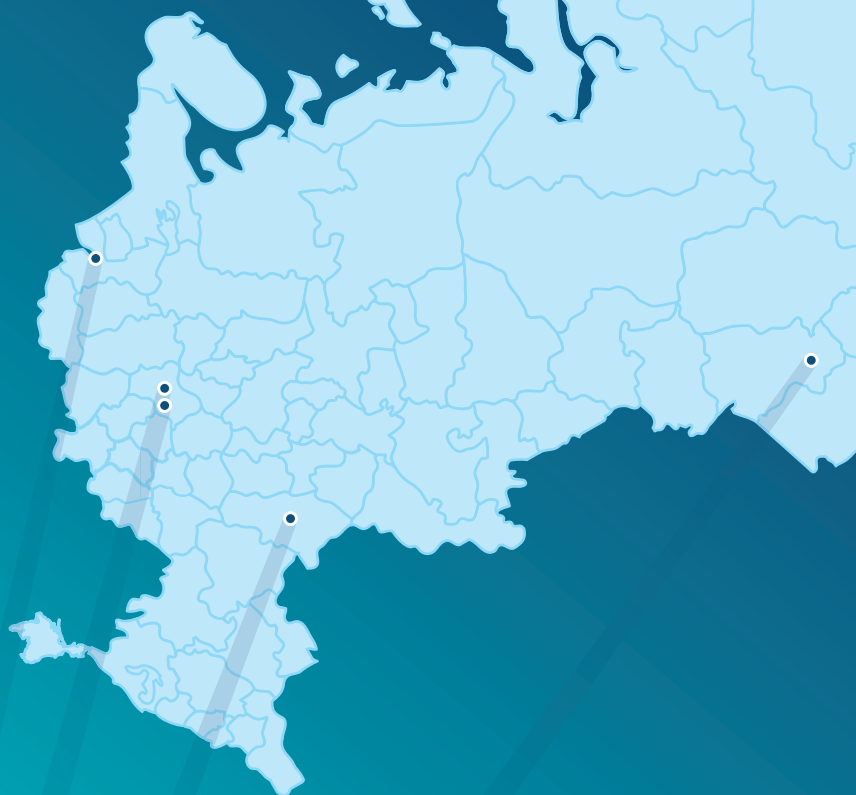
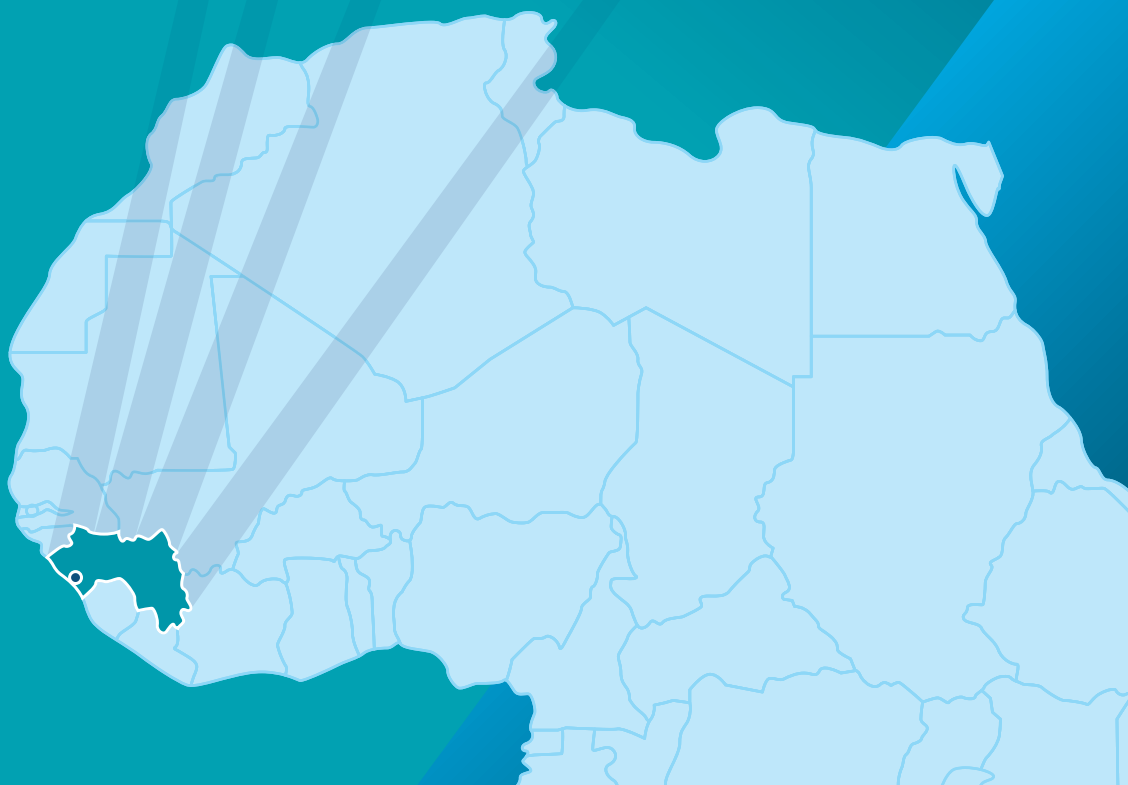




**Актуальные инфекции
в Гвинейской Республике:
эпидемиология, диагностика и иммунитет**



Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
Федеральное казенное учреждение здравоохранения
Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб»
Федеральное бюджетное учреждение науки
Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии
Федеральное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр
вирусологии и биотехнологии «Вектор»
Федеральное бюджетное учреждение науки Санкт-Петербургский научно-исследовательский
институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера

Актуальные инфекции в Гвинейской Республике: эпидемиология, диагностика и иммунитет

Под редакцией профессора,
доктора медицинских наук А.Ю. Поповой

УДК 616.9 (665.2)
ББК 55.14
А 43

Рецензенты:

Зверев Виталий Васильевич — академик РАН, доктор биологических наук, профессор
Лобзин Юрий Владимирович — академик РАН, доктор медицинских наук, профессор

Актуальные инфекции в Гвинейской Республике: эпидемиология, диагностика и иммунитет / под ред. А.Ю. Поповой. — СПб.: ФБУН НИИЭМ имени Пастера, 2017. — 288 с.: ил.

Монография «Актуальные инфекции в Гвинейской Республике: эпидемиология, диагностика и иммунитет» под редакцией Главного государственного санитарного врача Российской Федерации, доктора медицинских наук, профессора А.Ю. Поповой содержит первые итоги трехлетних исследований, которые специалисты научных учреждений Роспотребнадзора проводили в Гвинейской Республике в соответствии с «Программой российско-гвинейского сотрудничества в области изучения эпидемиологии, профилактики и мониторинга бактериальных и вирусных инфекций в Гвинейской Республике в 2015–2017 годах». Приведены данные об эпидемиологии, уровню иммунитета и диагностике в разных регионах Гвинейской Республики инфекции, вызываемой вирусом Эбола, природно-очаговых инфекций, вирусных гепатитов, кори, холере и других кишечных инфекций.

Изложенные в монографии материалы представляют интерес для эпидемиологов, вирусологов, микробиологов, инфекционистов, специалистов по вакцинопрофилактике и лабораторной диагностике.

Издательство ФБУН НИИЭМ им. Пастера
Заведующий — к.м.н. А.Я. Мурадян
197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14.
Тел./факс: (812) 232-07-42.
E-mail: izdatelstvo@pasteurorg.ru
Подписано в печать 22.11.17. Формат 70 х 100/16.
Гарнитура Мириад Про. Усл.-печ. л. 23,22. Тираж 400 экз.
Отпечатано в типографии ООО «ИПК "Береста"».
Заказ № 1270

© Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека
© ФБУН НИИЭМ имени Пастера, 2017
© Коллектив авторов, 2017

ISBN 978-5-904405-42-7

Авторский коллектив

Общая редакция:

Попова Анна Юрьевна — доктор медицинских наук, профессор, Главный государственный санитарный врач Российской Федерации, руководитель Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва.

Авторы:

Абдрашитова Адила Сабержановна — кандидат биологических наук, заведующая лабораторией лабораторных и инструментальных исследований ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов;

Абдул-Бастои Ибрагим — научный сотрудник НИИ прикладной биологии Гвинеи, г. Киндия, Гвинеяская Республика;

Агафонов Александр Петрович — доктор биологических наук, заместитель генерального директора по научной работе ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область;

Агафонов Дмитрий Алексеевич — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патогенных вибрионов ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов;

Антипова Анастасия Юрьевна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной вирусологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург;

Ба Мариам — стажер НИИ прикладной биологии Гвинеи, г. Киндия, Гвинеяская Республика;

Барри Модии Сори — заведующий лабораторией Регионального госпиталя Киндии, г. Киндия, Гвинеяская Республика;

Бачинский Александр Григорьевич — старший научный сотрудник, кандидат физико-математических наук, заведующий лабораторией математического моделирования теоретического отдела ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область;

Баяндин Роман Борисович — кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии особо опасных инфекций отдела молекулярной вирусологии флавивирусов и вирусных гепатитов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область;

Билько Елена Александровна — кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории лабораторных и инструментальных исследований ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов;

Бичурина Маина Александровна — доктор медицинских наук, заведующая лабораторией этиологии и контроля вирусных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург;

Блинов Владимир Михайлович — научный сотрудник отдела «Коллекция микроорганизмов» ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область;

Боднев Сергей Александрович — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, заведующий лабораторией особо опасных вирусных инфекций отдела «Коллекция микроорганизмов» ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область;

Бочаров Евгений Федорович — доктор медицинских наук, профессор, научный консультант лаборатории ретровирусов отдела ретровирусов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область;

Буаро Айсату — стажер НИИ прикладной биологии Гвинеи, г. Киндия, Гвинеяская Республика;

Буаро Мамаду Йеро — кандидат биологических наук, профессор, генеральный директор НИИ прикладной биологии Гвинеи, г. Киндия, Гвинеяская Республика;

Бумбали Санаба — кандидат медицинских наук, заведующий аспирантурой НИИ прикладной биологии Гвинеи, г. Киндия, Гвинеяская Республика;

Войтенкова Елена Владимировна — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории кишечных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург;

Галкина Ирина Вячеславовна — кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник Школы биомедицины ГАОУ ВПО «Дальневосточный федеральный университет», г. Владивосток;

Гражданов Александр Константинович — главный научный сотрудник лаборатории санитарной охраны и ЧС ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов;

Девяткин Андрей Андреевич — младший научный сотрудник ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва;

Дедков Владимир Георгиевич — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник группы биотехнологии и генной инженерии отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва;

Демина Юлия Викторовна — доктор медицинских наук, заместитель начальника Управления эпидемиологического надзора Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва;

Диалло Мамаду Гандо — стажер НИИ прикладной биологии Гвинеи, г. Киндия, Гвинейская Республика;

Диалло Мамед — стажер НИИ прикладной биологии Гвинеи, г. Киндия, Гвинейская Республика;

Диалло Сулейман — стажер НИИ прикладной биологии Гвинеи, г. Киндия, Гвинейская Республика;

Долгова Анна Сергеевна — кандидат биологических наук, научный сотрудник Научной группы генной инженерии и биотехнологии ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва;

Егорова Светлана Александровна — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории кишечных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург;

Ежлова Елена Борисовна — кандидат медицинских наук, начальник Управления эпидемиологического надзора Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва;

Железнова Нина Всеволодовна — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории вирусных гепатитов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург;

Забровская Анна Владленовна — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории кишечных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург;

Заднова Светлана Петровна — доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории патогенных вибрионов ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов;

Зайковская Анна Владимировна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории особо опасных вирусных инфекций отдела «Коллекция микроорганизмов» ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область;

Захаров Кирилл Сергеевич — младший научный сотрудник лаборатории эпизоотологического мониторинга ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов;

Зуева Елена Викторовна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург;

Зуманиги Николас — кандидат медицинских наук, заведующий отделением хирургической кардиологии Национального госпиталя «Донка» Министерства здравоохранения Гвинейской Республики, г. Конакри, Гвинейской Республики;

Иванова Александра Васильевна — младший научный сотрудник отдела эпидемиологии ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов;

Ицков Яков Юрьевич — кандидат экономических наук, директор по глиноземному бизнесу ОК «РУСАЛ», Москва;

Кабанов Алексей Сергеевич — научный сотрудник лаборатории особо опасных вирусных инфекций отдела «Коллекция микроорганизмов» ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область;

Казачинская Елена Ивановна — доктор биологических наук, заведующая сектором гибридной технологии отдела биоинженерии ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область;

- Калинина Ольга Викторовна** — доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и эволюционной генетики ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург;
- Камара Талиби** — кандидат медицинских наук, заместитель директора Университета им. Абдель Насера, г. Конакри, Гвинея, Гвинея Республика;
- Каному Виктор** — главный врач госпиталя Научного клинко-диагностического центра эпидемиологии и микробиологии, г. Киндия, Гвинея Республика;
- Карнаухов Игорь Геннадиевич** — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, заведующий лабораторией санитарной охраны и ЧС отдела эпидемиологии ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов;
- Карташов Михаил Юрьевич** — научный сотрудник отдела молекулярной вирусологии флавивирусов и вирусных гепатитов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область;
- Касьян Жанетта Андреевна** — кандидат медицинских наук, научный сотрудник отдела диагностики инфекционных болезней ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов;
- Кафтырева Лидия Алексеевна** — доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией кишечных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург;
- Кедрова Ольга Викторовна** — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела эпидемиологии ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов;
- Кейта Намори** — зоолог Научного клинко-диагностического центра эпидемиологии и микробиологии, г. Киндия, Гвинея Республика;
- Константинов Олег Константинович** — кандидат биологических наук, научный сотрудник НИИ прикладной биологии Гвинеи, г. Киндия, Гвинея Республика;
- Краснов Ярослав Михайлович** — кандидат химических наук, заведующий лабораторией геномного и протеомного анализа ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов;
- Крицкий Андрей Александрович** — младший научный сотрудник лаборатории патогенных вибрионов ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов;
- Куклев Василий Евгеньевич** — кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией диагностических технологий ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов;
- Кутырев Владимир Викторович** — академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, директор ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Роспотребнадзора, г. Саратов;
- Кутырев Иван Владимирович** — кандидат медицинских наук, научный сотрудник отдела эпидемиологии ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Роспотребнадзора, г. Саратов;
- Лаврентьева Ирина Николаевна** — доктор медицинских наук, заведующая лабораторией экспериментальной вирусологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург;
- Левковский Андрей Евгеньевич** — руководитель госпиталя «РУСАЛ» Боксито-глиноземного комплекса «Фригия», г. Фрия, Гвинея Республика;
- Личная Евгения Викторовна** — младший научный сотрудник лаборатории вирусных гепатитов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург;
- Локтев Валерий Борисович** — академик РАН, доктор биологических наук, профессор, заведующий отделом молекулярной вирусологии флавивирусов и вирусных гепатитов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область;
- Лопатин Антон Александрович** — кандидат медицинских наук, заместитель директора ФКУЗ Противочумный центр Роспотребнадзора, Москва;
- Магассуба Н'Фали** — кандидат биологических наук, заведующий лабораторией геморрагических лихорадок Университета им. Абдель Насера, г. Конакри, Гвинея Республика;
- Макарова Мария Александровна** — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории кишечных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург;

- Максимов Николай Львович** — младший научный сотрудник отдела разработки, производства и применения средств иммунодиагностики вирусных и риккетсиозных заболеваний ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область;
- Максютов Ринат Амирович** — кандидат биологических наук, генеральный директор ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область;
- Малеев Виктор Васильевич** — академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по научной работе ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва;
- Малюкова Татьяна Анатольевна** — кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела образовательных программ и подготовки специалистов ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов;
- Маренникова Светлана Сергеевна** — доктор медицинских наук, профессор, научный консультант отдела координации НИР и ОКР ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область;
- Матвеева Зоя Николаевна** — кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории кишечных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург;
- Михеев Валерий Николаевич** — кандидат биологических наук, доцент, заместитель генерального директора по научной и эпидемиологической работе ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область;
- Найденова Екатерина Владимировна** — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела диагностики инфекционных болезней ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов;
- Нестеров Андрей Егорович** — старший научный сотрудник информационно-аналитического отдела ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область;
- Низоленко Лилия Филипповна** — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории математического моделирования теоретического отдела ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область;
- Никифоров Константин Алексеевич** — кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов;
- Никонорова Юлия Владимировна** — младший научный сотрудник отдела биоинженерии ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область;
- Носов Никита Юрьевич** — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов;
- Нурдин Ибрагим** — стажер НИИ прикладной биологии Гвинеи, г. Киндия, Гвинейская Республика;
- Оглодин Евгений Геннадьевич** — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов;
- Одинокоев Георгий Николаевич** — старший научный сотрудник отдела микробиологии ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов;
- Останкова Юлия Владимировна** — научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург;
- Офицеров Вячеслав Иванович** — доктор биологических наук, заместитель генерального директора по науке ЗАО «Вектор-Бест», п. Кольцово, Новосибирская область;
- Поршаков Александр Михайлович** — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории эпизоотологического мониторинга ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов;
- Плеханов Никита Александрович** — кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории патогенных вибрионов ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов;
- Понятишина Марина Владимировна** — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории вирусных гепатитов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург;
- Попов Николай Владимирович** — доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией эпизоотологического мониторинга ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов;

- Попов Юрий Алексеевич** — доктор биологических наук, профессор, заведующий отделом образовательных программ и подготовки специалистов ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов;
- Попова Анна Юрьевна** — доктор медицинских наук, профессор, руководитель Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главный государственный санитарный врач Российской Федерации, Москва;
- Порин Александр Арнольдович** — кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории кишечных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург;
- Поршаков Александр Михайлович** — старший научный сотрудник лаборатории эпизоотологического мониторинга ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов;
- Пьянков Олег Викторович** — кандидат биологических наук, заведующий отделом «Коллекция микроорганизмов» ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область;
- Пьянков Степан Александрович** — заведующий лабораторией производства средств иммунодиагностики отдела разработки, производства и применения средств иммунодиагностики вирусных и риккетсиозных заболеваний ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область;
- Раздорский Александр Сергеевич** — научный сотрудник отдела эпидемиологии ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов;
- Сафонова Марина Викторовна** — научный сотрудник Научной группы геномной инженерии и биотехнологии ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва;
- Сафронов Валентин Алексеевич** — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории эпидемиологического анализа и прогнозирования ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов;
- Семенов Александр Владимирович** — кандидат биологических наук, заведующий лабораторией вирусологии и иммунологии ВИЧ-инфекции ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург;
- Семенцова Александра Олеговна** — младший научный сотрудник сектора молекулярной диагностики отдела молекулярной вирусологии флавивирусов и вирусных гепатитов лаборатории молекулярной вирусологии особо опасных инфекций ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область;
- Сергеев Александр Андреевич** — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории коллекции вируса натуральной оспы и ортопоксвирусов отдела «Коллекция микроорганизмов» ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область;
- Сергеев Артемий Александрович** — доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории коллекции вируса натуральной оспы и ортопоксвирусов отдела «Коллекция микроорганизмов» ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область;
- Силла Алиа Латтир** — администратор госпиталя Научного клинико-диагностического центра эпидемиологии и микробиологии, г. Киндия, Гвинея, Гвинея Республика;
- Ситмбетов Дмитрий Айдынович** — научный сотрудник лаборатории эпизоотологического мониторинга ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов;
- Смирнова Нина Ивановна** — доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией патогенных вибрионов ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов;
- Смоленский Вячеслав Юрьевич** — кандидат медицинских наук, начальник Управления научного обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения и международной деятельности Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва;
- Солодкий Владислав Валерьевич** — научный сотрудник отдела «Коллекция микроорганизмов» ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область;
- Соу Ибрагим Сори** — стажер НИИ прикладной биологии Гвинеи, г. Киндия, Гвинея Республика;
- Сужаева Людмила Валерьевна** — младший научный сотрудник лаборатории кишечных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург;

- Сухорук Анастасия Александровна** — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории вирусных гепатитов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург;
- Терновой Владимир Александрович** — кандидат биологических наук, заведующий лабораторией молекулярной эпидемиологии ООИ отдела молекулярной вирусологии флавивирусов и вирусных гепатитов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область;
- Топорков Владимир Петрович** — доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом эпидемиологии ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов;
- Тотоян Арег Артемович** — академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией молекулярной иммунологии, директор ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург;
- Тупу Жан-Проспер** — стажер НИИ прикладной биологии Гвинеи, г. Киндия, Гвинейская Республика;
- Туре Абубакар Хади** — заведующий зоологической группой НИИ прикладной биологии Гвинеи, г. Киндия, Гвинейская Республика;
- Тучков Игорь Витальевич** — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории патогенных вибрионов ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов;
- Уткин Денис Валерьевич** — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории диагностических технологий ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов;
- Хамитова Ирина Викторовна** — заведующая центральной клинико-диагностической лабораторией ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург;
- Хорошилов Владимир Юрьевич** — кандидат медицинских наук, доцент, заместитель начальника территориального отдела Управления Роспотребнадзора по городу Санкт-Петербургу в Невском и Красногвардейском районах, Санкт-Петербург;
- Чаусов Евгений Владимирович** — кандидат биологических наук, заведующий сектором молекулярной диагностики отдела молекулярной вирусологии флавивирусов и вирусных гепатитов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область;
- Челдышова Надежда Борисовна** — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории патогенных вибрионов ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов;
- Чуб Елена Владимировна** — кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии особо опасных инфекций отдела молекулярной вирусологии флавивирусов и вирусных гепатитов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область;
- Шипулин Герман Александрович** — кандидат медицинских наук, руководитель Научно-производственной лаборатории по разработке новых препаратов для диагностики заболеваний человека и животных ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва;
- Щелканов Михаил Юрьевич** — доктор биологических наук, заведующий лабораторией экологии микроорганизмов Дальневосточного федерального университета; заведующий лабораторией вирусологии ФНЦ биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН; ведущий научный сотрудник ФНЦ морской биологии Дальневосточного отделения РАН; эксперт ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Приморском крае», г. Владивосток;
- Щербакова Светлана Анатольевна** — доктор биологических наук, заместитель директора по научной и экспериментальной работе, ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов;
- Эсауленко Елена Владимировна** — доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией вирусных гепатитов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург;
- Яковлев Сергей Альбертович** — кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории эпизоотологического мониторинга ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов.



Уважаемые читатели!

Данная монография является вторым фундаментальным трудом, отражающим опыт российских специалистов по борьбе с инфекциями в Гвинейской Республике, накопленный в новейшей истории за последние четыре года. Первая монография «Ликвидация эпидемии Эбола в Гвинейской Республике: опыт работы специализированной противоэпидемической бригады Роспотребнадзора» (2016) подвела итоги борьбы российских специалистов с эпидемией, вызванной вирусом Эбола. Предлагаемая читателю книга обобщает основные научные результаты, полученные в ходе реализации «Программы Российско-Гвинейского сотрудничества в области изучения эпидемиологии, профилактики и мониторинга бактериальных и вирусных инфекций в Гвинейской Республике в 2015–2017 годах».

Научные проекты касались не только особо опасных инфекций, но также обогатили наши знания в области других инфекционных заболеваний, значимых для Гвинейской Республики: холера, малярия, лептоспироз, бактериальные кишечные инфекции, вирусные гепатиты А, В, С и Е, а также корь, актуальность которой в мире значительно возросла за последний год. В монографии изложены основные результаты трехлетнего сотрудничества, представленные в докладах Итоговой научной конференции, состоявшейся в Санкт-Петербурге 5–7 декабря 2017 года.

Приятно отметить, что в работе над рядом глав монографии принимали участие молодые сотрудники не только научных учреждений Роспотребнадзора, но и Гвинейской Республики. Это стало возможным благодаря реализации раздела Программы Российско-Гвинейского сотрудничества по подготовке национальных кадров для практических и научных лабораторий, показавшего свою высокую эффективность и востребованность.

Издание этой монографии является очередным шагом на пути развития научно-практического сотрудничества ученых, врачей и организаторов здравоохранения Российской Федерации с их коллегами из Гвинейской Республики, и хочется подчеркнуть, что у этого сотрудничества есть не только славная история, но и замечательные перспективы.

Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный врач
Российской Федерации, д.м.н., профессор

А.Ю. Попова

Содержание

Предисловие	13
Вопросы организации и преподавания	
<i>Попова А.Ю., Кутырев В.В., Ицков Я.Ю., Смоленский В.Ю., Демина Ю.В., Сафронов В.А., Найденова Е.В., Щербакова С.А.</i>	
Создание Российско-Гвинейского научно-исследовательского центра эпидемиологии и профилактики инфекционных болезней — новый этап укрепления эпидемиологического надзора за опасными инфекционными болезнями в Гвинейской Республике	16
<i>Попова А.Ю., Сафронов В.А., Магассуба 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., Щербакова С.А., Терновой В.А., Агафонов А.П., Михеев В.Н., Кутырев В.В.</i>	
Организация и проведение диагностических исследований на базе мобильного комплекса специализированной противоэпидемической бригады в Республике Гвинея в период эпидемии лихорадки Эбола в 2014 г.	19
<i>Найденова Е.В., Малиюкова Т.А., Куклев В.Е., Касьян Ж.А., Поршаков А.М., Сафронов В.А., Лопатин А.А., Бумбали С., Буаро М.И., Попов Ю.А., Щербакова С.А., Кутырев В.В.</i>	
Подготовка специалистов научных, ветеринарных и медицинских учреждений Гвинейской Республики на курсах повышения квалификации в 2015–2017 гг.	23
Болезнь, вызванная вирусом Эбола	
<i>Бачинский А.Г., Низоленко Л.Ф.</i>	
Универсальная модель локальных эпидемий, вызываемых возбудителями особо опасных инфекций	26
<i>Щелканов М.Ю., Дедков В.Г., Галкина И.В., Магассуба Н'Ф., Зуманиги Н., Шипулин Г.А., Попова А.Ю., Малеев В.В.</i>	
Районирование африканской природно-очаговой провинции в отношении филовиральных лихорадок	32
<i>Щелканов М.Ю., Магассуба Н'Ф., Дедков В.Г., Шипулин Г.А., Галкина И.В., Попова А.Ю., Малеев В.В.</i>	
Природный резервуар филовиральных и типы связанных с ними эпидемических вспышек на территории Африки	46
<i>Попов Н.В., Сафронов В.А., Поршаков А.М., Кутырев В.В.</i>	
Оценка потенциальной эпизоотологической значимости мелких хищных млекопитающих в циркуляции вируса Эбола в Гвинейской Республике	56
<i>Бачинский А.Г., Низоленко Л.Ф.</i>	
Оценка влияния мер противодействия на последствия локальных эпидемий, вызываемых возбудителями особо опасных инфекций: изоляция	60
<i>Щелканов М.Ю., Магассуба Н'Ф., Буаро М.И., Малеев В.В.</i>	
Причины развития эпидемии лихорадки Эбола в Западной Африке	65
<i>Щелканов М.Ю., Зуманиги Н., Буаро М.И., Малеев В.В.</i>	
Пять мифов о лихорадке Эбола: где кончается вымысел?	74
<i>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., Магассуба Н'Ф., Кутырев В.В., Демина Ю.В., Ежлова Е.Б., Агафонов А.П., Михеев В.Н.</i>	
Изучение свойств изолятов эболавируса Заир 2014	86
<i>Краснов Я.М., Сафронов В.А., Носов Н.Ю., Кутырев В.В., Попова А.Ю.</i>	
Сравнительный анализ секвенированных образцов вируса Zaire ebolavirus из Гвинейской Республики	93
<i>Семенцова А.О., Дедков В.Г., Терновой В.А., Чуб Е.В., Пьянков С.А., Агафонов А.П., Максютков Р.А., Малеев В.В., Попова А.Ю.</i>	
Клиническая лабораторная диагностика лихорадки Эбола. Анализ существующих методик и диагностических средств	102

Казачинская Е.И., Никонорова Ю.В., Локтев В.Б.

Моноклональные антитела и рекомбинантные белки для иммунодиагностики болезни, вызванной вирусом Эбола	114
--	------------

Пьянков С.А., Пьянков О.В., Найденова Е.В., Агафонов А.П., Буаро М.И., Солодкий В.В., Зайковская А.В., Максимов Н.Л., Маренникова С.С., Бочаров Е.Ф., Офицеров В.И., Лопатин А.А., Щербакова С.А., Демина Ю.В., Кутырев В.В., Михеев В.Н.

