Nichol S.T. Ebola and Marburg hemorrhagic fever. *Clin. Lab. Med.* 2010; 30:161–77.

11. Hofmann-Winkler H., Kauf F., Pohlman S. Host cell factors in filovirus entry: novel players, new insights. *Viruses*. 2012; 4:3336–62.

12. Hunt C.L., Lennenmann N.J., Maury W. Filovirus entry: a novelty in the virofusion world. *Viruses*. 2012; 4:258–75.

13. Konduru K., Bradfute S.B., Jasques J., Manangeeswaran M., Nakamura S., Morshed S., Wood S.C., Bavary S., Kaplan G.G. Ebola virus glycoprotein Fc fusion protein confer protection against lethal challenge in vaccinated mice. *Vaccine*. 2011; 29:2968–77.

14. Kuhn J.H., Radoshitzky S.R., Guth A.C., Warfield K.L., Li W., Vincent M.J., Townner J.S., Nichol S.T., Bavary S., Choe H. Conserved receptor-binding domains of Lake Victoria marburgvirus and Zaire ebolavirus bind a common receptor. *J. Biol. Chem.* 2006; 281:15951–8.

15. Kuhn J.H., Becker S., Ebihara H., Geisbert T.W., Johnson K.M., Kawaoka Y., Lipkin W.I., Negredo A.I., Netesov S.V., Nichol S.T., Palacios G., Peters C.J., Tenorio A., Volchkov V.E., Jahrling P.B. Proposal for a revised taxonomy of the family Filoviridae: Classification, names of taxa and viruses, and virus abbreviations. *Arch. Virol.* 2010; 155:2083–103.

16. Kuhn J.H., Bao Y., Bavari S., Becker S., Bradfute S., Brauburger K., Rodney Brister J., Bukreyev A.A., Cai Y., Chandran K., Davey R.A., Dolnik O., Dye J.M., Enterlein S., Gonzalez J.P., Formenty P., Freiberg A.N., Hensley L.E., Hoenen T., Honko A.N., Ignatyev G.M., Jahrling P.B., Johnson K.M., Klenk H.D., Kobinger G., Lackmeyer M.G., Leroy E.M., Lever M.S., Muhlberger E., Netesov S.V., Olinger G.G., Palacios G., Patterson J.L., Paweska J.T., Pitt L., Radoshitzky S.R., Ryabchikova E.I., Saphire E.O., Shestopalov A.M., Smither S.J., Sullivan N.J., Swanepoel R., Takada A., Townner J.S., van der Groen G., Volchikov V.E., Volchkova V.A., Wahl-Jensen V., Warren T.K., Warfield K.L., Weidmann M., Nichol S.T. Virus nomenclature below the species level: a standardized nomenclature for filovirus strains and variants rescued from cDNA. *Arch. Virol.* 2014; 159(5):1229–37.

17. Lee J.E., Fusco M.L., Hessel A.J., Oswald W.B., Burton D.R., Saphire E.O. Structure of Ebola virus glycoprotein bound to an antibody from a human survivor. *Nature*. 2008; 454:177–82.

18. Lee J.E., Saphire E.O. Ebolavirus glycoprotein structure and mechanism of entry. *Future Virol.* 2009; 4:621–35.

19. Martinez O., Ndungo E., Tantral L., Miller E.H., Leung L.W., Chandran K., Basler C.F. A mutation in the Ebola virus envelope glycoprotein restricts viral entry in a host species- and cell-type – specific manner. *J. Virol.* 2013; 87:3324–34.

20. Marzi A., Reinheckel T., Feldmann H. Cathepsin B and L are not required for Ebola virus replication. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2012; 6:1–9.

21. Muller E.H., Harrison J.S., Radoshitzky S.R., Huggins C.D., Chi X., Dong L., Kuhn J.H., Bavari S., Lai J.R., Chanran K. Inhibition of Ebola virus entry by a C-peptide targeted to endosomes. *J. Biol. Chem.* 2011; 286:15854–61.

22. Muller E.H., Obernoster G., Raaben M., Herbert A.S., Deffieu M.S., Krishnan A., Ndungo E., Sandesara R.G., Carette J.E., Kuehne A.I., Ruthel G., Pfeffer S.R., Due J.R., Whelan S.P., Brummelkamp T.R., Chandran K. Ebola virus entry requires the host-programmed recognition of an intracellular recognition of an intracellular receptor. *EMBO J.* 2012; 31:1947–60.

23. Sanchez A., Geisbert T.W., Feldmann H. Filoviridae: Marburg and Ebola Viruses. In: Fields virology. Philadelphia, PA, USA: Lippincott Williams and Wilkins; 2007. P. 1279–304.

24. Saseed M.F., Kolokoltsov A.A., Freiberg A.N., Holbrook M.R., Davey R.A. Phosphoinositide-3 kinase -act pathway controls cellular entry of Ebola virus. *PLoS Pathog.* 2008; 4(8):1–11.

25. Saseed M.F., Kolokoltsov A.A., Albrecht T., Davey R.A. Cellular entry of Ebola virus involves uptake by macropinocytosis-like mechanism and subsequent trafficking through early and late endosomes. *PLoS Pathog.* 2010; 6(9):1–15.

26. Simmons G., Rennekamp A.J., Chai N., Vandenberghe L.H., Riley J.L., Bates P. Folate receptor alpha and calveola are not required for Ebola virus glycoprotein-mediated virus infection. *J. Virol.* 2003; 77:13433–8.

27. Stroher U., West E., Bugany H., Klenk H.D., Schnittler H.J., Feldman H. Infection and activation of monocytes by Marburg and Ebola viruses. *J. Virol.* 2001; 75:11025–33.

28. Takada A., Robinson G., Goto H., Sanchez A., Murty R.G., Whitt M.A., Kawaoka Y.A. A system for functional analysis of Ebola virus glycoprotein. *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 1997; 94:14764–9.

29. Volchikov V.E., Feldmann H., Volchkova V.A., Klenk H.D. Processing of Ebola virus glycoprotein by polypeptide convertase furin. *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 1998; 95:5762–7.

30. Wool-Lewis R.J., Bates P. Characterization of Ebola virus entry by using pseudotyped viruses: identification of receptor – deficient cell lines. *J. Virol.* 1998; 72(4):3155–60.

31. Yang Z.Y., Duckers H.J., Sullivan N.J., Sanchez A., Nabel E.G., Nabel G.J. Identification of the Ebola virus glycoprotein as main viral determinant of vascular cell cytotoxicity and injury. *Nat. Med.* 2000; 6:886–9.

Authors:

Сизикова Т.Е., Лебедев В.Н., Пантюхов В.Б., Борисевич С.В. The 48th Central Research Institute of the RF Ministry of Defense, Sergiev Possad, Russian Federation

Об авторах:

Сизикова Т.Е., Лебедев В.Н., Пантюхов В.Б., Борисевич С.В. «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны. Российская Федерация, Сергиев Посад.

Поступила 24.03.15.

В.А.Терновой^{1,2}, А.В.Семенцова¹, Е.В.Чуб¹, О.В.Пьянков¹, В.Б.Локтев^{1,3,4}, А.П.Агафонов¹

ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЕ xMAP-МУЛЬТИПЛЕКСИРОВАНИЕ ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИИ ГЕМОРРАГИЧЕСКИХ ЛИХОРАДОК, ВКЛЮЧАЯ ЭБОЛА

¹ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», Кольцово, Российская Федерация; ²Томский государственный университет, Томск, Российская Федерация;

³Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Российская Федерация;

⁴Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Российская Федерация

Разработан олигонуклеотидный суспензионный биочип на основе технологии xMAP для лабораторной диагностики возбудителей особо опасных вирусных инфекций – филовирсов Эбола и Марбург и аренавирусов Ласса, Хунин и Мачупо. Предложенный подход позволяет детектировать до 100 вирусных геном-эквивалентов в пробе. Чувствительность и специфичность олигонуклеотидного биочипа составляет 100 % при использовании лабораторных панелей положительных и отрицательных образцов. Полученные результаты показывают, что xMAP-мультиплексирование для обнаружения и идентификации тропических геморрагических лихорадок, включая Эбола, не уступает по чувствительности традиционному методу ОТ-ПЦР в реальном времени и может быть использовано для оценки вирусной нагрузки, а также в будущем может быть легко расширено как для анализа новых вирусных агентов, так и для выявления критических мутаций в вирусных геномах.

Ключевые слова: xMAP, филовирсы, Эбола, Марбург, аренавирусы, Ласса, Хунин, Мачупо, ПЦР.

V.A.Ternovoy^{1,2}, A.V.Sementsova¹, E.V.Chub¹, O.V.P'yankov¹, V.B.Loktev^{1,3,4}, A.P.Agafonov¹

Highly Effective xMAP Multiplex Assay for the Detection and Identification of Hemorrhagic Fever Agents, Including Ebola Virus

¹State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector", Kol'tsovo, Russian Federation; ²Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation; ³Institute of Cytology and Genetics, RAS Siberian Branch, Novosibirsk, Russian Federation; ⁴Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russian Federation

Developed has been the oligonucleotide liquid biochip based on xMAP technology, designed for the laboratory detection of particularly dangerous viral pathogens such as *Ebola* and *Marburg* filoviruses, and *Machupo*, *Junin*, and *Lassa* arenaviruses. The suggested approach allows for the detection of up to 100 viral genome equivalents in a sample. The sensitivity and specificity of oligonucleotide biochip is 100 % when the laboratory panels of positive and negative samples are used. These results indicate that the xMAP multiplexing for the detection and identification of tropical hemorrhagic fever agents, including Ebola virus, is not inferior to the conventional method such as real-time RT-PCR and can be applied for evaluation of viral load, and further on can easily be expanded for both the analysis of new viral agents and for the detection of critical mutations in viral genomes.

Key words: xMAP, *filoviridae*, Ebola, Marburg, arenaviruses, Lassa, Junin, Machupo, PCR.

Геморрагические лихорадки – группа острых вирусных природно-очаговых болезней, характеризующихся развитием универсального капилляротоксикоза, проявляющихся интоксикационным и геморрагическим синдромами с поражением различных органов и систем организма. В настоящее время известны 17 вирусов, относящихся к 4 семействам и вызывающих вирусные геморрагические лихорадки [1, 4, 9]. Носителем возбудителей в природных очагах являются дикие животные (грызуны, сумчатые, приматы, птицы и др.) и инфицированные люди; в последнем случае болезнь принимает черты антропонозной инфекции [3, 4, 6, 10]. Восприимчивость к геморрагическим лихорадкам высокая. Смертность составляет от 1–10 до 50–70 % и более. Геморрагическим лихорадкам свойственно очаговое распространение преимущественно в субтропических и тропических странах [3].

Лихорадка Эбола впервые идентифицирована как самостоятельная болезнь в Заире в 1976 г. Тогда в этой стране от неизвестной ранее болезни умерли более 90 % заболевших. Затем был зарегистрирован ряд вспышек болезни. В 1995 г. погибли 245 человек, в 2001 г. в Уганде в течение 4 недель погибли 145 заболевших. В 2013–2015 гг. зарегистрирована самая

крупная вспышка болезни, вызванной вирусом Эбола (БВВЭ), унесшая более 11000 тыс. жизней. Эпидемия охватила сразу несколько стран Западной Африки.

Вирусы Марбург и Эбола сходны по своей морфологии, но отличаются по антигенной структуре. Впервые лихорадка Марбург была обнаружена в 1967 г. в Европе в городах Марбург, Франкфурт-на-Майне и Белград. Источником инфекции были признаны ввезенные из Уганды в Марбург африканские зеленые марышки. Зарегистрирован 31 случай болезни и 7 смертельных исходов. В дальнейшем вспышки геморрагической лихорадки Марбург происходили в Конго, Анголе, Уганде. С 1998 по 2000 год в Конго зарегистрировано 154 больных и умерло 128 человек. В 2004 г. во время вспышки в Анголе заболели лихорадкой Марбург 266 человек, из них умерло 244. В 2009 г. в США зарегистрирован завозной случай лихорадки Марбург [11].

Современные методы лабораторной диагностики позволяют эффективно выявлять маркеры филовирсусных инфекций, например, РНК вируса (метод ПЦР), антигены и антитела (метод ИФА) [1]. Серологический диагноз путем выявления IgM антител в крови больных возможен только на пятый день

[2, 5, 6]. Значительный импульс в разработке средств индикации и идентификации агентов, вызывающих геморрагические лихорадки, придали биотеррористические акты в США в 2001 г. Одна из наиболее перспективных платформ – микрочиповая технология [8]. Существует две основные разновидности микрочиповой диагностической технологии – с использованием планарных чипов и чипов на основе микрофлюидики, которые, в свою очередь, делятся на гелевые и жидкие биочипы (xMAP – Multi-Analyte Profiling). Принцип xMAP-технологии заключается в том, что на поверхность полистерольных микросфер иммобилизуются олигонуклеотиды. При добавлении анализируемого образца комплементарная таргетная ДНК в образце формирует дуплекс с олигонуклеотидом на микросфере. Если анализируемый образец предварительно пометить флуоресцентной меткой, то в результате генерируется сигнал, свидетельствующий о наличии в пробе соответствующего объекта. Количество флуоресцирующих микросфер свидетельствует о количестве кДНК в образце.

В настоящее время биологические микрочипы широко используются в диагностике *in vitro* [7, 14]. Микрочиповые технологии нашли широкое применение во многих лабораториях мира. В то же время применение жидких биочипов гораздо дешевле планарных. Открытость платформы позволяет использовать тест-системы различных производителей на одних и тех же ридерах. Высокая мультиплексированность позволяет одновременно проводить скрининг большого числа образцов по множеству маркеров (более 100 маркеров в одном образце).

Целью данной работы являлась разработка отечественного средства специфической индикации и лабораторной диагностики возбудителей особо опасных вирусных инфекций – вирусов Эбола, Марбург, Ласса, Хунин и Мачупо с использованием платформы жидких олигонуклеотидных суспензионных биочипов.

Материалы и методы

Клетки Vero были получены из коллекции культур клеток ГНЦ ВБ «Вектор». Клетки культивировали с использованием среды Игла MEM.

В работе использованы вирусы Эбола, Марбург, Ласса, Хунин и Мачупо из коллекции микроорганизмов ГНЦ ВБ «Вектор». Культивирование вируса проводили в стационарном режиме на монослое клеток в пластиковых культуральных флаконах. Множественность заражения монослоя составляла 0,01–0,1 ЛД₅₀ на 1 клетку. Культуральную среду после проявления ЦПД использовали для выделения РНК вируса.