Опыт использования метода ИФА для выявления антител к вирусу Эбола при работе бригады СПЭБ в Гвинейской Республике	123
---	------------

Терновой В.А., Семенцова А.О., Чуб Е.В., Пьянков О.В., Локтев В.Б., Агафонов А.П.

Высокоэффективное xMAP-мультиплексирование для обнаружения и идентификации геморрагических лихорадок, включая Эбола	128
--	------------

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	133
---	------------

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	140
---	------------

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., Силла А.Л., Каному В., Буаро М.И., Демина Ю.В., Хорошилов В.Ю., Попова А.Ю., Кутырев В.В.

Изучение сохранения вируса Эбола в биологических жидкостях пациента на поздних стадиях выздоровления	144
---	------------

Другие природно-очаговые инфекции

Найденова Е.В., Захаров К.С., Никифоров К.А., Карташов М.Ю., Агафонов Д.А., Касьян Ж.А., Плеханов Н.А., Поршаков А.М., Яковлев С.А., Пьянков С.А., Крицкий А.А., Оглодин Е.Г., Уткин Д.В., Баяндин Р.Б., Кабанов А.С., Сергеев Ал.А., Диалло М.Г., Нурдин И., Тупу Ж.-П., Диалло М., Кутырев И.В., Раздорский А.С., Сафронов В.А., Лопатин А.А., Бумбали С., Щербакова С.А., Буаро М.И., Кутырев В.В.

Итоги и перспективы изучения некоторых природно-очаговых инфекционных болезней в Гвинейской Республике	150
---	------------

Яковлев С.А., Поршаков А.М., Захаров К.С., Попов Н.В., Туре А., Кейта Н., Демина Ю.В., Кутырев В.В.

Опыт проведения эпизоотологического мониторинга территории Гвинейской Республики	157
---	------------

Найденова Е.В., Уткин Д.В., Поршаков А.М., Захаров К.С., Касьян Ж.А., Яковлев С.А., Никифоров К.А., Агафонов Д.А., Крицкий А.А., Баяндин Р.Б., Карташов М.Ю., Лопатин А.А., Раздорский А.С., Сафронов В.А., Бумбали С., Буаро М.И., Щербакова С.А., Кутырев В.В.

Выявление РНК возбудителей лептоспироза в материале от мелких млекопитающих, отловленных в провинции Киндия Гвинейской Республики	163
--	------------

Найденова Е.В., Пьянков С.А., Крицкий А.А., Касьян Ж.А., Раздорский А.С., Лопатин А.А., Сафронов В.А., Чаусов Е.В., Силла А.Л., Бумбали С., Нурдин И., Диалло М.Г., Соу И.С., Барри М.С., Щербакова С.А., Буаро М.И., Кутырев В.В.

Выявление специфических антител к арбовирусам в сыворотках крови людей, проживающих в провинции Киндия, Гвинейская Республика	167
--	------------

Холера и другие кишечные инфекции

Карнаухов И.Г., Челдышова Н.Б., Гражданов А.К., Крицкий А.А., Заднова С.П., Кедрова О.В., Иванова А.В., Топорков В.П., Смирнова Н.И., Буаро А., Бумбали С., Буаро М.И., Кутырев В.В.

Эпидемиологический анализ ситуации по холере на территории Африки и проблемы профилактики	172
--	------------

Челдышова Н.Б., Смирнова Н.И., Заднова С.П., Краснов Я.М., Крицкий А.А., Буаро М.И., Кутырев В.В.

Молекулярно-генетические свойства штаммов <i>Vibrio cholerae</i> биовара Эль Тор, циркулирующих на Африканском континенте	181
--	------------

Крицкий А.А., Абдрашитова А.С., Бумбали С., Тучков И.В., Билько Е.А., Агафонов Д.А., Плеханов Н.А., Никифоров К.А., Найденова Е.В., Касьян Ж.А., Оглодин Е.Г., Поршаков А.М., Яковлев С.А., Ситимбетов Д.А., Нурдин И., Камера Т., Абдул-Бастои И., Диалло С., Буаро А., Диалло М.Г., Ба М., Буаро М.И.

Мониторинг водоемов Гвинейской Республики на наличие возбудителей холеры и острых кишечных инфекций 193

Попова А.Ю., Кафтырева Л.А., Сужаева Л.В., Войтенкова Е.В., Забровская А.В., Егорова С.А., Макарова М.А., Матвеева З.Н., Зуева Е.В., Порин А.А., Буаро М.И., Константинов О.К., Тотолян Арег А.

Сравнительная характеристика особенностей микробиоты кишечника жителей Гвинейской Республики и России 196

Войтенкова Е.В., Матвеева З.Н., Макарова М.А., Егорова С.А., Забровская А.В., Сужаева Л.В., Зуева Е.В., Кафтырева Л.А.

Выделение и особенности идентификации *Comamonas kerstersii* при изучении микробиоты кишечника жителей Санкт-Петербурга и Гвинейской Республики 204

Егорова С.А., Макарова М.А., Кафтырева Л.А., Сужаева Л.В., Забровская А.В., Матвеева З.Н., Войтенкова Е.В.

Чувствительность к антимикробным препаратам штаммов энтеробактерий, выделенных при изучении микробиоты кишечника жителей Гвинейской Республики и Санкт-Петербурга 210

Вирусные гепатиты

Эсауленко Е.В., Семенов А.В., Сухорук А.А., Понятишина М.В., Останкова Ю.В., Хамитова И.В., Тотолян Арег А.

Эпидемиология энтеральных гепатитов в странах Африканского континента 216

Эсауленко Е.В., Семенов А.В., Сухорук А.А., Понятишина М.В., Останкова Ю.В., Хамитова И.В., Найденова Е.В., Крицкий А.А., Бумбали С., Барри М.С., Буаро М.И., Щербакова С.А., Тотолян Арег А.

Серозэпидемиологическое исследование энтеральных гепатитов в Гвинейской Республике 225

Семенов А.В., Останкова Ю.В., Эсауленко Е.В., Понятишина М.В., Бумбали С., Барри М.С., Буаро М.И., Тотолян Арег А.

Эпидемиология гепатита В в странах Африканского континента 232

Попова А.Ю., Семенов А.В., Останкова Ю.В., Найденова Е.В., Щербакова С.А., Бумбали С., Барри М.С., Буаро М.И., Тотолян Арег А.

Распределение генотипов вируса гепатита В среди пациентов Российско-Гвинейского госпиталя г. Киндия Гвинейской Республики 242

Калинина О.В., Личная Е.В., Буаро М.И., Тотолян Арег А.

Встречаемость маркеров вируса гепатита С у практически здоровых жителей Гвинейской Республики: пилотное исследование 250

Останкова Ю.В., Семенов А.В., Эсауленко Е.В., Понятишина М.В., Хамитова И.В., Сафронов В.А., Крицкий А.А., Бумбали С., Барри М.С., Буаро М.И., Тотолян Арег А.

Распространенность маркеров вируса гепатита В среди пациентов Российско-Гвинейского госпиталя г. Киндия Гвинейской Республики 256

Корь и другие экзантемные инфекции

Антипова А.Ю., Бичурина М.А., Лаврентьева И.Н., Тотолян Арег А.

Корь в странах Африканского региона ВОЗ на этапе элиминации инфекции 264

Попова А.Ю., Бичурина М.А., Лаврентьева И.Н., Железнова Н.В., Антипова А.Ю., Щербакова С.А., Буаро М.И., Тотолян Арег А.

Изучение уровня иммунитета к вирусу кори в отдельных группах населения Гвинейской Республики в рамках глобальной программы элиминации кори 279

Лаврентьева И.Н., Хамитова И.В., Левковский А.Е., Останкова Ю.В., Агафонов А.П., Чуб Е.В., Тотолян Арег А.

Влияние инфицирования парвовирусом В19 на течение малярии в Гвинейской Республике 285

Предисловие

В конце 2017 года исполнилось 4 года от момента начала эпидемии, вызванной вирусом Эбола, в Гвинейской Республике. Эпидемия унесла более 11 тысяч жизней и преподнесла уроки, заставившие переосмыслить организацию противоэпидемических мероприятий в подобных ситуациях. На призыв мирового сообщества объединить усилия по борьбе с новой угрозой, Российская Федерация в числе первых направила свои мобильные противоэпидемические формирования в Гвинейскую Республику и оказала необходимую помощь в наиболее острый период эпидемии. В дальнейшем в соответствии с распоряжением Правительства Российской Федерации была сформирована «Программа российско-гвинейского сотрудничества в области изучения эпидемиологии, профилактики и мониторинга бактериальных и вирусных инфекций в Гвинейской Республике в 2015–2017 годах».

Руководство реализацией Программы осуществляла Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (руководитель д.м.н., профессор А.Ю. Попова). Организационно-методическое обеспечение работ по Программе на федеральном уровне выполнял Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» (директор академик РАН В.В. Кутырев). Для реализации Программы были привлечены Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии (директор академик РАН В.И. Покровский), Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии (директор академик РАН И.А. Дятлов), Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» (директор к.б.н. Р.А. Максютков) и Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера (директор академик РАН А.А. Тотолян).

Программа предусматривала три основных направления работы: организацию мощной современной лабораторной базы в Гвинейской Республике, подготовку национальных кадров в области эпидемиологии, вирусологии и бактериологии, а также научные проекты. Последние не ограничивались только работами, связанными с эпидемией болезни, вызванной вирусом Эбола, а были направлены, особенно в постэпидемический период, на изучение некоторых социально-значимых инфекций, имеющих важное значение для Гвинейской Республики. К ним следует отнести вирусные гепатиты А, В, С и Е, о распространенности которых в регионе очень мало данных в мировой литературе, кишечные инфекции, а также корь, эпидемия которой была зарегистрирована в период январь–май 2017 года.

Крайне важный раздел Программы, нашедший достойное отражение в настоящей монографии, был посвящен разработке принципиально новых, предназначенных для решения задач, связанных с ликвидацией эпидемии, диагностических тест-систем и их апробации в полевых и экспедиционных условиях.

Коллектив авторов не был скован какими-то схемами изложения материала по обсуждаемым проблемам. Редакция глав была минимальной. Поэтому в некоторых случаях одно и то же положение обсуждается в нескольких главах. Соавторами некоторых разделов монографии являются молодые сотрудники научно-исследовательского института прикладной биологии Гвинеи (директор к.б.н. М.И. Буаро), что является крайне важным результатом реализации Программы и демонстрации ее эффективности в части подготовки национальных кадров для практических и научных лабораторий.

Большинство научных результатов, представленных в данной монографии, обладают абсолютной новизной и, в связи с недостатком информации о распространенности обсуждаемых инфекций в Гвинейской Республике, восполняет дефицит знаний в этой области в мировой научной литературе.

Предлагаемая вниманию читателя монография не претендует на абсолютную полноту изложения всех аспектов, связанных с пониманием роли и особенностей инфекций актуальных для Гвинейской Республики. Без сомнения продолжение научных исследований в рамках второго этапа Программы позволит расширить спектр изучаемых инфекций и достичь новых значимых результатов в области эпидемиологии, вирусологии, бактериологии, биотехнологии и инфекционной иммунологии.

Авторы выражают искреннюю признательность редакциям ведущих научных журналов («Вестник Российской академии медицинских наук», «Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии», «Молекулярная генетика, микробиология и вирусология», «Проблемы особо опасных инфекций», «Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы», «Инфекция и иммунитет», «Русский Медицинский Журнал», «Лечащий врач»), на страницах которых были впервые опубликованы отдельные разделы, представленные в монографии.

Все отзывы и критические замечания читателей будут приняты авторами с большой благодарностью.



Вопросы организации и преподавания



Создание Российско-Гвинейского научно-исследовательского центра эпидемиологии и профилактики инфекционных болезней — новый этап укрепления эпидемиологического надзора за опасными инфекционными болезнями в Гвинейской Республике

А.Ю. Попова, В.В. Кутырев, Я.Ю. Ицков, В.Ю. Смоленский, Ю.В. Демина, В.А. Сафронов, Е.В. Найденова, С.А. Щербакова

Как показала эпидемия болезни, вызванной вирусом Эбола (БВБЭ), охватившая некоторые страны Западной Африки в 2013–2016 гг., — риски возникновения новых пандемий стали вызовом не только мировому здравоохранению, но и глобальному экономическому развитию. Прямые потери населения Гвинеи, Либерии и Сьерра-Леоне составили свыше 11 тыс. человек. По оценкам экономистов Всемирного банка, прямой и косвенный ущерб от эпидемии БВБЭ в мировом масштабе может составлять до 7 млрд долларов США.

В такой сложной ситуации одной из основных задач мирового сообщества стало укрепление систем здравоохранения пострадавших стран. Российская Федерация одной из первых пришла на помощь Гвинейской Республике в период эпидемии БВБЭ, оказывая комплексную помощь по нескольким направлениям. Одной из первоочередных задач на тот момент было усиление лабораторной службы и Роспотребнадзором в августе 2014 г. были направлены специалисты специализированной противоэпидемической бригады (СПЭБ) и мобильные лаборатории для организации и проведения диагностических исследований материала от больных и подозрительных на БВБЭ.

Помимо усиления лабораторной службы значительного укрепления требовала и госпитальная база Гвинейской Республики. В связи с чем, в ноябре 2014 г. было принято решение о проектировании и строительстве в Гвинейской Республике Научно-медицинского центра для борьбы с особо опасными инфекциями, в том числе лихорадкой Эбола. Реализацию этого проекта взяла на себя ОК «РУСАЛ».

При разработке проекта и строительстве Научного клинико-диагностического центра эпидемиологии и микробиологии (НКДЦЭМ/CREMS) специалисты различных учреждений Роспотребнадзора при содействии ОК «РУСАЛ» использовали новейшие российские инженерные и медицинские разработки, были учтены все рекомендации международных медицинских организаций (ВОЗ, «Врачи без границ» и др.). Специалисты Роспотребнадзора обеспечивали методическое сопровождение всех этапов проектирования и ввода госпиталя в эксплуатацию, а также контролировали соблюдение требований биологической безопасности и противоэпидемического режима работы госпиталя.

Напряженная работа госпиталя в период эпидемии БВБЭ внесла существенный вклад в снижение заболеваемости и летальности от данной болезни, что, в конечном итоге, позволило ликвидировать эпидемические проявления и организовать текущий мониторинг за ситуацией.

Вместе с тем многие вопросы, связанные с контролем эпидемиологических рисков на национальном уровне после завершения эпидемии БВБЭ в Гвинейской Республике, остались нерешенными.

Продолжением российско-гвинейского сотрудничества стало создание Российско-Гвинейского научно-исследовательского центра эпидемиологии и профилактики инфекционных болезней, с целью укрепления потенциала Гвинеи и западноафриканского реги-

она в предотвращении эпидемий опасных инфекционных болезней и борьбе с ними. Этот уникальный научно-исследовательский лабораторный комплекс создан в соответствии с распоряжением Правительства Российской Федерации от 25.07.2015 № 1448-р. Проект является результатом плодотворного сотрудничества Роспотребнадзора и ОК «РУСАЛ» и стал примером успешной реализации принципов государственно-частного партнерства при решении важных социальных задач.

Для оснащения Центра Роспотребнадзором осуществлена поставка в Гвинейскую Республику лабораторного и экспедиционного оборудования (183 наименования, включая общелабораторное оборудование: термостаты, холодильники, автоклавы; лабораторную мебель; оборудование для обеспечения биологической безопасности проводимых работ: боксы биологической безопасности II и III классов; аналитическое оборудование: для проведения молекулярно-генетических исследований (ПЦР, секвенирование), иммунологических исследований (ИФА, МФА, биочипов), экспедиционное оборудование (автомобили, орудия лова, походное снаряжение, генераторы тумана и др.) на сумму 85 млн руб. (1,3 млн €), которое доставлено, установлено и введено в эксплуатацию при поддержке ОК «РУСАЛ». Всего было доставлено более 50 т высокоточного лабораторного и аналитического оборудования. Необходимо отметить, что около 60% лабораторного оборудования составляет оборудование российского производства.

Современное оснащение Центра позволяет проводить совместные научные работы, диагностические исследования, широкомасштабные экспедиционные работы, направленные на укрепление системы эпидемиологического надзора в Гвинейской Республике. Лабораторный комплекс располагает инженерными системами и аналитическим оборудованием на основе передовых диагностических технологий (ПЦР с учетом результатов в режиме реального времени, секвенирование, биочипы и др.), что обеспечивает проведение исследований на современном уровне, в максимально сжатые сроки и с соблюдением требований биологической безопасности.

Исследования проводятся с применением микробиологических, иммуносерологических и молекулярно-генетических методов для выявления возбудителей опасных инфекционных болезней бактериальной и вирусной этиологии, актуальных для Гвинейской Республики (всего более 30 нозологий), включая лихорадки Эбола, Ласса, холеру и др. Расчетная мощность лаборатории — до 500 исследований в сутки.

Кадровый состав Центра состоит из специалистов научных учреждений Роспотребнадзора и гвинейских эпидемиологов и микробиологов, прошедших обучение в России по проблемам распространения особо опасных, социально значимых и природно-очаговых инфекционных болезней.

Порядок функционирования Российско-Гвинейского научно-исследовательского центра эпидемиологии и профилактики инфекционных болезней определен подписанным в мае 2017 г. трехсторонним соглашением между РосНИПЧИ «Микроб», ОК «РУСАЛ» и Исследовательским институтом прикладной биологии Гвинеи (IRBAG). На работу с материалом, зараженным или подозрительным на зараженность ПБА I–IV групп патогенности, получено санитарно-эпидемиологическое заключение (срок действия до 2022 г.).

Необходимо отметить, что российско-гвинейское научно-техническое сотрудничество имеет долгую историю. В июле 1971 г. в Москве было подписано Межправительственное соглашение между СССР и Гвинейской Народной Революционной Республикой об организации в г. Киндия Научно-исследовательской вирусологической и микробиологической лаборатории (ВИМЛ), которая была открыта 20 ноября 1977 г. Ряд научных направлений ВИМЛ продолжают и на базе Российско-Гвинейского научно-исследовательского центра эпидемиологии и профилактики инфекционных болезней. Так, исследуются особенности экологии и распространения возбудителей опасных природно-очаговых инфекционных болезней (вирусов Эбола, Ласса, желтой лихорадки, Западного Нила, ден-

ге и др.), разрабатываются и апробируются новые средства индикации и профилактики опасных инфекционных болезней, представляющих угрозу как для Гвинеи, так и для всего западноафриканского региона.

С точки зрения тех уроков, которые извлечены из опыта ликвидации эпидемии БВВЭ, Центр выводит национальную систему эпидемиологического надзора и оперативного реагирования Гвинеи на новый уровень. Превентивный поиск патогенов в окружающей среде и оперативная индикация возбудителя в клиническом материале дают принципиальное преимущество в распознавании опасной ситуации, что в свою очередь позволяет проводить эффективные противоэпидемические и профилактические мероприятия на местном уровне, не позволяя возникать чрезвычайным ситуациям в области общественного здравоохранения международного значения.

Следует отметить, что функционирование Центра способствует российско-гвинейскому научно-техническому сотрудничеству в контексте взаимодействия на высшем уровне по широкому кругу задач, актуальных как для Гвинейской Республики, так и для Российской Федерации. Так, 28 сентября 2017 г., в рамках визита президента Гвинейской Республики Альфа Конде в Российскую Федерацию, состоялось подписание соглашения между Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека и Министерством здравоохранения Гвинейской Республики о сотрудничестве в области эпидемиологии и профилактики инфекционных болезней в Гвинейской Республике. В рамках подписанного соглашения открываются значительные перспективы сотрудничества в таких областях, как:

- практическое и методологическое содействие в организации санитарно-эпидемиологического надзора и контроля и реализации профилактических и противоэпидемических мер в борьбе с инфекционными и паразитарными заболеваниями;
- повышение потенциала служб Гвинейской Республики по предупреждению и оперативному осуществлению ответных мер на вспышки инфекционных заболеваний;
- подготовка кадров, в том числе высшей квалификации для учреждений, обеспечивающих санитарно-эпидемиологическое благополучие гвинейского населения;
- проведение совместных научных исследований с целью профилактики и борьбы с опасными инфекционными болезнями, природно-очаговыми заболеваниями.

Организация и проведение диагностических исследований на базе мобильного комплекса специализированной противоэпидемической бригады в Республике Гвинея в период эпидемии лихорадки Эбола в 2014 г.

А.Ю. Попова, В.А. Сафронов, Н'Ф. Магассуба, Д.В. Уткин, Г.Н. Одинокоев, О.В. Пьянков, А.А. Сергеев, С.А. Боднев, А.С. Кабанов, В.Е. Куклев, А.А. Лопатин, А.С. Раздорский, К.А. Никифоров, С.А. Щербакова, В.А. Терновой, А.П. Агафонов, В.Н. Михеев, В.В. Кутырев

В настоящее время в ряде стран Западной Африки наблюдается самое масштабное в истории эпидемическое распространение опасной болезни, вызванной вирусом Эбола (БВБЭ). Впервые БВБЭ была заподозрена в Республике Гвинея еще в декабре 2013 г. в г. Мельянду (префектура Гекеду), а уже к марту 2014 г. произошло распространение на восемь районов республики и соседние страны (Либерия и Сьерра-Леоне), в связи с чем Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) уведомила о вспышке инфекционной болезни, характеризующейся лихорадкой, тяжелой диареей, рвотой и высокой летальностью. Вирусологические исследования подтвердили в качестве возбудителя болезни вирус вида *Zaire ebolavirus* (EBOV), причем полногеномное секвенирование и филогенетический анализ показали, что EBOV, выделенный в Гвинею, образует отдельную ветвь по отношению к уже известным штаммам [3].

В связи с неуклонно ухудшающейся эпидемической обстановкой по БВБЭ в странах Западной Африки в 2014 г. и возникновением реальной угрозы распространения болезни за пределы Африканского континента ВОЗ 08.08.2014 г. объявила вспышку лихорадки Эбола чрезвычайной ситуацией (ЧС) в области общественного здравоохранения, имеющей международное значение [4]. Главам государств рекомендовано объявить ЧС на национальных территориях, что предусматривает меры по ограничению передвижения людей, вплоть до введения карантина.

Основными проблемами, обусловившими столь масштабное распространение БВБЭ в странах Западной Африки, стали отсутствие средств лечения и профилактики, недостаточность национальных возможностей по оперативной диагностике, невозможность своевременной и полноценной реализации ограничительных мероприятий.

В соответствии с официальным обращением Гвинейской Республики к Российской Федерации об оказании помощи в борьбе с БВБЭ, на основании Поручения Правительства Российской Федерации от 07.08.2014 № СП-П12-5959 и во исполнение приказа Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека от 19.08.2014 г. группа специалистов и два лабораторных модуля мобильного комплекса специализированной противоэпидемической бригады (СПЭБ) направлены спецбортом Ил-76 МЧС в Гвинейскую Республику, г. Конакри.

В группу специалистов СПЭБ включены 2 эпидемиолога и 2 бактериолога РосНИПЧИ «Микроб», 2 вирусолога ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», а также инженер и водитель (РосНИПЧИ «Микроб»).

На территории Национального госпиталя «Донка» развернуты штаб и лабораторная база, которые незамедлительно приступили к работе во взаимодействии с Министерством здравоохранения и общественной гигиены Гвинейской Республики и такими международными организациями как ВОЗ, ООН, «Врачи без границ», Международный красный крест.

Основной целевой установкой явилось обеспечение безопасности личного состава и имущества СПЭБ. В соответствии с данной установкой обеспечено неукоснительное выполнение правил биологической безопасности при обращении с патогенными биоло-

гическими агентами и правил безопасного поведения в стране пребывания. Функционирование СПЭБ осуществлялось под постоянным контролем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека при непосредственном участии Посольства (Консульства) Российской Федерации в Гвинее.

В задачи СПЭБ входило:

1. Проведение диагностических исследований материала от больных (трупов), подозрительных на БВВЭ и реконвалесцентов.
2. Консультирование и защита российских граждан, находящихся в Гвинее, от угроз, связанных с БВВЭ (включая помощь в дооснащении здравпунктов и изоляторов).
3. Оказание консультативно-методической помощи международным организациям и гвинейским специалистам по вопросам планирования и проведения мероприятий по локализации и ликвидации эпидемических очагов БВВЭ.

■ Материалы и методы

Лабораторная диагностика БВВЭ организована в двух лабораториях мобильного комплекса СПЭБ на базе кузова-фургона и прицепа автомобиля «КАМАЗ», модифицированных с учетом особенностей конструкции бактериологической лаборатории и лаборатории индикации. Внутри кузов разделен на лабораторный блок, помещение для снятия верхней одежды, надевания рабочей одежды, душевую, тамбур-шлюз для снятия защитной одежды и технический отсек, изолированный от помещения лаборатории. Мобильный комплекс обеспечивает проведение работ с микроорганизмами I–II групп патогенности в соответствии с СП 1.3.3118-13 [1]. Мобильный комплекс оснащен современным оборудованием для проведения лабораторной диагностики особо опасных инфекционных болезней.

В лаборатории индикации, оснащенной боксами биологической безопасности II и III класса, осуществляли разбор и подготовку проб к исследованию, обеззараживание проб для ПЦР, серологические исследования, обеззараживание и деструкцию отходов путем автоклавирования. В бактериологической лаборатории, оснащенной боксом биологической безопасности II класса и ПЦР-боксом, проводили выделение РНК из обеззараженного биологического материала и ПЦР с учетом результатов в режиме реального времени.

Для диагностики лихорадки Эбола использовали зарегистрированные ПЦР-тест-системы отечественного производства «Вектор-ПЦР_{РВ}-ЭболаRG» (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор») и «АмплиСенс EBOVZair1-FL» (ООО «ИнтерЛабСервис»). Тест-система «Вектор-ПЦР_{РВ}-Эбола-RG» направлена на выявление L гена филовирсов, кодирующего вирусную полимеразу, область амплификации тест-системы «АмплиСенс EBOVZair1-FL» расположена на участке гена нуклеопротеина (NP).

Первичную подготовку и обеззараживание проб для ПЦР-исследования проводили в индикационной лаборатории, в боксе биологической безопасности III класса в соответствии с МУ 1.3.2569-09 [2]. Последующие этапы ПЦР-анализа проводили в бактериологической лаборатории: этапы выделения РНК — в боксе биологической безопасности II класса, сбор реакционной смеси для обратной транскрипции и ПЦР — в ПЦР-боксе. Выделение РНК из исследуемых образцов осуществляли с использованием «Комплекта реагентов для экстракции РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп» (ПУ ФСР 2008/03147) производства ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора. Обратную транскрипцию РНК и амплификацию кДНК проводили на программируемом амплификаторе роторного типа с гибридизационно-флуоресцентной детекцией специфических продуктов амплификации — Rotor-Gene Q (Qiagen GmbH, Германия).

■ Результаты и обсуждение

В течение трех месяцев работы (с 26.08.2014 г. по 26.11.2014 г.) исследованы 479 проб клинического материала (сыворотка, кровь) от лиц с подозрением на БВВЭ и материал от трупов (кровь, смывы из ротовой полости). РНК вируса Эбола обнаружена в 133 пробах, что составило 27,8% от всего исследуемого материала (табл. 1).

Результаты оценки качества лабораторной диагностики зашифрованных образцов, поступавших в первоначальный период валидации в лаборатории МК СПЭБ из референс-лаборатории Института Пастера (Дакар) и лаборатории геморрагических лихорадок в Гвинее, показали высокую чувствительность и специфичность российских тест-систем, что позволило включить МК СПЭБ Роспотребнадзора в систему международного реагирования как самостоятельную единицу.

Для дифференциальной диагностики с другими опасными инфекционными болезнями, имеющими сходные симптомы с лихорадкой Эбола, 334 пробы исследовано на выявление генетических маркеров возбудителей лихорадки Марбург, желтой лихорадки, лихорадки Ласса, лихорадки денге, лихорадки Западного Нила, Крымской геморрагической лихорадки и лептоспироза с использованием отечественных тест-систем производства «Синтол» («ОМСкрин-Эбола/Марбург-РВ», «РС-ЖЛ», «РС-ЛАС») и ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора («АмплиСенс Dengue virus type-FL», «АмплиСенс WNV-FL», «АмплиСенс CCHF-FL», «АмплиСенс Leptospira-FL»). В результате проведенных исследований РНК вирусов Марбург, желтой лихорадки, вирусов Ласса, лихорадки Денге, Западного Нила, Крымской-Конго геморрагической лихорадки и возбудителя лептоспироза не обнаружена. Это согласуется с данными ВОЗ, в соответствии с которыми случаи заболевания лихорадкой Ласса в Гвинее не были отмечены с 2002 г., желтой лихорадки — с 2011 г.

Параллельно проводился мониторинг социально значимых инфекций: гепатитов А, В, С и ВИЧ с использованием тест-систем «АмплиСенс HAV-FL» и «АмплиСенс HCV/HBV/HIV-FL» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора). Всего исследовано 280 проб на наличие РНК вируса гепатитов А, С, вируса иммунодефицита человека типа 1 (ВИЧ-1), вируса иммунодефицита человека типа 2 (ВИЧ-2), ДНК вируса гепатита В.

В результате исследования 280 проб:

- РНК вируса гепатита А не обнаружена, в связи с тем, что больные с клиническими проявлениями гепатита А были исключены из исследуемой выборки на этапе постановки клинического диагноза (материал не вошел в исследование);
- РНК вируса гепатита С обнаружена в 1 пробе, что составило 0,4%;
- РНК ВИЧ-1 обнаружена в 17 пробах (6,1%), из них в 4 (23,5%) отмечены коинфекция ВИЧ-1 и гепатита В, в 1 пробе (5,9%) — коинфекция ВИЧ-1, гепатита В и вируса Эбола;
- РНК ВИЧ-2 не обнаружена;
- ДНК гепатита В обнаружена в 66 пробах (23,6%), причем в 35 пробах (53%) обнаружена и РНК вируса Эбола, что может свидетельствовать о наличии суперинфекции или коинфекции, в 31 пробе (47%) — РНК вируса Эбола не обнаружена.

Вопрос о наличии сопряженности двух маркеров требует дальнейшего изучения и расширения выборки исследуемых проб. Наличие коинфекции может усугублять течение болезни [4, 6]. Результаты исследования представлены в табл. 2.

Высокий уровень выявления генетических маркеров гепатита В согласуется с данными ВОЗ о распространенности гепатита В в странах Западной Африки. Большинство жителей этих регионов приобретают инфекцию гепатита В в детстве, а от 5 до 10% взрослого населения имеют хроническую инфекцию. В распространении вируса гепатита В может играть роль ритуал скарификации кожи у подростков с использованием нестерильных инструментов [6].

Штаммы вируса Эбола, являющиеся причиной текущей вспышки, вероятно, имеют общего предка со штаммом, вызвавшим вспышку в 1976 г. Обнаружено, что линия, вызвавшая настоящую вспышку, произошла

Таблица 1. Распределение исследуемых проб по видам материала

Вид материала	Наличие РНК вируса Эбола		Всего
	РНК вируса Эбола «+»	РНК вируса Эбола «-»	
Кровь	19 (14,3)*	25 (7,3)	44 (9,2)
Сыворотка	11 (8,3)	16 (4,6)	27 (5,6)
Сыворотка	103 (77,4)	305 (88,1)	408 (85,2)
Итого	133 (100)	346 (100)	479 (100)

*В скобках — процент.

от варианта центральноафриканского вируса около 10 лет назад [5]. Выявлено более 395 генетических замен, отличающих геном вируса лихорадки Эбола 2014 г. от геномов вирусов, вызвавших предыдущие вспышки заболевания (рис., вклейка, с. I).

При анализе 100 полногеномных нуклеотидных последовательностей вируса Эбола, депонированных в базе данных NCBI GenBank (National Center for Biotechnology Information, США) установлено, что варианты вируса, выявленные в ходе вспышки БВБЭ в Западной Африке в 2014 г., делятся на две подгруппы, отличающиеся наличием четырех сцепленных точечных мутаций в позициях 800 н. (ген NP), 8928 (ген VP30), 15 963 и 17 142 н. (ген L). Мутация в позиции 800 н. приводит к замене аминокислот Arg→Cys, остальные три мутации влияния на аминокислотные последовательности вирусных белков не оказывают. Представители первой группы выделены в городах Гекеду и Кисидугу (Республика Гвинея) и в г. Кенема (Сьерра-Леоне); представители второй группы выделены в г. Кенема (Сьерра-Леоне). Внутри данных подгрупп установлена 100% генетическая стабильность вариантов.

Налажено эффективное сотрудничество с Министерством Здравоохранения и международными организациями, что позволило валидировать и интегрировать МК СПЭБ Роспотребнадзора в общую систему борьбы с лихорадкой Эбола в Западной Африке.

За три месяца работы было исследовано 479 проб клинического материала и получены новые научные данные об особенностях генома циркулирующих штаммов вируса Эбола и возможной корреляции гепатита В и БВБЭ.

Продолжающаяся практическая работа СПЭБ Роспотребнадзора на международном уровне уже получила общественное признание и высокую оценку руководства Гвинеи в связи с существенным вкладом в борьбу с эпидемией БВБЭ.

■ Список литературы

1. Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности). СП 1.3.3118-13.
2. Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности. МУ 1.3.2569-09.
3. 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 V., Gabriel M., Pahlmann M., 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: 1418–1425.
4. Bald I., Camara A., Baldé O., Magassouba N.F., Bah M.S., Makané A., Gamy E.P. Malaria and HIV infection: clinical and biological aspects at Donka National Hospital in Conakry, Guinea. *Med. Trop. (Mars)*. 2010; 70 (4): 349–352.
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., Fonnie M., Moigboi A., Gbokie 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., 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): 1369–1372.
6. Ranjbar R., Davari A., Izadi M., Jonaidi N., Alavian S.M. HIV/HBV Co-infections: epidemiology, natural history, and treatment: a review article. *Iran Red. Crescent. Med. J.* 2011; 13 (12): 855–862.

Таблица 2. Распределение исследуемых проб по видам выявленных генетических маркеров

Маркеры				Количество положительных проб (в скобках %)
РНК вируса Эбола	ДНК гепатита В	РНК гепатита С	РНК ВИЧ-1	
+	+	+	–	1 (0,4)
+	+	–	–	35 (12,5)
+	–	–	–	44 (15,8)
–	+	–	–	26 (9,4)
–	+	–	+	4 (1,4)
–	–	–	+	12 (4,3)
–	–	+	–	1 (0,4)
–	–	–	–	156 (55,8)
Итого				280 (100)

Подготовка специалистов научных, ветеринарных и медицинских учреждений Гвинейской Республики на курсах повышения квалификации в 2015–2017 гг.

Е.В. Найденова, Т.А. Малюкова, В.Е. Куклев, Ж.А. Касьян, А.М. Поршаков, В.А. Сафронов, А.А. Лопатин, С. Бумбали, М.И. Буаро, Ю.А. Попов, С.А. Щербакова, В.В. Кутырев

Одной из важнейших задач как в комплексе проведения мероприятий по борьбе с болезнью, вызванной вирусом Эбола (БВБЭ), так и в рамках последующей работы является подготовка медицинских и научных кадров Гвинейской Республики.

Основные вопросы эпидемиологии, клиники, лабораторной диагностики, противоэпидемических мероприятий, связанных с эпидемией БВБЭ, а также мерах профилактики, обеспечения биологической безопасности были рассмотрены на семинарах, которые проводили российские специалисты. Академиком В.В. Малеевым был проведен семинар, в котором принимали участие более 100 человек — работников здравоохранения, представителей научно-исследовательских институтов, а также медицинского персонала госпиталей.

После окончания эпидемии, вызванной вирусом Эбола, вопрос подготовки квалифицированных национальных кадров продолжает оставаться актуальным.

В рамках реализации Распоряжения Правительства РФ от 25 июля 2015 г. № 1448-р о финансировании российско-гвинейского научно-технического сотрудничества в области изучения эпидемиологии, профилактики и мониторинга бактериальных и вирусных инфекций в Гвинейской Республике в 2015–2017 гг. было проведено обучение специалистов Гвинеи.

На первом этапе данной работы необходимо было решить ряд важных задач:

1. определить темы курсов обучения и их количество;
2. обозначить места проведения обучения — учебные базы;
3. сформировать группы специалистов Гвинейской Республики в соответствии с тематикой;
4. обозначить профессиональные критерии, уровень знаний и умений, которыми должны обладать обучающиеся;
5. разработать ряд учебных программ (темы лекций и практических занятий) и составить расписание занятий;
6. определить преподавательский состав, который будет участвовать в обучении;
7. составить тексты лекций и перевести их на французский язык, подготовить видеолекции;
8. определить формат проведения практических занятий и перечень необходимого для их проведения лабораторного оборудования, посуды и расходных материалов;
9. обеспечить уровень биологической безопасности при проведении занятий на курсах;
10. оборудовать учебные помещения для проведения теоретических и практических занятий;
11. утвердить формы проведения итоговой аттестации после окончания обучения по каждой программе.

В качестве организатора и координатора проведения обучения выступал ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», действующий на основании лицензии на право ведения образовательной деятельности в сфере профессионального образования № 2198, выданного Федеральной службой по надзору в сфере образования и науки 29.11.2011. Для решения поставленных задач была выбрана сетевая форма обучения. В качестве учебных баз ре-

шено использовать Научно-исследовательский институт прикладной биологии Гвинеи (бывший Институт Пастера Гвинеи), ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии». В проведении обучения принимали участие преподаватели из РосНИПЧИ «Микроб» (г. Саратов), Института эпидемиологии и микробиологии им. Пастера (Санкт-Петербург), ЦНИИ эпидемиологии (Москва) и ГЦ ВБ «Вектор» (п. Кольцово, Новосибирская область). На основании полученного обучения, уровня профессиональной подготовки, вида выполняемых работ были сформированы отдельные группы специалистов Гвинейской Республики для работы по разным программам обучения.

Также одним из ответственных этапов являлась разработка учебных программ по отдельным темам, определение оптимальной продолжительности каждой из них, подготовка расписания, лекционного материала, плана практических занятий, перечня необходимого оборудования, расхода реактивов, тест-систем, питательных сред, дезинфицирующих средств. Осуществлен перевод на французский язык лекционного материала и подготовленных методических пособий.

В результате работы был составлен перечень следующих тем курсов:

1. «Основы безопасной работы с ПБА»;
2. «Современные методы эпидемиологического надзора ВИЧ-инфекции. Иммунизация на практике»;
3. «Совершенствование эпидемиологического надзора за корью в Гвинейской Республике в рамках реализации программы ВОЗ по элиминации кори»;
4. «Лабораторная диагностика кори и других экзантемных инфекций»;
5. «Надзор за возбудителями инфекционных заболеваний, передающихся пищевым путем»;
6. «Лабораторная диагностика вирусного гепатита С»;
7. «Обеспечение безопасности работ в микробиологической лаборатории. Инфекционные болезни, актуальные для Гвинейской Республики»;
8. «Эпидемиология, лабораторная диагностика и профилактика вирусных гепатитов и ВИЧ-инфекции»;
9. «Лабораторная диагностика брюшного тифа и других диарейных заболеваний»;
10. «Основы методов ПЦР и ИФА при осуществлении лабораторной диагностики опасных инфекционных болезней»;
11. «Молекулярная диагностика РНК вируса лихорадки Эбола и социально значимых инфекций»;
12. «Аварии при работе с ПБА. Лабораторные инфекции».

Рабочим языком при обучении являлся французский, в связи с чем в проведении теоретических, демонстрационных и практических занятий были задействованы профессиональные переводчики.

Важным этапом обучающего процесса являлось проведение итоговой аттестации с целью оценки уровня полученных знаний и приобретенных навыков. Для проведения этого этапа работы были выбраны две формы проведения заключительного экзамена: собеседование и тестирование.

Всего обучение прошли более 400 специалистов различных учреждений Гвинейской Республики. После прохождения курсов всем обучающимся были выданы удостоверения об окончании курсов стандартного образца.

Болезнь, вызванная вирусом Эбола

Универсальная модель локальных эпидемий, вызываемых возбудителями особо опасных инфекций

А.Г. Бачинский, А.Ф. Низоленко

■ Материалы и методы

В ГНЦ ВБ «Вектор» разрабатывается модель локальных, то есть развивающихся в замкнутой популяции, эпидемий/вспышек, адаптированная к возбудителям таких инфекций, как натуральная оспа, сибирская язва, чума (легочная и бубонная формы), геморрагические лихорадки Эбола, Марбург, Ласса, Крымская-Конго, грипп. Структура модели и схема перехода между переменными опубликованы ранее [7].

Для адаптации модели к выбранному возбудителю собираются все доступные данные о патогенезе, эпидемиологии, профилактике и лечении заболевания. На их основании задаются параметры моделирования, такие как продолжительность стадий заболевания, относительная инфекционность и смертность больных, продолжительность вакцинального периода и др. Если доступны более или менее качественные данные о динамике вспышек [4, 7, 8], они используются, с одной стороны, для подбора параметров, а с другой, для верификации модели по отношению к данному возбудителю, то есть адекватного описания вспышек с учетом мер противодействия. Для перехода от одной инфекции к другой, достаточно задать соответствующий набор параметров. Предполагается, что такого рода относительно простая структура модели достаточна для описания основных особенностей развития эпидемий, учитывая то обстоятельство, что данные для адаптации более сложных структурированных моделей, как правило, отсутствуют.

Основные положения модели базируются на концепции моделирования эпидемий, предложенной Б.В. Боевым [5], которая, в свою очередь, основывается на работах О.В. Барояна и Л.А. Рвачева [1–3]. Принципиальное положение ее состоит в том, что инфицированный человек проходит последовательно ряд стадий заболевания, например, скрытый (латентный, инкубационный) период, стадия продромы, инфекционная стадия. Для каждой из стадий, в зависимости от времени пребывания в ней, задаются функции, определяющие вероятность (долю) ежедневного перехода в следующую стадию, выздоровления, смерти, интенсивности выделения инфицирующего агента (инфекционности) и ряд других.

Разрабатываемая модель относится к классу SEIRF, то есть в популяции некоторого населенного пункта или региона выделяются следующие группы населения:

- неинфицированные лица, чувствительные к инфекции (иммунные и без иммунитета; находящиеся в стадии формирования иммунитета после вакцинации; лица, бывшие в контакте с уже инфицированными, в том числе выявленные и наблюдаемые/изолированные; лица, имеющие первичные неспецифические симптомы заболевания — подозрительные — наблюдаемые или изолированные);
- инфицированные лица, находящиеся в латентной стадии, кластеризованные так же;
- инфицированные лица, находящиеся во второй стадии заболевания, обычно продромы;
- инфицированные лица, находящиеся в «финальной» стадии развития заболевания, имеющие легкую или тяжелую форму заболевания;
- поправившиеся, имеющие стойкий иммунитет на период моделируемой вспышки;
- лица, умершие в результате заболевания.

Моделируются следующие процессы:

- формирование «инфекционной напряженности» за счет возможного внешнего источника инфекции и/или инфекционности не изолированных больных, находящихся во второй/третьей стадии развития заболевания;

- естественное снижение (повышение) активности внешнего источника инфекции;
- инфицирование чувствительных лиц в зависимости от инфекционной напряженности и состояния их иммунитета;
- формирование класса контактных пропорционально числу вновь инфицированных чувствительных лиц;
- инфицирование контактных с повышенной по сравнению с остальными скоростью;
- вероятностный переход из одной стадии развития заболевания в другую;
- выздоровление;
- смерть больных. Смертность снижается, если больные подвергаются лечению.

В модели предусматривается реализация трех режимов противоэпидемических мероприятий (ПЭМ), определяющих, в основном, скорость выявления и изоляции (наблюдения) инфицированных, контактных и подозрительных лиц:

- «мягкий» режим (ПЭМ1), при котором изолируются больные, самостоятельно обратившиеся к врачу, реализуется пока нет сведений о начавшейся эпидемии (вспышке);
- «умеренный» режим (ПЭМ2), при котором увеличивается скорость изоляции больных, а также происходит изоляция (наблюдение) контактных и подозрительных лиц. Этот режим реализуется, например, когда подтвердились сведения о начавшейся вспышке/эпидемии, но еще не прошла мобилизация резервов;
- «жесткий» режим (ПЭМ3), при котором еще увеличивается скорость изоляции больных, а также происходит активный поиск и изоляция (наблюдение) контактных и подозрительных лиц, включая подворный обход. Обычно при реализации этого режима снимаются ресурсные ограничения, так как предполагается мобилизация необходимых ресурсов из других регионов.

Кроме этих трех режимов для некоторых инфекций задается массовая вакцинация, характеризующаяся охватом и периодом ее проведения, профилактический прием лекарственных препаратов, а также карантин, характеризующийся степенью активности, снижающей скорость инфицирования.

Все указанные меры противодействия реализуются при наличии соответствующих ресурсов, к которым относятся квалифицированный медперсонал, места для изоляции/наблюдения больных, контактных и подозрительных на заболевание лиц, запасы профилактических и лекарственных средств. При исчерпании ресурсов, уровни активности соответствующих мер могут быть снижены вплоть до полного прекращения.

Модель доступна по адресу <http://vector-epimod.ru>, снабжена Web-интерфейсом и Руководством пользователя, в котором описан порядок выполнения всех операций.

Проведена верификация модели путем аппроксимации реальных данных о вспышках оспы в городах Европы расчетными данными. Ретроспективные данные включают описания вспышек оспы в Югославии (1972 г.), Брайтоне (1950–1951 гг.), Билстоне (1947 г.), Москве (1959–1960 гг.), Стокгольме (1963 г.), Кардиффе (1962 г.) [6]. При верификации варьируемыми параметрами были только среднее число инфицированных от одного больного до и после начала проведения противоэпидемических мероприятий и параметры скорости изоляции больных и контактных [4]. Примерно таким же образом верифицировалась модель по данным о вспышках геморрагической лихорадки Эбола [7, 8] и пандемии гриппа H1N1 2009–2010 гг. (по данным официального сайта ВОЗ).

■ Результаты и обсуждение

Для каждой из моделируемых инфекций определен набор параметров по умолчанию. Этот набор соответствует некоторому умеренно-оптимистическому сценарию, для «модельного» населенного пункта — города-миллионника. Для натуральной оспы, например, предполагается, что среднее число инфицируемых от одного больного в полностью чувствительной популяции равно восьми. Значение этого параметра определено на ос-

нове анализа вспышек оспы в европейских городах в прошлом веке [4, 6] и адаптировано к условиям современных мегаполисов. Уровень коллективного иммунитета задается равным 10%, что фактически соответствует естественному фону пониженной восприимчивости отдельных индивидуумов к относительно небольшим инфицирующим дозам при случайных контактах больных со здоровыми. Внешний источник инфекции отсутствует. В начальный момент времени в популяции оказывается 500 инфицированных человек в латентной стадии. Задаются ресурсы этого города:

- число медработников, занятых в ликвидации эпидемии — 2000;
- запас доз вакцины для массовой вакцинации — 100 000;
- запасы лекарства (на один курс лечения) — 1000;
- число мест строгой изоляции больных — 300, в провизорных госпиталях — 2500, в изоляторах для контактных — 1000.

Основные параметры, управляющие включением контрмер (ПЭМ), имеют следующие значения: условие включения «мягкого» режима ПЭМ — по достижении критического числа больных в стадии сыпи (30) или через 20 сут после начала вспышки, что раньше, запаздывание включения ПЭМ2 по отношению к ПЭМ1 — 5 сут, запаздывание ПЭМ3 по отношению к ПЭМ2 — 5 сут, время запаздывания начала вакцинации после ПЭМ1 — 5 сут, объем массовой вакцинации — 80%, введение карантина после ПЭМ2 через 5 сут, интенсивность карантина 50%. Этот набор параметров обозначен как «нулевой» вариант.

Основные моменты вспышки отображаются в протоколе расчетов: день 17: включены — ПЭМ1, день 22 — включается ПЭМ2, день 22 — начинается массовая вакцинация, день 22 — нехватка пунктов вакцинации, день 22 — нехватка мест изоляции контактных, день 22 — нехватка медбригад, день 23 — нехватка мест изоляции, день 23 — нехватка мест изоляции подозрительных, день 25 — недостаток вакцины, день 27 — включается ПЭМ3 ресурсные ограничения сняты, день 27 — введен карантин.

Кроме текущих и накопленных значений переменных модели, выдаются некоторые сводные характеристики, включающие общее число инфицированных, изолированных больных, изолированных контактных, изолированных подозрительных, человеко-дней изолированных контактных, человеко-дней изолированных подозрительных, человеко-дней изолированных больных, дней карантина, число умерших.

Для «нулевого» варианта к 50-му дню расчетов вспышка не закончилась, но, в силу снятия ресурсных ограничений, фактически купирована, так как почти все больные к этому моменту изолированы, новых инфицированных нет. Надо заметить, что число лиц, инфицированных за сутки, снижается уже после двадцатого дня, отчасти из-за того, что «первично-инфицированные» 500 человек уже начинают выздоравливать, отчасти же из-за эффективных мер противодействия.

Если ресурсные ограничения сохраняются и во время ПЭМ3, картина резко меняется. Вспышка к 50-му дню далеко не закончилась: более 1400 человек инфицируются в сутки. Суммарное число инфицированных за это время составило более 23 000 человек (и это число увеличивается), против примерно 4700 в «нулевом» сценарии. Сравнение динамики вспышки в этом случае и при «нулевом» наборе параметров приведено на рис. 1.

Для проверки влияния тех или иных ограничений на динамику вспышки, наличие каждого из ресурсов по отдельности было увеличено десятикратно. Данные по суммарному числу инфицированных приведены на рис. 2 (вариант 1).

Результаты приведенных расчетов показывают, что снятие любого из ресурсных ограничений по отдельности не приводит к кардинальному улучшению ситуации. Только увеличение запаса вакцины снижает число инфицированных в 2 раза на промежутке в 50 дней. Некоторое улучшение ситуации дает также увеличение числа мест изоляции больных или контактных лиц. Все остальные факторы влияния не оказывают.

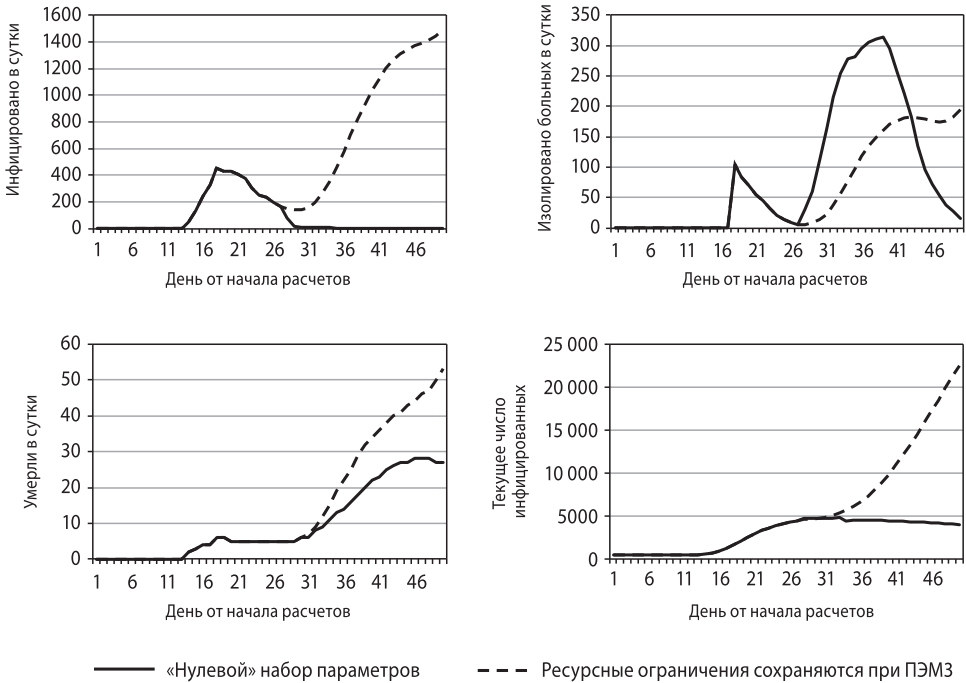


Рисунок 1. Сравнение динамики вспышки натуральной оспы при «нулевом» наборе параметров и при условии, что ресурсные ограничения сохраняются при ПЭМЗ

На фоне десятикратного увеличения запасов вакцины, снимались ограничения по одному из тех остальных ресурсов, по которым наступал дефицит. В этом случае к наилучшему результату логично приводило отсутствие дефицита пунктов вакцинации, то есть возможность проводить ее достаточно оперативно. Немного меньший эффект давало увеличение числа мест изоляции больных или контактных лиц (рис. 2, вариант 2).

Сняв дефицит доз вакцины и пунктов вакцинации, опять увеличивали количество других ресурсов по отдельности. В этом случае максимальный эффект дает увеличение числа мест изоляции больных, чуть меньше — контактных (рис. 2, вариант 3).

Вариант 4 на рис. 2 представляет влияние оставшихся ресурсов на результаты моделирования при отсутствии серьезного дефицита вакцинации и мест изоляции больных. Обеспечив достаточное количество медбригад, получаем общее число инфицированных даже меньше, чем в «нулевом» варианте.

Таким образом, расчеты показывают, что только комплекс эффективных мер противодействия способен ликвидировать вспышку в приемлемые сроки и с минимальными потерями.

Следует отметить, что возможность беспрепятственной изоляции больных и контактных лиц (одновременное отсутствие дефицита мест и медбригад для ее осуществления) даже при полном отсутствии вакцинации дает заметно лучший результат, чем вакцинация 80% населения, если имеются проблемы с изоляцией (4190 инфицированных лиц против 6986). Но, учитывая разницу в материальных затратах на содержание мест изоляции и вакцинацию, именно массовая вакцинация по-прежнему остается оптимальной мерой противодействия эпидемии натуральной оспы.

Все расчеты были проведены на сервере ГНЦ ВБ «Вектор».

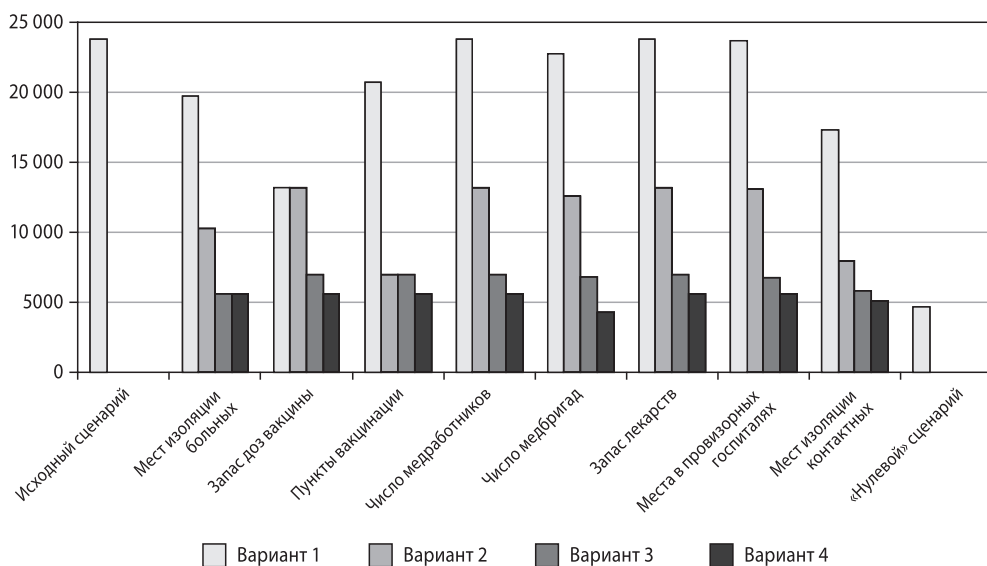


Рисунок 2. Влияние ресурсных ограничений на последствия эпидемии натуральной оспы

«Исходный» сценарий, при котором ресурсные ограничения сохраняются при ПЭМЗ. Нулевой сценарий — сценарий с набором параметров, принятых по умолчанию. *Вариант 1* — наличие каждого из ресурсов по отдельности увеличено десятикратно по сравнению с «исходным» сценарием. *Вариант 2* — на фоне десятикратного увеличения запасов вакцины сняты ограничения по одному из остальных ресурсов. *Вариант 3* — при отсутствии дефицита пунктов вакцинации и запасов вакцины сняты ограничения по одному из остальных ресурсов. *Вариант 4* — снятие ограничений по одному из остальных ресурсов при отсутствии дефицита мест изоляции больных и осуществлении полномасштабной вакцинации.

■ Заключение

В ГНЦ ВБ «Вектор» разрабатывается универсальная модель, описывающая динамику эпидемий (вспышек), вызываемых возбудителями особо опасных и социально значимых инфекций. В модели задается спектр основных мер противодействия, включающих вакцинацию, поиск и изоляцию/наблюдение больных лиц, контактных и лиц, подозрительных на заболевание, профилактический прием лекарственных средств, карантин. При расчетах могут задаваться параметры, определяющие специфичные для города (региона) ресурсы, ограниченность которых может влиять на интенсивность мер противодействия.

Проведенные расчеты с использованием модели эпидемии натуральной оспы позволяют ранжировать ресурсы по степени их «важности» для снижения потерь от эпидемий: запас вакцины, скорость вакцинации, определяемая числом пунктов вакцинации, число мест изоляции больных, число медбригад для поиска больных и контактных, и т. д. Естественно, все рассуждения справедливы с точностью до набора параметров модели.