Нуклеиновые кислоты вирусов выделяли из образцов при помощи набора «Литех» (Россия) согласно инструкции по применению. ПЦР проводили на амплификаторах T100 и CFX96 («BioRad», США). Электрофоретическую детекцию продуктов амплификации проводили с использованием системы капиллярного электрофореза MultiNA «Shimadzu». Фрагменты кДНК очищали с использованием набора QIAEX II Gel Extraction Kit («Qiagen», США), клонировали в плазмиду pCR2.1 («Invitrogen», США).

Амплификацию ДНК проводили методом, описанным ранее [12, 13]. Амплификаты для реакции гибридизации получали путем амплификации с биотинилированным по 5'-концу антисмысловым праймером. Все образцы вирусной кДНК, использованные в работе, были предварительно секвенированы. Определение нуклеотидных последовательностей проводили на автоматическом секвенаторе ABI Genetic Analyzer 3130xl (ABI, США). Нуклеотидные последовательности анализировали с использованием базы данных NCBI Mega BLAST. Множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей проводили при помощи программы Lasergen 7.0 и приложения AlignX программного пакета Vector NTI 11 (Informax, США).

В работе использованы микросферы Lumindex (США) MagPlex beads, 6,5 µm. Для иммобилизации ДНК-олигонуклеотидных зондов на микросферы использовали 5'-аминозамещенные ДНК-олигонуклеотиды с 6-атомным спейсером (Синтол, Россия). Каждый вирусспецифический зонд иммобилизовали на определенном типе микросфер (BioRad, США), отличающихся между собой профилем флуоресценции. Для этого карбоксилированные микросферы 1·10⁶ в объеме 25 мкл 50 мМ MES (Sigma, США) буфера (pH 4,5) активировали с использованием 10 мМ EDC (Pierce, США) в присутствии 0,1 нМ ДНК-зонда. Реакцию проводили в течение 30 мин при комнатной температуре. Микросферы отделяли от не связавшихся компонентов центрифугированием, отмывали последовательно растворами 0,02 % Tween-20 и 0,1 % SDS (Sigma, США). Для блокирования не связавшихся с зондом активных групп и дальнейшего хранения микросферы ресуспендировали в 10 мМ Tris-EDTA буфере pH 8,0 (Sigma, США). Определение точной концентрации микросфер проводили с использованием камеры Горяева. Микросферы, несущие различные ДНК-зонды, смешивали в равных пропорциях.

Биотинилированные амплификаты ДНК гибридизовали с микросферами, несущими вирусные ДНК-зонды. В реакцию объемом 50 мкл брали 3 мкл исследуемой ПЦР-смеси и 5000 микросфер каждого типа. После предварительной денатурации 1 мин при 95 °С, гибридизацию проводили в присутствии 4,5 М ТМАС (Acros, США) в 50 мМ Трис-ЭДТА буфере (pH 8,0) при постоянной температуре 55 °С в течение 15 мин. После внесения конъюгата стрептавидина с R-фикоэритрином (Invitrogen, США) и дополнительной инкубации в течение 5 мин при 55 °С реакционную смесь непосредственно подвергали анализу на приборе BioPlex 200 (BioRad, США). Анализировали не менее 100 микросфер каждого типа. Статистическую обработку результатов проводили при помощи программы Bio-Plex Manager TM 4.0 (BioRad, США).

Результаты и обсуждение

С использованием известных к настоящему моменту последовательностей геномных РНК вирусов Эбола, Марбург, Ласса, Хунин и Мачупо из базы данных GenBank проведен дизайн уникальных специфич-

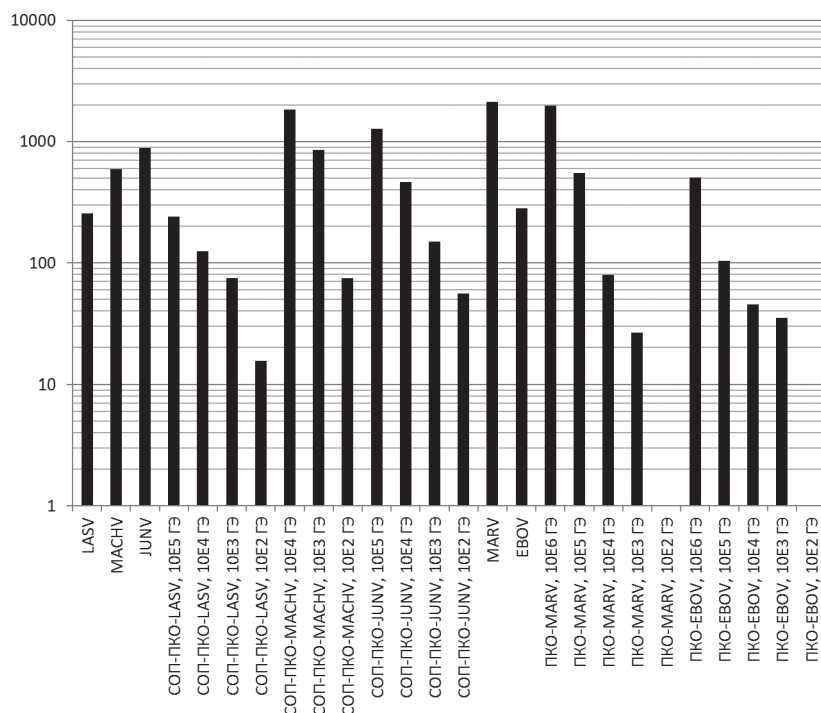
ческих диагностических праймеров и гибридизационных зондов, которые использовали для формирования диагностической панели на платформе xMAP. В качестве отрицательных контрольных образцов использовали генетический материал вирусов Западного Нила (штамм Vol-4), японского энцефалита (штаммы Пекин и Джагар), желтой лихорадки (штамм Дакар), гриппа H5N1 (штамм A/duck/Kurgan/08/2005), гриппа H1N1 (штамм A/Ekaterinburg/01/2009), SARS (штамм Frankfurt), аденовирусов 2-го и 5-го серотипов, энтеровирусов (CoxB6, CoxA7 и Ent71), ДНК человека, ДНК обезьян (павиан сфинкс, черный хохлатый павиан, макака резус, павиан гамадрил, белорукий гиббон, японская макака, зеленая мартышка и колобус восточный).

Каждый тип ДНК-зонда ковалентно иммобилизован на полимерные флуоресцентные микросферы, отличающиеся между собой профилем флуоресценции. Микросферы, несущие различные ДНК-зонды, смешивали и гибридизовали с ПЦР-продуктами от образцов различных вирусов. Реакцию гибридизации осуществляли в присутствии 3 М тетраметиламмония хлорида (ТМАС). В его присутствии температура плавления ДНК-дуплексов становится в основном функцией длины олигонуклеотида и мало зависит от GC-состава [15]. Нам удалось оптимизировать условия проведения реакции и получить достоверно различающиеся результаты без предварительной обработки образца после амплификации, доведя срок реакции гибридизации до 15–20 мин, а также устранить процедуру промывок перед считыванием результатов, что позволило уменьшить общее время всех процедур. При проведении анализа через кювету проходило не менее 100 микросфер каждого типа. Данные по интенсивности флуоресценции каждой из микросфер измеряли отдельно с последующей статистической обработкой по всей выборке, что по-

звolyет получать и анализировать статистически достоверные данные.

На рисунок представлена гистограмма интенсивности флуоресценции специфичных ДНК-зондов на поверхности микросфер после гибридизации с меченым продуктом амплификации, полученным для геномной РНК вирусов Эбола, Марбург, Ласса, Мачупо и Хунин в мультиплексном варианте. В экспериментах с использованием инфицированных культур клеток продемонстрирована возможность технологии жидких олигонуклеотидных микрочипов xMAP при регистрации комплексов ДНК матрица-олигонуклеотидный зонд, образовавшихся в ходе реакции гибридизации сенсорных микросфер с присутствующими в растворе фрагментами вирусспецифической ДНК пяти вирусов: Эбола, Марбург, Ласса, Мачупо и Хунин. При этом ДНК-фрагменты каждого из вирусов формировали комплексы на микросфере определенного вида с иммобилизованными на ее поверхности олигонуклеотидными зондами. Для повышения чувствительности перед гибридизацией использовали процедуру амплификации вирусспецифической кДНК. Это позволило повысить чувствительность системы до 10^2 геном-эквивалентов анализируемых вирусных патогенов в образце. Отрицательные контрольные образцы не гибридизовались ни с одним из зондов. Неспецифического или перекрестного взаимодействия выбранных праймеров и зондов с другими вирусами и гетерологичной ДНК и РНК не зарегистрировано.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что xMAP-мультиплексирование для обнаружения и идентификации тропических геморрагических лихорадок, включая возбудителя Эбола, не уступает по чувствительности традиционному методу ОТ-ПЦР в реальном времени. Количественная регистрация сигнала от каждой микросферы может быть использова-



Гистограмма интенсивностей флуоресценции в результате гибридизации специфичных ДНК-зондов на поверхности микросфер с меченым продуктом ампликации:

ЕВОВ – Эбола; MARV – Марбург; LASV – Ласса; MACHV – Мачупо; JUNV – Хунин; ПКО – положительный контрольный образец. По оси абсцисс – медиана интенсивности флуоресценции (MFI) по выборке из 100 проанализированных микросфер с вирусспецифическими зондами. По оси ординат – вирусные образцы с известным титром от 10^5 до 10^2 ГЭ на миллилитр, ПКО из образцов вирусов из коллекции ГНЦ ВБ «Вектор». MFI всех отрицательных контрольных образцов меньше 1 (данные не приведены)

на для оценки вирусной нагрузки в исследуемом образце. При этом важно подчеркнуть, что накопление информации об уровне сигнала от 100 и более микросфер позволяет кардинально улучшить решение проблем статистической обработки положительного и отрицательного сигнала. При анализе панелей положительных и отрицательных образцов установлено, что разработанный биочип обеспечивает 100 % чувствительность и специфичность при аналитической чувствительности до 10^2 геном-эквивалентов высокопатогенных для человека фило- и аренавирусов. Время проведения анализа сравнимо со временем проведения ПЦР. Кроме того, разработанная технология жидких биочипов для диагностики особо опасных вирусных патогенов обладает рядом преимуществ по сравнению с общепринятыми методами детекции вирусных патогенов. Это возможность одновременного анализа наличия генетического материала различных вирусных патогенов в одном эксперименте, высокая чувствительность и специфичность проведения анализа, высокая достоверность и возможность накопления большого массива экспериментальных данных в автоматическом режиме, небольшое время проведения анализа. Разработанный xMAP жидкий микрочип для лабораторной диагностики возбудителей особо опасных вирусных инфекций (филовирусов Эбола и Марбург и аренавирусов Ласса, Хунин и Мачупо) может быть в будущем легко расширен как для анализа новых вирусных агентов, так и для выявления критических мутаций в их геномах.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Рудзевич Т.Н., Терновой В.А., Казачинская Е.И., Разумов И.А., Чепурнов А.А., Локтев В.Б., Нетесов С.В. Выявление антигенных детерминант на N-конце белка VP35 вируса Эбола с помощью коротких рекомбинантных фрагментов этого белка. *Мол. генет., микробиол. и вирусол.* 2003; 2:38–41.
2. Чепурнов А.А., Терновой В.А., Даданева А.А., Дмитриев И.П., Сизикова Л.П., Волчков В.Е., Кудоярова Н.М., Рудзевич Т.Н., Нетесов С.В. Иммунобиологические свойства белка VP24 вируса Эбола, экспрессируемого в рекомбинантном вирусе осповакцины. *Вопр. вирусол.* 1997; 42(3):115–20.
3. Ambrosio A., Saavedra M., Mariani M., Gamboa G., Maiza A. Argentine hemorrhagic fever vaccines. *Hum. Vaccin.* 2011; 7:694–700.
4. Charrel R.N., de Lamballerie X. Zoonotic aspects of arenavirus infections. *Vet. Microbiol.* 2010; 140:213–20.
5. Chepurnov A.A., Ternovoy V.A., Tuzova M.N., Chernukhin I.V. Suppressive effect of Ebola virus on T cell proliferation in vitro is provided by a 125-kDa GP viral protein. *Immunology Lett.* 1999; 68:257–61.
6. Hastie K.M., Kimberlin C.R., Zandonatti M.A., MacRae I.J., Saphire E.O. Structure of the Lassa virus nucleoprotein reveals a dsRNA-specific 39 to 59 exonuclease activity essential for immune suppression. *Proc. Nat. Acad. Sci USA.* 2011; 108:2396–01.
7. Irizarry R.A., Bolstad B.M., Collin F., Cope L.M., Hobbs B., Speed T.P. Summaries of Affymetrix GeneChip probe level data. *Nucleic Acids Res.* 2003; 31(4):e15.
8. Keller K.L., Iannone M.A. Multiplexed microspherebased flow cytometric assays. *Exp. Hematol.* 2002; 30:1227–37.
9. Moraz M.L., Kunz S. Pathogenesis of arenavirus hemorrhagic fevers. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 2011; 9(1):49–59.
10. Racsa L.D., Kraft C.S., Olinger G.G., Hensley L.E. Viral Hemorrhagic Fever Diagnostics. *Clin Infect Dis.* 2015; DOI: 10.1093/cid/civ792.
11. Sanchez A., Geisbert T.W., Feldmann H. Filoviridae: Marburg and Ebola viruses. In: Knipe DM, Howley PM, eds. *Fields virology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006. P. 1409–48.
12. Volchikov V.E., Becker S., Volchkova V.A., Ternovoj V.A.,

Kotov A.N., Netesov S.V., Klenk H.D. GP mRNA of Ebola virus is edited by the Ebola virus polymerase and by T7 and vaccinia virus polymerases. *Virology.* 1995; 214:421–30.

13. Volchikov V.E., Chepurnov A.A., Volchkova V.A., Ternovoj V.A., Klenk H.-D. Molecular characterization of guinea pig-adapted variants of Ebola virus. *Virology.* 2000; 277:147–55.

14. Wu Z., Irizarry R.A., Gentleman R., Martinez M.F. A model based background adjustment for oligonucleotide expression arrays. *J. Am. Stat. Assoc.* 2004; 99:909–17.