Работа частично поддержана из средств ФЦП «Национальная система химической и биологической безопасности РФ 2009–2014 гг.».

■ Список литературы

1. Бароян О.В., Рвачев Л.А. Математика и эпидемиология. М.: Знание. 1977: 63.
2. Бароян О.В., Рвачев Л.А. Прогнозирование эпидемий гриппа в условиях СССР. *Вопросы вирусологии*. 1978; 2: 131–137.
3. Бароян О.В., Рвачев Л.А., Иванников Ю.Г. Моделирование и прогнозирование эпидемий гриппа для территории СССР. М.: ИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи. 1977: 546.

4. Бачинский А.Г. Математическая модель локальной эпидемии натуральной оспы с учетом мер противодействия и ресурсных ограничений. 30 лет после ликвидации оспы: исследования продолжаются. Под ред. Г.Г. Онищенко, И.Г. Дроздова. *Кольцово: Информ-Экспресс. 2010: 253–280.*
5. Боев Б.В., Макаров В.В. Компьютерное моделирование и прогнозирование эпидемий птичьего гриппа. *Ветеринарная патология. 2005; 3: 49–58.*
6. Серенко А.Ф. Заносные вспышки натуральной оспы. *М.: Медгиз. 1962: 120.*
7. Bachinsky A.G., Nizolenko L.Ph. A Universal Model for Predicting Dynamics of the Epidemics Caused by Special Pathogens. *BioMed Res. Int. 2013; ID 467078: 7. doi: 10.1155/2013/467078*
8. Outbreak of Ebola haemorrhagic fever, Uganda, August 2000–January 2001. *Wkly Epidemiol. Rec. 2001; 76 (6): 41–48.*

Районирование африканской природно-очаговой провинции в отношении филовирусных лихорадок

М.Ю. Щелканов, В.Г. Дедков, И.В. Галкина, Н'Ф. Магассуба,
Н. Зуманиги, Г.А. Шипулин, А.Ю. Попова, В.В. Малеев

Накопившаяся научная информация об эпидемических вспышках, этиологически связанных с вирусами семейства *Filoviridae* [4], требует их хорологической типизации для корректного прогнозирования активности природных очагов этих вирусов. Недостаточность подобного рода исследований наглядно продемонстрировала масштабная эпидемическая вспышка, вызванная эболавирусом Заир, в Западной Африке [11, 12], которая не укладывалась в существовавшие тогда представления о географическом распространении филовирусов.

В нашей предыдущей работе были обсуждены результаты лабораторных и полевых эколого-вирусологических исследований, свидетельствующие о том, что резервуаром филовирусов являются крыланы (*Chiroptera, Megachiroptera*) [10]. Эти данные будут использованы в настоящей работе.

■ Ландшафтная приуроченность природных очагов филовирусных лихорадок на территории Африки

Ареал филовирусных лихорадок в Африке располагается на территории Афротропического биогеографического региона [7] и имеет ранг природно-очаговой провинции. Этот уровень биохорологической классификации, в свою очередь, подразделяется на природно-очаговые районы (группы природных очагов) и на отдельные природные очаги [6, 8]. Более тонкая дифференцировка требует детального анализа природных условий и гораздо более глубоких мониторинговых исследований.

Природные очаги филовирусных лихорадок имеют характерную ландшафтную приуроченность: влажные экваториальные, субэкваториальные, тропические леса и влажные саваны (рис. 1, табл. 1). Особенно очевидна эта зависимость на востоке Африки: пассаты северного полушария, несущие сухие воздушные массы со стороны Евразии, приводят к понижению влажности в экваториальной части континента — в результате влажные леса заменяются здесь переменно-влажными и сухими саванами, и, соответственно, отсутствуют эпидемические и эпизоотические проявления циркуляции филовирусов. Осушающее действие северо-восточных пассатов приводит и к разрыву ареала филовирусов (между II и III на рис. 1).

Описанная ландшафтная приуроченность до сих не нашла своего строгого доказательного объяснения, поскольку ареал крыланов в Африке гораздо шире ареала распространения вирусов из семейства *Filoviridae*. Многие виды рукокрылых из подотряда *Megachiroptera*, характерные для природных очагов филовирусных лихорадок, распространены и на других территориях, где не отмечались эпидемии или эпизоотии. Например, в зоне Сахеля (сухих саван) встречаются¹ *E. helvum*, *E. gambianus*, *M. pusillus*. В пустыне Калахари типичным является *E. wahlbergi*. Чрезвычайно широким (хотя и разрывным) ареалом, включающем среднее течение Нила и юг Аравийского полуострова, обладает *R. aegyptiacus* (табл. 2) [16, 36, 38, 45]. Однако одного лишь наличия крыланов явно недостаточно для формирования природных очагов филовирусных лихорадок.

¹ Здесь и далее приводятся сокращенное лат. название крыланов; полное название и таксономическое положение см. в табл. 2.

Понятно, что лимитирующим фактором для распространения филовирусов не может быть сумма эффективных температур (во-первых, природный резервуар — крыланы — теплокровные; во-вторых, в восточной части континента, где сумма эффективных температур не ниже, чем в западной, природные очаги отсутствуют). Одной из возможных гипотез может быть взаимосвязь филовирусов с дерманиссоидными клещами сем. *Spinturnicidae* (*Acari: Dermanyssidae*), которые являются постоянными эктопаразитами рукокрылых. Хозяйско-паразитическая специализация спинтурницид настолько узкая, что одна эволюционная линия этого семейства связана исключительно с *Megachiroptera*, другая — с *Microchiroptera* [1, 48] (что объясняет, почему природный резервуар связан с крыланами, но не с летучими мышами). Выживаемость нимф *Spinturnicidae* зависит от относительной влажности окружающего воздуха, что могло бы являться объяснением приуроченности ареала филовирусов к влажным лесным и саванным ландшафтам. Однако нельзя исключить и более простого объяснения: именно в указанных ландшафтах имеется кормовая база для достаточно плотных популяций крыланов, в которых возможна эффективная контактная передача вируса.

Сформулированные гипотезы нуждаются в верификации в процессе полевых эколого-вирусологических и экспериментальных исследований.



Рисунок 1. Районирование природных очагов филовиральных лихорадок на территории Африки (цифровые и буквенные обозначения — см. табл. 1)

Условные обозначения для мест эпидемических вспышек: ● — эболавирус Заир (ZEBOV — *Zaire ebolavirus*); ■ — эболавирус Судан (SUDV — *Sudan ebolavirus*); ▲ — эболавирус леса Таи (TAFV — *Tai Forest ebolavirus*); ◆ — эболавирус Бундибуге (BDBV — *Bundibugyo ebolavirus*); ★ — марбургвирус Марбурга (Marburg *marburgvirus*). Условные обозначения для мест эпизоотических вспышек имеют ту же форму, но белый фон.

Таблица 1. Краткая характеристика природных условий в природных очагах филовиральных лихорадок на территории Африки (см. рис. 1)

Район	Природный очаг	Географическое положение	Ландшафты	Страны*	Эпидемические и эпизоотические вспышки**
I. Африканская природно-очаговая провинция	I.1. Казаманс	Приатлантическая низменность в междуречье Казаманс – Конкуре	a. казанманские переменно-влажные субэкваториальные леса;	Гамбия, юг Сенегала, Гвинея-Бисау, приатлантический северо-запад ГР	Нет данных
	I.2. Северо-Гвинейский	Северо-Гвинейская возвышенность с прилегающими приатлантическими низменностями	b. влажные саванны нагорий; c. экваториальные влажные леса на юго-восточных склонах нагорий; d. экваториальные влажные леса аккумулятивных низменностей;	ГР, Либерия, Сьерра-Леоне, запад Кот-д'Ивуара	(1) 1994 Ж-ТАФV: Кот-д'Ивуар (парк Там) [12] (2) 1994 Л-ТАФV: Кот-д'Ивуар (парк Там) [12]; Л (3) 1994 Ж-ТАФV: Кот-д'Ивуар (парк Там) [12] (4) 2013 Л-ZEBOV: Гвинея, Либерия, Сьерра-Леоне [11, 12]; Д→Г
	I.3. Вольта	Приатлантическая низменность в междуречье Сасандра – Веме	e. влажные саваны; d;	Кот-д'Ивуар, Гана, Того, Бенин	Имеются серологические подтверждения циркуляции филовирусов – см. в тексте
	I.4. Адамава	Плато Адамава с примыкающей приморской низменностью в устье р. Нигер	f. горные саваны; g. экваториальные влажные леса на северных, южных и западных склонах; h. типичные африканские саваны; i. экваториальные и тропические влажные леса;	юг Нигерии, юг Чада, север Камеруна, запад ЦАР	Имеются серологические подтверждения циркуляции филовирусов – см. в тексте
	I.5. Сан-Томе			Сан-Томе и Принсипи	Нет данных
II. Центральная африканская провинция	II.1. Южно-Гвинейский	Южно-Гвинейская возвышенность с прилегающими приморскими низменностями	d; j. экваториальные и субэкваториальные влажные леса;	юг Камеруна, РЭГ, Габон, РК, запад ДРК, запад ЦАР	(5) 1994 Л-ZEBOV: Габон (Мекунга) [28]; С→Г (6) 1996 Л-ZEBOV: Габон (Буе) [28, 29]; Л→Г (7) 1996 Ж-ZEBOV: Габон (Буе, Майбу) [56] (8) 2001 Л-ZEBOV: Габон (Мекамбо) [23]; Л→Г (9) 2001 Ж-ZEBOV: Габон (Мекамбо) [56] (10) 2001 Ж-ZEBOV: РК (Лосси) [49] (11) 2001 Л-ZEBOV: РК (Келле) [23]; Л→Г (12) 2002 Ж-ZEBOV: Габон [17] (13) 2002 Ж-ZEBOV: Габон (Задие) [49] (14) 2003 Л-ZEBOV: РК (Мбомо, Келле) [26]; Л→Г (15) 2005 Л-ZEBOV: РК (Этумби) [12]; Л→Г
	II.2. Катанга	Плато Бие с прилегающими приатлантическими низменностями и плато Катанга	b; d;	Ангولا, юг ДРК, северо-восток Замбии	(16) 2004 Л-ММАРV: Ангولا (Уиже) [53]; Д
	II.3. Конго	Впадина Конго	e; k. экваториальные постоянно-влажные леса с суточным ритмом увлажнения (гилей);	ДРК, ЦАР	(17) 1976 Л-ZEBOV: ДРК (Ямбуку) [25]; Л→Г (18) 1977 Л-ZEBOV: ДРК (Тандала) [33]; Д (19) 1995 Л-ZEBOV: ДРК (Кивит) [22]; Л→Г (20) 2007 Л-ZEBOV: ДРК (Луебо) [21]; Л→Г (21) 2014 Л-ZEBOV: ДРК (Бозанде) [41]; Л→Г

Африканская природно-очаговая провинция									
Район	Природный очаг	Географическое положение	Ландшафты	Страны*	Эпидемические и эпизоотические вспышки**				
II. Центральнаяафриканский	II.4. Азанде	Плато Азанде	е;	северо-восток ДРК, юго-восток ЦАР, юго-запад РЮС	(22) 1976 Л-SUDV: РЮС (Нзара) [12]; Л→Г (23) 1979 Л-SUDV: РЮС (Нзара) [15]; Л→Г (24) 1998 Л-MMARV: ДРК (Дурба) [24]; Д (25) 2004 Л-SUDV: РЮС (Ямбио) [46]; Д (26) 2012 Л-ZEBOV: ДРК (Исиро) [37]; Д (27) 2012 Л-BDBV: ДРК (Исиро) [57]; Л→Г				
	II.5. Рувензори	Горный массив Рувензори, долина оз. Кьоба, включая гору Элгон на востоке	е; к;	восток ДРК, запад Танзании, Уганда, запад Кении, юг РЮС	(28) 1967 Ж-MMARV: Уганда [19, 42] (29) 1980 Л-MMARV: Кения (Китум) [51]; С (30) 1987 Л-MMARV: Кения (Китум) [34]; С (31) 2000 Л-SUDV: Уганда (Тулу) [39]; Л→Г (32) 2007 Л-MMARV: Уганда (Китака) [44]; С (33) 2007 Л-BDBV: Уганда (Кабанго) [55]; Л (34) 2008 Ж-MMARV: Уганда (Китака) [14] (35) 2008 Л-MMARV: Уганда (Марамгамбо) [52]; С (36) 2011 Л-SUDV: Уганда (Накисамата) [50]; Д (37) 2012 Л-MMARV: Уганда (Ибанда) [35]; Д→Г (38) 2012 Л-SUDV: Уганда (Кибале) [13]; Д (39) 2014 Л-MMARV: Уганда (Мпиги) [60]; Д				
III. Юго-Восточнаяафриканский	III.1. Мафунгабуси	Плато Мафунгабуси с прилегающими возвышенностями	l. умеренно-влажными лесами мимбо;	Зимбабве, северо-восток ЮАР, запад Мозамбика, юг Малави	(40) 1975 Л-MMARV: Зимбабве [27]; Д				
	III.2. Драконовы горы	Обращённые к Индийскому океану склоны Драконовых гор	т. влажные субтропические леса;	восток ЮАР	Нет данных				
	III.3. Коморы	Коморские о-ва	п. тропические вечнозелёные леса;	Союз Коморских Островов и заморские территории Франции	Нет данных				
	III.4. Мадагаскар	О. Мадагаскар	р. экспозиционные влажные тропические леса; q. сухие саванновые леса;	Мадагаскар	Имеются серологические подтверждения циркуляции филовирусов – см. в тексте				
	III.5. Сейшелы	Сейшельские о-ва	п;	Республика Сейшельские Острова	Нет данных				
	III.6. Маскарены	Маскаренские о-ва	п.	Маврикий и заморские территории Франции	Нет данных				

* Используется краткое название африканских государств и следующие аббревиатуры: ГР — Гвинейская Республика; ДРК — Демократическая Республика Конго; РЭГ — Республика Экваториальная Гвинея; РЮС — Республика Южный Судан; ЦАР — Центральноафриканская Республика; ЮАР — Южно-Африканская Республика.

** Формат записей: (по рядковый номер, который используется на рис. 1 в данной работе и на рис. 2 в [10]). (год начала) {«l» — эпидемия; «Ж» — эпизоотия; «С» — эпизоотия типа эпидемии/эпизоотии — если известно} [литературная ссылка]; (тип эпидемической вспышки: «l» — городской; «Д» — деревенский; «П» — лесной; «С» — спелеогический; при изменении типа эпидемии в процессе ее развития, используется «→»). Прототипный штамм на рис. 2 может не соответствовать эпицентру эпидемии/эпизоотии. Например, эпицентр эпидемии в ДРК 1977 г., этиологически связанной с ZEBOV, находился в г. Тандала (18), а прототипный штамм ZEBOV-Bonduni (см. рис. 2 в [10]) был изолирован в г. Бондунни.

■ Характеристика природно-очаговых районов в составе Африканской провинции

Верхнегвинейский природно-очаговый район (I) берет свое название не от конкретной страны, а от исторического названия географического региона Верхняя Гвинея² в Западной Африке, расположенного южнее Сахеля вдоль северного побережья Гвинейского залива³. Этот район лежит в пределах группы субэкваториальных и экваториальных влажнелесных ландшафтов и включает 5 природных очагов: I.1. Казаманс; I.2. Северо-Гвинейский; I.3. Вольта; I.4. Адамава; I.5. Сан-Томе (рис. 1).

Казаманс (I.1) занимает приатлантическую низменность в междуречье Казаманс — Конкуре. Линия побережья Западной Африки здесь практически перпендикулярна направлению экваториального муссона, поэтому муссонный ритм выражен наиболее четко, а уровень осадков здесь составляет 4000–5000 мм/год при коэффициенте увлажнения выше 3. Казаманс покрыт переменнно-влажными тропическими и субэкваториальными лесами, которые дали название для особого типа «ландшафтов казаманского типа» [5]. В устьях рек — обширные мангровые леса. Видовое разнообразие крыланов в Казамансе несколько ниже по сравнению с территориями, расположенными восточнее: массово встречаются *E. helvum*, *E. gambianus*, *E. buettikoferi*, *M. pusillus*, *N. veldkampii*, *L. angolensis*, однако отсутствуют такие широко распространенные виды, как *R. aegyptiacus*, *E. franqueti*, *H. monstrosus* или *M. torquata* (табл. 2) [16, 36, 38, 45]. Эколого-вирусологическое обследование Казаманса в отношении филовирусов не проводилось.

Северо-Гвинейский (I.2) природный очаг располагается на Северо-Гвинейской возвышенности и прилегающих приатлантических низменностях. Возвышенности (Фута-Джаллон на западе и Леоно-Либерийского на востоке) покрыты субэкваториальными лесами и вторичными саваннами, южные и юго-восточные склоны, а также примыкающие приатлантические низменности — влажными экваториальными лесами [5]. Здесь встречаются крупные популяции нескольких видов крыланов: *E. helvum*, *R. aegyptiacus*, *E. gambianus*, *E. buettikoferi*, *H. monstrosus*, *M. pusillus*, *N. veldkampii*, *L. angolensis*, *M. woermanni*, *M. torquata*, *S. zenkeri*, *S. ophiodon* (табл. 2) [16, 36, 38, 45].

Первая научная информация о существовании Северо-Гвинейского природного очага была получена сотрудниками российско-гвинейской вирусологической лаборатории, работавшей в 1978–1991 гг. на базе Гвинейского Института им. Л. Пастера (г. Киндия) [2, 3], при описании эпидемической вспышки геморрагической лихорадки с летальностью свыше 30%, которая продолжалась с марта по август 1982 г. среди населения юго-восточной части плато Фута-Джаллон, в провинции Киндия, на границе Гвинейской Республики и Республики Сьерра-Леоне [9, 18]. Этиологический агент заболевания в то время идентифицировать не удалось, а «...особенности клинического течения болезни в наибольшей степени напоминают описанную симптоматику вирусных геморрагических лихорадок Марбург и Эбола» (цитируется по [9, с. 69]). Национальный парк Таи (Кот-д'Ивуар), где был изолирован TAFV, находится на восточных склонах Леоно-Либерийского плато и тоже входит в состав Северо-Гвинейского природного очага. Однако эти данные не были приняты во внимание должным образом, и когда в декабре 2013 г. началась эпидемия геморрагической лихорадки неясной этиологии в гвинейской провинции Нзерекоре на Леоно-Либерийском плато [11, 12], диагностика в отношении филовиральных лихорадок не проводилась почти три месяца — лишь 23.03.2014

² В переводе с берберского «Гвинея» означает «страна черных людей», и это слово входит в названия трех западноафриканских стран: Республики Гвинея-Бисау, Республики Гвинея и Республики Экваториальная Гвинея.

³ Нижняя Гвинея расположена вдоль восточного побережья Гвинейского залива от устья р. Санага у южных отрогов плато Адамава до устья р. Кванза.

Таблица 2. Распространение различных видов крыланов (*Chiroptera*, *Megachiroptera*) на территории африканских природных очагов филовирусных лихорадок

Сем./ подсем.	Род	Русское и латинское название	Английское название	Встречаемость*
Pteropodinae	Пальмовые крыланы (<i>Eidolon</i>)	Пальмовый крылан (<i>E. helvum</i>)	Straw-colored fruit bat	I.1-4, II.1-5, III.1-2
		Мадагаскарский крылан (<i>E. dupreanum</i>)	Madagascan fruit bat	III.4
	Летучие лисицы (<i>Pteropus</i>)	Альдабрская летучая лисица (<i>P. aldaobrensis</i>)	Aldabra flying fox	III.5
		Маврикийская летучая лисица (<i>P. niger</i>)	Mauritian flying fox	III.6
		Рыжая летучая лисица (<i>P. rufus</i>)	Madagascan flying fox	III.4
		Сейшельская летучая лисица (<i>P. seychellensis</i>)	Seychelles flying fox	III.3, III.5
	Летучие собаки (<i>Rousettus</i>)	Нильский крылан (<i>R. aegyptiacus</i>)	Egyptian rousette	I.2-4, II.1-2, II.45, III.1-2
		Длиннополосый крылан (<i>R. lanosus</i>)	Long-haired rousette	II.4-5
		Коморский крылан (<i>R. obliviosus</i>)	Comoro rousette	III.3
	крыланы (<i>Eromorphus</i>)	Ангольский эполетовый крылан (<i>E. angolensis</i>)	Angolan epauletted fruit bat	II.2
		Восточноафриканский эполетовый крылан (<i>E. anselli</i>)	Ansell's epauletted fruit bat	III.1
		Эполетовый крылан Петерса (<i>E. crypturus</i>)	Peters's epauletted fruit bat	III.1-2
		Гамбийский эполетовый крылан (<i>E. gambianus</i>)	Gambian epauletted fruit bat	I.1-4, II.1-2, II.4
		Малый ангольский эполетовый крылан (<i>E. grandis</i>)	Lesser Angolan epauletted fruit bat	II.3
		Эфиопский эполетовый крылан (<i>E. labiatus</i>)	Ethiopian epauletted fruit bat	II.4-5, III.1
		Восточноафриканский эполетовый крылан (<i>E. minimus</i>)	East African epauletted fruit bat	II.5
Eromorphinae	Биндемы (<i>Eromops</i>)	Эполетовый крылан Вальберга (<i>E. wahlbergi</i>)	Wahlberg's epauletted fruit bat	II.2-5, III.1-2
		Крылан Бюттикофера (<i>E. buettikoferi</i>)	Buettikofer's epauletted fruit bat	I.1-3
		Эполетовый крылан Добсона (<i>E. dobsoni</i>)	Dobson's epauletted fruit bat	II.2
		Эполетовый крылан Франке (<i>E. franqueti</i>)	Franquet's epauletted fruit bat	I.3-4, II.1-5
	Молотоголовые крыланы (<i>Hypsignathus</i>)	Молотоголовый крылан (<i>H. monstrosus</i>)	Hammer-headed bat	I.2-4, II.1-4
		Крылан Хеймана (<i>M. intermedius</i>)	Hayman's dwarf epauletted fruit bat	II.3
	Карликовые эполетовые крыланы (<i>Micropteropus</i>)	Карликовый эполетовый крылан (<i>M. pusillus</i>)	Peters' dwarf epauletted fruit bat	I.1-4, II.1-5

Окончание таблицы 2. Распространение различных видов крыланов (*Chiroptera*, *Megachiroptera*) на территории африканских природных очагов филовиральных лихорадок

Сем./ подсем.	Род	Русское и латинское название	Английское название	Встречаемость*
<i>Megachiroptera</i>	Коровьеобразные крыланы (<i>Nanonycteris</i>)	Коровьеобразный крылан (<i>N. veldkampii</i>)	Veldkamp's dwarf epauletted fruit bat	I.1-4, II.1
		Лиссониктерисы (<i>Lissonycteris</i>)	Angolan rousette	I.1-4, II.1-5, III.1
		Африканские длинноязычные крыланы (<i>Megalaloglossus</i>)	Woermann's fruit bat	I.2-4, II.1-2, II.45
	Ошейниковые крыланы (<i>Myonycteris</i>)	Ошейниковый крылан (<i>M. torquata</i>)	Little collared fruit bat	I.2-4, II.1-4
		Сантомейский крылан (<i>M. brachycephala</i>)	São Tomé collared fruit bat	I.5
		Крыланы Анхиеты (<i>Pterotes</i>)	D'Anchieta's fruit bat	II.2
	Казиниктерисы (<i>Casinycteris</i>)	Казиниктерис (<i>C. argyrmis</i>)	Short-palated fruit bat	II.1, II.4
		Крылан Ценклера (<i>S. zenkeri</i>)	Zenker's fruit bat	I.2-4, II.1, II.45
		Скотониктерисы (<i>Scatonycteris</i>)	Pohle's Fruit bat	I.2-4, II.1

*Нумерация природных очагов соответствует обозначениям на рис. 1 и в табл. 1.

Африканское Региональное Бюро ВОЗ объявило об эпидемии лихорадки Эбола, этиологически связанной с ZEBOV, в Гвинейской Республике; 29.03.2014 последовало подтверждение первого случая заболевания в Республике Либерия, 25.05.2014 — в Республике Сьерра-Леоне. Таким образом, начальный этап распространения вируса выпал из-под контроля специалистов. Вырвавшись «на оперативный простор» в сложном, с социальной точки зрения, регионе, эта эпидемия в Западной Африке (2013–2016 гг.) стала самой масштабной за все время научного наблюдения за филовиральными инфекциями [11, 12]. На момент окончания эпидемии (01.06.2016) [59], было зарегистрировано в общей сложности 28 616 случаев заболевания, из которых 11 310 (39,5%) закончились летально [58].

Вольта (I.3), названный в честь одноименной реки, включает экваториальные влажные леса аккумулятивной приатлантической низменности в междуречье Сасандра–Веме. На р. Вольта в Гане построено крупнейшее в мире водохранилище по площади зеркала (8,5 тыс. км²), что заметно повышает влажность региона и сдвигает на север границу экваториальных лесов и влажных саван. Здесь распространены те же виды *Megachiroptera*, что и на территории I.2, плюс *E. franqueti* (табл. 2) и более значительную долю составляют типичные обитатели влажных саванн: *E. gambianus* и *E. pusillus* [16, 31, 32, 36, 38, 45]. Hayman D.T.S. с соавт. (2010) [31] показали наличие специфических противовирусных антител к ZEBOV среди *E. helvum* в антропоургических биоценозах г. Аккра (Республика Гана). Позже, Hayman D.T.S. с соавт. (2012) [32] получили аналогичные данные для более широкого спектра видов *Megachiroptera* на территории Республики Ганы.

Адамава (I.4) занимает одноименную возвышенность на границе Республики Камерун, Федеративной Республики Нигерия и Центральноафриканской Республики (ЦАР), а также примыкающие приатлантические аккумулятивные низменности, включая дельту Нигера. Южная часть

Адамавы покрыта влажными экваториальными и субэкваториальными лесами, северная — типичными африканскими саванами, верхняя часть плато — горными саванами, приатлантические низменности — влажными экваториальными лесами, дельта Нигера — мангровыми лесами. Видовой состав крыланов тот же, что в I.3 за исключением того, что отсутствует *E. buettikoferi* (табл. 2). Bouree P. и Bergmann J.F. (1983) [20] показали наличие антител против ZEBOV у жителей Камеруна с пиком у фермеров экваториально-лесной зоны. Позже Meunier D.M. с соавт. (1987) [43], Paix M.A. с соавт. (1988) [47] и Gonzalez J.P. с соавт. (1989) [29] получили аналогичные данные. Антитела к ZEBOV были обнаружены и у высших обезьян [40].

Сан-Томе (I.5) назван в честь одноименного острова у берегов Африки в Гвинейском заливе. Этот небольшой остров (48 × 32 км) вулканического происхождения характеризуется тропическим морским климатом и покрыт влажными тропическими лесами. На острове обитает единственный вид крыланов — *M. Brachycephala* (табл. 2). Обследование Сан-Томе в отношении филовиралов не проводилось.

Центральноафриканский район (II) включает 5 природных очагов: II.1. Южно-Гвинейский; II.2. Катанга; II.3. Конго; II.4. Азанде; II.5. Рувензори (рис. 1).

Южно-Гвинейский (II.1) природный очаг назван в честь Южно-Гвинейской возвышенности, которую он занимает вместе с прилегающими приморскими низменностями. Эта территория покрыта экваториальными и субэкваториальными влажными лесами. Видовой состав крыланов: *E. helvum*, *R. aegyptiacus*, *E. gambianus*, *E. franqueti*, *H. monstrosus*, *M. pusillus*, *N. veldkampii*, *L. angolensis*, *M. woermanni*, *M. torquata*, *C. argynnis*, *S. zenkeri*, *S. ophiodon* (табл. 2) [16, 38, 45]. Южно-Гвинейский очаг характеризуется высокой эпизоотической [16, 38, 45] и эпидемической активностью [23, 26, 28, 54] (табл. 1).

Катанга (II.2) располагается на одноименном плато и плато Бие с прилегающими приатлантическими низменностями. Эти плато обрамляют Конголезскую низменность с юга, примыкая в горной системе Рувензори. Катанга и Бие покрыты влажными нагорными саваннами. *E. angolensis* является эндемиком плато Бие, *E. dobsoni* и *P. anchietae* — Бие-Катанга в отличие от более широко распространенных остальных видов крыланов: *E. helvum*, *R. aegyptiacus*, *E. gambianus*, *E. wahlbergi*, *E. franqueti*, *H. monstrosus*, *M. pusillus*, *L. angolensis*, *M. woermanni*, *M. torquata* (табл. 2) [16, 38, 45]. В 2004–2005 гг. в ангольской провинции Уиже (рис. 1) произошла эпидемическая вспышка, вызванная MMARV [35].

Конго (II.3) занимает обширную Впадину Конго, представляющую собой чашеобразное понижение в синеклизе Африканской материковой плиты, дренируемое р. Конго. Здесь развиты экваториальные постоянно-влажные леса с суточным ритмом увлажнения (гилей), которые на западе, приближаясь к горному массиву Рувензори, переходят во влажные саванны (рис. 1) [5]. Gonzalez J.P. с соавт. (2007) [30], анализируя результаты эколого-вирусологического мониторинга млекопитающих на территории II.3 в период 2001–2005 гг., показали, что основным природным резервуаром филовиралов являются три вида крыланов: *H. monstrosus*, *E. franqueti* и *M. torquata*. Среди других видов *Megachiroptera* — *E. helvum*, *E. grandis*, *E. wahlbergi*, *M. intermedius*, *M. pusillus*, *L. angolensis* (табл. 2) [16, 38, 45]. В Котловина Конго было зафиксировано несколько эпидемических вспышек и масштабных эпидемий, связанных с ZEBOV [21, 22, 25, 33, 41].

Азанде (II.4) расположен на одноименном плоскогорье на границе ДРК, РЮС и ЦАР. Плоскогорье покрыто влажными саванами и тропическими лесами, в которых массово представлены *E. helvum*, *R. aegyptiacus*, *R. lanosus*, *E. gambianus*, *E. labiatus*, *E. wahlbergi*, *E. franqueti*, *H. monstrosus*, *M. pusillus*, *L. angolensis*, *M. woermanni*, *M. torquata*, *C. argynnis*, *S. zenkeri* (табл. 2) [16, 38, 45]. На территории этого природного очага проявляют эпидемическую активность одновременно 4 филовирала: SUDV [15, 46], ZEBOV [37], BDBV [57] и MMARV [24].

Природный очаг Рувензори (II.5) охватывает одноименный горный массив и долину оз. Кьоба, восточная граница которой простирается на восток до горы Элгон. Склоны Рувензори и Элгон покрыты влажными саванными лесами, предгорья и болотистая долина между ними — влажными экваториальными лесами [5], в которых встречаются огромные стаи крыланов *E. helvum*, *R. aegyptiacus*, *R. lanosus*, *E. labiatus*, *E. minimus*, *E. wahlbergi*, *E. franqueti*, *M. pusillus*, *L. angolensis*, *M. woermannii*, *S. zenkeri* (табл. 2) [16, 38, 45]. На территории II.5 имеет место активная циркуляция ММАРВ [14, 19, 34, 35, 42, 44, 51, 52, 60], БДВ [55] и СУДВ [13, 39, 50].

Юго-Восточноафриканский район (III) включает 6 четко выделяемых топографически, но небольших по площади природных очагов: III.1. Мафунгабуси; III.2. Драконовы горы; III.3. Коморы; III.4. Мадагаскар; III.5. Сейшелы; III.6. Маскарен (рис. 1).

Мафунгабуси (III.1) на одноименном плато и сопредельными возвышенностями, увлажняемый летним юго-восточным пассатом со стороны Индийского океана, покрыт умеренно-влажными лесами миомбо с преобладанием деревьев рода *Brachystegia*. Виды крыланов: *E. helvum*, *R. aegyptiacus*, *E. anelli*, *E. crypturus*, *E. labiatus*, *E. wahlbergi*, *L. angolensis* (табл. 2) [16, 38, 45]. В 1975 г. австралийский турист заразился во время поездки по Зимбабве⁴ и был госпитализирован в Йоханнесбурге⁵ [27]. Возможно, III.1 примыкает к природному очагу Рувензори (II.5) через саваны Танзанийского плато, но на территории последнего отсутствуют обнаружения филовирусов и достаточно высокие плотности популяций крыланов.

Природный очаг Драконовы горы (III.2) расположен на покрытых влажными субтропическими лесами ступенчатых склонах одноименных гор, обращенных к Индийскому океану, где распространены *E. helvum*, *R. aegyptiacus*, *E. crypturus*, *E. wahlbergi* (табл. 2) [16, 38, 45]. Обследование в отношении филовирусов не проводилось.

Коморы (III.3) на Коморских островах (о. Нгазиджа, о. Ндзуани, о. Мвали, о. Майота, о. Паманзи, о. Мзамборо), Сейшелы (III.5) на Сейшельских островах (о. Маэ, о. Силуэт, о. Праслен, о. Ла-Диг) и Маскарен (III.6) на Маскаренских островах (о. Реюньон, о. Маврикий и о. Родригес) находятся в зоне тропических вечнозеленых лесов и населяются эндемическими видами крыланов — соответственно, *R. obliviosus*, *P. aldabrensis*, *P. niger*; еще один вид — *P. seychellensis* — эндемик одновременно Коморов (III.3) и Сейшел (III.5) (табл. 2). Обследование III.3, III.5 и III.6 в отношении филовирусов не проводилось.

Мадагаскар (III.4) занят экспозиционными (барьерно-дождевыми) влажными тропическими лесами на восточных склонах Высокого плато одноименного острова, а западные склоны — сухими саванными лесами [5]. На о. Мадагаскар обитают два эндемичных вида крыланов: *E. dupreanum*, *P. rufus* (табл. 2) [16, 38, 45]. Mathiot С.С. с соавт. (1989) показал, что порядка 5% населения Мадагаскара имеют антитела против ZEBOV-, но не ММАРВ-антигенов. Учитывая биогеографические особенности Мадагаскара [5, 7], нельзя исключать циркуляции здесь неизвестных пока оригинальных филовирусов.

■ Сравнительный анализ штаммов Верхнегвинейского и Центральноеафриканского природно-очаговых районов

Анализ нуклеотидных последовательностей полноразмерных геномов штаммов ZEBOV, изолированных во время эпидемии (2013–2016 гг.) в Западной Африке (I.2), позволяет говорить о том, что эта группа штамма имеет общего предка с обширной группой штаммов из Центральноеафриканского природно-очагового района (II). Это означает, что ZEBOV циркулировал в Северо-Гвинейском природном очаге I.2 продолжительное время

⁴ В период 1965–1979 гг. Зимбабве носило название Родезия и являлось непризнанным государством.

⁵ Для ЮАР это был завозной случай, но природные очаги филовирусов в ЮАР не выявлены (существенно для III.2).

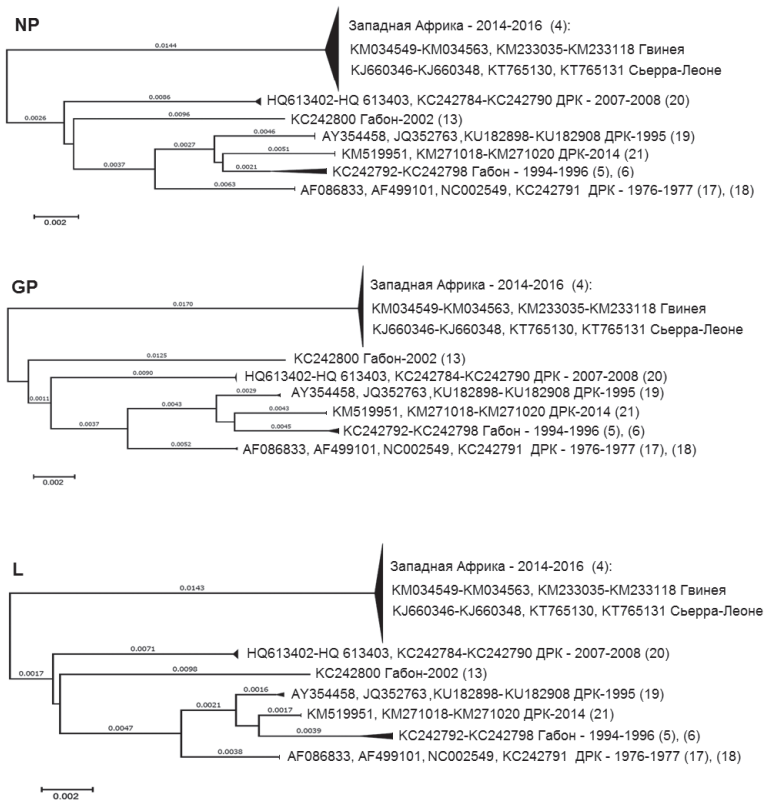


Рисунок 2. Кластер-анализ нуклеотидных последовательностей полноразмерных генов NP (кодирующего нуклеопротеин), GP (поверхностный гликопротеин) и L (РНК-зависимую РНК-полимеразу) штаммов эболавируса Заир (ZEBOV — *Zaire ebolavirus*)

Формат записи для штаммов: {идентификационные номера GenBank} {страна}-{годы изоляции} {(порядковый номер в табл. 1 и на рис. 1)}. Использован пакет программ MEGA 6.0 (IMEG Lab, USA); алгоритм выравнивания — ClustalW; Хэмминга (p-distance); алгоритм восходящей иерархической классификации — NJ («ближайшего соседа»; межкластерные расстояния подписаны над соответствующими ветвями); бутстреп-верификация — 1000 повторов.

независимо от штаммов II. Об этом же свидетельствует отсутствие филогенетической связи штаммов из I.2 [(4) в табл. 1 и на рис. 1, рис. 2] со штаммами, выделенными в II.3 в 2014 г. (21). Более того, анализ топологии внутренней части филогенетического дерева (рис. 2), описывающей взаимоотношения групп центральноафриканских штаммов ZEBOV, позволяет сделать вывод о том, что штаммы, выделенные в более поздний период, не являются прямыми потомками штаммов, выделенных на данной территории ранее.

Таким образом, штаммы ZEBOV из I.2 и II имеют общего предка и в настоящий момент циркулируют независимо друг от друга.

Каждая новая вспышка лихорадки Эбола вызывается штаммами, не являющимися потомками штаммов предыдущих вспышек, что свидетельствует о высоком уровне генетического разнообразия штаммов ZEBOV в его природных резервуарах.

Вероятнее всего, происхождение западноафриканских вариантов ZEBOV, ставших этиологическим агентом эпидемии 2013–2016 гг., не является результатом какого-либо направленного воздействия на геном и носит естественный характер.

■ Заключение

Долгое время считалось, что природные очаги филовиральных лихорадок локализируются в котловине бассейна р. Конго. Постепенно накапливались данные о более широком распространении филовирусов: на Южно-Гвинейской возвышенности, плато Катанга, Бие и Мафунгабуси. Однако эти данные продолжали трактовать как «выплески» филовирусов за пределы основного ареала. Ситуацию не изменило даже описание масштабной эпидемии заболеваний, которые «...в наибольшей степени напоминают описанную симптоматику вирусных геморрагических лихорадок Марбург и Эбола» (цитируется по [9, с. 69]), а также описание нового вируса леса Таи на восточных склонах Леоно-Либерийского плато. Отсутствие научно-обоснованной информации о существовании природного очага ZEBOV в лесистой части Северо-Гвинейской возвышенности стало одной из причин поздней идентификации этого вируса как этиологического агента эпидемии в Западной Африке (2014–2016 гг.). Проведенный в настоящей работе анализ показывает, что филовирусы могут быть распространены на территории Африки гораздо шире, чем принято считать в настоящее время.

«Ἀεὶ Ἀφρική φέρει τι καὶνὸν κακόν»⁶, — говорили в древности. Это высказывание не потеряло своей актуальности и в наши дни, но приобрело дополнительный историко-культурологический оттенок: столетия колониального угнетения Африки и безответственная неокOLONиальная политика западноевропейских держав привели к накоплению системных социально-экономических проблем, которые существенно осложняют осуществление противоэпидемических мероприятий и эколого-вирусологического мониторинга природных очагов инфекционных заболеваний. Ἀεὶ Ἀφρική φέρει τι καὶνὸν κακόν?

Работа выполнена в рамках исследований в связи с выполнением Распоряжения Правительства Российской Федерации от 25.07.2015 № 1448-р «Оснащение материально-технической базы лабораторий, расположенных на территории Гвинейской Республики», а также научной Программы САЕ ЦАТИ Дальневосточного федерального университета «Транснациональные угрозы и биологическая безопасность».

■ Список литературы

1. Балашов Ю.С. Специфичность паразито-хозяинных связей членистоногих с наземными позвоночными. *Паразитология*. 2001; 35 (6): 473–489.
2. Бутенко А.М. Изучение циркуляции арбовирусов в Гвинейской Республике. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 1996; 2: 40–44.
3. Бутенко А.М. Ретроспективные данные по изучению лихорадки Эбола в Африке. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2015; 20 (1): 39–43.
4. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных: руководство по вирусологии. Под ред. Д.К. Львова. Москва: МИА, 2013: 1200.
5. Исаченко А.Г., Шляпников А.А. Природа мира: ландшафты. Москва: Мысль, 1989: 504.
6. Коренберг Э.И. Биохорологическая структура вида (на примере таёжного клеща). Москва: Наука. 1979: 170.
7. Крыжановский О.Л. Ареалогия, типология и районирование фауны и животного населения. Современные проблемы биогеографии. Москва: Наука, 1980: 61–82.
8. Литвин В.Ю., Коренберг Э.И. Природная очаговость болезней: развитие концепции к исходу века. *Паразитология*. 1999; 3 (33): 179–191.
9. Сочинский В.А., Легоньков Ю.А., Конде К., Бутенко А.М., Камара М., Фидаров Ф.М. Клинико-эпидемиологическое изучение острого заболевания, протекающего с геморрагическим синдромом, в округе Мадина Ула области Киндия (1982). *Арбовирусы, паразитозы и бактериальные инфекции в Гвинейской Народной Републике. Конакри*, 1983: 65–69.
10. Щелканов М.Ю., Магассуба Н.Ф., Дедков В.Г., Шипулин Г.А., Галкина И.В., Попова А.Ю., Малеев В.В. Природный резервуар филовирусов и типы связанных с ними эпидемических вспышек на территории Африки. *Вестник РАМН*. 2017; 72 (2): 112–119. doi: 10.15690/vramn803

⁶ «Из Африки всегда приходит что-нибудь плохое», — фраза, авторство которой приписывается Аристотелю.

11. Щелканов М.Ю., Magassouba N.F., Boiro M.Y., Малеев В.В. Причины развития эпидемии лихорадки Эбола в Западной Африке. *Лечащий врач*. 2014; 11: 30–37.
12. Щелканов М.Ю., Zoumanigui N., Boiro M.Y., Малеев В.В. Пять «мифов» о лихорадке Эбола: где кончается вымысел? *Русский медицинский журнал*. 2015; 2: 58–65.
13. 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., Ströher 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 (2): 97–100. doi: 10.1016/j.virol.2013.04.014
14. Amman B.R., Carroll S.A., Reed Z.D., Sealy T.K., Balinandi S., Swanepoel R., Kemp A., Erickson B.R., Comer J.A., Campbell S., Cannon D.L., Khristova M.L., Atimnedi P., Paddock C.D., Crockett R.J.K., Flietstra T.D., Warfield K.L., Unfer R., Katongole-Mbidde E., Downing R., Tappero J.W., Zaki S.R., Rollin P.E., Ksiazek T.G., Nichol S.T., Towner J.S. Seasonal pulses of Marburg virus circulation in juvenile *Rousettus aegyptiacus* bats coincide with periods of increased risk of human infection. *PLoS Pathog*. 2012; 8 (10): e1002877. doi: 10.1371/journal.ppat.1002877
15. Baron R.C., McCormick J.B., Zubeir O.A. Ebola virus disease in southern Sudan: hospital dissemination and intra-familial spread. *Bull. WHO*. 1983; 61 (6): 997–1003.
16. Bergmans W. Taxonomy and biogeography of African fruit bats (Mammalia, Megachiroptera). 3. The genera *Scotonycteris* Matschie, 1894, *Casinocyteris* Thomas, 1910, *Pteropus* Brisson, 1762, and *Eidolon Rafinesque*, 1815. *Beaufortia*. 1990; 40 (7): 111–177.
17. Bermejo M., Rodriguez Teijeiro J.D., Illera G., Barroso A., Vila C., Walsh P.D. Ebola outbreak killed 5 000 gorillas. *Science*. 2006; 314 (5805): 1564. doi: 10.1126/science.1133105
18. Boiro I., Lomonosov N.N., Sotsinski V.A., Constantinov O.K., Tkachenko E.A., Inapogui A.P., Balde C. Clinico-epidemiologic and laboratory research on hemorrhagic fevers in Guinea. *Bull. Soc. Pathol. Exot. Filiales*. 1987; 80 (4): 607–612.
19. Bonin O. The Cercopithecus monkey disease in Marburg and Frankfurt (Main), 1967. *Acta Zool. Pathol. Antverp*. 1969; 48: 319–331.
20. Bouree P., Bergmann J.F. Ebola virus infection in man: a serological and epidemiological survey in the Cameroons. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 1983; 32 (6): 1465–1466.
21. CDC. Ebola virus haemorrhagic fever, Democratic Republic of the Congo. *Wkly Epidemiol. Rec*. 2007; 82 (40): 345–356. URL: <http://www.who.int/wer/2007/wer8240.pdf> (23.02.2017).
22. CDC. Outbreak of Ebola viral hemorrhagic fever — Zaire, 1995. *Morb. Mortal. Wkly Rep*. 1995; 44 (19): 381–382.
23. CDC. Outbreak(s) of Ebola haemorrhagic fever, Congo and Gabon, October 2001–July 2002. *Wkly Epidemiol. Rec*. 2003; 78 (26): 223–228.
24. Colebunders R., Sleurs H., Pirard P., Borchert M., Libande M., Mustin J.P., Tshomba A., Kinuani L., Olinda L.A., Tshioko F., Muyembe-Tamfum J.-J. Organisation of health care during an outbreak of Marburg haemorrhagic fever in the Democratic Republic of Congo, 1999. *J. Infect*. 2004; 48 (4): 347–353. doi: 10.1016/S0163-4453(03)00122-1
25. Ebola haemorrhagic fever in Zaire, 1976. Report of an International Commission. *Bull. WHO*. 1978; 56 (2): 271–293.
26. Formenty P., Libama F., Epelboin A., Allaranger Y., Leroy E., Moudzeo H., Tarangonia P., Molamou A., Lenzi M., Ait-Ikhlef K., Hewlett K., Roth C., Grein T. Outbreak of Ebola hemorrhagic fever in the Republic of the Congo, 2003: a new strategy? *Med. Trop. (Mars)*. 2003; 63 (3): 291–295.
27. Gear J.S., Cassel G.A., Gear A.J., Trappler B., Clausen L., Meyers A.M., Kew M.C., Bothwell T.H., Sher R., Miller G.B., Schneider J., Koornhof H.J., Gomperts E.D., Isaacson M., Gear J.H. Outbreak of Marburg virus disease in Johannesburg. *Br. Med. J*. 1975; 4 (5995): 489–493.
28. Georges A.J., Leroy E.M., Renaut A.A., Benissan C.T., Nabias R.J., Ngoc M.T., Obiang P.I., Lepage J.P.M., Bertherat E.J., Bénoni D.D., Wickings E.J., Amblard J.P., Lansoud-Soukate J.M., Milleliri J.M., Baize S., Georges-Courbot M.-C. Ebola hemorrhagic fever outbreaks in Gabon, 1994–1997: Epidemiologic and health control issues. *J. Infect. Dis*. 1999; 179: S65–S75. doi: 10.1086/514290
29. Gonzalez J.P., Josse R., Johnson E.D., Merlin M., Georges A.J., Abandja J., Danyod M., Delaporte E., Dupont A., Ghogomu A. Antibody prevalence against haemorrhagic fever viruses in randomized representative Central African populations. *Res. Virol*. 1989; 140 (4): 319–331. doi: 10.1016/S0923-2516(89)80112-8
30. Gonzalez J.P., Pourrut X., Leroy E. Ebolavirus and other filoviruses. *Curr. Top. Microbiol. Immunol*. 2007; 315: 363–387.
31. Hayman D.T.S., Emmerich P., Yu M., Suu-Ire R., Fooks A.R., Cunningham A.A., Wood J.L. 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
32. Hayman D.T.S., Yu M., Cramer G., Wang L.F., Suu-Ire R., Wood J.L., Cunningham A.A. Ebola virus antibodies in fruit bats, Ghana, West Africa. *Emerg. Infect. Dis*. 2012; 18: 1207–1209. doi: 10.3201/eid1807.111654
33. Heymann D.L., Weisfeld J.S., Webb P.A., Johnson K.M., Cairns T., Berquist H. Ebola hemorrhagic fever: Tandala, Zaire, 1977–1978. *J. Infect. Dis*. 1980; 142 (3): 372–376.

34. Johnson E.D., Johnson B.K., Silverstein D., Tukei P., Geisbert T.W., Sanchez A.N., Jahrling P.B. Characterization of a new Marburg virus isolated from a 1987 fatal case in Kenya. *Arch. Virol.* 1996; (11): 101–114.
35. Knust B., Schafer I.J., Wamala J., Nyakarahuka L., Okot C., Shoemaker T., Dodd K., Gibbons A., Balinandi S., Tumusiime A., Campbell S., Newman E., Lasry E., De Clerck H., Boum Y., Makumbi I., Bosa H.K., Mbonye A., Aceng J.R., Nichol S.T., Ströher U., Rollin P.E. Multidistrict outbreak of Marburg virus disease-Uganda, 2012. *J. Infect. Dis.* 2015; 212 (2): S119–S128. doi: 10.1093/infdis/jiv351
36. Koopman K.F., Kofron C.P., Chapman A. The bats of Liberia: Systematics, ecology, and distribution. *New York: American Museum of Natural History.* 1995: 24.
37. Kratz T., Roddy P., Tshomba Oloma A., Jeffs B., Pou Ciruelo D., De la Rosa O., Borchert M. Ebola virus disease outbreak in Isiro, Democratic Republic of the Congo, 2012: signs and symptoms, management and outcomes. *PLoS One.* 2015; 10 (6): e0129333. doi: 10.1371/journal.pone.0129333
38. Kunz T.H., Racey P.A. Bat biology and conservation. *Washington: Smithsonian Institution Press.* 1998: 365.
39. Lamunu M., Lutwama J.J., Kamugisha J., Opio A., Nambuuzee J., Ndayimirije N., Okware S. Containing a haemorrhagic fever epidemic: the Ebola experience in Uganda (October 2000-January 2001). *Int. J. Infect. Dis.* 2004; 8 (1): 27–37.
40. Leroy E.M., Telfer P., Kumulungui B., Yaba P., Rouquet P., Roques P., Gonzalez J.-P., Ksiazek T.G., Rollin P.E., Nrienter E. A serological survey of Ebola virus infection in central African nonhuman primates. *J. Infect. Dis.* 2004; 190 (11): 1895–1899. doi: 10.1086/425421
41. Maganga G.D., Kapetshi J., Berthet N., Kebela Ilunga B., Kabange F., Mbala Kingebeni P., Mondonge V., Muyembe J.-J.T., 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., Phil D., Leroy E.M. Ebola virus disease in the Democratic Republic of Congo. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371 (22): 2083–2091. doi: 10.1056/NEJMoa1411099
42. Martini G. Marburg agent disease: in man. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1969; 63 (3): 295–302.
43. Meunier D.M., Johnson E.D., Gonzalez J.P., Georges-Courbot M.C., Madelon M.C., Georges A.J. Current serologic data on viral hemorrhagic fevers in the Central African Republic. *Bull. Soc. Pathol. Exot. Filiales.* 1987; 80 (1): 51–61.
44. Nakazibwe C. Marburg fever outbreak leads scientists to suspected disease reservoir. *Bull. WHO.* 2007; 85 (9): 654–656.
45. Neuweiler G. The biology of bats. *Oxford: Oxford University Press.* 2000: 310.
46. Onyango C.O., Opoka M.L., Ksiazek T.G., Formenty P., Ahmed A., Tukei 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): S193–S198. doi: 10.1086/520609
47. Paix M.A., Poveda J.D., Malvy D., Bailly C., Merlin M., Fleury H.J. Serological study of the virus responsible for hemorrhagic fever in an urban population of Cameroon. *Bull. Soc. Pathol. Exot. Filiales.* 1988; 81 (4): 679–682.
48. Radovsky F.J. The evolution of parasitism and the distribution of some Dermanyssoid mites (Mesostigmata) on vertebrate host. Mites. Ecological and evolutionary analysis of life-history patterns. Ed. M.A. Houck. *New York: Chapman and Hall.* 1994: 186–217.
49. Rouquet P., Froment J.-M., Bermejo M., Kilbourn A., Karesh W., Reed P., Kumulungui B., Yaba P., Délicat A., Rollin P.E., Leroy E.M. Wild animal mortality monitoring and human Ebola outbreaks, Gabon and Republic of Congo, 2001–2003. *Emerg. Infect. Dis.* 2005; 11 (2): 283–290. doi: 10.3201/eid1102.040533
50. Shoemaker T., MacNeil A., Balinandi S., Campbell S., Wamala J.F., McMullan L.K., Downing R., Lutwama J., Mbidde E., Ströher U., Rollin P.E., Nichol S.T. Reemerging Sudan Ebola virus disease in Uganda, 2011. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18 (9): 1480–1483. doi: 10.3201/eid1809.111536
51. Smith D.H., Johnson B.K., Isaacson M., Swanapoel R., Johnson K.M., Killey M., Bagshawe A., Siongok T., Keruga W.K. Marburg virus disease in Kenya. *Lancet.* 1982; 1 (8276): 816–820.
52. Timen A., Koopmans M.P., Vossen A.C., Van Doornum G.J., Günther S., Van den Berkmoortel F., Verduin K.M., Dittich S., Emmerich P., Osterhaus A.D.M.E., Van Dissel J.T., Coutinho R.A. Response to imported case of Marburg hemorrhagic fever, the Netherlands. *Emerg. Infect. Dis.* 2009; 15 (8): 1171–1175. doi: 10.3201/eid1508.090015
53. Towner J.S., Khristova M.L., Sealy T.K., Vincent M.J., Erickson B.R., Bawiec D.A., Hartman A.L., Comer J.A., Zaki S.R., Ströher U., Da Silva F.G., Del Castillo F., Rollin P.E., Ksiazek T.G., Nichol S.T. Marburgvirus genomics and association with a large hemorrhagic fever outbreak in Angola. *J. Virol.* 2006; 80 (13): 6497–6516. doi: 10.1128/JVI.00069-06
54. Volchkov V., Volchkova V., Eckel C., Klenk H.D., Bouloy M., LeGuennou B., Feldmann H. Emergence of subtype Zaire Ebola virus in Gabon. *Virology.* 1997; 232 (1): 139–144. doi: 10.1006/viro.1997.8529
55. Wamala J.F., Lukwago L., Malimbo M., Nguku P., Yoti Z., Musenero M., Amone J., Mbabazi W., Nanyunja M., Zaramba S., Opio A., Lutwama J.J., Talisuna A.O., Okware S.I. Ebola hemorrhagic fever associated with novel virus strain, Uganda, 2007–2008. *Emerg. Infect. Dis.* 2010; 16 (7): 1087–1092. doi: 10.3201/eid1607.091525
56. Wauquier N., Becquart P., Gasquet C., Leroy E.M. Immunoglobulin G in Ebola outbreak survivors, Gabon. *Emerg. Infect. Dis.* 2009; 15 (7): 1136–1137. doi: 10.3201/eid1507.090402

57. WHO. Ebola outbreak in Democratic Republic of Congo (17.08.2012). Geneva: WHO, 2012. URL: http://www.who.int/csr/don/2012_08_18/en (29.09.2017).
58. WHO. Ebola virus disease. Situation report (10.06.2016). URL: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/208883/1/ebolasitrep_10Jun2016_eng.pdf?ua=1 (29.09.2017).
59. WHO. End of Ebola transmission in Guinea (01.06.2016). URL: <http://www.afro.who.int/news/end-ebola-transmission-guinea> (29.09.2017).
60. WHO. Marburg virus disease — Uganda (10.10.2014). URL: <http://www.who.int/csr/don/10-october-2014-marburg/en> (29.09.2017)

Природный резервуар филовирусов и типы связанных с ними эпидемических вспышек на территории Африки

М.Ю. Щелканов, Н'Ф. Магассуба, В.Г. Дедков, Г.А. Шипулин,
И.В. Галкина, А.Ю. Попова, В.В. Малеев

Крупнейшая за всю историю изучения семейства *Filoviridae* (*Mononegavirales*) эпидемия в Западной Африке (2013–2016 гг.), вызванная эболавирусом Заир [4, 5, 7, 8, 12, 51], выявила не только недооценку лоймопотенциала филовирусов, но и недостаточность имеющихся теоретических представлений об их географическом распространении и механизмах функционирования природных очагов. Настоящий обзор включает обсуждение современной таксономической структуры, природного резервуара филовирусов и типов связанных с ними эпидемических вспышек. Сделанные выводы будут использованы в нашем следующем обзоре, посвященном районированию природных очагов филовирусных геморрагических лихорадок на территории Африки.