15. Wood W.I., Gitschier J., Lasky L.A., Lawn R.M. Base composition-independent hybridization in tetramethylammonium chloride: a method for oligonucleotide screening of highly complex gene libraries. *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 198; 2(6):1585–88.

References

1. Rudzевич Т.Н., Терновой В.А., Казачинская Е.И., Разумов И.А., Чепурнов А.А., Локтев В.Б., Нетесов С.В. [Detection of antigen determinants at N-terminus of Ebola virus VP35 protein, using short recombinant fragments of this protein]. *Mol. Gen. Mikrobiol. Virusol.* 2003; 2:38–41.
2. Chepurnov A.A., Ternovoy V.A., Dadanava A.A., Dmitriev I.P., Sizikova L.P., Volchikov V.E., Kudoyarova N.M., Rudzевич T.N., Netesov S.V. [Immunobiological properties of Ebola virus VP24 protein, expressed in recombinant vaccinia virus]. *Vopr. Virusol.* 1997; 42(3):115–20.
3. Ambrosio A., Saavedra M., Mariani M., Gamboa G., Maiza A. Argentine hemorrhagic fever vaccines. *Hum. Vaccin.* 2011; 7:694–700.
4. Charrel R.N., de Lamballerie X. Zoonotic aspects of arenavirus infections. *Vet. Microbiol.* 2010; 140:213–20.
5. Chepurnov A.A., Ternovoy V.A., Tuzova M.N., Chernukhin I.V. Suppressive effect of Ebola virus on T cell proliferation in vitro is provided by a 125-kDa GP viral protein. *Immunology Lett.* 1999; 68:257–61.
6. Hastie K.M., Kimberlin C.R., Zandonatti M.A., MacRae I.J., Saphire E.O. Structure of the Lassa virus nucleoprotein reveals a dsRNA-specific 39 to 59 exonuclease activity essential for immune suppression. *Proc. Nat. Acad. Sci USA.* 2011; 108:2396–01.
7. Irizarry R.A., Bolstad B.M., Collin F., Cope L.M., Hobbs B., Speed T.P. Summaries of Affymetrix GeneChip probe level data. *Nucleic Acids Res.* 2003; 31(4):e15.
8. Keller K.L., Iannone M.A. Multiplexed microspherebased flow cytometric assays. *Exp. Hematol.* 2002; 30:1227–37.
9. Moraz M.L., Kunz S. Pathogenesis of arenavirus hemorrhagic fevers. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 2011; 9(1):49–59.
10. Racsa L.D., Kraft C.S., Olinger G.G., Hensley L.E. Viral Hemorrhagic Fever Diagnostics. *Clin Infect Dis.* 2015; DOI: 10.1093/cid/civ792.
11. Sanchez A., Geisbert T.W., Feldmann H. Filoviridae: Marburg and Ebola viruses. In: Knipe DM, Howley PM, eds. *Fields virology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006. P. 1409–48.
12. Volchikov V.E., Becker S., Volchkova V.A., Ternovoj V.A., Kotov A.N., Netesov S.V., Klenk H.D. GP mRNA of Ebola virus is edited by the Ebola virus polymerase and by T7 and vaccinia virus polymerases. *Virology.* 1995; 214:421–30.
13. Volchikov V.E., Chepurnov A.A., Volchkova V.A., Ternovoj V.A., Klenk H.-D. Molecular characterization of guinea pig-adapted variants of Ebola virus. *Virology.* 2000; 277:147–55.
14. Wu Z., Irizarry R.A., Gentleman R., Martinez M.F. A model based background adjustment for oligonucleotide expression arrays. *J. Am. Stat. Assoc.* 2004; 99:909–17.
15. Wood W.I., Gitschier J., Lasky L.A., Lawn R.M. Base composition-independent hybridization in tetramethylammonium chloride: a method for oligonucleotide screening of highly complex gene libraries. *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 198; 2(6):1585–88.

Authors:

Ternovoy V.A. State Research Centre of Virology and Biotechnology “Vector”; Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. Tomsk State University; Tomsk, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru

Sementsova A.V., Chub E.V., Pyankov O.V., Agafonov A.P. State Research Centre of Virology and Biotechnology “Vector”. Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru

Loktev V.B. State Research Centre of Virology and Biotechnology “Vector”; Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. Institute of Cytology and Genetics, RAS Siberian Branch; Novosibirsk, Russian Federation. Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru

Об авторах:

Терновой В.А. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»; Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., п. Колыцово. Томский государственный университет; Российская Федерация, Томск. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

Семенцова А.В., Чуб Е.В., Пьянков О.В., Агафонов А.П. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., п. Колыцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru

Локтев В.Б. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»; Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., п. Колыцово. Институт цитологии и генетики СО РАН; Российская Федерация, Новосибирск. Новосибирский государственный университет; Российская Федерация, Новосибирск. E-mail: vector@vector.nsc.ru

Поступила 10.07.15.

А.А.Петров, В.Н.Лебедев, Т.М.Плеханова, Л.Ф.Стовба, Г.В.Борисевич, О.Н.Сидорова, О.В.Чухраля, С.В.Борисевич

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ РАЗРАБОТКИ СРЕДСТВ ЭКСТРЕННОЙ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ БОЛЕЗНИ, ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ ЭБОЛА

ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны, Сергиев Посад, Российская Федерация

В качестве основных эффективных и экономичных мер борьбы с распространением эпидемии Эбола в настоящее время рассматривают вакцинацию населения в эндемичных регионах и внедрение в широкую клиническую практику эффективных средств экстренной профилактики и лечения. Целью настоящего обзора является анализ современного состояния разработки средств экстренной профилактики и лечения болезни, вызванной вирусом Эбола (БВВЭ). Основными направлениями создания эффективных средств экстренной профилактики и лечения лихорадки Эбола является разработка препаратов, основанных на вируспецифических антителах (в том числе и моноклональных), малых интерферирующих РНК, антисмысловых фосфордиамидатных морфолиновых олигомерах и интерферонах. В обзоре рассмотрены наиболее значимые результаты в области создания средств экстренной профилактики и лечения БВВЭ.

Ключевые слова: вирус Эбола, лекарственные средства, экстренная профилактика и лечение, вируспецифические антитела, моноклональные антитела, малые интерферирующие РНК, антисмысловые фосфордиамидатные морфолиновые олигомеры.

A.A.Petrov, V.N.Lebedev, T.M.Plekhanova, L.F.Stovba, G.V.Borisevich, O.N.Sidorova, O.V.Chukhralya, S.V.Borisevich

Current State of the Development of Therapies for Emergency Prophylaxis and Treatment of Ebola Virus Disease

The 48th Central Research Institute of the RF Ministry of Defense, Sergiev Possad, Russian Federation

Nowadays vaccination of the population living in the endemic regions and widespread implementation of the potent therapies for the emergency prophylaxis and treatment into the clinical practice are regarded as the basic efficient and cost-effective measures for Ebola epidemic spread control. Objective of the review is to analyze current state of the development of aids for the immediate prophylaxis and treatment of Ebola fever. Focus area of the activities is the construction of drugs on the basis of virus-specific anti-bodies (including monoclonal), small interfering RNA, and anti-sense phosphordiamidate morpholine oligomers and interferons. The paper discusses the most significant achievements in this sphere.

Key words: Ebola virus, hemorrhagic fever, medical products, emergency prophylaxis and treatment, virus-specific antibodies, monoclonal antibodies, small interfering RNA, anti-sense phosphordiamidate morpholine oligomers.

Эпидемическая вспышка лихорадки Эбола, начавшаяся в декабре 2013 г., характеризуется самым большим числом случаев болезни и наибольшей территорией распространения. В ходе данной эпидемии зарегистрированы случаи завоза БВВЭ из Западной Африки практически на все континенты, кроме Антарктиды. В настоящее время мировым сообществом лихорадка Эбола рассматривается в качестве одной из глобальных угроз для человечества [10]. По пессимистическому сценарию Всемирного Банка Реконструкции и Развития, экономический ущерб от распространения болезни может составить 32 млрд долларов США [1, 5].

Целью данного обзора является анализ современного состояния разработки средств экстренной профилактики и лечения болезни, вызванной вирусом Эбола.

Все существующие на сегодняшний день средства экстренной профилактики и лечения лихорадки Эбола ВОЗ разделяет на следующие категории: препараты

на основе вируспецифических антител (плазма крови реконвалесцентов, гипериммунный гетерологичный иммуноглобулин из плазмы иммунизированных животных с высоким титром вируснейтрализующих антител (ВНА), гуманизированные моноклональные антитела (МКАт) к вирусу Эбола); малые интерферирующие (small interfering) РНК – миРНК (siRNA); химиопрепараты широкого спектра действия (рекомбинантные белки и вещества, относящиеся к классу аномальных нуклеозидов); интерфероны.

Рассмотрим наиболее значимые результаты, достигнутые при использовании средств, относящихся к указанным выше категориям.

Препараты на основе вируспецифических антител. В настоящее время одним из наиболее перспективных средств экстренной профилактики опасных и особо опасных инфекционных болезней являются препараты, содержащие специфические антитела. По критерию сопоставления вида донора и реципиента антител эти препараты разделяют на

гомологичные и гетерологичные.

При сопоставлении эффективности данных препаратов для экстренной профилактики и лечения человека *a priori* можно сказать, что гомологичные препараты при одинаковом, по отношению к гетерологичным, титре специфических антител будут более эффективны. Однако при отсутствии контакта со специализированными медицинскими учреждениями, расположенными в эндемичных по отношению к рассматриваемому возбудителю регионах, они являются практически недоступными [3].

Еще в 1977 г. была использована сыворотка реконвалесцентов для экстренной профилактики и лечения при случае внутрилабораторного заражения вирусом Эбола в Портон-Дауне, Великобритания [22]. Однако, несмотря на положительный результат лечения, полученные данные трудно однозначно интерпретировать. Неизвестно, является ли достаточным присутствие ВНА для предотвращения развития болезни. Так, по данным P.B.Jahrling *et al.* [18], при введении яванским макакам плазмы крови животных этого же вида, выживших после инфицирования вирусом Эбола, несмотря на присутствие в крови животных антител в значимых титрах, болезнь у обезьян проходила так же, как и у животных контрольной группы, не получивших плазму крови реконвалесцентов.

В качестве средства экстренной профилактики описано использование гипериммунного гетерологичного иммуноглобулина, полученного в результате очистки и концентрирования плазмы иммунизированных животных с высоким титром ВНА [1, 4]. В настоящее время имеется опыт применения гетерологичных иммуноглобулинов против других нозологических форм [1, 3].

Необходимо отметить, что при использовании поликлональных иммунных сывороток существует теоретическая возможность повышения инфекционности вируса Эбола для клеток, что связано с присутствием антител вследствие образования инфекционных комплексов «вирус-антитело» [1, 3]. Указанные факторы являются причиной того, что в настоящее время одним из приоритетных направлений клинической иммунологии является разработка генно-инженерных методов получения антител человека, которые можно использовать в качестве терапевтических средств. Принципиальное решение проблемы создания эффективных и безопасных протективных антител стало возможным после усовершенствования технологии получения рекомбинантных гуманизированных моноклональных антител. Эта технология базируется на методах генной инженерии и нанобиотехнологии.

Поскольку МКАт по видовому происхождению являются мышиными, то для «гуманизации» их необходимо сделать максимально похожими на антитела человека. На практике это осуществляют с помощью либо технологии химерных антител, либо технологии получения полностью гуманизированных анти-

тел [4]. В настоящее время стало возможным получать МКАт заданной специфичности, аффинности и изотипа и конструировать гены антител, содержащие V-гены мыши и C-гены человека.

Фирмой Mapp Biopharmaceutical Inc. разработаны гуманизированные МКАт к белку GP вируса Эбола. Для наработки биомассы МКАт использовали выращивание гибридом в трансгенных растениях *Nicotiana benthamiana*, не содержащих фукозил- и ксилозил-трансферазы [32]. Смесь трех таких гуманизированных МКАт (ZMapp) была использована в качестве противовирусного препарата для экстренной профилактики и лечения лихорадки Эбола. Для оценки защитной эффективности макакам резусам внутривенно вводили этот препарат в различные сроки после летального заражения вирусом Эбола (штамм Kikwit) в дозе 2,5 БОЕ. У животных, не получавших смесь антител, болезнь развивалась между 6–7-ми сутками после заражения с симптомами, типичными для лихорадки Эбола. Концентрация вируса в крови достигала величины 10^7 – 10^9 БОЕ/мл. Все животные этой группы погибли. В группе животных, которым вводился препарат, перед обработкой ZMapp наблюдались первые симптомы болезни: лейкоцитоз, тромбоцитопения, лихорадочное состояние и виремия. После получения ZMapp все обезьяны выжили. Виремия, которая начиналась у получивших ZMapp животных на третьи сутки после заражения, снизилась до уровня, не определяемого в ОТ-ПЦР спустя 21 сут. Животные полностью выздоровели через 28 сут. Разработчики препарата предлагают вводить его не позднее 5 сут после предполагаемого инфицирования вирусом.

Следует отметить, что указанные результаты получены при использовании штамма Kikwit вируса Эбола-Заир. Прямое сравнение аминокислотных последовательностей данного штамма и Гвинейского варианта вируса Эбола, вызвавшего последнюю вспышку болезни в Западной Африке, выявило, что эпитопы, распознаваемые ZMapp, присутствуют у обоих штаммов вируса. Таким образом, препарат ZMapp специфичен по отношению к вирусному гликопротеину [24].

В начале августа 2014 г. ZMapp использовали для лечения двух американских медицинских работников, которые заболели во время ухода за больными в Либерии. Они полностью выздоровели после лечения этим препаратом и были выписаны из госпиталя спустя 3 недели после начала лечения [24]. Это первый случай, когда было выявлено терапевтическое действие лекарства против лихорадки Эбола у человека. После этого случая ZMapp использовали для лечения 4 больных – 75-летнего испанского священника и трех африканских врачей. Несмотря на лечение, испанский священник умер. Состояние трех других пациентов значительно улучшилось, и вскоре они выздоровели [32]. На основании изложенного можно констатировать, что ZMapp превосходит эффективность других терапевтических средств, описанных ранее, а полученные результаты оправдывают даль-

нейшее получение препарата для клинического использования.

Малые интерферирующие РНК. Интерференция РНК – это естественный клеточный процесс, который регулирует генную экспрессию и обеспечивает врожденный механизм защиты против вирусных инфекций [21]. Применение интерферирующих РНК является перспективным методом для снижения уровня экспрессии вирусспецифических белков путем блокирования информационных РНК, кодирующих указанные белки [20].