■ Таксономическая структура *Filoviridae*: историография и современное состояние

Первым идентифицированным филовирусом был вирус Марбург (*Marburg virus*), который летом 1967 г. вызвал эпидемические вспышки в научно-исследовательских институтах Марбурга, Франкфурта-на-Майне (Германия)¹ [3, 14] и Белграда (Сербия)² [40] среди сотрудников, контактировавших с внутренними органами, кровью и культурами клеток зеленых марышек (*Cercopithecus aethiops*), доставленных из Уганды. Вирус был выделен в новое семейство *Filoviridae* (от лат. *filum* — нить), род *Filovirus*. В 2002 г. Международный комитет по таксономии вирусов (International committee on taxonomy of viruses, ICTV) переименовал вирус Марбург в марбургвирус озера Виктория (*Lake Victoria marburgvirus*). В 2012 г. ICTV утвердил современное название — марбургвирус Марбург (*Marburg marburgvirus*, MMARV)³ [36]. Термины «вирус Марбург» (*Marburg virus*, MARV), «вирус Мусоке» (*Musoke virus*, MskV) и «вирус Равн» (*Ravn virus*, RAVV) в настоящее время не имеют видового статуса и используются для обозначения наиболее известных штаммов MMARV: соответственно Porp (1967) [3, 17], Musoke (1980) [52] и Ravn (1987) [33] (рис. 1).

Вирус Эбола (*Ebola virus*) был впервые изолирован осенью 1976 г. во время расшифровки эпидемии в Демократической Республике Конго (ДРК)⁴ и Республике Южный Судан (РЮС)⁵ [46]. В научной литературе и средствах массовой информации тиражируется неверное утверждение, что название этого заболевания и его этиологического агента обязано расположению эпицентра эпидемии 1976 г. на берегах р. Эбола, принадлежащей северной части бассейна р. Конго. Однако эпицентр в ДРК находился почти на сотню километров южнее, в д. Ямбуку [22], а в РЮС — на 700 км северо-восточнее, в п. Мариди [21]. Название «Эбола» было, наоборот, связано со значительным удалением этого географичес-

¹ Марбург и Франкфурт-на-Майне находятся в той части современной Германии, которая в период 1949–1990 гг. принадлежала ФРГ (Федеративная Республика Германия).

² В период 1945–1991 гг. Сербия входила в состав СФРЮ (Социалистическая Федеративная Республика Югославия).

³ Следует иметь в виду, что название *Marburg marburgvirus* рекомендуется писать курсивом [17].

⁴ В период 1971–1997 гг. ДРК называлась Республика Заир.

⁵ До 2011 г. РЮС входила в состав Республики Судан в качестве группы южных провинций.

кого объекта от густонаселенных районов ДРК, охваченных эпидемией, чтобы избежать социальной стигматизации их жителей [5].

Анализ уже первой эпидемии (1976) позволил выявить заметные серологические отличия между штаммами вируса Эбола из ДРК и РЮС [15, 16, 41]. В соответствии с прежними названиями этих стран, в 1995 г. ICTV определил два различных варианта возбудителя лихорадки Эбола: Заир (*Ebola virus Zaire*) и Судан (*Ebola virus Sudan*) [28]. В том же году был введен и третий вариант вируса Эбола — Рестон (*Ebola virus Reston*), впервые идентифицированный в 1989–1990 гг. во время эпизоотической вспышки в Рестоне (США, штат Вирджиния), которая сопровождалась летальными случаями среди макак-крабоедов (*Macaca fascicularis*), но отсутствовала клиническая симптоматика у инфицированных людей [26]⁶.

В 1994 г. еще один вариант вируса Эбола был изолирован от заболевшей (выжившей) женщины-этолога с денгеподобной симптоматикой, которая участвовала во вскрытии трупа погибшего западного шимпанзе (*Pan troglodytes verus*) в Национальном парке Таи (Кот-д'Ивуар, Западная Африка). Этот вариант получил название Кот-д'Ивуар (*Ebola virus Cote d'Ivoire*)⁷ [37].

В 2008 г. при расшифровке эпидемии в Уганде, округ Бундибуге (август 2007 г. – февраль 2008 г.), был идентифицирован одноименный эболавирус (*Bundibugyo ebolavirus*, BDBV) [57].

Род *Cuevavirus* (от исп. La cueva — пещера) (см. рис. 1) был сформирован после идентификации в 2010 г. непатогенного для человека куэвавируса Лловиу (*Lloviu cuevavirus*, LLOV) во внутренних органах насекомоядных летучих мышей, найденных мертвыми в 2002 г. в пещере Куэва-дель-Лловиу на территории североиспанской провинции Астурия [44].

Таксономическая структура *Filoviridae* со временем претерпевала изменения (см. рис. 1) и теперь, согласно современным представлениям, включает три рода — *Marburgvirus*, *Ebolavirus* и *Cuevavirus* [1, 5]. В свою очередь, семейство *Filoviridae* включено в отряд *Mononegavirales* [1] наряду с *Bornaviridae*, *Paramyxoviridae* и *Rhabdoviridae*. Перечисленные выше варианты вируса Эбола с 2002 г. являются отдельными видами рода *Ebolavirus*^{8,9} (рис. 1, 2).

Филаментозные вирионы эболавирусов более протяженные (более 800 нм при диаметре 80 нм) по сравнению с марбургвирусами (~665 × 80 нм). Геном филовирусов представлен односегментной одноцепочечной РНК негативной полярности: 3'-NP-VP35-VP40-GPVP30VP24-L-5'. Имеются перекрытия открытых рамок считывания: VP30/VP24 в геноме MMARV; VP35/VP40, GP/VP30, VP24/L — ZEBOV, SUDV, TAFV; VP35/VP40, VP24/L — RESTV. Серологическая кросс-нейтрализация между *Ebolavirus* и *Marburgvirus* крайне незначительна. Генетические различия между представителями разных родов — не менее 50% [2, 3, 20].

⁶ В данном абзаце использованы исторические названия вирусов — *Ebola virus Zaire*, *Ebola virus Sudan*, *Ebola virus Reston*, которые во времена их открытия рассматривались как различные варианты одного и того вируса Эбола. Сейчас это самостоятельные вирусы, которые называются, соответственно, эболавирус Заир (*Zaire ebolavirus*, ZEBOV), эболавирус Судан (*Sudan ebolavirus*, SUDV), эболавирус Рестон (*Reston ebolavirus*, RESTV).

⁷ Современное название этого вируса — эболавирус леса Таи (*Tai Forest ebolavirus*, TAFV). При формировании русского названия учтено, что на французском языке (государственном языке Кот-д'Ивуара) национальный парк, где был обнаружен вирус, звучит как Parc National de Tai. В данном случае диакритический знак в «i» означает раздельное прочтение звуков: «a+i», поэтому правильный русский перевод — лес Таи (а не «лес Тай», как это указано во многих работах).

⁸ ZEBOV (*Zaire ebolavirus*, штамм Mayinga) является прототипным видом рода *Ebolavirus*.

⁹ Термин «вирус Эбола» (*Ebola virus*, EBOV) в настоящее время не имеет видового статуса и, строго говоря, применим только к штаммам, изолированным в ДРК в 1976 г.: например, Mayinga (GenBank AF086833). Однако этот термин активно применяют в качестве синонима ZEBOV, что является понятным научным сленгом.

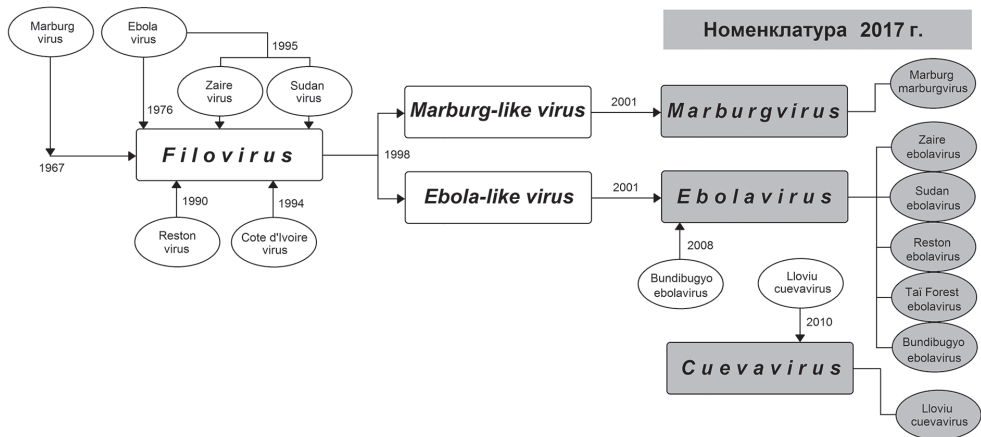


Рисунок 1. Историография номенклатуры и таксономической структуры *Filoviridae* (*Mononegavirales*)

В прямоугольной рамке — названия родов; в эллиптической рамке — названия вирусов; указан год соответствующего изменения таксономической структуры; на сером фоне — номенклатура 2016 г.

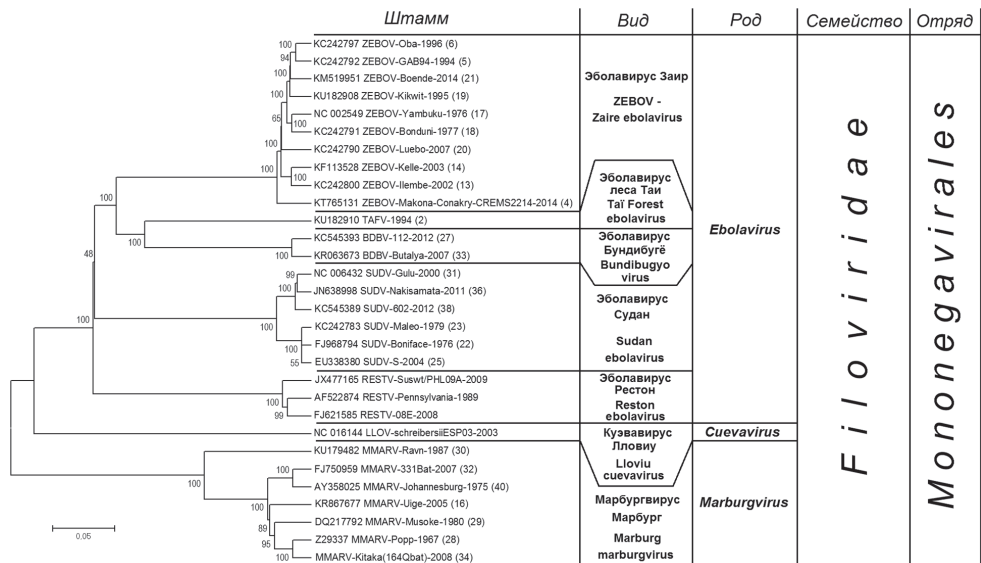


Рисунок 2. Кластер-анализ нуклеотидных последовательностей полноразмерного гена L (РНК-зависимой РНК-полимеразы) прототипных штаммов для известных эпидемических вспышек филовирусных лихорадок

Примечание: не для всех вспышек известна полноразмерная нуклеотидная последовательность L-гена прототипного штамма. Формат записи для штаммов: {идентификационный номер GenBank} {название вируса}-{название штамма}-{год изоляции} {(порядковый номер, который будет использован при районировании Африканской природно-очаговой провинции в отношении филовирусных лихорадок в нашей статье «Причины развития эпидемии лихорадки Эбола в Западной Африке» (с. 65–73)). Алгоритм выравнивания — ClustalW; метрика — p-distance; алгоритм восходящей иерархической классификации — NJ («ближайшего соседа»).

Допускается использование названия «лихорадка Эбола» для всех заболеваний, этиологически связанных с вирусами *Ebolavirus*. Такая ситуация не редкость в современной вирусологии: например, диагноз «грипп» может быть связан с представителями трех родов *Orthomyxoviridae* [6]. Лихорадку Марбург рекомендуется выделять в самостоятельную нозологию.

■ Природный резервуар и спектр потенциальных хозяев филовирусов на территории Африки

Природным резервуаром всех представителей *Filoviridae* являются крыланы из подотряда *Megachiroptera*¹⁰ рукокрылых (*Chiroptera*), включающего единственное семейство *Pteropodidae*. Инфекция протекает у крыланов в форме длительного (возможно — хронического) бессимптомного носительства на фоне выработки специфических противовирусных антител, но вирус может выделяться со всеми биологическими жидкостями — слюной, мочой, фекалиями, кровью. Вирус может передаваться при поедании крыланов животными, а также при разделке и недостаточной термической обработке перед употреблением в пищу людьми [2, 4, 5, 18, 25, 31, 38, 39].

Проблема идентификации природного резервуара филовирусов обозначилась еще в публикациях 1970-х гг. [11, 27]. Гипотеза о связи природного резервуара этих вирусов с приматами с самого начала казалась маловероятной, поскольку инфекция у них самих протекает в клинически выраженной форме с высокой летальностью [13, 24, 29, 50, 55, 59], в то время как вирус должен демонстрировать высокую степень адаптации к природному резервуару [1]. Такой же маловероятной оказалась и гипотеза о связи филовирусов с кровососущими членистоногими (по крайней мере, в эпидемическом процессе), поскольку отсутствовали свойственные арбовирусам корреляции с пиками численности переносчиков и фактами их прокормления на людях [42, 49].

Исследования по экспериментальному заражению широкого перечня видов животных и растений неадаптированными штаммами ZEBOV позволили установить, что только в организме рукокрылых при подкожном введении вирус накапливался во внутренних органах до высоких титров [53]. Разумеется, это не означало, что остальные млекопитающие были устойчивы к заражению ZEBOV: лабораторная практика показывает, что требуется адаптация штаммов с помощью селективных пассажей к конкретному виду (чаще к роду, реже к семейству) млекопитающих [2, 19, 56]. Способность накапливаться без предварительной адаптации является необходимым условием для филовирусов использовать организм рукокрылых в качестве природного резервуара. Отметим попутно, что больные дикие приматы потому и представляют особую опасность для человека, что инфицированы вариантами филовирусов, адаптировавшихся к *Hominidae* spp.

К концу прошлого века гипотеза о роли рукокрылых в поддержании природной очаговости филовирусов стала ведущей [42], хотя эта роль еще не дифференцировалась для двух различных подотрядов *Chiroptera* — крыланов (*Megachiroptera*) и летучих мышей (*Microchiroptera*)¹¹. Вместе с тем эти подотряды имеют настолько существенные морфофункциональные различия (табл.), что существует даже гипотеза полифилетичности *Chiroptera* [32]. Эксперименты по лабораторному заражению рукокрылых [10, 34, 47, 48] и полевые исследования в экваториально-тропическом поясе Африки [9, 23, 30, 31, 39, 43, 54], выполненные в начале нынешнего века, позволяют исключить летучих мышей из числа постоянных носителей филовирусов и рассматривать их как временных хозя-

¹⁰ Род *Rousettus* по-русски называется «летучие собаки», *Pteropus* — «летучие лисы», но иногда всех крыланов ошибочно объединяют этими терминами.

¹¹ В англоязычной литературе отряд Рукокрылых обозначается как *Bats*, подотряд Летучих мышей — *Insectivorous bats*, или просто *Bats*, подотряд Крыланов — *Fruit bats*. Схожесть наименований является частой причиной неправильных интерпретаций при переводе.

Таблица. Наиболее значительные различия между крыланами (*Megachiroptera*) и летучими мышами (*Microchiroptera*)

Характеристика	Крыланы	Летучие мыши
Географическое распространение	Экваториально-тропическая зона Африки, Азии, Океании	На всех материках (за исключением Антарктиды) вне приполярных зон
Размеры тела	Мелкие, средние и крупные. Размах крыльев: 6–200 см	Мелкие и средние. Размах крыльев: 3–40 см
Питание	Главным образом — фрукты. Длинноязычные крыланы (<i>Macroglossinae</i>) — нектар и пыльца цветов. Трубноносые крыланы (<i>Nyctimene</i>) в Индонезии, Филиппинах, Папуа-Новой Гвинее — фрукты и насекомые	Главным образом — насекомые. Крупные летучие мыши — мелкие птицы, пресмыкающиеся, земноводные. Листоносы (<i>Phyllostomidae</i>) в тропическо-экваториальном поясе Южной и Северной Америки — насекомые, фрукты, орехи, нектар и пыльца цветов. Вампировые (<i>Phyllostomidae</i> , <i>Desmodontinae</i>) в Центральной и Южной Америке — кровь млекопитающих и птиц. Зайцегибы (<i>Noctilionidae</i> , <i>Noctilio</i>) в Центральной и Южной Америке, рыбацкая ночница (<i>Myotis vivesi</i>) в Северной Америке и индийский ложный вампир (<i>Megaderma lyra</i>) — рыба
Способность впадать в длительную сезонную спячку	Отсутствует	Имеется
Зрение	Основной орган ориентации	Не является основным органом ориентации
Обоняние	Основной орган ориентации	Не является основным органом ориентации
Слух	Не является основным органом ориентации. Эхолокация отсутствует, за исключением египетских летучих собак (<i>Rousettus aegyptiacus</i>), которые издают ультразвуковые сигналы языком, а также азиатских пещерных крыланов (<i>Eonycteris spelaea</i>) и малайских коротконосых крыланов (<i>Synopterus brachyotis</i>), которые издают ультразвук с помощью крыльев	Эхолокация (20–120 кГц) является основным органом ориентации. Ультразвуковые сигналы издают гортанью
Череп	Удлиненный лицевой отдел	Укороченный лицевой отдел
Зубная формула	$I \frac{1-2}{0-2} C \frac{11}{1} P \frac{3}{3} M \frac{1-2}{2-3}$	$I \frac{1-2}{1-3} C \frac{1}{1} P \frac{1-3}{2-3} M \frac{1-3}{1-3}$
Ушные раковины	Ушная раковина овальная, а ее нижний край образует кольцо	Крупные наружные ушные раковины не замкнуты в кольцо снизу
Глаза	Крупные	Маленькие
Волосной покров	Имеются и пуховые, и стержневые волосы	Либо отсутствует, либо имеются только стержневые волосы
Коготь на втором пальце передних конечностей	Имеется	Отсутствует
Межбедренная перепонка	Развита слабо (обычно имеет вид небольшой кожной оторочки)	Хорошо развита
Хвост	Отсутствует или рудиментарный (исключение — длиннохвостые крыланы австралийского рода <i>Notopterus</i>)	Хвост хорошо выражен

ев. Представители *Microchiroptera* восприимчивы к филовирусам, но инфекция протекает у них в клинически выраженной форме и может приводить к гибели животных. С этим положением согласуются и факты обнаружения или косвенных свидетельств наличия филовирусов у летучих мышей в местах их массовой гибели [12, 44].

Филовирусы быстро адаптируются к парнокопытным (*Artiodactyla*), особенно к свиньям (*Suidae*) [35, 45, 58]. ZEBOV-инфекция у свиней приводит к развитию геморрагической пневмонии, причем вирус накапливается и в верхних отделах респираторного тракта, вследствие чего легко передается от зараженных особей интактным [35]. Во влажных экваториальных лесах Африки заболевания, связанные с филовирусами, регистрируются у большой лесной свиньи (*Hylochoerus meinertzhageni*), антилоп бонго (*Tragelaphus eurycerus*), ситатунга (*T. spekii*), имбабала (*T. sylvaticus*), окапи (*Okapia johnstoni*), а из грызунов (*Rodentia*) — у африканского кистехвостого дикобраза (*Atherurus africanus*). Приматы (*Primates*), особенно подотряд Высшие приматы (*Anthropoidea*), включая человека (*Homo sapiens sapiens*), высокочувствительны к филовирусным инфекциям, в результате которых развиваются тяжелые геморрагические лихорадки, приводящие к летальным исходам в 30–100% случаях (данные о способности вызывать тяжелые заболевания *Anthropoidea* отсутствуют лишь для RESTV и LLOV). Эпизоотии среди крупных человекообразных обезьян происходят достаточно часто [13, 24, 50, 59] и даже считаются одной из наиболее существенных причин сокращения их численности [55].

■ Типизация эпидемических вспышек филовирусных геморрагических лихорадок

Эпидемические вспышки спелеологического¹² (от др. греч. σπήλαιον — пещера) типа возникают при посещении людьми пещер, в которых рукокрылые скапливаются на дневки в больших количествах. Вероятнее всего, филовирусы присутствуют в пылинках высушенных экскрементов, что приводит к заражению человека в результате их вдыхания или попадания на поверхность кожи (особенно при наличии кожных повреждений).

Наиболее известными примерами спелеологических эпидемических вспышек являются заражения людей эболавирусом Марбург в пещере Китум (гора Элгон) на границе Кении и Уганды. В 1980 г. 56-летний французский спелеолог заразился в пещере вирусом Марбург и умер в госпитале г. Найроби (Кения, Восточная Африка). Заразившийся от него (но выживший) врач Шем Мусокья (Shem Musoke) стал источником изоляции штамма MMARV-Musoke (см. рис. 2) [52]. В 1987 г. в той же пещере заразился и умер 15-летний юноша из Дании, по имени которого — Раун — был назван штамм MMARV-Ravn¹³ (см. рис. 2) [33].

Лесной тип эпидемии имеет место в лесных деревьях. Крыланы, обитающие в верхних ярусах влажных экваториальных и тропических лесов, редко становятся добычей охотников. Но от крыланов часто заражаются обезьяны, совершающие значительные вертикальные перемещения. Упавшие на землю контаминированные фрукты могут стать причиной заражения животных наземного экологического комплекса. Больные ослабленные животные в первую очередь становятся добычей охотников, которые заносят инфекцию в лесные поселения. Последние обычно достаточно изолированы, поэтому большинство эпидемических вспышек этого типа до сих пор остаются неизвестными. Однако при наличии достаточно интенсивных социальных контактов лесные эпидемии могут достигать значительных масштабов.

¹² В наших предыдущих публикациях [5, 6], в которых описывались типы эпидемий, этиологически связанных с филовирусами, отсутствует спелеологический тип эпидемии (поскольку массовые скопления людей в пещерах на сегодня не имеют места), но в данной работе мы приводим этот тип эпидемической вспышки.

¹³ Здесь нет ошибочного написания: по-датски «Ravn» произносится как [ˈrawˀn], что наиболее близко к русскому «Раун».

Деревенский тип эпидемии возникает в тех случаях, когда сельскохозяйственные плантации подступают вплотную к лесным массивам или даже вклиниваются в них. Крыланы быстро изменяют свое поведение и, естественно, предпочитают кормиться на плантациях, где фрукты более высокого качества и наиболее доступны. Это повышает вероятность, во-первых, контаминации сельскохозяйственной продукции, а во-вторых — заражения людей в результате охоты на крыланов (которые в странах Африки широко используются в пищу).

Городской тип эпидемии возникает в населенных пунктах с высокой плотностью населения. Источником вируса, который передается контактным и контактно-бытовым путем через все биологические жидкости (кровь и ее продукты, мочу, кал, рвотные массы, слюну, слезы, пот), являются больные люди. Необходимо отметить особо, что в сперме и тканевых макрофагах филеовирусы могут находиться до 2–3 мес. от начала заболевания.

Следует иметь в виду, что внутрибольничные вспышки филеовирусных инфекций относятся к городскому типу независимо от размера населенного пункта. Кроме того, тип эпидемии может изменяться в процессе ее развития. Например, эпидемия в Западной Африке (2013–2016 гг.), этиологически связанная с ZEBOV, зарождалась как сельская эпидемия, затем расширялась как серия городских (внутрибольничных) эпидемических вспышек и, наконец, трансформировалась в обширную эпидемию городского типа [4, 5, 7, 8, 12, 51].

■ Заключение

Имеющиеся в научной литературе данные свидетельствуют о том, что природным резервуаром филеовирусов на Африканском континенте являются крыланы, составляющие отдельный подотряд (*Megachiroptera*), отличный от подотряда Летучих мышей (*Microchiroptera*), в составе отряда Рукокрылых (*Chiroptera*). Крыланы переносят филеовирусную инфекцию бессимптомно, но выделяют вирус со слюной, мочой, фекалиями, вследствие чего могут заражаться другие животные, включая высших приматов (*Anthropoidea*) и человека (*Homo sapiens sapiens*), у которых развивается геморрагическая лихорадка. Три типа эпидемических вспышек (спелеологический, лесной и деревенский) вызываются контактным заражением людей от больных животных, в то время как городской тип эпидемий связан с передачей вируса от человека человеку.

«Νῦν δὲ μὴν ἀκλειῶς Ἄρπυιαι ἀνὴρέψατο»¹⁴, — говорили древние об ужасной неожиданной кончине. Образы отвратительных древнегреческих гарпий и средневековых гаргулий на карнизах готических соборов, навеянные описаниями крупных крыланов, приобретают дополнительную коннотацию в контексте колониальной/неоколониальной политики западноевропейских стран и современных представлений о природной опасности филеовирусов. «Wer mit Ungeheuern kampf, mag zusehen, dass er nicht dabei zum Ungeheuer wird. Und wenn du lange in einen Abgrund blickst, blickt der Abgrund auch in dich hinein»¹⁵.

Работа выполнена в рамках исследований в связи с выполнением Распоряжения Правительства Российской Федерации от 25.07.2015 № 1448-р «Оснащение материально-технической базы лабораторий, расположенных на территории Гвинейской Республики», а также научной Программы САЕ ЦАТИ Дальневосточного федерального университета «Транснациональные угрозы и биологическая безопасность».

¹⁴ Пер. с др.-греч.: «Гарпии взяли его...». Гомер. Одиссея (VIII век до н.э.). Глава 1. Строка 241.

¹⁵ Пер. с нем.: «Кто сражается с чудовищами, тому следует остерегаться, чтобы самому при этом не стать чудовищем. И если ты долго смотришь в бездну, то бездна тоже смотрит в тебя». Ф. Ницше. По ту сторону добра и зла. Прелюдия к философии будущего (1886). Отдел четвертый. Раздел 146.

■ Список литературы

1. Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных. Под ред. Львова Д.К. М.: МИА, 2013: 1197.
2. Чепурнов А.А., Шестопалова Л.В. Генетические и патофизиологические факторы вирулентности вируса Эбола. *Новосибирск: Наука-Центр*, 2010: 150.
3. Чумаков М.П., Беляева А.П., Мартыанова Л.И. Выделение и изучение штаммов возбудителя зоонозной церкопитековой геморрагической лихорадки. XV научная сессия Института полиомиелита и вирусных энцефалитов. Материалы XV Научной сессии Института полиомиелита и вирусных энцефалитов. 21–25 октября 1968 г. *Москва*, 1968: 258.
4. Щелканов М.Ю., Колобухина Л.В., Львов Д.К. Грипп: история, клиника, патогенез. *Лечащий врач*. 2011; 10: 33–38.
5. Щелканов М.Ю., Magassouba N.F., Boiro M.Y., Малеев В.В. Причины развития эпидемии лихорадки Эбола в Западной Африке. *Лечащий врач*. 2014; 11: 30–36.
6. Щелканов М.Ю., Zoumanigui N., Boiro M.Y., Малеев В.В. Пять мифов о лихорадке Эбола: где кончается вымысел? *Русский медицинский журнал*. 2015; 23 (2): 58–65.
7. Эпидемиология, профилактика и лабораторная диагностика болезни, вызванной вирусом Эбола: практическое руководство. Под ред. Поповой А.Ю., Кутырева В.В. *Саратов: Буква*, 2015: 244.
8. 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
9. Amman B.R., Carroll S.A., Reed Z.D., Sealy T.K., Balinandi S., Swanepoel R., Kemp A., Erickson B.R., Comer J.A., Campbell S., Cannon D.L., Khristova M.L., Atimnedi P., Paddock C.D., Crockett R.J.K., Flietstra T.D., Warfield K.L., Unfer R., Katongole-Mbidde E., Downing R., Tappero J.W., Zaki S.R., Rollin P.E., Ksiazek T.G., Nichol S.T., Towner J.S. Seasonal pulses of Marburg virus circulation in juvenile *Rousettus aegyptiacus* bats coincide with periods of increased risk of human infection. *PLoS Pathog.* 2012; 8 (10):e1002877. doi: 10.1371/journal.ppat.1002877
10. Amman B.R., Jones M.E., Sealy T.K., Uebelhoefer L.S., Schuh A.J., Bird B.H., Coleman-McCray J.D., Martin B.E., Nichol S.T., Towner J.S. Oral shedding of Marburg virus in experimentally infected Egyptian fruit bats (*Rousettus aegyptiacus*). *J. Wildl. Dis.* 2015; 51 (1): 113–124. doi: 10.7589/2014-08-198
11. Arata A.A., Johnson B. Approaches toward studies on potential reservoirs of viral haemorrhagic fever in southern Sudan. *Ebola virus haemorrhagic fever*. Ed. Pattyn S.R. *New York: Elsevier*. 1978: 191–200.
12. 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.V., Günther S. Emergence of Zaire Ebola virus disease in Guinea. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371 (15): 1418–1425. doi: 10.1056/nejmoa1404505
13. Bermejo M., Rodríguez-Teijeiro J.D., Illera G., Barroso A., Vilà C., Walsh P.D. Ebola outbreak killed 5000 gorillas. *Science*. 2006; 314 (5805):1564. doi: 10.1126/science.1133105
14. Bonin O. The Cercopithecus monkey disease in Marburg and Frankfurt (Main), 1967. *Acta Zool. Pathol. Antv.* 1969; 48: 319–331.
15. Bowen E.T., Platt G.S., Lloyd G., Raymond R.T., Simpson D.I.H. A comparative study of strains of Ebola virus isolated from southern Sudan and northern Zaire in 1976. *J. Med. Virol.* 1980; 6 (2): 129–138. doi: 10.1002/jmv.1890060205
16. Bowen E.T.W., Lloyd G., Harris W.J., Platt G.S., Baskerville A., Vella E.E. Viral haemorrhagic fever in southern Sudan and northern Zaire. Preliminary studies on the aetiological agent. *Lancet*. 1977; 309 (8011): 571–573. doi: 10.1016/S0140-6736(77)92001-3
17. Bukreyev A.A., Volchkov V.E., Blinov V.M., Dryga S.A., Netesov S.V. The complete nucleotide sequence of the Popp (1967) strain of Marburg virus: a comparison with the Musoke (1980) strain. *Arch. Virol.* 1995; 140 (9): 1589–1600. doi: 10.1007/bf01322532
18. Callaway E. Hunt for Ebola's wild hideout takes off as epidemic wanes. *Nature*. 2016; 529 (7585): 138–139. doi: 10.1038/529138a
19. Connolly B.M., Steele K.E., Davis K.J., Geisbert T.W., Kell M.W., Jaax N.K., Jahrling P.B. Pathogenesis of experimental Ebola virus infection in guinea pigs. *J. Infect. Dis.* 1999; 179 (1): 203–217. doi: 10.1086/514305
20. Dedkov V.G., Magassouba N.F., Safonova M.V., Deviatkin A.A., Dolgova A.S., Pyankov O.V., Sergeev A.A., Utkin D.V., Odinokov G.N., Safonov V.A., Agafonov A.P., Maleev V.V., Shipulin G.A. Development and evaluation of a real-time RT-PCR assay for the detection of Ebola virus (Zaire) during an Ebola outbreak in Guinea in 2014–2015. *J. Virol. Meth.* 2016; 228: 26–30. doi: 10.1016/j.jviromet.2015.11.007
21. Ebola haemorrhagic fever in Sudan, 1976. Report of a WHO/International study team. *Bull. World Health Organ.* 1978; 56 (2): 247–270.
22. Ebola haemorrhagic fever in Zaire, 1976. Report of an International Commission. *Bull. World Health Organ.* 1978; 56 (2): 271–293.

23. Feldmann H., Wahl-Jensen V., Jones S.M., Stroher U. Ebola virus ecology: a continuing mystery. *Trends Microbiol.* 2004; 12 (10): 433–437. doi: 10.1016/j.tim.2004.08.009
24. Formenty P., Boesch C., Wyers M., Steiner C., Donati F., Dind F., Walker F., Le Guenno B. Ebola virus outbreak among wild chimpanzees living in a rain forest of Cote d'Ivoire. *J. Infect. Dis.* 1999; 179 (1): S120–S126. doi: 10.1086/514296
25. Funk S., Piot P. Mapping Ebola in wild animals for better disease control. *eLife.* 2014; 3:e04565. doi: 10.7554/eLife.04565
26. Geisbert T.W., Jahrling P.B. Use of immunoelectron microscopy to show Ebola virus during the 1989 United States epizootic. *J. Clin. Pathol.* 1990; 43 (10): 813–816. doi: 10.1136/jcp.43.10.813
27. Germain M. Collection of mammals and arthropods during the epidemic of haemorrhagic fever in Zaire. *Ebola virus haemorrhagic fever. Ed. Pattyn S.R. New York: Elsevier. 1978: 185–189.*
28. Gibb T.R., Norwood D.A. Jr., Woollen N., Henchal E.A. Development and evaluation of a fluorogenic 5' nuclease assay to detect and differentiate between Ebola virus subtypes Zaire and Sudan. *J. Clin. Microbiol.* 2001; 39 (11): 4125–4130. doi: 10.1128/JCM.39.11.4125-4130.2001
29. Hayes C.G., Burans J.P., Ksiazek T.G., Del Rosario R.A., Miranda M.E.G., Manaloto C.R., Barrientos A.B., Robles C.G., Dayrit M.M., Peters C.J. Outbreak of fatal illness among captive macaques in the Philippines caused by an Ebolarelated filovirus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1992; 46 (6): 664–671. doi: 10.4269/ajtmh.1992.46.664
30. Hayman D.T., Emmerich P., Yu M., Wang L.-F., Suu-Ire R., Fooks A.R., Cunningham A.A., Wood J.L.N. 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
31. Hayman D.T.S., Yu M., Crameri G., Wang L.-F., Suu-Ire R., Wood J.L.N., Cunningham A.A. Ebola virus antibodies in fruit bats, Ghana, West Africa. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18 (7): 1207–1209. doi: 10.3201/eid1807.111654
32. Jamieson B.G.M., Pettigrew J.D., Robson S.K., Hall L.S., McAnally K.I., Cooper H.M. Phylogenetic relations between microbats, megabats and primates (Mammalia: Chiroptera and Primates). *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 1989; 325 (1229): 489–559. doi: 10.1098/rstb.1989.0102
33. Johnson E.D., Johnson B.K., Silverstein D., Tukei P., Geisbert T.W., Sanchez A.N., Jahrling P.B. Characterization of a new Marburg virus isolated from a 1987 fatal case in Kenya. *Arch. Virol.* 1996; Suppl. 11: 101–114.
34. Jones M.E., Schuh A.J., Amman B.R., Sealy T.K., Zaki S.R., Nichol S.T., Towner J.S. Experimental inoculation of Egyptian rousette bats (*Rousettus aegyptiacus*) with viruses of the Ebolavirus and Marburgvirus genera. *Viruses.* 2015; 7 (7): 3420–3442. doi: 10.3390/v7072779
35. Kobinger G.P., Leung A., Neufeld J., Richardson J.S., Falzarano D., Smith G., Tierney K., Patel A., Weingart H.M. Replication, pathogenicity, shedding, and transmission of Zaire ebolavirus in pigs. *J. Infect. Dis.* 2011; 204 (2): 200–208. doi: 10.1093/infdis/jir077
36. 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 (12): 2083–2103. doi: 10.1007/s00705-010-0814-x
37. Le Guenno B., Formenty P., Wyers M., Gounon P., Walker F., Boesch C. Isolation and partial characterisation of a new strain of Ebola virus. *Lancet.* 1995; 345 (8960): 1271–1274. doi: 10.1016/S0140-6736(95)90925-7
38. 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): 723–728. doi: 10.1089/vbz.2008.0167
39. Leroy E.M., Kumulungui B., Pourrut X., Rouquet P., Hassanin A., Yaba P., Délicat A., Paweska J.T., Gonzalez J.-P., Swanepoel R. Fruit bats as reservoirs of Ebola virus. *Nature.* 2005; 438 (7068): 575–576. doi: 10.1038/438575a
40. Martini G. Marburg agent disease: in man. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1969; 63 (3): 295–302. doi: 10.1016/0035-9203(69)90001-7
41. McCormick J.B., Bauer S.P., Elliott L.H., Webb P.A., Simpson D.I.H. Biologic differences between strains of Ebola virus from Zaire and Sudan. *J. Infect. Dis.* 1983; 147 (2): 264–267. doi: 10.1093/infdis/147.2.264
42. Monath T.P. Ecology of Marburg and Ebola viruses: speculations and directions for future research. *J. Infect. Dis.* 1999; 179 (1): S127–S138. doi: 10.1086/514281
43. Nakazibwe C. Marburg fever outbreak leads scientists to suspected disease reservoir. *Bull. World Health Organ.* 2007; 85 (9): 654–656. doi: 10.1590/S0042-96862007000900006
44. Negro A., Palacios G., Vázquez-Morón S., González F., Dopazo H., Molero F., Juste J., Quetglas J., Savji N., de la Cruz Martínez M., Herrera J.E., Pizarro M., Hutchison S.K., Echevarría J.E., Lipkin W.I., Tenorio A. Discovery of an ebolavirus-like filovirus in Europe. *PLoS Pathog.* 2011; 7 (10): e1002304. doi: 10.1371/journal.ppat.1002304
45. Nfon C.K., Leung A., Smith G., Embury-Hyatt C., Kobinger G., Weingart H.M. Immunopathogenesis of severe acute respiratory disease in Zaire ebolavirus-infected pigs. *PLoS One.* 2013; 8 (4): e61904. doi: 10.1371/journal.pone.0061904
46. Pattyn S., Groen G.V., Jacob W., Piot P., Courteille G. Isolation of Marburglike virus from a case of haemorrhagic fever in Zaire. *Lancet.* 1977; 1 (8011): 573–574. doi: 10.1016/S0140-6736(77)92002-5

47. Paweska J.T., Jansen van Vuren P., Masumu J., Leman P.A., Grobbelaar A.A., Birkhead M., Clift S., Swanepoel R., Kemp A. Virological and serological findings in *Rousettus aegyptiacus* experimentally inoculated with Vero cells-adapted hogan strain of Marburg virus. *PLoS One*. 2012; 7 (9): e45479. doi: 10.1371/journal.pone.0045479
48. Paweska J.T., Vuren J.P., Fenton K.A., Graves K., Grobbelaar A.A., Moolla N., Leman P., Weyer J., Storm N., McCulloch S.D., Scott T.P., Markotter W., Odendaal L., Clift S.J., Geisbert T.W., Hale M.J., Kemp A. Lack of Marburg virus transmission from experimentally infected to susceptible in-contact Egyptian fruit bats. *J. Infect. Dis.* 2015; 212 (2): S109–S118. doi: 10.1093/infdis/jiv132
49. Peterson A.T., Bauer J.T., Mills J.N. Ecologic and geographic distribution of filovirus disease. *Emerg. Infect. Dis.* 2004; 10 (1): 40–47. doi: 10.3201/eid1001.030125
50. Rouquet P., Froment J.-M., Bermejo M., Kilbourne A., Karesh W.B., Reed P., Kumulungui B., Yaba P., Délicat A., Rollin P.E., Leroy E.M. Wild animal mortality monitoring and human Ebola outbreaks, Gabon and Republic of Congo, 2001–2003. *Emerg. Infect. Dis.* 2005; 11 (2): 283–290. doi: 10.3201/eid1102.040533
51. Saéz A.M., Weiss S., Nowak K., Lapeyre V., Zimmermann F., Dux A., Kühl H.S., Kaba M., Regnaut S., Merkel K., Sachse A., Thiesen U., Villányi L., Boesch C., Dabrowski P.W., Radonić A., Nitsche A., Leendertz S.A.J., Petterson S., Becker S., Krähling V., Couacy-Hymann E., Akoua-Koffi C., Weber N., Schaade L., Fahr J., Borchert M., Gogarten J.F., Calvignac-Spencer S., Leendertz F.H. Investigating the zoonotic origin of the West African Ebola epidemic. *EMBO Mol. Med.* 2015; 7 (1): 17–23. doi: 10.15252/emmm.201404792
52. Smith D.H., Isaacson M., Johnson K.M., Bagshawe A., Johnson B.K., Swanepoel R., Killey M., Siongok T., Koinange Keruga W. Marburg-virus disease in Kenya. *Lancet*. 1982; 319 (8276): 816–820. doi: 10.1016/s0140-6736(82)91871-2
53. Swanepoel R., Leman P.A., Burt F.J., Zachariades N.A., Braack L.E.O., Ksiazek T.G., Rollin P.E., Zaki S.R., Peters C.J. Experimental inoculation of plants and animals with Ebola virus. *Emerg. Infect. Dis.* 1996; 2 (4): 321–325. doi: 10.3201/eid0204.960407
54. Swanepoel R., Smit S.B., Rollin P.E., Formenty P., Leman P.A., Kemp A., Burt F.J., Grobbelaar A.A., Croft J., Bausch D.G., Zeller H., Leirs H., Braack L.E.O., Libande M.L., Zaki S.R., Nichol S.T., Ksiazek T.G., Paweska J.T. Studies of reservoir hosts for Marburg virus. *Emerg. Infect. Dis.* 2007; 13 (12): 1847–1851. doi: 10.3201/eid1312.071115
55. Vogel G. Tracking Ebola's deadly march among wild apes. *Science*. 2006; 314 (5805): 1522–1523. doi: 10.1126/science.314.5805.1522
56. Volchkova V.A., Dolnik O., Martinez M.J., Reynard O., Volchkov V.E. Genomic RNA editing and its impact on Ebola virus adaptation during serial passages in cell culture and infection of guinea pigs. *J. Infect. Dis.* 2011; 204 (3): S941–S946. doi: 10.1093/infdis/jir321
57. Wamala J.F., Lukwago L., Malimbo M., Nguku P., Yoti Z., Musenero M., Amone J., Mbabazi W., Nanyunja M., Zaramba S., Opio A., Lutwama J.J., Talisuna A.O., Okware S.I. Ebola hemorrhagic fever associated with novel virus strain, Uganda, 2007–2008. *Emerg. Infect. Dis.* 2010; 16 (7): 1087–1092. doi: 10.3201/eid1607.091525
58. 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
59. Wittmann T.J., Biek R., Hassanin A., Rouquet P., Reed P., Yaba P., Pourrut X., Real L.A., Gonzalez J.-P., Leroy E.M. Isolates of Zaire ebolavirus from wild apes reveal genetic lineage and recombinants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2007; 104 (43): 17123–17127. doi: 10.1073/pnas.0704076104

Оценка потенциальной эпизоотологической значимости мелких хищных млекопитающих в циркуляции вируса Эбола в Гвинейской Республике

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

Ретроспективные данные клинико-эпидемиологических, серодиагностических и сероэпидемиологических исследований, выполненных в Западной Африке в начале 80-х гг. XX столетия [2], косвенно подтверждают эндемичность территории Гвинейской Республики по лихорадке Эбола. Однако, несмотря на большой объем полевых и лабораторных исследований, выполненных здесь в 1978–1991 гг. [1, 4], зарегистрировать циркуляцию филовирюсов (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 человека, связанный с естественно инфицированными обезьянами [11]. Больная выздоровела. С 1994 г. в Африке среди шимпанзе и горилл неоднократно регистрировали вспышки лихорадки Эбола, вызываемые вирусами Заир и Тай 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 филовирюсов (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, 10, 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) [1, 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 филовирюсов (Марбург, Эбола) в Западной, Центральной и Восточной Африке рассматриваются 17 видов отряда *Chiroptera* — рукокрылых (летучих мышей и крыланов) [6, 13, 14]. Кроме того, первый слу-

чай 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 Оустона.

Мелкие хищные млекопитающие являются фоновыми видами лесов и саван Гвинейской Республики, обычны в антропогенных ландшафтах, в том числе 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 генетта, *G. thierryi* — западноафриканская генетта, *Nandina binotata* — африканская пальмовая циветта или нандиния, *Civettictis civetta* — африканская циветта и др. [5]. 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 совместного использования биотопов создаются оптимальные условия для передачи филовирусов 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 филовирусами 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. (рис.).

Среди других представителей отряда *Carnivora* (хищные млекопитающие) определенный интерес в качестве возможного резервуара вируса Эбола на территории Гвинейской Республики, представляют также различные представители семейства *Canidae* (псовые): *Canis adustus* — полосатый шакал, *Mellivora capensis* — медоед; семейства *Herspestidae* (мангустовые): *Atilaxpaludinis* — водяной мангуст и *Mungos gambianus* — гамбийский мангуст; *Crossarchus obscurus* — длинноносыя кузиманза; 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.

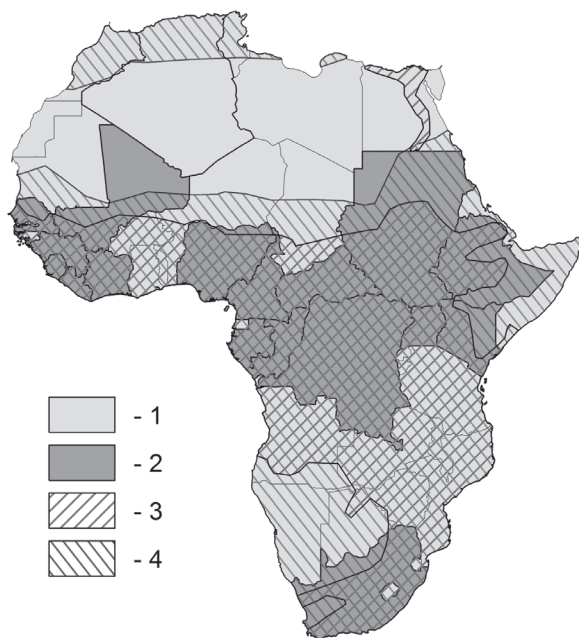


Рисунок. Современные границы распространения вируса Эбола и потенциальных его резервуаров — мелких хищных млекопитающих (семейство виверровые) и рукокрылых на территории Африканского континента

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 эполетового крылана (*Epomophorus gambianus*), эполетового крылана Франке (*Epomops franqueti*), молотоголового крылана (*Hypsignathus monstrosus*), крылана малого эполетового (*Micropteropus pusillus*), ошейникового крылана (*Myonycteris torquata*), египетского крылана (*Roussetus 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 thierryi*).

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 БВБЭ 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 филовирусов является исключительная редкость реализации в природе механизма их попадания в популяции эпидемически значимых видов мелких млекопитающих. В связи с этим особый практический интерес представляет гипотеза вертикальной трансмиссии возбудителей особо опасных инфекционных болезней из почвенной биоты к теплокровным животным [9]. В этом плане весьма актуально изучение возможности сохранения филовирусов 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 филовирусов с фоновыми видами рукокрылых и виверровых служит отправной точкой в механизме их передачи к теплокровным животным.

■ Список литературы

1. Бутенко А.М. Изучение циркуляции арбовирусов в Гвинейской Республике. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 1996; 2: 40–45.
2. Бутенко А.М. Ретроспективные данные по изучению лихорадки Эбола в Африке. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2015; 20: 39–43.
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. *Вопросы вирусологии*. 1986; 2: 186–190.
4. Константинов О.К., Диало С.М., Инапоги А.П., Ба А., Камара С.К. Млекопитающие Гвинеи как резервуары и носители арбовирусов. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2006; 1: 34–38.
5. Константинов О.К., Инапоги А.П., Лабзин В.В., Попов Н.В. Фауна млекопитающих Гвинейской Республики как резервуаров и носителей возбудителей природно-очаговых инфекций. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2004; 2: 20–24.
6. Эпидемиология, профилактика и лабораторная диагностика болезни, вызванной вирусом Эбола. Под ред. Поповой А.Ю., Кутырева В.В. *Саратов: Буква*, 2015: 244.
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: 385–390.
8. Knobloch J., Albierz E.J., Schmitz H. A serological survey on viral hemorrhagic fevers in Liberia. *Ann. Virol.* 1982; 2: 125–128.
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. Genet. Microbiol. Virol.* 2009; 24 (4): 169–176.
10. 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.
11. Le Guenno B., Formenty P., Wyers M., Boesch C. Isolation and partial characterization of a new Ebola strain. *Lancet*. 1995; 345: 1271–1274.
12. 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): 723–728.
13. Olival K.J., Hayman D.T. Filoviruses in bats: current knowledge and future directions. *Viruses*. 2014; 6: 1759–1788.
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, Sierra Leone. *Emerg. Infect. Dis.* 2014; 20 (7): 1176–1182.

Оценка влияния мер противодействия на последствия локальных эпидемий, вызываемых возбудителями особо опасных инфекций: изоляция

А.Г. Бачинский, А.Ф. Низоленко

■ Материалы и методы

В ГНЦ ВБ «Вектор» разрабатывается детерминистическая модель, предназначенная для описания массовых эпидемий острых инфекционных заболеваний, когда основными путями заражения являются как инфицирование из некоторого внешнего источника, так и контакт между людьми независимо от пола, возраста и других социально-демографических особенностей групп населения. В настоящий момент модель адаптирована к достаточно широкому кругу инфекций: натуральной оспе, сибирской язве, чуме (легочная и бубонная формы), туляремии, геморрагическим лихорадкам Эбола, Марбург, Ласса, Крымской-Конго (ККГЛ), сезонному гриппу. Подробное описание модели и данные о ее верификации опубликованы ранее [1, 2, 5].

■ Результаты и обсуждение

Как показывает опыт и как определено в нормативных документах, изоляция больных, контактных и лиц, подозрительных на заболевание, является важной мерой противодействия. Даже для нетрансмиссивных инфекций своевременное выявление больных может приводить, например, к снижению смертности за счет лечения. Скорость изоляции зависит как от скорости выявления лиц, нуждающихся в изоляции, так и от доступности мест в госпиталях, куда могут быть изолированы эти лица. Скорость выявления этих лиц, в свою очередь, зависит от наличия медперсонала и бригад, способных оперативно производить трассировку и выявление людей, которые контактировали с больными, а также, в случае необходимости, осуществлять так называемый «подворный обход».

Для оценки влияния изоляции на динамику эпидемий был спланирован и проведен следующий вычислительный эксперимент. Динамика эпидемий рассчитывалась при массовом начальном инфицировании, наличии либо отсутствии таких ресурсных ограничений, как места изоляции, квалифицированный медперсонал, в том числе для поиска и изоляции/наблюдения (следовательно, и лечения) больных, контактных и подозрительных на заболевание лиц.

В табл. 1 приведены результаты расчетов на 100-й день развития эпидемий. Параметры при моделировании соответствуют условиям Новосибирской области [3, 4]. Начальное число инфицированных определяется дозой возбудителя соответствующей инфицированию 500 человек. Предполагается, что внешний источник инфекции и вакцинация отсутствуют. В отличие от условий, принятых по умолчанию, ресурсные ограничения не снимаются с началом «жесткого» режима противоэпидемических мероприятий (ПЭМ). Режимы ПЭМ, реализуемые в модели, подробно описаны ранее [2, 5].

Проведенные расчеты показывают (табл. 1), что, как и ожидалось, для нетрансмиссивных инфекций (туляремия и сибирская язва) зависимость от ресурсных ограничений, определяющих возможности изоляции, полностью отсутствует. Также отсутствует эта зависимость для лихорадок Крымской-Конго, Марбург и Эбола (за исключением сценариев, когда мер противодействия нет вообще). Последнее определяется относительно малыми масштабами всплеск этих инфекций, когда ресурсы Новосибирской области не успевают исчерпаться для заданных условий расчетов. Поэтому для оценки влияния изоляции на ход эпидемий этих и других трансмиссивных инфекций были проведены специальные

Таблица 1. Расчеты числа инфицированных и числа умерших на 100-й день после начала эпидемии при наличии и отсутствии ресурсных ограничений по скорости изоляции

Показатель	Заболевание							
	Оспа	Чума	Туляремия	Сибирская язва	Геморрагические лихорадки			
					ККГЛ	Ласса	Марбург	Эбола
Число инфицированных при отсутствии мер противодействия	2 438 144 ²	2 664 611 ²	500	500	4732	2 490 988 ²	3767 ²	1 509 658 ²
Число умерших при отсутствии мер противодействия	323 723 ²	2 527 558 ²	134	286	1228	335 731 ²	401 ²	316 579 ²
Число инфицированных при наличии ресурсных ограничений по всем показателям, определяющим скорость изоляции ¹	335 021 ²	2 647 247 ²	500	500	680	135 001 ²	801	1161
Число умерших при наличии ресурсных ограничений по всем показателям, определяющим скорость изоляции ¹	14 606 ²	2 454 240 ²	29	206	180	9045 ²	169	863
Число инфицированных при отсутствии ресурсных ограничений по скорости изоляции	3321	3618	500	500	680	2787	798	1161
Число умерших при отсутствии ресурсных ограничений по скорости изоляции	392	3044	29	207	180	483	169	863
Число инфицированных при отсутствии ресурсных ограничений только по числу мест изоляции больных	289 865 ²	2 646 727 ²	500	500	680	126 446 ²	801	1161
Число умерших при отсутствии ресурсных ограничений только по числу мест изоляции больных	12 546 ²	2 453 276 ²	29	207	180	8511 ²	169	863
Число инфицированных при отсутствии ресурсных ограничений только по числу мест изоляции контактных	68 914 ²	5627	500	500	680	56 597 ²	801	1161
Число умерших при отсутствии ресурсных ограничений только по числу мест изоляции контактных	3042 ²	4437	29	207	180	4498 ²	169	863

Окончание таблицы 1. Расчеты числа инфицированных и числа умерших на 100-й день после начала эпидемии при наличии и отсутствии ресурсных ограничений по скорости изоляции

Показатель	Заболевание							
	Оспа	Чума	Туляремия	Сибирская язва	Геморрагические лихорадки			
					ККГЛ	Ласса	Марбург	Эбола
Число инфицированных при отсутствии ресурсных ограничений по наличию медперсонала и числу бригад для поиска больных и контактных	217 394 ²	2 626 986 ²	500	500	680	3772	798	1161
Число умерших при отсутствии ресурсных ограничений по наличию медперсонала и числу бригад для поиска больных и контактных	9268 ²	2 417 851 ²	29	207	180	860	169	863

¹ Ресурсы при моделировании соответствуют условиям Новосибирской области; ² эпидемия не закончилась к сотому дню расчетов.

исследования, результаты которых излагаются ниже. Для легочной формы чумы при ограниченной изоляции эпидемия прекращается, фактически, только с исчерпанием чувствительных к инфекции лиц. Отношение числа инфицированных и умерших при наличии и отсутствии ресурсных ограничений превышает 500.

Для разных инфекций значимость различных ресурсных ограничений оказывается существенно разной. Для натуральной оспы и чумы решающим фактором оказалась изоляция контактных лиц. Однако в случае оспы важным также был дефицит медперсонала, для чумы же остальные факторы заметной роли не играли. Для лихорадки Ласса наиболее значимым оказался дефицит медперсонала, на втором месте — дефицит мест изоляции контактных.

Кроме самой возможности осуществлять изоляцию, которая может ограничиваться ресурсами, очень важным моментом является ее оперативность. Для демонстрации этого положения проведены расчеты, в которых начало реализации мер противодействия варьировало от нуля (начало расчета с момента появления в популяции первых инфицированных) до момента, значение которого в 3 раза больше такового, принятого по умолчанию.

Такая схема принята потому, что для моделируемых инфекций очень различаются как инкубационные периоды, так и периоды «собственно болезни». Моменты реализации ПЭМ, принятые по умолчанию для каждой инфекции, определены, исходя из комплексного анализа многих данных литературы.

Итак, схема расчета та же самая, что была раньше, но присутствующие ресурсные ограничения снимаются, когда начинается «жесткий» режим ПЭМ, что предполагает мобилизацию недостающих ресурсов из других регионов. Оценки последствий эпидемий приведены в табл. 2.

Расчеты показывают, что для всех без исключения инфекций моменты начала реализации мер противодействия очень важны. Конечно, запаздывание с реализацией ПЭМ в 2 месяца маловероятно. Однако, даже «естественное» запаздывание, принятое по умолчанию, приводит к увеличению числа инфицированных и умерших от примерно двукратного для чумы, лихорадок Крымской-Конго и Марбург до пятикратного для лихорадок Ласса и Эбола и без малого в 10 раз для натуральной оспы.

Таблица 2. Расчеты числа инфицированных и числа умерших на 100-й день после начала эпидемии для разных сроков реализации мер противодействия, включая изоляцию*

Начало реализации ПЭМ в долях от принятого по умолчанию	Заболевание, начало ПЭМ, принятое «по умолчанию»					
	Оспа 20	Чума 4	Геморрагические лихорадки			
			ККГЛ 20	Ласса 16	Марбург 20	Эбола 20
0	609 114	2302 1782	509 119	703 122	530 141	603 449
0.5	1134 173	3159 2422	530 125	1052 183	579 145	1161 863
1	5537 708	5899 4494	819 192	3285 568	887 179	3181 2367
1.5	23 187 3428	13 085 9952	1233 341	8635 ¹ 1508 ¹	1315 231	9550 7110
2	91 091 ¹ 12 366 ¹	31 073 23 504	1436 420	26 481 ¹ 6275 ¹	1760 284	26 882 20 027
2.5	303 154 ¹ 267 935 ¹	65 255 ¹ 49 378 ¹	2026 590	63 805 ¹ 15 168 ¹	2150 320	68 855 ¹ 51 236 ¹
3	871 263 ¹ 105 577 ¹	121 608 ¹ 92 211 ¹	2380 743	165 479 ¹ 39 560 ¹	2523 ¹ 346 ¹	168 223 ¹ 121210 ¹

¹ Эпидемия не закончилась к сотому дню расчетов.