Основным преимуществом широкого использования интерферирующих РНК явилась возможность их целевого использования в отношении любых геномных РНК [6]. Поскольку не защищенная миРНК нестабильна в кровяном русле (быстро деградирует под действием нуклеаз в биологических жидкостях, не накапливается в тканях-мишенях, не может проходить через клеточные мембраны в цитоплазму) [7, 31], то были проведены исследования по разработке комплексов для доставки ее в живой организм. Основной системой доставки миРНК в организм при внутривенном введении являются липидные наночастицы, содержащие ионизированные аминокислоты [27].

Показана возможность применения миРНК для лечения различных вирусных инфекций у человека (гепатит С и В, СПИД, цитомегаловирусная инфекция, герпетический кератит, папилломы человека, грипп [28]). Поэтому особый интерес представляет изучение возможности использования миРНК для экстренной профилактики и лечения филловиральных инфекций.

Ввиду того, что применение миРНК носит направленный характер, идеальной мишенью для их антивирусного воздействия является ген L белка вируса Эбола, определяющего РНК-зависимую РНК-полимеразную функцию. Его супрессия приводит к почти полному подавлению всего синтеза РНК. Кроме того, подобный белок отсутствует в клетках млекопитающих [13]. Гены белков VP35 и VP24 также являются хорошими мишенями для антивирусного воздействия, поскольку оба обладают ингибирующим эффектом на хозяйский интерферонный ответ типа 1. Кроме того, VP35 функционирует как антагонист интерферона типа 1, блокируя активацию регуляторного фактора 3 интерферона и, таким образом, предотвращает транскрипцию интерферона β [2]. Установлено, что именно мутации в гене белка VP35 приводят к адаптации вируса к морским свинкам [23]. Экспрессия VP24 подавляет сигнальные пути интерферона типа 1 [25], а мутация в этом гене связана с адаптацией вируса Эбола к мышам [8] и морским свинкам [29].

T.W.Geisbert *et al.* [11] сконструировали 4 миРНК, направленных на L ген вируса Эбола, и применили их в качестве терапевтического средства в комплексе с полиэтиленгликолем или в составе липосом. Морские свинки были обработаны этими миРНК либо до, либо после заражения вирусом Эбола. У животных, обработанных миРНК в комплексе с полиэтиленгликолем, наблюдалось снижение уровня вирусемии в плаз-

ме. Обработка этими комплексами незадолго до заражения обеспечивала лишь частичную защиту животных от гибели. Использование миРНК в составе липосом, при применении вскоре после инфицирования вирусом, было более эффективным. Полностью предотвращалось развитие вирусемии и последующий летальный исход.

В более поздней работе [13] та же группа исследователей показала эффективность модифицированных миРНК в опытах на низших приматах. 2 из 3 макаков резусов (66 %), которым 4 раза вводили миРНК в составе липосом, были защищены от летального заражения. Семикратная обработка полностью защищала всех макаков от летального заражения.

Фирма Tecmira Pharmaceuticals разработала терапевтический препарат, содержащий комбинацию модифицированных миРНК, нацеленных на гены вирусных белков L, VP24 и VP35 вируса Эбола (подтип Заир), в комплексе с липидными наночастицами. Недавно проведены клинические испытания данного препарата, в которых оценена их безопасность, толерантность и фармакокинетика [27].

Следует отметить, что применение миРНК отодвинуло на второй план ранее считавшееся наиболее перспективным использование для экстренной профилактики и лечения антисмысловых олигомеров, хотя исследования в этом направлении продолжаются. Применение антисмысловых олигомеров, нацеленных на ген VP35, полностью защищало мышей через 24 ч после заражения [9]. Комбинация подобных олигомеров, нацеленных на L (полимеразный), VP24 и VP35 (протеиновые) гены полностью защищала мышей и частично морских свинок через 24 ч после заражения [30].

Применение стратегии, базирующейся на РНК-интерференции, выявило потенциальные возможности для борьбы с лихорадкой Эбола. Применение синтетически сконструированных миРНК дуплексов может активировать природный иммунный ответ, включая высокие уровни противовоспалительных цитокинов, таких как фактор некроза опухоли α , интерлейкин-6 и интерфероны, особенно интерферон α , который обладает противовирусной активностью *in vivo* [16, 19, 26].

Химиопрепараты широкого спектра действия.

В качестве наиболее перспективных противовирусных препаратов широкого спектра действия для возможного применения с целью экстренной профилактики и лечения лихорадки Эбола в настоящее время рассматривают рекомбинантный человеческий активированный белок C (rhAPC), рекомбинантный нематодный антикоагулянтный белок C2 (rNAPC2), фавипавир (фирма Toyama Chemicals/Fuji Film), препарат BCX4430 (фирма Backrest) и фосфордиамидные морфолиновые нуклеотидные олигомеры (PMOs) [1].

Механизм действия рекомбинантного человеческого активированного белка C состоит в предотвращении коагуляции крови с последующим развитием синдрома диссеминированного внутрисосудистого

свертывания. В экспериментах наблюдали частичную защиту инфицированных вирусом Эбола яванских макаков при внутривенном введении препарата в дозе 2 мг на 1 м² площади поверхности тела в течение 7 сут после инфицирования. Однако эффективность данного препарата оценивается как низкая [15].

Рекомбинантный нематодный антикоагулянтный белок C2 (rNAPC2) воздействует на фактор 7a свертываемости крови. Данный препарат обеспечивает частичную защиту инфицированных вирусом Эбола яванских макаков при введении в дозе 30 мг/кг в течение 14 сут после инфицирования. Эффективность препарата также невысокая [12].

Фавипивавир T-705 – это противовирусный препарат широкого спектра действия. Препарат прошел испытания в Японии в качестве средства борьбы с гриппом. Показана эффективность препарата при экспериментальной лихорадке Эбола у белых мышей. В опытах на низших приматах удовлетворительных результатов пока нет [12].

Препарат BCX4430 – противовирусный препарат широкого спектра действия. Установлено выживание 83–100 % грызунов при экспериментальной лихорадке Эбола и защита животных при экспериментальной лихорадке Марбург в случае введения препарата в период до 48 ч после инфицирования [1].

P.L.Iversen *et al.* [17] были разработаны антисмысловые фосфоридамидные морфолиновые нуклеотидные олигомеры (РМО), специфичные по отношению к вирусам Эбола и Марбург. На конечной

стадии анализа селекционирован один агент для лечения каждого вируса: AVI-7537, нацеленный на ген VP24 вируса Эбола, AVI-7288, нацеленный на ген NP вируса Марбург. В настоящее время проводится заключительная стадия клинических исследований по отбору оптимальных кандидатов в терапевтические препараты.

A.E.Heald *et al.* [14] провели оценку безопасности и фармакокинетику препаратов AVI-6002 и AVI-6003. В предыдущих исследованиях показано, что оба препарата подавляют болезнь у вирус-инфицированных нечеловеческих приматов, оба были безопасны и толерантны в изученных дозах.

Интерфероны. Как и сыворотка реконвалесценто, интерфероны исторически являются наиболее ранними терапевтическими средствами для экстренной профилактики и лечения лихорадки Эбола. Однако в опытах на низших приматах показано лишь увеличение срока жизни до гибели, но не увеличение доли выживших животных при экспериментальной лихорадке Эбола. В то же время нельзя не принимать во внимание тот факт, что как можно более раннее введение препарата может продлить жизнь до того момента, при котором свое действие проявляют образующиеся в инфицированном организме вирусспецифические антитела. Различные виды интерферонов прошли клинические испытания. Препараты коммерчески доступны. В каждом конкретном случае необходимо определить конкретный вид препарата интерферона и схему применения [1, 4].

Перспективные средства экстренной профилактики и лечения лихорадки Эбола

Препарат, фирма-изготовитель	Механизм действия Результаты применения препарата	Меры предосторожности при применении препарата
Сыворотка реконвалесценто	Наличие в препарате вируснейтрализующих антител. Имеются сведения об успешном применении препарата при экстренной профилактике лихорадки Эбола	Необходимы сертифицированные банки крови. Риск трансмиссии патогенов, находящихся в крови
ZMapp (смесь трех гуманизированных моноклональных антител к вирусу Эбола, фирма Mapp Biopharmaceutical Inc.)	Моноклональные антитела нейтрализуют вирус путем связывания отдельных эпитопов оболочечного гликопротеина. Эффективен при экспериментальной лихорадке Эбола у низших приматов при введении препарата в период до 5 сут после инфицирования	Ввиду очень малого числа лиц, на которых был испытан препарат (клинические испытания препарата не проведены), сделать заключение о его безопасности не представляется возможным
Гипериммунный гетерологичный иммуноглобулин, полученный в результате очистки и концентрирования плазмы иммунизированных животных с высоким титром вируснейтрализующих антител	Вируснейтрализующие антитела могут нейтрализовать различные штаммы вируса Эбола. Препараты эффективны при введении инфицированным низшим приматам в период до 48 ч после инфицирования	Имеется опыт применения гетерологичных иммуноглобулинов против других нозологических форм
TKM-100802 (липидные наночастицы, содержащие мРНК, компания Tekmira Pharmaceutical Inc.)	Применение мРНК останавливает репродукцию вируса. Препарат эффективен при экспериментальной лихорадке Эбола у низших приматов	Изучение препарата на добровольцах показало, что использование высоких доз вызывало побочные явления
Фосфородиамидат олигонуклеотид AVI 7537 (фирма Sarepta)	Антивирусный препарат широкого спектра действия. При испытаниях на низших приматах в течение 14 сут наблюдался защитный эффект (от 60 до 80 %) при первом введении препарата одновременно с инфицированием	Препарат легко переносится
Фавипивавир T-705 (Toyama Chemicals/Fuji Film)	Антивирусный препарат широкого спектра действия. Показана эффективность препарата при экспериментальной лихорадке Эбола у белых мышей. В опытах на низших приматах удовлетворительных результатов пока нет	Препарат прошел испытания в качестве средства борьбы с гриппом. Однако при экстренной профилактике и лечении лихорадки Эбола требуются в 2–5 раз большие дозы препарата при более продолжительной схеме введения
Интерфероны	Для низших приматов показано увеличение срока жизни до гибели, но не увеличение доли выживших животных при экспериментальной лихорадке Эбола	Различные виды интерферонов прошли клинические испытания

Сводные данные ВОЗ [1] об имеющихся на сегодняшний день перспективных средствах экстренной профилактики и лечения лихорадки Эбола представлены в таблице.

Как следует из данных, представленных в таблице, наиболее перспективными препаратами для экстренной профилактики и лечения лихорадки Эбола в настоящее время являются миРНК и ZMapp. Однако их доступность, из-за высокой стоимости указанных препаратов и отсутствия необходимых мощностей для массового производства, остается на низком уровне. В свете того, что эпидемическая вспышка лихорадки Эбола 2014 г. ярко продемонстрировала последствия отсутствия доступной вакцины или терапевтических средств для предотвращения распространения болезни, исследования по разработке и созданию доступных для массового применения средств экстренной профилактики и лечения являются весьма актуальными. Без лицензированной вакцины или специфических препаратов лечение больных лихорадкой Эбола ограничивается тщательным уходом и карантинными мероприятиями, направленными на предотвращение распространения болезни.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Background document potential Ebola therapies and vaccines. WHO, 3 September 2014.
2. Basler C.F., Mulasova A., Martinez-Sobrido L., Paragas J., Muhlberger E., Bray M., Klenks H.D., Palese P., Garcia-Sastre A. The Ebola virus VP 35 protein inhibits activation of interferon regulatory factor 3. *J. Virol.* 2003; 77:7945–56.
3. Burton D.R. Antibodies, viruses and vaccines. *Nature Rev. Immunol.* 2002; 2:706–13.
4. Choi J.H., Croyle V.A. Emerging targets and novel approaches to Ebola virus prophylaxis and treatment. *BioDrugs.* 2013; 27(6):565–83. DOI: 10.1007/s40259-013-0046-1.
5. CNN News. Available from: <http://edition.cnn.com/2014/08/21/health/ebola-patient-release/index.html> (дата обращения 22.08.2014).
6. Davidson B.L., McCray Jr. P.B. Current prospects for RNA interference-based therapies. *Nat. Rev. Genet.* 2011; 12:329–40.
7. De Fougères A., Vornlocher H.P., Maraganore J., Lieberman J. Interfering with disease: A progress report on siRNA-based therapeutics. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2007; 6:443–53.
8. Ebihara H., Takada A., Kobasa D., Jones S., Neumann G., Therian H.S., Bray M., Feldmann H., Kawaoka Y. Molecular determinants of Ebola virus virulence in mice. *PLoS Pathog.* 2006; 2: e73.
9. Enterlein S., Warfield K.L., Swenson D.L., Stein D.A., Smith J.L., Gamble C.S., Kroe A.D., Iversen P.L., Bavari S., Muhlberger E. VP 35 knockdown inhibits Ebola virus amplification and protects against a lethal infection in mice. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2006; 50:984–93.
10. Feldmann H., Geisbert T.W. Ebola hemorrhagic fever. *Lancet.* 2011; 377:849–62.
11. Geisbert T.W., Hensley L.E., Kagan E. Postexposure protection of guinea pigs against a lethal Ebola virus challenge is conferred by RNA interference. *J. Infect. Dis.* 2006; 193(12):1650–7.
12. Geisbert T.W., Larsen T., Geisbert J.B., Paragas J., Young H.A., Frederic T.M., Rote W.E., Vlasuk G.P., Joffe S. Evaluation novel therapies during the Ebola epidemic. Available from: <http://jamanetwork.com/on/28/09/2014> (дата обращения 28.09.2014).
13. Geisbert T.W., Lee A.C.H., Robbins M., Honko A.N., Sood V., Johnson J.C., Jong S., Tavakoli I., Judge A., Hensley L.E., MacLachlan I. Postexposure protection of non-human primates against a lethal Ebola virus challenge with RNA interference: a proof-of-concept study. *Lancet.* 2010; 375:1896–905.
14. Heald A.E., Iversen P.L., Saoud J.B., Sazani P., Charleston J.S., Axtelle T., Wong M., Smith W.B., Vutikullird A., Kaye E. Safety and pharmacokinetic profiles of phosphorodiamidate morpholino oligomers with activity against Ebola virus and Marburg Virus: results of two single ascending dose studies. Available from: <http://aac.asm.org/content/58/11/6639.abstract> (дата обращения 22.03.2014).

15. Hensley L.E., Stewens E.L., Yan S.B., Geisbert J.B., Macias W.L., Larsen T., Cassel G.H., Jahrling P.B., Geisbert T.W. Recombinant human activated protein C for the postexposure treatment of Ebola hemorrhagic fever. *J. Infect. Dis.* 2007; 196:390–9.
16. Hornung V., Guenther-Biller M., Bourguin C., Ablasser A., Sohlee M., Uemasu S., Noronha A., Manoharan M., Akira S., de Fougères A., Endres S., Hartmann G. Sequence-specific potent induction of IFN- α by short interfering RNA in plasmacytoid dendritic cells through TLR7. *Nat. Med.* 2005; 11:263–70.
17. Iversen P.L., Warren T.K., Wells J.B., Garza N.L., Mourich D.V., Welch L.S., Panchal R.G., Bavari S. Discovery and early development of AVI-7537 and AVI-7288 for the treatment of Ebola virus and Marburg virus infection. *Viruses.* 2012; 4:2806–30.
18. Jahrling P.B., Geisbert J.B., Swearingen J.R., Larsen T., Geisbert T.W. Ebola hemorrhagic fever: evaluation of passive immunotherapy in nonhuman primates. *J. Infect. Dis.* 2007; 196:400–3.
19. Judge A.D., Sood V., Shaw J.R., Fang D., McClintock K., McLachlan I. Sequence-dependent stimulation of the mammalian innate immune response by synthetic siRNA. *Nat. Biotechnol.* 2005; 23:457–62.
20. Kanasty R., Dorkin J.R., Vegas A., Anderson D. Delivery materials for siRNA therapeutics. *Nature materials.* 2013; 12:967–77. doi:10.1038/nmat3765.
21. Kim D.H., Rossi J.J. Strategies for silencing disease using RNA interference. *Nat. Rev. Genet.* 2007; 8:173–84.
22. Maruyama T. Ebola virus can be effectively neutralized by antibody produced in natural human infection. *J. Virol.* 1999; 73:6024–30.
23. Prins K.S., Delpeut S., Leung D.W., Reunard O., Volebkova V.A., Reid S.P., Ramanan P., Cardenas W.B., Amarasinghe G.K., Volchov V.E., Basler C.F. Mutations abrogating VP 35 interaction with double stranded RNA render Ebola virus avirulent in guinea pigs. *J. Virol.* 2010; 84:3004–15.
24. Qiu X., Wong G., Audet J., Bello A., Fernando L., Alimonti J.B., Fauster-Bovendo H., Aviles J., Hiatt E., Johnson A., Morton J., Swope K., Bohorov O., Bohorova N., Goodman C., Kim D., Pauly M.H., Velasco J., Pettit J., Olinger G.G., Whaley K., Xu B., Strong J.E., Zetlin L., Kobinger G.P. Reversion of advanced Ebola virus disease in nonhuman primates with ZMapp. *Nature.* 2014; 514(7520):47–53.
25. Reid S.P., Leung D.W., Hartman A.L., Martinez O., Shaw M.L., Carbonnelle C., Volchov V.E., Nichol S.T., Basler C.F. Ebola virus VP24 binds karyopherin α 1 and blocks STAT1 nuclear accumulation. *J. Virol.* 2006; 80:5156–67.
26. Robbins M., Judge A., Ambegia E., Choi C., Yaworski E., Palmer L., McClintock K., Mac Lachlan I. Misinterpreting the therapeutic effects of siRNA caused by immune stimulation. *Hum. Gene Ther.* 2008; 19:991–9.
27. Tam Y.C., Chen S., Cullis P.R. Advances in lipid nanoparticles for siRNA delivery. *Pharmaceutics.* 2013; 5: 498–507.
28. Torrecilla J., Rodriguez-Gascon A., Solinis M.A., del Pozo-Rodriguez A. Lipid nanoparticles as carriers for RNAi against viral infections current status and future perspectives. *Biomed Res. Int.* 2014; 2014:161794. doi: 10.1155/2014/161794.
29. Volchov V.E., Chepurinov A.A., Volchova V.A., Ternovoj V.A., Klenk H.D. Molecular characterization guinea pig-adapted variants of Ebola virus. *Virology.* 2000; 277:147–55.
30. Warfield K.L., Swenson D.L., Olinger G.G., Olinger G.G., Nichols D.K., Pratt W.D., Blonch R., Stein D.A., Aman M.J., Iversen P.L., Bavari S. Gene-specific countermeasures against Ebola virus based on antisense phosphorodiamidate morpholino oligomers. *PLoS Pathog.* 2006; 2:e1.
31. Whitehead K.A., Langer R., Anderson D.G. Knocking down barriers: Advances in siRNA delivery. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2009; 8:129–38.
32. Zhang YunFang, Li DaPeng, Jin Xia, Huang Zhong. Fighting Ebola with ZMapp: spotlight on plant-made antibody. *Science China Life Sciences.* 2014; 57(10):987–8.

References

1. Background document potential Ebola therapies and vaccines. WHO, 3 September 2014.
2. Basler C.F., Mulasova A., Martinez-Sobrido L., Paragas J., Muhlberger E., Bray M., Klenks H.D., Palese P., Garcia-Sastre A. The Ebola virus VP 35 protein inhibits activation of interferon regulatory factor 3. *J. Virol.* 2003; 77:7945–56.
3. Burton D.R. Antibodies, viruses and vaccines. *Nature Rev. Immunol.* 2002; 2:706–13.
4. Choi J.H., Croyle V.A. Emerging targets and novel approaches to Ebola virus prophylaxis and treatment. *BioDrugs.* 2013; 27(6):565–83. DOI: 10.1007/s40259-013-0046-1.
5. CNN News. 21 Aug 2014 [cited 22 Aug 2014]. Available from: <http://edition.cnn.com/2014/08/21/health/ebola-patient-release/index.html>.
6. Davidson B.L., McCray Jr P.B. Current prospects for RNA interference-based therapies. *Nat. Rev. Genet.* 2011; 12:329–40.
7. De Fougères A., Vornlocher H.P., Maraganore J., Lieberman J. Interfering with disease: A progress report on siRNA-based therapeutics. *Nat.*

Rev. Drug Discov. 2007; 6:443–53.

8. Ebihara H., Takada A., Kobasa D., Jones S., Neumann G., Therian H.S., Bray M., Feldmann H., Kawaoka Y. Molecular determinants of Ebola virus virulence in mice. *PLoS Pathog.* 2006; 2: e73.

9. Enterlein S., Warfield K.L., Swenson D.L., Stein D.A., Smith J.L., Gamble C.S., Kroe A.D., Iversen P.L., Bavari S., Muhlberger E. VP 35 knock-down inhibits Ebola virus amplification and protects against a lethal infection in mice. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2006; 50:984–93.

10. Feldmann H., Geisbert T.W. Ebola hemorrhagic fever. *Lancet.* 2011; 377:849–62.

11. Geisbert T.W., Hensley L.E., Kagan E. Postexposure protection of guinea pigs against a lethal Ebola virus challenge is conferred by RNA interference. *J. Infect. Dis.* 2006; 193(12):1650–7.

12. Geisbert T.W., Larsen T., Geisbert J.B., Paragas J., Young H.A., Frederic T.M., Rote W.E., Vlasuk G.P., Joffe S. Evaluation novel therapies during the Ebola epidemic. [cited 28 Sep 2014]. Available from: <http://jamanetwork.com/2014/09/28/2014>.

13. Geisbert T.W., Lee A.C.H., Robbins M., Honko A.N., Sood V., Johnson J.C., Jong S., Tavakoli I., Judge A., Hensley L.E., MacLahlan I. Postexposure protection of non-human primates against a lethal Ebola virus challenge with RNA interference: a proof-of-concept study. *Lancet.* 2010; 375:1896–905.

14. Heald A.E., Iversen P.L., Saoud J.B., Sazani P., Charleston J.S., Axtelle T., Wong M., Smith W.B., Vutikullird A., Kaye E. Safety and pharmacokinetic profiles of phosphorodiamidate morpholino oligomers with activity against Ebola virus and Marburg Virus: results of two single ascending dose studies. [cited 22 Mar 2014]. Available from: <http://aac.asm.org/content/58/11/6639.abstract>.

15. Hensley L.E., Stewens E.L., Yan S.B., Geisbert J.B., Macias W.L., Larsen T., Cassel G.H., Jahrling P.B., Geisbert T.W. Recombinant human activated protein C for the postexposure treatment of Ebola hemorrhagic fever. *J. Infect. Dis.* 2007; 196:390–9.

16. Hornung V., Guenther-Biller M., Bourguin C., Ablasser A., Sohle M., Uemas S., Noronha A., Manoharan M., Akira S., de Fongorolles A., Endres S., Hartmann G. Sequence-specific potent induction of IFN- α by short interfering RNA in plasmacytoid dendritic cells through TLR7. *Nat. Med.* 2005; 11:263–70.

17. Iversen P.L., Warren T.K., Wells J.B., Garza N.L., Mourich D.V., Welch L.S., Panchal R.G., Bavari S. Discovery and early development of AVI-7537 and AVI-7288 for the treatment of Ebola virus and Marburg virus infection. *Viruses.* 2012; 4:2806–30.

18. Jahrling P.B., Geisbert J.B., Swearingen J.R., Larsen T., Geisbert T.W. Ebola hemorrhagic fever: evaluation of passive immunotherapy in non-human primates. *J. Infect. Dis.* 2007; 196:400–3.

19. Judge A.D., Sood V., Shaw J.R., Fang D., McClintock K., McLachlan I. Sequence-dependent stimulation of the mammalian innate immune response by synthetic siRNA. *Nat. Biotechnol.* 2005; 23:457–62.

20. Kanasty R., Dorkin J.R., Vegas A., Anderson D. Delivery materials for siRNA therapeutics. *Nature materials.* 2013; 12:967–77. doi:10.1038/nmat3765.

21. Kim D.H., Rossi J.J. Strategies for silencing disease using RNA interference. *Nat. Rev. Genet.* 2007; 8:173–84.

22. Maruyama T. Ebola virus can be effectively neutralized by antibody

produced in natural human infection. *J. Virol.* 1999; 73:6024–30.

23. Prins K.S., Delpout S., Leung D.W., Reunard O., Volebkova V.A., Reid S.P., Ramanan P., Cardenas W.B., Amarasinghe G.K., Volchov V.E., Basler C.F. Mutations abrogating VP 35 interaction with double stranded RNA render Ebola virus avirulent in guinea pigs. *J. Virol.* 2010; 84:3004–15.

24. Qiu X., Wong G., Audet J., Bello A., Fernando L., Alimonti J.B., Fausther-Bovendo H., Aviles J., Hiatt E., Johnson A., Morton J., Swope K., Bohorov O., Bohorova N., Goodman C., Kim D., Pauly M.H., Velasci J., Pettit J., Olinger G.G., Whaley K., Xu B., Strong J.E., Zetlin L., Kobinger G.P. Reversion of advanced Ebola virus disease in nonhuman primates with ZMapp. *Nature.* 2014; 514(7520):47–53.

25. Reid S.P., Leung D.W., Hartman A.L., Martinez O., Shaw M.L., Carbonnelle C., Volchov V.E., Nichol S.T., Basler C.F. Ebola virus VP24 binds karyopherin α 1 and blocks STAT1 nuclear accumulation. *J. Virol.* 2006; 80:5156–67.

26. Robbins M., Judge A., Ambegia E., Choi C., Yaworski E., Palmer L., McClintock K., Mac Lachlan I. Misinterpreting the therapeutic effects of siRNA caused by immune stimulation. *Hum. Gene Ther.* 2008; 19:991–9.

27. Tam Y.C., Chen S., Cullis P.R. Advances in lipid nanoparticles for siRNA delivery. *Pharmaceutics.* 2013; 5: 498–507.

28. Torrecilla J., Rodriguez-Gascon A., Solinis M.A., del Pozo-Rodriguez A. Lipid nanoparticles as carriers for RNAi against viral infections current status and future perspectives. *Biomed Res. Int.* 2014; 2014:161794. doi: 10.1155/2014/161794.

29. Volchov V.E., Chepurinov A.A., Volchova V.A., Ternovoj V.A., Klenk H.D. Molecular characterization guinea pig-adapted variants of Ebola virus. *Virology.* 2000; 277:147–55.

30. Warfield K.L., Swenson D.L., Olinger G.G., Olinger G.G., Nichols D.K., Pratt W.D., Blonch R., Stein D.A., Aman M.J., Iversen P.L., Bavari S. Gene-specific countermeasures against Ebola virus based on antisense phosphorodiamidate morpholino oligomers. *PLoS Pathog.* 2006; 2:e1.

31. Whitehead K.A., Langer R., Anderson D.G. Knocking down barriers: Advances in siRNA delivery. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2009; 8:129–38.

32. Zhang YunFang, Li DaPeng, Jin Xia, Huang Zhong. Fighting Ebola with ZMapp: spotlight on plant-made antibody. *Science China Life Sciences.* 2014; 57(10):987–8.

Authors:

Petrov A.A., Lebedev V.N., Plekhanova T.M., Stovba L.F., Borisevich G.V., Sidorova O.N., Chukhraya O.V., Borisevich S.V. The 48th Central Research Institute of the RF Ministry of Defense. Sergiev Possad, Russian Federation

Об авторах:

Петров А.А., Лебедев В.Н., Плеханова Т.М., Стомба Л.Ф., Борисевич Г.В., Сидорова О.Н., Чухраля О.В., Борисевич С.В. «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны. Российская Федерация, Сергиев Посад.

Поступила 02.07.15.

Т.Е.Сизикова¹, В.Н.Лебедев¹, С.В.Борисевич¹, Д.А.Кутаев¹, И.В.Борисевич²

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ РАЗРАБОТКИ ВАКЦИН НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ ПРОТИВ БОЛЕЗНИ, ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ ЭБОЛА

¹ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны, Сергиев Посад, Российская Федерация; ²ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения», Москва, Российская Федерация

Представитель рода *Ebolavirus* семейства *Filoviridae* вирус Эбола является этиологическим агентом особо опасной вирусной лихорадки, летальность которой достигает 88 %. По мнению ведущих специалистов, вакцинация является наиболее эффективным и экономичным способом защиты от развития эпидемии. Целью данного обзора является анализ современного состояния разработки вакцин нового поколения против болезни, вызванной вирусом Эбола. Установлено, что основными направлениями создания эффективных вакцин против лихорадки Эбола являются разработка вакцин на основе репликонов альфавирусов, вирусподобных частиц, разработка ДНК-вакцин и векторных рекомбинантных вакцин. В обзоре рассмотрены наиболее значимые результаты в направлении создания эффективных средств профилактики в отношении лихорадки Эбола. В настоящее время различными методами получены вакцинные препараты нового поколения, для некоторых из них продемонстрирована высокая защитная эффективность при испытаниях на низших приматах. Наиболее перспективной является векторная рекомбинантная вакцина на основе вируса везикулярного стоматита.

Ключевые слова: вирус Эбола, филловирусы, специфическая профилактика, векторные рекомбинантные вакцины, ДНК-вакцины, вирусподобные частицы, РНК-репликоны, аденовирус, вирус везикулярного стоматита.

T.E.Sizikova¹, V.N.Lebedev¹, S.V.Borisevich¹, D.A.Kutaev¹, I.V.Borisevich²

Current State of the Development of Next-Generation Vaccines against Ebola Virus Disease

¹The 48th Central Research Institute of the RF Ministry of Defense, Sergiev Possad, Russian Federation; ²Scientific Center on Expertise of Medical Application Products, Moscow, Russian Federation

Representative of *Ebolavirus* gender, *Filoviridae* family, Ebola virus is an etiological agent of particularly dangerous viral fever, the lethality of which comes up to 88 %. According to the leading specialists and experts in the sphere, vaccination is the most effective and cost-efficient method for the protection from epidemic spread. Objective of the review is to analyze current state of the development of next generation vaccines against Ebola fever. It is established that focus areas of the activities are the construction of vaccines on the basis of alpha-virus replicons, virus-like particles, and the development of DNA-vaccines and vector recombinant vaccines. The paper discusses the most significant achievements in the sphere of obtainment of potent therapies for prophylaxis as regards Ebola fever. To date manufactured, using various approaches, have been the next-generation vaccine preparations, for a number of which high protective capacity is demonstrated in the course of experiments on the nonhuman primates. The most advanced and prospective prototype is the vector recombinant vesicular stomatitis virus-based vaccine.

Key words: Ebola virus, hemorrhagic fever, filoviruses, specific prophylaxis, vector recombinant vaccines, DNA-vaccines, virus-like particles, RNA-replicons, adenovirus, vesicular stomatitis virus.

Представитель рода *Ebolavirus* семейства *Filoviridae* вирус Эбола является этиологическим агентом одноименной особо опасной вирусной лихорадки, характеризующейся шоком, геморрагиями, мультиорганной недостаточностью и заканчивающейся летальным исходом в 50–90 % случаев [3, 10, 24].

В ходе эпидемии лихорадки Эбола в Либерии, Гвинее и Сьерра-Леоне, начавшейся в декабре 2013 г., на конец февраля 2015 г. умерло более 9000 человек, число погибших продолжает расти. В ходе данной эпидемии зарегистрированы случаи завоза болезни в неэндемичные регионы, в том числе в Западную Европу и США. В настоящее время мировым сообществом лихорадка Эбола рассматривается в качестве одной из глобальных угроз для человечества, что нашло отражение в ходе обсуждения мероприятий по борьбе с эпидемией на Совете Безопасности ООН.

Очевидно, что карантинные мероприятия способны лишь в какой-то мере ограничить распространение болезни, поэтому актуальным является вопрос о создании специфических медицинских иммуноби-

ологических средств защиты в отношении лихорадки Эбола. По мнению ведущих специалистов, наиболее эффективным и экономичным способом защиты от распространения эпидемических вспышек болезни в эндемичных и неэндемичных регионах вследствие неконтролируемого завоза возбудителя является вакцинация групп риска [2, 4, 11, 16].

Несмотря на то, что первая эпидемическая вспышка лихорадки Эбола зарегистрирована еще в 1976 г., эффективных коммерческих вакцин против нее, пригодных для массового применения, не создано до сих пор. Это видимо, объясняется тем, что затраты на разработку и производство вакцины ни в каком случае не окупались бы доходом от ее реализации на рынке медицинских товаров и услуг. Однако, ввиду глобальной угрозы, представляемой лихорадкой Эбола для здравоохранения, логистические конъюнктуры несомненно будут отложены на второй план.

В качестве основных направлений создания эффективных вакцин нового поколения в отношении лихорадки Эбола в настоящее время рассматривают

так называемые вакцины нового поколения, в перечне которых следует упомянуть вакцины на основе РНК-репликонов, вирусоподобных частиц, ДНК-вакцины, векторные рекомбинантные вакцины [1, 13, 14, 21, 22, 26, 28].

Следует подчеркнуть, что идеальная вакцина должна вызывать долговременный иммунитет при однократном введении, обладать перекрестной реактивностью по отношению к различным природным штаммам возбудителя и исключать риск возникновения поствакцинальных осложнений. Стоимость вакцины не должна препятствовать ее массовому применению.

В настоящее время на рынке медицинских товаров и услуг в отношении лихорадки Эбола отсутствуют вакцинные препараты, которые отвечают всем перечисленным условиям. Необходимо отметить, что сейчас актуальной задачей является не только создание препарата, предназначенного для иммунизации ограниченных по численности групп риска, но и разработка вакцины, пригодной для проведения массовой иммунизации населения в эндемичных регионах. В этой связи при характеристике каждого из указанных направлений создания вакцинных препаратов будут рассмотрены перспективы использования конкретных препаратов в качестве кандидатной вакцины против лихорадки Эбола, предназначенной для массовой иммунизации.

Следует отметить, что основные элементы стратегии получения защитных препаратов против лихорадки Эбола разработаны ранее, когда были получены рекомбинантные штаммы вируса вакцины, экспрессирующие гены нуклеопротеина (NP) или гликопротеина (GP) вируса Эбола. Указанные штаммы вируса вакцины защищали лабораторных животных (морские свинки, обезьяны) против летального заражения вирусом Эбола [цит. по 26]. Эти исследования позволили идентифицировать иммунодоминантные антигены (белки NP и GP вируса Эбола).

Вакцины на основе РНК-репликонов. Репликоном называют наименьший генетический элемент, способный к самовоспроизведению. РНК-репликоны представляют собой вирусные векторы, которые не только являются авирулентными, но и даже потенциально (в отличие от многих используемых в качестве живых вакцин аттенуированных штаммов) не способны к реверсии к дикому типу возбудителя. Автономность РНК-репликации дает возможность РНК-репликонам накапливаться до высоких уровней, при этом происходит стимуляция гуморальной и клеточной ветвей иммунного ответа.

В настоящее время наиболее перспективным направлением считается создание вирусных репликонов на основе альфавирусов. Репликон альфавирусов содержит: последовательность нуклеиновой кислоты (НК), кодирующую 5'-концевую последовательность альфавирусов, последовательность НК, кодирующую неструктурный белок альфавирусов, альфавирусный субгеномный промотор, внутреннюю последовательность рибосомальной НК, гетерологичную НК и по-

следовательность НК, кодирующую 3'-концевую последовательность альфавирусов [13, 15, 18, 21, 23, 25]. Гетерологичная НК может кодировать белки или пептиды, которые являются антигенами, индуцирующими факторы иммунного ответа в отношении различных инфекционных болезней.

Технология альфавирусных репликонов обладает большим потенциалом для создания следующих поколений вакцин против инфекционных болезней человека и животных. Проведена оценка бивалентной вакцины против вирусов Ласса и Эбола, основанных на векторной конструкции – РНК-репликоне аттенуированного штамма Венесуэльского энцефаломиелита лошадей [13, 21]. Авторами проведена оценка протективных свойств одновременно двух репликонов, экспрессирующих гликопротеины вирусов Ласса и Эбола, а также векторный репликон с двойной экспрессией генов GP данных возбудителей, причем каждый из них экспрессировался под контролем собственного 26S промотора. Результаты этих исследований выявили наличие экспрессии генов и трансляцию гликопротеинов обоих вирусов, к которым вырабатывались специфические антитела, связывающиеся с полноценными гликопротеинами обоих вирусов и обеспечивающие защиту животных от последующего заражения вирулентными штаммами возбудителей лихорадок Ласса и Эбола [21].

РНК-репликоны альфавирусов сочетают безопасность инактивированных с иммуногенностью живых аттенуированных вакцин. Преимуществом РНК-репликонов является их неспособность продуцировать инфекционное потомство, что имеет особое значение при создании вакцин в отношении особо опасных вирусных лихорадок. Однако стоимость создания альфавирусных РНК-репликонов, вероятно, ограничит возможность их применения в качестве препаратов для иммунизации небольших по численности групп риска.

Вакцины на основе вирусоподобных частиц. В последние 25 лет на основе достижений молекулярной биологии и генетической инженерии разработаны субъединичные вакцины, основанные на вирусоподобных частицах (ВПЧ). Использование таких частиц в качестве вакцинных препаратов дает следующие преимущества: антигенная структура этих частиц близка к таковой для нативного возбудителя; отсутствие способности к репликации обеспечивает их полную безопасность; отсутствие у иммунизируемого иммунитета к вирусу, используемому в качестве вектора, что может являться ограничивающим фактором для использования векторных рекомбинантных вакцин; возможность масштабного производства ВПЧ с использованием культур клеток млекопитающих или насекомых; возможность их использования для индуцирования гуморального и клеточного иммунитета [19, 32].

В настоящее время разработаны различные ВПЧ вируса Эбола. Так, ВПЧ, содержащие гликопротеин и белок VP40, были использованы для иммунизации белых мышей линий BALB/c и C57BL/6.

Последующее инфицирование животных вирусом Эбола в дозах 300–3000 ЛД₅₀ выявило высокую эффективность иммунизации [29]. Кроме того, проведено изучение эффективности ВПЧ вируса Эбола при иммунизации низших приматов (яванских макаков) и последующем заражении данным возбудителем [31]. Специалистами использованы ВПЧ, содержащие структурные белки гликопротеина, нуклеокапсида и VP40 вируса Эбола. Животные были трехкратно иммунизированы ВПЧ совместно с адьювантом. Через 28 сут после заключительной иммунизации животным вводили 1000 БОЕ вируса Эбола, подтип Заир. Несмотря на то, что титр вируснейтрализующих антител находился в диапазоне от 1:20 до 1:160, все иммунизированные животные выжили. Более того, ни у одного животного из группы иммунизированных не зарегистрировано таких признаков болезни, как сыпь, анорексия, потеря массы тела. В то же время все не иммунизированные инфицированные животные (контрольная группа) погибли на 6-е сутки после инфицирования.

Однако следует указать и на недостатки использования ВПЧ. Это необходимость многократной иммунизации, высокая стоимость вакцины и необходимость использования значительных производственных мощностей для ее серийного производства [30]. Эти недостатки, видимо, будут являться основными факторами, препятствующими использованию ВПЧ вируса Эбола в качестве вакцины для проведения массовой иммунизации населения в эндемичных регионах.

ДНК-вакцины. Одним из альтернативных способов амплификации целевых генов является использование невирусных конструкций, главным образом рекомбинантных плазмид [20]. Структура генетических элементов плазмидных векторов отражает функциональность плазмиды, объем производства и возможность использования ее в клинической практике. Плазида, как правило, содержит один элемент, ответственный за ее воспроизводство в микроорганизме, и остальные, которые отвечают за экспрессию целевого гена [20]. К несомненным достоинствам *E. coli* относится высокий выход биомассы плазмидной ДНК и хорошо отлаженный процесс ее выделения. Наличие липополисахаридов (ЛПС) на ее поверхностной мембране позволяет использовать для очистки плазмидной ДНК метод ионообменной хроматографии.

Специалистами проведено изучение иммуногенной и протективной активности ДНК-вакцины против вируса Эбола [1]. Самок белых мышей линии BALB/c методом генного ружья (gen gun) трехкрат-

но иммунизировали ДНК-вакциной вируса Эбола, содержащей вставку кДНК гена GP. Вводимая доза, в пересчете на ДНК, составляла от 0,25 до 0,50 мкг. Через 1 месяц после заключительной иммунизации животным опытной и контрольной групп внутрибрюшинно вводили $1 \cdot 10^3$ БОЕ вируса Эбола, штамм Заир [1]. Результаты, представленные в табл. 1, свидетельствуют, что, несмотря на отсутствие в сыворотках крови мышей ВНА перед разрешающим инфицированием вирусом Эбола, иммунизированные животные были полностью защищены. Однако полученные данные вряд ли позволяют говорить о том, что именно разработка ДНК-вакцин является наиболее перспективным направлением иммунопрофилактики лихорадки Эбола. Во-первых, до настоящего времени отсутствуют данные об эффективности ДНК-вакцин против лихорадки Эбола при испытании на низших приматах. Во-вторых, по отношению к ДНК-вакцинам существует тот же комплекс проблем, что и для вакцин на основе ВПЧ (необходимость многократной иммунизации, высокая стоимость). Кроме того, существующие пути доставки ДНК-вакцин в организм (электропорация, метод «gen gun» и упаковка в липосомы) являются малоприспособленными для проведения массовой иммунизации населения в эндемичных регионах.

Векторные рекомбинантные вакцины. Векторная рекомбинантная вакцина представляет из себя совокупность целевого гена и вектора, который используют для его амплификации. Из вирусных векторов для создания вакцины против лихорадки Эбола в настоящее время чаще всего используют аденовирусы и вирус везикулярного стоматита. Специалистами разработана бивалентная векторная рекомбинантная вакцина против лихорадки Эбола при использовании в качестве вектора аденовируса человека [28]. Полученная генетически измененная конструкция содержала вставки генов гликопротеина вируса Эбола подтипов Заир и Судан. Испытание защитной эффективности разработанного препарата проведено на белых мышах линий BALB/c и C57BL/6. Животных двукратно внутрибрюшинно иммунизировали векторной рекомбинантной вакциной в дозе (в пересчете на аденовирус) $1 \cdot 10^8$ БОЕ на особь. Интервал между иммунизациями составил 35 сут. Через 65 сут после первой иммунизации мышам внутрибрюшинно вводили $1 \cdot 10^3$ БОЕ адаптированного к мышам штамма Заир ($\approx 3 \cdot 10^4$ ЛД₅₀) [28].

Показано, что разработанный вакцинный препарат полностью защищает белых мышей линий BALB/c и C57BL/6 от последующего инфицирования заведомо летальной дозой вируса Эбола.

Таблица 1

Результаты оценки иммуногенной и протективной активности ДНК-вакцины против вируса Эбола при испытании на мышах BALB/c [1]

Группа животных	Медиана титра ИФА-антител после заключительной иммунизации (обратная величина)	Медиана титра вируснейтрализующих антител после заключительной иммунизации (обратная величина)	Отношение числа выживших животных к общему числу инфицированных	Средний срок жизни до гибели, сут
Иммунизированные	3940	< 40 (73*)	7/7	-
Контроль	< 100	< 40	0/7	7

* Титр ВНА спустя 21 сут после инфицирования вирусом Эбола.

Бивалентная векторная рекомбинантная вакцина может рассматриваться в качестве кандидата для разработки на ее основе эффективной вакцины против лихорадки Эбола [28].

Для создания векторной рекомбинантной конструкции могут быть использованы различные аденовирусы – человека и высших приматов. Проведено испытание векторной рекомбинантной вакцины против лихорадки Эбола на основе аденовируса человекообразных обезьян – шимпанзе [12]. При относительно низкой иммунизирующей дозе ($5 \cdot 10^9$ частиц на 1 кг массы тела животного) 100 % иммунизированных морских свинок были защищены спустя 28 сут после иммунизации от внутрибрюшинного инфицирования адаптированным для данного вида животных возбудителем лихорадки Эбола, штамм Заир [12].

Проведены испытания протективных свойств векторных рекомбинантных вакцин против лихорадки Эбола на основе репликативно-дефектного аденовирусного вектора. Испытывали варианты рекомбинантных вакцин со вставками генов гликопротеина и нуклеопротеина вируса Эбола. В ходе исследований установлено, что наиболее важную роль в формировании протективного иммунного ответа играет именно гликопротеин. После однократного внутримышечного введения препарата в дозе $1 \cdot 10^{10}$ частиц на особь 100 % животных были защищены от введения вируса Эбола, штамм Заир, в дозе 100 БОЕ [26].

Использование аденовирусного вектора позволило создать мультивалентную вакцину против филовиральных геморрагических лихорадок. Векторная рекомбинантная вакцина содержала вставки генов гликопротеина и нуклеопротеина вирусов Эбола и Марбург. Яванских макаков массой 6–11 кг иммунизировали двукратно с интервалом 63 сут. Иммунизирующая доза (в пересчете на аденовирус) составила $4 \cdot 10^{10}$ БОЕ. Спустя 6 недель после бустерной иммунизации животных внутримышечно заражали вирусами Эбола (штамм Kikwit, подтип Заир) и Марбург (штамм Musoke), в дозе $1 \cdot 10^3$ БОЕ.

В качестве контроля использовали группу животных, иммунизированных аденовирусным вектором, не содержащим вставок генов филовирусов [27].

Полученные результаты, представленные в табл. 2, свидетельствуют о том, что поливалентная рекомбинантная векторная вакцина защищает животных от последующего инфицирования вирусами Эбола и Марбург в заведомо летальных дозах.

Несмотря на обнадеживающие результаты, полученные при испытаниях векторных рекомбинантных вакцин на основе аденовирусов, существует достаточно значимый фактор, который может препятствовать успешному применению указанных вакцин для иммунизации населения в эндемичных районах. Поскольку аденовирусные инфекции широко распространены среди людей, возможное наличие иммунитета к данным нозологическим формам будет препятствовать репликации генетически измененной конструкции при иммунизации. Другими ограничивающими факторами являются высокая величина иммунизирующей дозы и необходимость двукратной иммунизации. Вследствие этого в последнее время основное внимание уделяется векторным рекомбинантным вакцинам на основе вируса везикулярного стоматита (ВВС).

Показана высокая эффективность векторных рекомбинантных вакцин на основе ВВС [5, 6, 7, 8, 9]. Однократное введение яванским макакам поливалентной вакцины, состоящей из равных частей векторных рекомбинантных вакцин на основе ВВС со вставками генов GP трех подтипов вируса Эбола (Заир, Судан и Кот-д'Ивуар) и Марбург (штамм Musoke) в дозе $1 \cdot 10^7$ БОЕ (в пересчете на вирус везикулярного стоматита) защищало животных от внутримышечного введения вируса Эбола и вируса Марбург в дозе $1 \cdot 10^3$ БОЕ (для соответствующего возбудителя), проведенного спустя 28 сут после иммунизации. В качестве контроля, кроме не иммунизированных животных, использовали яванских макаков, иммунизированных только ВВС, и животных, имму-

Таблица 2

Результаты оценки иммуногенной и протективной эффективности мультивалентной векторной рекомбинантной вакцины против филовиральных геморрагических лихорадок на основе аденовируса [27]

Группа животных	Медиана титра ИФА-антител к вирусам Марбург/Эбола (обратная величина) после			Доля выживших животных, %
	первой иммунизации (спустя 14 сут)	бустерной иммунизации (перед инфицированием)	6 недель после инфицирования	
Иммунизированные векторной рекомбинантной вакциной. Последующее инфицирование вирусом Эбола	100/9000	3200/32000	3200/16000	100
Иммунизированные векторной рекомбинантной вакциной. Последующее инфицирование вирусом Марбург	120/10000	4000/10000	4000/8000	100
Введение аденовирусного вектора без вставок филовиральных генов. Последующее инфицирование вирусом Эбола	< 100/< 100	< 100/< 100	Гибель животных	0
Введение аденовирусного вектора без вставок филовиральных генов. Последующее инфицирование вирусом Марбург	< 100/< 100	< 100/< 100	—«—	0
Интактные животные, инфицированные вирусом Эбола	< 100/< 100	< 100/< 100	—«—	0
Интактные животные, инфицированные вирусом Марбург	< 100/< 100	< 100/< 100	—«—	0

Результаты изучения эффективности рекомбинантной вакцины против лихорадки Эбола на основе ВВС при последующем аэрозольном инфицировании яванских макак [5]

Группа животных	Медиана титра ИФА-антител (обратная величина) на 14-е/27-е/56-е сутки после иммунизации	Концентрация вируса в плазме крови на 6-е сутки после инфицирования, БОЕ/мл	Доля выживших животных, %	Средний срок жизни до гибели, сут
Иммунизированные	100/500/10000	0	100	НО
Контроль	< 10/< 10/ НО	5·10 ⁶	0	8

Примечание. НО – не определяли (либо в связи с гибелью всех животных, либо с полным отсутствием гибели).

низированных векторной рекомбинантной вакциной на основе ВВС со вставкой гена GP вируса Ласса. Все животные контрольных групп при инфицировании возбудителями лихорадок Марбург и Эбола (подтипы Заир и Судан) погибли, что свидетельствует о высокой специфической активности разработанной вакцины [9].

Поливалентная вакцина против лихорадки Эбола эффективна и в отношении инфекции, вызываемой новым подтипом вируса Эбола – Bundibugio, выделенным во время эпидемической вспышки в Уганде в 2007–2008 гг. [17].

В другой работе установлено, что векторная рекомбинантная вакцина против лихорадки Эбола на основе вируса везикулярного стоматита эффективно защищала от последующего инфицирования вирусом Эбола даже яванских макак с ослабленным иммунитетом (за счет предшествующего за 3 мес. до эксперимента инфицирования вирусом иммунодефицита обезьян). Учитывая особенности населения в эндемичных по отношению к вирусу Эбола регионах, это обстоятельство имеет важное практическое значение [6].

Особый интерес представляет работа, в которой изучена эффективность рекомбинантной вакцины против лихорадки Эбола на основе ВВС при последующем аэрозольном инфицировании яванских макак [5]. Иммунизирующая доза составила $2 \cdot 10^7$ БОЕ (в пересчете на ВВС), расчетная инфицирующая доза составляла $1 \cdot 10^3$ БОЕ вируса Эбола (подтип Заир, штамм Kikwit). Полученные данные, представленные в табл. 3, свидетельствуют о том, что рекомбинантная вакцина против лихорадки Эбола на основе ВВС полностью защищала яванских макак от воздушно-капельного инфицирования вирусом Эбола.

Следует отметить, что рекомбинантная вакцина на основе ВВС во многом свободна от ряда недостатков (высокая иммунизирующая доза, необходимость проведения повторной иммунизации, биотехнологические проблемы наработки биомассы вакцины, дорогостоящие способы иммунизации и др.), которые в той или иной степени характерны для других вариантов вакцин нового поколения.

Таким образом, в настоящее время различными методами получены вакцинные препараты нового поколения против лихорадки Эбола, для ряда из которых продемонстрирована 100 % защитная эффективность при испытаниях на низших приматах, адекватно моделирующих соответствующие признаки болезни человека. В этой связи декларируемая по-

зиция ВОЗ о необходимости скорейшей разработки вакцины против лихорадки Эбола может быть объяснена только тем, что существуют объективные отличия процесса создания вакцин для иммунизации ограниченных «групп риска» и вакцин для проведения массовой иммунизации населения в эндемичных регионах. Важно отметить, что необходимость разработки вакцин нового поколения во многом обусловлена тем, что традиционный способ получения вакцин – создание их на основе аттенуированного штамма возбудителя, применительно к вакцинам против лихорадки Эбола недопустим, ввиду соображений безопасности.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Dowling W., Thompson E., Badger C., Mellquist J.L., Garrison A.R., Smith J.M., Paragas J., Hogan R.J., Schmaljohn C. Influences of glycosylation on antigenicity, immunogenicity, and protective efficacy of Ebola virus GP DNA vaccines. *J. Virol.* 2007; 81(4):1821–37.
2. Emond R.T. Viral hemorrhagic fevers. *J. Infect.* 1986; 13:103–6.
3. Feldmann H., Geisbert T.W. Ebola hemorrhagic fever. *Lancet.* 2011; 377:849–62.
4. Feldmann H., Jones S., Klenk H.D., Schnittler H.J. Ebola virus: From discovery to vaccine. *Nat. Rev. Immunol.* 2003; 3:677–85.
5. Geisbert T.W., Daddario-DiCaprio K.M., Geisbert J.B., Reed D.S., Feldmann F., Grolla A., Stroher U., Fritz E.A., Hensley L.E., Jones S.M., Feldmann H. Vesicular stomatitis virus-based vaccines protect nonhuman primates against aerosol challenge with Ebola and Marburg viruses. *Vaccine.* 2008; 26:6894–900.
6. Geisbert T.W., Daddario-DiCaprio K.M., Lewis M.G., Geisbert J.B., Grolla A., Leung A., Paragas J., Matthias L., Smith M.A., Jones S.M., Hensley L.E., Feldmann H., Jahrling P.B. Vesicular stomatitis virus-based Ebola vaccine is well-tolerated and protects immunocompromised nonhuman primates. *PLoS Pathog.* 2008; 4(11):1–9.
7. Geisbert T.W., Daddario-DiCaprio K.M., Williams K.J.N., Geisbert J.B., Leung A., Feldmann F., Hensley L.E., Feldmann H., Jones S.M. Recombinant vesicular stomatitis virus vector mediators postexposure protection against Sudan Ebola hemorrhagic fever in nonhuman primates. *J. Virol.* 2008; 82(11):5664–8.
8. Geisbert T.W., Feldmann H. Recombinant vesicular stomatitis virus-based vaccines against Ebola and Marburg virus infections. *J. Infect. Dis.* 2011; 204(3):1075–81.
9. Geisbert T.W., Geisbert J.B., Leung A., Daddario-DiCaprio K.M., Hensley L.E., Grolla A., Feldmann H. Single-injection vaccine protects nonhuman primates against infection with Marburg virus and three species of Ebola virus. *J. Virol.* 2009; 83(14):7296–304.
10. Kiley M.P., Bowen E.T., Eddy G.A., Isaacson M., Johnson K.M., McCormick J.B., Murphy F.A., Pattyn S.R., Peters D., Prozessky O.W., Regnery R.L., Simpson D.I.H., Slenczka W., Sureau P., van der Groen G., Webb P.A., Wulff H. Filoviridae: A taxonomic home for Marburg and Ebola viruses? *Intervirology.* 1982; 18:24–32.
11. Kobinger G.P., Croyle M., Feldmann H. Ebola and Marburg. Vaccines for Biodefense and Emerging and Neglected Diseases. London (UK): Academic Press; 2009. P. 25–37.
12. Kobinger G.P., Feldmann H., Zhi Y., Schumer G., Gao G., Feldmann F., Jones S., Wilson J.M. Chimpanzee adenovirus vaccine protects against Zaire Ebola virus. *J. Virol.* 2006; 80:394–401.
13. Lee J.S., Groebner J.L., Hadjipanayis A.G., Negley D.L., Schmaljohn A.L., Welkos S., Smith L.A., Smith J.F. Multiantigen vac-

cines vectored by Venezuelan equine encephalitis virus replicon elicits immune responses to Marburg virus and protection against anthrax and botulinum neurotoxin in mice *Vaccine*. 2006; 24:6886–92.

14. Lesley C.D., Schmaljohn C.S. DNA vaccines for biodefense. *Expert Rev. Vaccines*. 2009; 8:739–54.

15. Lundstrom K. Alphavirus vectors for vaccine production and gene therapy. *Expert Rev. Vaccines*. 2003; 2:447–59.

16. MDPI Viruses [Internet]. Special Issue “Advances in Filovirus Research 2012” [cited 23 March 2015]. Available from: http://www.mdpi.com/journal/viruses/special_issues/Filovirus.

17. Mire C.E., Geisbert J.B., Marzi A., Agans K.N., Feldmann H., Geisbert T.W. Vesicular stomatitis virus-based vaccines protect nonhuman primates against Bundibugyo ebolavirus. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2013; 7(12):1–11.

18. Nabel C., Yang Z., Sullivan N., Sanches A. Development of a preventive vaccine for filovirus infection in primates. Patent US 8.124 592 B2 2012.

19. Noad R., Roy P. Virus-like particles as immunogens. *Trends Microbiol.* 2003; 11:438–44.

20. Potential use of live viral and bacterial vectors for vaccines. WHO meeting, Geneva, 19–22 June, 1989. *Vaccine*. 1990; 8(5):425–37.

21. Pushko P., Geisbert J., Parker M., Jahrling P.B., Smith J. Individual and bivalent vaccines based on alphavirus replicons protect guinea pigs against infection with Lassa and Ebola viruses. *J. Virol.* 2001; 75:11677–85.

22. Radoshitzky S.R., Kuhn J.H., de Kok-Mercado F., Jahrling P.B., Bavari S. Drug discovery technologies and strategies for Machupo virus and other New World arenaviruses. *Expert Opin. Drug Discov.* 2012; 7(7):613–32.

23. Rayner J.O., Dryga S.A., Kamrud K.I. Alphavirus vectors and vaccination. *Rev. Med. Virol.* 2002; 12:279–96.

24. Sanchez A., Geisbert T.W., Feldmann H. Filoviridae: Marburg and Ebola Viruses. Fields virology, Philadelphia, PA, USA: Lippincott Williams and Wilkins; 2007. P. 1279–304.

25. Seregin A.V., Yun N.E., Poussard A.L., Peng B.-H., Smith J.F., Smith J.N., Milagros S., Paessler S. TC83 replicon vectored vaccine provides protection against Junin virus in guinea pigs. *Vaccine*. 2010; 28:4713–8.

26. Sullivan N.J., Geisbert T.W., Geisbert J.B., Shedlock D.J., Xu L., Lamoreaux L., Custers J.H.H.V., Popernack P.M., Yang Z.Y., Pau M.G., Roederer M., Koup R.A., Goudsmit J., Jahrling P.B., Nabel G.J. Immune protection of nonhuman primates against Ebola virus with single low-dose adenovirus vectors encoding modified GPs. *PLoS Medicine*. 2006; 3(6):865–73.

27. Swenson D.L., Wang D., Luo M., Warfield K.L., Woraratanadham J., Holman D.H., Dong J.Y., Pratt W.D. Vaccine to confer to nonhuman primates complete protection against multi-strain Ebola and Marburg virus infections. *J. Clin. Vaccine Immunol.* 2008; 15(3):460–7.

28. Wang D., Raja N.U., Trubey C.M., Juompan L.Y., Luo M., Woraratanadham J., Deitz S.B., Yu.H., Swain B.M., Moore K.M., Pratt W.D., Hart M.K., Dong J.Y. Development of a cAdVax-based bivalent ebola virus vaccine that induces immune responses against both the Sudan and Zaire species of Ebola virus. *J. Virol.* 2006; 80(6):2738–46.

29. Warfield K.L., Bosio C.M., Welcher B.C. Ebola virus-like particles protect from lethal Ebola virus infection. *J. Immunol.* 2005; 175:1184–91.

30. Warfield K.L., Javad M.A. Advances in virus-like particle vaccines for filoviruses. *J. Infect. Dis.* 2011; 204(3):1053–59.

31. Warfield K.L., Swenson D.L., Olinger G.G., Kalina W.V., Aman M.J., Bavari S. Ebola virus-like particle-based vaccine protects nonhuman primates against lethal Ebola virus challenge. *J. Infect. Dis.* 2007; 196(2):430–7.

32. Warfield K.L., Swenson G.G., Demmin G., Bavari S. Filovirus-like particle as vaccines and discovery tools. *Expert Rev. Vaccines*. 2005; 4:429–40.

References

- Dowling W., Thompson E., Badger C., Mellquist J.L., Garrison A.R., Smith J.M., Paragas J., Hogan R.J., Schmaljohn C. Influences of glycosylation on antigenicity, immunogenicity, and protective efficacy of Ebola virus GP DNA vaccines. *J. Virol.* 2007; 81(4):1821–37.
- Emond R.T. Viral hemorrhagic fevers. *J. Infect.* 1986; 13:103–6.
- Feldmann H., Geisbert T.W. Ebola hemorrhagic fever. *Lancet*. 2011; 377:849–62.
- Feldmann H., Jones S., Klenk H.D., Schnittler H.J. Ebola virus: From discovery to vaccine. *Nat. Rev. Immunol.* 2003; 3:677–85.
- Geisbert T.W., Daddario-DiCaprio K.M., Geisbert J.B., Reed D.S., Feldmann F., Grolla A., Stroher U., Fritz E.A., Hensley L.E., Jones S.M., Feldmann H. Vesicular stomatitis virus-based vaccines protect nonhuman primates against aerosol challenge with Ebola and Marburg viruses. *Vaccine*. 2008; 26:6894–900.
- Geisbert T.W., Daddario-DiCaprio K.M., Lewis M.G., Geisbert J.B., Grolla A., Leung A., Paragas J., Matthias L., Smith M.A., Jones S.M., Hensley L.E., Feldmann H., Jahrling P.B. Vesicular stomatitis virus-based Ebola vaccine is well-tolerated and protects immunocompromised nonhuman primates. *PLoS Pathog.* 2008; 4(11):1–9.
- Geisbert T.W., Daddario-DiCaprio K.M., Williams K.J.N., Geisbert

J.B., Leung A., Feldmann F., Hensley L.E., Feldmann H., Jones S.M. Recombinant vesicular stomatitis virus vector mediators postexposure protection against Sudan Ebola hemorrhagic fever in nonhuman primates. *J. Virol.* 2008; 82(11):5664–8.

8. Geisbert T.W., Feldmann H. Recombinant vesicular stomatitis virus-based vaccines against Ebola and Marburg virus infections. *J. Infect. Dis.* 2011; 204(3):1075–81.

9. Geisbert T.W., Geisbert J.B., Leung A., Daddario-DiCaprio K.M., Hensley L.E., Grolla A., Feldmann H. Single-injection vaccine protects nonhuman primates against infection with Marburg virus and three species of Ebola virus. *J. Virol.* 2009; 83(14):7296–304.

10. Kiley M.P., Bowen E.T., Eddy G.A., Isaacson M., Johnson K.M., McCormick J.B., Murphy F.A., Pattyn S.R., Peters D., Prozesky O.W., Regnery R.L., Simpson D.I.H., Slenczka W., Sureau P., van der Groen G., Webb P.A., Wulff H. Filoviridae: A taxonomic home for Marburg and Ebola viruses? *Intervirology*. 1982; 18:24–32.

11. Kobinger G.P., Croyle M., Feldmann H. Ebola and Marburg. Vaccines for Biodefense and Emerging and Neglected Diseases. London (UK): Academic Press; 2009. P. 25–37.

12. Kobinger G.P., Feldmann H., Zhi Y., Schumacher G., Gao G., Feldmann F., Jones S., Wilson J.M. Chimpanzee adenovirus vaccine protects against Zaire Ebola virus. *J. Virol.* 2006; 346:394–401.

13. Lee J.S., Groebner J.L., Hadjipanayis A.G., Negley D.L., Schmaljohn A.L., Welkos S., Smith L.A., Smith J.F. Multigenic vaccines vectored by Venezuelan equine encephalitis virus replicon elicits immune responses to Marburg virus and protection against anthrax and botulinum neurotoxin in mice *Vaccine*. 2006; 24:6886–92.

14. Lesley C.D., Schmaljohn C.S. DNA vaccines for biodefense. *Expert Rev. Vaccines*. 2009; 8:739–54.

15. Lundstrom K. Alphavirus vectors for vaccine production and gene therapy. *Expert Rev. Vaccines*. 2003; 2:447–59.

16. MDPI Viruses [Internet]. Special Issue “Advances in Filovirus Research 2012” [cited 23 March 2015]. Available from: http://www.mdpi.com/journal/viruses/special_issues/Filovirus.

17. Mire C.E., Geisbert J.B., Marzi A., Agans K.N., Feldmann H., Geisbert T.W. Vesicular stomatitis virus-based vaccines protect nonhuman primates against Bundibugyo ebolavirus. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2013; 7(12):1–11.

18. Nabel C., Yang Z., Sullivan N., Sanches A. Development of a preventive vaccine for filovirus infection in primates. Patent US 8.124 592 B2 2012.

19. Noad R., Roy P. Virus-like particles as immunogens. *Trends Microbiol.* 2003; 11:438–44.

20. Potential use of live viral and bacterial vectors for vaccines. WHO meeting, Geneva, 19–22 June, 1989. *Vaccine*. 1990; 8(5):425–37.

21. Pushko P., Geisbert J., Parker M., Jahrling P.B., Smith J. Individual and bivalent vaccines based on alphavirus replicons protect guinea pigs against infection with Lassa and Ebola viruses. *J. Virol.* 2001; 75:11677–85.

22. Radoshitzky S.R., Kuhn J.H., de Kok-Mercado F., Jahrling P.B., Bavari S. Drug discovery technologies and strategies for Machupo virus and other New World arenaviruses. *Expert Opin. Drug Discov.* 2012; 7(7):613–32.

23. Rayner J.O., Dryga S.A., Kamrud K.I. Alphavirus vectors and vaccination. *Rev. Med. Virol.* 2002; 12:279–96.

24. Sanchez A., Geisbert T.W., Feldmann H. Filoviridae: Marburg and Ebola Viruses. Fields virology, Philadelphia, PA, USA: Lippincott Williams and Wilkins; 2007. P. 1279–304.

25. Seregin A.V., Yun N.E., Poussard A.L., Peng B.-H., Smith J.F., Smith J.N., Milagros S., Paessler S. TC83 replicon vectored vaccine provides protection against Junin virus in guinea pigs. *Vaccine*. 2010; 28:4713–8.

26. Sullivan N.J., Geisbert T.W., Geisbert J.B., Shedlock D.J., Xu L., Lamoreaux L., Custers J.H.H.V., Popernack P.M., Yang Z.Y., Pau M.G., Roederer M., Koup R.A., Goudsmit J., Jahrling P.B., Nabel G.J. Immune protection of nonhuman primates against Ebola virus with single low-dose adenovirus vectors encoding modified GPs. *PLoS Medicine*. 2006; 3(6):865–73.

27. Swenson D.L., Wang D., Luo M., Warfield K.L., Woraratanadham J., Holman D.H., Dong J.Y., Pratt W.D. Vaccine to confer to nonhuman primates complete protection against multi-strain Ebola and Marburg virus infections. *J. Clin. Vaccine Immunol.* 2008; 15(3):460–7.

28. Wang D., Raja N.U., Trubey C.M., Juompan L.Y., Luo M., Woraratanadham J., Deitz S.B., Yu.H., Swain B.M., Moore K.M., Pratt W.D., Hart M.K., Dong J.Y. Development of a cAdVax-based bivalent ebola virus vaccine that induces immune responses against both the Sudan and Zaire species of Ebola virus. *J. Virol.* 2006; 80(6):2738–46.

29. Warfield K.L., Bosio C.M., Welcher B.C. Ebola virus-like particles protect from lethal Ebola virus infection. *J. Immunol.* 2005; 175:1184–91.

30. Warfield K.L., Javad M.A. Advances in virus-like particle vaccines for filoviruses. *J. Infect. Dis.* 2011; 204(3):1053–59.

31. Warfield K.L., Swenson D.L., Olinger G.G., Kalina W.V., Aman M.J., Bavari S. Ebola virus-like particle-based vaccine protects nonhuman primates against lethal Ebola virus challenge. *J. Infect. Dis.* 2007; 196(2):430–7.

32. Warfield K.L., Swenson G.G., Demmin G., Bavari S. Filovirus-like particle as vaccines and discovery tools. *Expert Rev. Vaccines*. 2005; 4:429–40.

Authors:

Sizikova, T.E. Lebedev V.N., Borisevich S.V., Kutaev D.A. The 48th Central Research Institute of the RF Ministry of Defense, Sergiev Possad, Russian Federation; Borisevich I.V. Scientific Center on Expertise of Medical Application Products. 8, Petrovsky Bulvar, Moscow, 127051, Russian Federation.

Об авторах:

Сизикова Т.Е., Лебедев В.Н., Борисевич С.В., Кутаев Д.А. «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны. Российская Федерация, Сергиев Посад. Борисевич И.В. Научный центр экспертизы средств медицинского применения. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, 8.

Получила 24.03.15.

К 60-ЛЕТИЮ АЛЕКСАНДРА НИКОЛАЕВИЧА КУЛИЧЕНКО

23 сентября 2015 г. исполнилось 60 лет Александру Николаевичу Куличенко – директору ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт», доктору медицинских наук, профессору, лауреату Государственной премии Российской Федерации.

Александр Николаевич прошел путь от аспиранта Российского научно-исследовательского противочумного института «Микроб» до директора Ставропольского научно-исследовательского противочумного института – крупного научного центра Юга России.

А.Н.Куличенко – известный ученый, один из создателей генной диагностики инфекционных болезней в нашей стране. Им были разработаны первые в России ПЦР-тест-системы для выявления возбудителей опасных инфекций. Заслуги Александра Николаевича в этой области (в составе авторского коллектива) отмечены Государственной премией Российской Федерации в области науки и техники (2003 г.).

В июле 2007 г. Александр Николаевич был назначен директором ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт». В институте под его руководством развиваются новые научные направления: внедрение молекулярного анализа в эпидемиологии, применение постгеномных технологий при изучении возбудителей инфекционных болезней, организация противоэпидемических мероприятий при чрезвычайных ситуациях. Проведены исследования по гено-геомониторингу природно-очаговых и особо опасных инфекций регионов ЮФО, СКФО, КФО, а также Республики Абхазия. Внедрены научные подходы и организована действующая система среднесрочного прогнозирования заболеваемости



Крымской геморрагической лихорадкой, сибирской язвой и бруцеллезом в Российской Федерации.

Во время Грузино-Южноосетинского вооруженного конфликта в августе 2008 г. Александр Николаевич возглавлял СПЭБ Роспотребнадзора. За успешное выполнение поставленных задач он был награжден медалью ордена «За заслуги перед Отечеством» II степени. Под его руководством СПЭБ института принимала участие в обеспечении биологической безопасности

во время зимних Олимпийских игр 2014 г. в Сочи.

А.Н.Куличенко создана научная школа, при его научном руководстве и консультировании защищены 3 докторских и 15 кандидатских диссертаций. Он автор (соавтор) более 500 научных публикаций, 8 монографий, 23 патентов на изобретения. Удостоен нагрудного знака «Почетный работник Роспотребнадзора», ведомственных грамот и наград, медали Ставропольского края «За доблестный труд» III степени.

А.Н.Куличенко – член бюро Лабораторного совета Роспотребнадзора, член Президиума ВНПОЭМП, заместитель председателя Координационного научного совета по санитарно-эпидемиологической охране территории Российской Федерации, член редакционного совета журнала «Проблемы особо опасных инфекций».

Юбилейную дату Александр Николаевич встречает в расцвете сил, полный творческих планов, нацеленных на будущее.

Редакционная коллегия журнала «Проблемы особо опасных инфекций» сердечно поздравляет Александра Николаевича Куличенко с юбилеем и желает ему больших творческих успехов, благополучия и здоровья.