* Ресурсные ограничения снимаются, когда начинается «жесткий» режим ПЭМ.

Примечание: первая строка ячеек — число инфицированных, вторая строка ячеек — число умерших.

Еще один фактор изоляции — ее скорость в отсутствие ресурсных ограничений. В модели приняты достаточно высокие скорости изоляции контактных и больных. Например, доля больных тяжелой формой натуральной оспы в стадии сыпи, изолируемых ежедневно при 1, 2, 3 уровнях ПЭМ [2] составляет 40, 60, 80% соответственно. Для оценки влияния скорости изоляции на последствия эпидемий проведены расчеты динамики эпидемий чумы и натуральной оспы в отсутствие ресурсных ограничений для разных уровней скорости изоляции больных и контактных по отдельности: 0, 50, 80, 100 и 120% от значений, принятых по умолчанию. Массовая вакцинация, как и ранее, отсутствовала. При этом все

Таблица 3. Расчеты числа инфицированных и числа умерших на 100-й день после начала эпидемии для разных уровней скорости изоляции больных и контактных в отсутствие ресурсных ограничений

Уровни скорости изоляции по отношению к принятым по умолчанию, %	Заболевание			
	Натуральная оспа		Чума	
	Изоляция больных	Изоляция контактных	Изоляция больных	Изоляция контактных
0	12 033 ¹ 1339 ¹	9944 ¹ 1784 ¹	22 276 ¹ 17 330 ¹	1 910 117 ¹ 1 388 154 ¹
50	6540 ¹ 774 ¹	5469 725	9186 7283	8795 6938
80	5450 650	5150 638	5642 4432	5377 4195
100	5023 605	6418 761	4447 3478	4447 3478
120	4698 572	6283 730	3661 2853	3865 3047

¹ Эпидемия не закончилась к сотому дню расчетов.

Примечание: первая строка ячеек — число инфицированных, вторая строка ячеек — число умерших.

значения скорости изоляции (больных в стадии продромы или «активной стадии», тяжелая и легкая формы болезни для разных уровней ПЭМ) изменялись одновременно. Результаты расчетов представлены в табл. 3.

Оказалось, что зависимость последствий эпидемий от скорости изоляции больных и контактных относительно слабая. Исключение составляет полное отсутствие изоляции больных или контактных. Дело, видимо, в том, что есть еще один фактор, влияющий на динамику эпидемий, а именно — карантин. Его интенсивность полагается равной 50% для натуральной оспы и 60% для чумы. А это значит, что скорость передачи инфекции сокращается на 50 и 60% соответственно. Для чумы это означает, что среднее число инфицируемых от одного больного, даже в отсутствие других ПЭМ, становится меньше единицы. Этот эффект наступает для чумы (при запаздывании момента реализации ПЭМ в 4 дня), примерно на 10-е сутки, и эпидемия постепенно затухает.

■ Заключение

Проведенные расчеты дают возможность оценить влияние роли изоляции на последствия эпидемий. Показано, что важными факторами являются наличие ресурсных ограничений, время реализации и скорость изоляции больных и контактных лиц. При этом для разных инфекций важными могут оказаться разные ресурсные ограничения. За исключением чумы и натуральной оспы ресурсов Новосибирской области оказывается практически достаточно, чтобы эффективно погасить эпидемии, вызываемые инфекциями, для которых проводились расчеты. Естественно, все выводы о достаточности/недостаточности ресурсов справедливы только в рамках предлагаемых по умолчанию наборов параметров. Специалист эпидемиолог имеет возможность изменять эти параметры для интересующих его возбудителей сообразно своим представлениям об их эпидемиологии, патогенезе, профилактике и лечении. Получаемые, таким образом, результаты могут позволить более рационально планировать противоэпидемические мероприятия. Поскольку модель доступна в сети Интернет, любой специалист в области эпидемиологии, но не имеющий опыта моделирования эпидемий, может провести как такие же расчеты, так и оценить влияние других факторов на динамику моделируемых эпидемий.

Работа частично поддержана из средств ФЦП «Национальная система химической и биологической безопасности РФ 2009–2014 гг.».

■ Список литературы

1. Бачинский А.Г. Математическая модель локальной эпидемии натуральной оспы с учетом мер противодействия и ресурсных ограничений. 30 лет после ликвидации оспы: исследования продолжаются. Под ред. Г.Г. Онищенко, И.Г. Дроздова. *Кольцово: Информ-Экспресс, 2010: 253–280.*
2. Бачинский А.Г., Низоленько Л.Ф. Универсальная модель локальных эпидемий, вызываемых возбудителями особо опасных инфекций. *Проблемы особо опасных инфекций. 2014; 2: 44–47. doi: 10.21055/0370-1069-2014-2-44-47*
3. О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения Новосибирской области в 2012 году: государственный доклад. URL: <http://54.rosпотреbnadzor.ru/documen> (30.10.2013).
4. Окончательные итоги Всероссийской переписи населения 2010 года. URL: http://www.perepis-2010.ru/results_of_the_census/results-inform.php (30.10.2013).
5. Bachinsky A.G., Nizolenko L.Ph. A universal model for predicting dynamics of the epidemics caused by special pathogens. *BioMed Res. Int. 2013; ID 467078: 7. doi: 10.1155/2013/467078*

Причины развития эпидемии лихорадки Эбола в Западной Африке

М.Ю. Щелканов, Н'Ф. Магассуба, М.И. Буаро, В.В. Малеев

Текущая эпидемия в Западной Африке, официально объявленная Всемирной Организацией здравоохранения (ВОЗ) 23.03.2014, этиологически связана с эболавирусом Заир (ZEBOV — *Zaire ebolavirus*) [12, 18] и имеет целый ряд отличительных характеристик. Во-первых, неожиданным оказалась локализация эпидемии — Западная Африка (рис. 1, вклейка, с. I) — в то время, как все известные до этого природные очаги возбудителя расположены в Центральной Африке, в пойме р. Конго. Во-вторых, беспрецедентен масштаб эпидемии: уже к лету 2014 г. она приобрела характер региональной. По состоянию на 25.10.2014, ВОЗ приводит кумулятивные данные о 10 114 заболевшем и 4912 умерших (летальность, таким образом, составила 48,6%) в 3 странах, территория которых находится в эпицентре эпидемии (рис. 2, вклейка, с. II): Республике Сьерра-Леоне (1281/3896 ≈ 32,9%), Республике Либерия (2705/4665 ≈ 58%), Гвинейской Республике (926/1553 ≈ 59,6%). За этот же период выявлены 28 завозных случаев заболевания с 10 (35,7%) летальными исходами в 5 странах: Нигерии (8/20 = 40%), США (1/4 = 25%), Сенегале (1/2 = 50%), Мали (0/1 = 0%), Испании (0/1 = 0%). В-третьих, эпидемия в Западной Африке охватила города и крупные населенные пункты, в то время, как в Центральной Африке чаще встречались эпидемии в лесных поселениях и деревнях.

Данная работа, выполненная совместной группой российских и гвинейских специалистов, посвящена анализу возможных причин сложившейся эпидемической ситуации.

■ О работе экспертно-рекогносцировочной группы российских вирусологов в Гвинейской Республике

В августе 2014 г. в Гвинейскую Республику прибыла экспертно-рекогносцировочная группа российских специалистов в составе: академик РАН, д.м.н. Малеев Виктор Васильевич (заместитель по научной работе директора ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора) и д.б.н. Щелканов Михаил Юрьевич (заведующий лабораторией экологии вирусов ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Иванковского» Минздрава России) (рис. 3–4, вклейка, с. II; рис. 5–6, вклейка, с. III).

В задачи группы входили: 1) обеспечение биологической безопасности Посольства Российской Федерации в Гвинейской Республике и Республике Сьерра-Леоне и российских граждан на территории Западной Африки; 2) научно-методическая поддержка местных специалистов; 3) сбор аналитической информации непосредственно в очаге эпидемии; 4) ознакомление с опытом гвинейских коллег по диагностике и лечению лихорадки Эбола; 5) установление контактов с представителями ВОЗ и других международных организаций, осуществляющих деятельность по предотвращению распространения эпидемии; 6) установление контактов со специалистами Гвинейского Института им. Л. Пастера (г. Киндия); 7) проведение переговоров с Министерством здравоохранения Гвинейской Республики с целью определения масштабов помощи со стороны Российской Федерации, а также получения разрешения на работу российских специализированных противоэпидемических бригад (СПЭБов). Получение приглашения российских СПЭБов имело большую научно-практическую ценность, в первую очередь, для Гвинейской Республики, которая — как и другие страны региона, охваченные эпидемией, — остро нуждается в средствах современной молекулярной диагностики, а во-вторых, — и для нашей страны, так как отечественные тест-системы имели возможность «пройти обкатку» в условиях реальной эпидемии. К слову сказать, тест-системы российского производства зарекомен-

довали себя с самой лучшей стороны и строго соответствуют международным требованиям, но анализ их эффективности является предметом другой публикации.

Члены российской экспертно-рекогносцировочной группы проводили активные консультации с гвинейскими коллегами, учитывая их богатый опыт работы в эпицентре эпидемии. Особенно плодотворные научные отношения, естественно, складывались с выпускниками советских ВУЗов, которых в Гвинейской Республике много, и которые имеют сегодня большой политический вес. Двое из них — д-р Мамаду Буаро (директор Гвинейского Института им. Л. Пастера) (рис. 5, вклейка, с. III) и д-р Н'Фали Магассуба (заведующий лабораторией молекулярной диагностики госпиталя «Донка») (рис. 6, вклейка, с. III) — являются соавторами настоящей работы.

■ Таксономический статус эболавируса Заир

Лихорадка Эбола и ее этиологический агент получили свое название в честь реки Эбола (точнее — таково название верхнего течения реки Монгала, до впадения в нее реки Дуа), в пойме которой был в 1976 г. собран клинический материал, послуживший источником изоляции вируса [11, 14, 15, 17, 24].

Здесь же уместно обсудить правильную постановку ударения в термине «лихорадка Эбола», так как часто приходится сталкиваться с англо-американским вариантом «Эбола» и реже — с французским «Эбо́ла». При выборе правильного ударения, следует принять во внимание, что в среднем течении реки Конго (в том числе — по берегам Эболы) проживает народ бангала, который говорит на языке лингала (языковая семья банту), а в этом языке принято ставить ударение на предпоследний слог. Таким образом, правильно произносить «Эбо́ла».

В настоящее время, термин «вирус Эбола» имеет историческое значение, а также используется в качестве допустимого научного сленга. В рамках современной терминологии, этот устаревший термин остался в названии рода *Ebolavirus*, входящий в семейства *Filoviridae* отряда *Mononegavirales* (табл. 1) [5, 6]. Видовой состав рода *Ebolavirus* представлен в табл. 2.

■ Краткая справка по молекулярной биологии филовирусов

Все филовирусы имеют нитевидные вирионы ($M_r = 382 \text{ MDa}$; $\rho_{\text{CsCl}} = 1,32 \text{ г/см}^3$; $\rho_{\text{Kt}} = 1,14 \text{ г/см}^3$; $s_{20,w} \approx 1,40 \text{ S}$), снабженный липидной оболочкой, длиной 600–800 нм и толщиной 50–80 нм. Само название семейства — *Filoviridae* — происходит от лат. *filum* (нить), что прекрасно отражает морфологию вириона (рис. 7А). Пик инфекционности приходится на частицы длиной 805 нм (*Ebolavirus*) и 665 нм (*Marburgvirus*). Внутреннюю часть вириона занимает нуклеокапсид, состоящий из вирусной РНК и 4 структурных белков: NP (78–83 kDa; нуклеопротеин), VP30 (29–32 kDa; кофактор вирусной полимеразы), VP35 (31–39 kDa; фосфорилированный белок) и L (252–267 kDa; вирусная РНК-зависимая РНК-полимераза). С липидной оболочкой ассоциированы GP-комплекс (74–75 kDa; поверхностный гликопротеин), VP24 (28–29 kDa) и VP40 (31–35 kDa). GP-комплекс образует внешние «шипы» вириона (см. рис. 7Б) и состоит из двух субъединиц: большой N-концевой GP1 (гидрофильной) и малой C-концевой GP2 (гидрофобной, трансмембранной), которые ковалентно связаны дисульфидными мостиками [6, 9, 19].

Геном филовирусов представлен одноцепочечной РНК негативной полярности длиной порядка 19 тыс. нуклеотидных оснований (18 959 — у ZEBOV) [1, 6, 10]. Структура генома стандартна для отряда *Mononegavirales* (см. [5]).

Клеточными рецепторами, с которыми связывается вирусный белок GP1, являются специфические лектины — DC-SIGN (dendritic cell-specific ICAM-3-grabbing nonintegrin —

¹ Константа седиментации существенно зависит от длины частицы и от наличия топологических узлов.

неинтегриновые молекулы дендритных клеток, связывающие ICAM-3), L-SIGN (liver/lymph node-specific ICAM-3-grabbing nonintegrin — неинтегриновые молекулы клеток печени/лимфатических узлов, связывающие ICAM-3), hMGL (human macrophage C-type lectin specific to galactose/N-acetylgalactosamine — С-лектин человеческих макрофагов, специфичный к галактозе/N-ацетилгалактозамину), FR- α (human folate receptor type α — человеческий фолатный рецептор α). Эти рецепторы содержатся на поверхности клеток миелоидного ряда (моноцитов/макрофагов, дендритных клеток, гепатоцитов и эндотелиальных клеток), они являются основными клетками-мишенями, в цитоплазме которых происходит репликация вируса [6, 10, 13].

Таблица 1. Таксономическая структура отряда *Mononegavirales* (по [5, 22])

Семейство	Подсемейство	Род	Хозяева	Прототипный вирус
Bornaviridae		Bornavirus	Млекопитающие, птицы	вирус болезни Борна (BDV — Borna disease virus)
Paramyxoviridae	Paramyxovirinae	Avulavirus	Птицы	вирус болезни Ньюкасла (NDV — Newcastle disease virus)
		Henipavirus	Млекопитающие	вирус Хендра (HeV — Hendra virus)
		Morbillivirus	Млекопитающие	вирус кори (MeV — measles virus)
		Respirovirus	Млекопитающие	вирус Сендай (SeV — Sendai virus)
		Rubulavirus	Млекопитающие	вирус эпидемического паротита (MuV — mumps virus)
	Pneumovirinae	Metapneumovirus	Рыбы, пресмыкающиеся, птицы, млекопитающие	метапневмовирус птиц (AMPV — avian metapneumovirus)
		Pneumovirus	Млекопитающие	респираторно-синцициальный вирус человека (HRSV — human respiratory syncytial virus)
Rhabdoviridae		Cytorhabdovirus	Двудольные покрытосеменные растения	вирус желтого некроза салата-латука (LNYV — lettuce necrotic yellow virus)
		Ephemerovirus	Млекопитающие	вирус эфемерной лихорадки крупного рогатого скота (BEFV — bovine ephemeral fever virus)
		Lyssavirus	Млекопитающие	вирус бешенства (RABV — rabies virus)
		Novirhabdovirus	Рыбы	вирус инфекционного некроза гематopoэтической ткани (IHNV — infectious haematopoetic necrosis virus)
		Nucleorhabdovirus	Двудольные покрытосеменные растения	вирус желтой карликовости картофеля (PYDV — potato yellow dwarf virus)
		Vesiculovirus	Млекопитающие, рыбы	вирус везикулярного стоматита Индиана (VSIV — vesicular stomatitis Indiana virus)
Filoviridae		Ebolavirus	Млекопитающие	эболавирус Заир (ZEBOV — Zaire ebolavirus)
		Cuevavirus*	Млекопитающие	вирус Лловиу (LLOV — Lloviu)*
		Marburgvirus	Млекопитающие	марбургвирус озера Виктория (LVMARV — Lake Victoria marburgvirus)

* Род *Cuevavirus* (от исп. *Cueva* — пещера) — новый таксон в составе сем. *Filoviridae*, еще официально не утвержденный Международным Комитетом по таксономии вирусов (ICVT — International Committee on virus taxonomy) — представленный единственным прототипным вирусом LLOV (по названию пещеры в пров. Астурия на севере Испании, где были найдены мертвые насекомоядные летучие мыши рода *Myotis* (ночницы, или короткоухие летучие мыши), ставшие источником изоляции LLOV), непатогенным для человека [22].

■ Природная очаговость эболавируса Заир

Все известные филовirusы являются природно-очаговыми. Что касается ZEBOV, то вплоть до 2014 г. его природные очаги были известны только в Центральной Африке, в бассейне реки Конго (рис. 1, табл. 2).

В период 1978–1991 гг. на базе Гвинейского Института им. Л. Пастера (г. Киндия) (рис. 5) активно работала Российско-Гвинейская вирусологическая и микробиологическая лаборатория [2]. Сотрудниками этой лаборатории была описана эпидемическая вспышка геморрагической лихорадки, вспыхнувшей в марте–августе 1982 г. среди населения районов Вассу и Колахуре в долине реки Коленте (округ Мадина Ула) близ границы Гви-

Таблица 2. Таксономическая структура рода *Ebolavirus* (*Mononegavirales*, *Filoviridae*) и характеристики описанных эпидемических вспышек, вызванных представителями этого рода (по [6, 21, 23, 27])

Год	Страна	Заболеваемость	Смертность	Летальность, %
Эболавирус Заир (ZEBOV — <i>Zaire ebolavirus</i>)				
1976	Демократическая Республика Конго*	318	280	88,1
1977	Демократическая Республика Конго*	1	1	100,0
1994	Габонская Республика	52	31	59,6
1995	Демократическая Республика Конго*	315	254	80,6
1996	Габонская Республика	91	66	72,5
2001–2002	Габонская Республика	65	53	81,5
2001–2002	Республика Конго**	59	44	74,6
2003	Республика Конго**	178	157	88,2
2005	Республика Конго**	12	10	83,3
2007	Демократическая Республика Конго*	264	187	70,8
2008	Демократическая Республика Конго*	32	14	43,8
1976–2008	3 страны в Центральной Африке	1387	1097	79,1 (43,8–100,0)
Вирус Судан (SUDV — <i>Sudan virus</i>)				
1976	Республика Судан	284	151	53,2
1979	Республика Судан	34	22	64,7
2000	Республика Уганда	425	224	52,7
2004	Республика Судан	17	7	41,2
2011	Республика Уганда	1	1	100,0
2012	Республика Уганда	31	21	67,7
1976–2012	2 страны в Центральной Африке	792	426	53,8 (41,2–100,0)
Вирус Бундибуге (BDBV — <i>Bundibugyo virus</i>)				
2007	Республика Уганда	149	37	24,8
2012	Демократическая Республика Конго*	57	29	50,9
2007–2012	2 страны в Центральной Африке	206	66	32,0
Вирус Леса Тай (TAFV — <i>Tai forest ebolavirus</i>)				
1994	Республика Кот-д'Ивуар*** (Западная Африка)	1	0	0,0
Вирус Рестон (RESTV — <i>Reston virus</i>)				
Не вызывает клинически выраженного заболевания у людей. Вызывает эпизоотии среди свиней в Юго-Восточной Азии и западной части Океании				

Примечания. * В период 1971–1997 гг. Демократическая Республика Конго называлась Республикой Заир. ** Не следует путать Республику Конго и Демократическую Республику Конго. *** До 1986 г. Республика Кот-д'Ивуар называлась Берег Слоновой Кости.

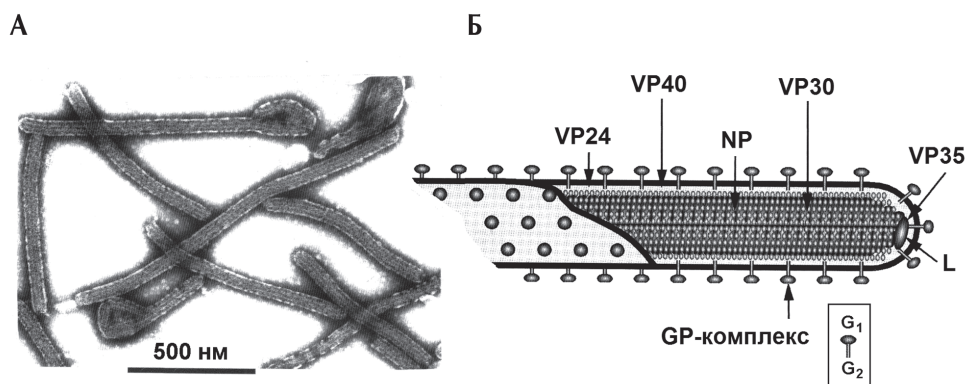


Рисунок 7. Электронно-микроскопическая фотография (негативное контрастирование) (А) и расположение субъединиц вириона (см. подробности в тексте) (Б) эболавируса Заир (по [6])

нейской Республики и Республики Сьерра-Леоне. По имеющимся оценкам [8], заболеваемость составила 20% от всего местного населения, летальность превысила 30%. Этиологический агент заболевания в то время идентифицировать не удалось, а «...особенности клинического течения болезни в наибольшей степени напоминают описанную симптоматику вирусных геморрагических лихорадок Марбург и Эбола» (цитируется по [8, с. 69]). По-видимому, это было первое указание на существование природных очагов представителей рода *Ebolavirus* на территории Северо-Гвинейской возвышенности, однако описанные наблюдения не получили в свое время должной оценки.

В 1994 г. в Западной Африке был изолирован эболавирус TAFV (табл. 2), но это нельзя было считать прямым указанием на существование там природных очагов ZEBOV.

В настоящее время, известно, что природные очаги ZEBOV располагаются на территории лесистой части Северо-Гвинейской возвышенности, на стыке трех стран, в наибольшей степени вовлеченных в эпидемию лихорадки Эбола: Гвинейской Республики, Республики Сьерра-Леоне и Республики Либерия. Природным резервуаром ZEBOV являются крыланы (*Chiroptera*, *Megachiroptera*) — в первую очередь, молотоголовые крыланы (*Hypsignathus monstrosus*), эполетовый крылан Франке (*Epomops franqueti*) и ошейниковый крылан (*Myonycteris torquata*) [20, 25, 26]. Крыланы способны переносить инфекцию ZEBOV без клинических проявлений, выделяя вирус с биологическими жидкостями — слюной, мочой, фекалиями — которые могут служить источником заражения других животных (включая человека).

Следует подчеркнуть, что крыланы — это не летучие мыши (*Chiroptera*, *Microchiroptera*), а отдельный подотряд рукокрылых (*Chiroptera*), представленный единственным семейством *Pteropodidae* (в котором 2 подсемейства, 42 рода, 173 вида), с примитивными чертами организации и крупными размерами тела (размах крыльев до 1,5 м; тушка величиной с небольшую таксу, что делает этих животных одним из излюбленных источников пищи местного населения — см. рис. 1). Одним из провоцирующих ошибки факторов является дословный перевод названия крыланов с английского языка (fruit bats или megabats). В то время, как летучие мыши распространены очень широко, крыланы обитают только в тропической и субтропической зонах Восточного полушария (с небольшим врезом в Западное полушарие как раз в Западной Африке) (рис. 1) [7, 16]. Крыланы — плоядные животные, предпочитающие манго, бананы, папайю, авокадо, кокосы, гуаву. Поиск пищи они осуществляют с помощью зрения и развитого обоняния (эхолокация отсутствует).

Таблица 3. Характеристики различных типов эпидемий лихорадки Эбола

Тип эпидемии	Источник вируса	Переносчики вируса	Типичное население, вовлекаемое в эпидпроцесс	Характерная заболеваемость	Характерная летальность	
Лесной	Крыланы	Больные животные охотничьего промысла — как правило, обезьяны или копытные	Жители лесных деревень	1–500	60–90%	в отсутствии лечения
Деревенский	Крыланы	Употребляемые в пищу крыланы, загрязненные фрукты	Населенные пункты в окрестностях плантаций	1–500	60–90%	в отсутствии лечения
Городской	Больные люди	Больные люди	Крупные деревни и города	100–10 000	60–90%	в отсутствии современной диагностики
					40–60%	при наличии современной диагностики

■ Типы эпидемий лихорадки Эбола

Можно выделить три типа эпидемий/эпидемических вспышек лихорадки Эбола (табл. 3).

Лесной тип эпидемии имеет место в лесных деревнях, и именно этот тип чаще всего встречается в экваториальных и субэкваториальных лесах Центральной Африки. Крыланы, обитающих в верхних ярусах леса, редко становятся добычей охотников. Но от крыланов часто заражаются обезьяны, совершающиеся значительные вертикальные перемещения. Упавшие на землю загрязненные фрукты могут стать причиной заражения животных наземного экологического комплекса — например, копытных. Обезьяны и копытные животные болеют в клинически выраженной форме. Ослабленные животные с пониженной подвижностью становятся добычей охотников, которые заражаются в первую очередь. Если охотники находятся в нескольких днях пути от дома, они могут и не вернуться. Но в большинстве случаев охотники заносят инфекцию в лесные деревни. Последние обычно достаточно изолированы, поэтому эпидемия лихорадки Эбола, неподконтрольная местным знахарям, протекает с высокой летальностью (до 90%).

Деревенский тип эпидемии возникает в тех случаях, когда сельскохозяйственные плантации фруктов подступают вплотную к лесным массивам или даже вклиниваются в них. В этих случаях, крыланы предпочитают совершать «набеги» на плантации, где могут, во-первых, загрязнить фрукты, а во-вторых, сами становиться доступным объектом охоты. В результате эпидемические вспышки могут возникать в деревнях, расположенных в окрестностях плантаций.

Городской тип эпидемии — как следует из его названия — возникает в городах и крупных населенных пунктах с высокой плотностью населения. Здесь источником вируса являются больные люди. Возбудитель лихорадки Эбола передается здоровым людям контактным и контактно-бытовым путем через все биологические жидкости: кровь и ее продукты, мочу, кал, рвотные массы, слюну, слезы, пот. Особо следует отметить, что в сперме реконвалесцентов и в тканевых макрофагах выживших реконвалесцентов филовирусы могут находиться до 90 сут после начала заболевания.

■ Причины беспрецедентных масштабов эпидемии лихорадки Эбола в Западной Африке

Следует выделить фундаментальные причины развития эпидемии Эбола в Западной Африке до беспрецедентных масштабов (ср. данные табл. 2 с современными показателями заболеваемости).

Во-первых, необходимо назвать существование природных очагов ZEBOV на территории лесистой части Северо-Гвинейской возвышенности. Именно этот регион является эпицентром эпидемии; именно оттуда эпидемия начала свое распространение (из провинции Нзерекоре Гвинейской Республики); контакт именно с этим регионом является причиной вовлеченности в эпидемию Гвинейской Республики, Республики Сьерра-Леоне и Республики Либерия.

Во-вторых, до 2014 г. отсутствовала достоверная научная информация о циркуляции ZEBOV в природных очагах Северо-Гвинейской возвышенности. Это имело самые печальные последствия — не удалось вовремя провести дифференциальную диагностику: первый пациент (двухлетний мальчик), положивший начало текущей эпидемии, умер в деревне Мельянду (префектура Гекеду провинции Нзерекоре Гвинейской Республики) еще 06.12.2013 [12]. По-видимому, это была эпидемическая вспышка деревенского типа. С самого начала ошибочно полагали, что это не лихорадка Эбола, а одна из многочисленных инфекций со сходной симптоматикой — например, лихорадки Ласса, Чикунгунья, денге и т. п. Лишь несколько месяцев спустя, лабораторные тесты надежно подтвердили, что этиологический агент эпидемии — ZEBOV. Так было упущено время — то самое время, когда эпидемию еще можно было взять под эффективный контроль. В отсутствие соответствующих противоэпидемических мероприятий эпидемия «вышла на оперативный простор», проникнув в крупные населенные пункты и превратившись в эпидемию городского типа (табл. 3).

В связи с «упущенным временем» уместно еще раз вернуться к данным российско-гвинейской вирусологической и микробиологической лаборатории [8], которые мы цитировали выше. Если бы так называемая «перестройка» не порушила научные связи между СССР и Гвинейской Республикой в конце 1980-х гг., то — учитывая развитие молекулярной диагностики за последние четверть века — к 2013 г. мы бы наверняка владели информацией о наличии природных очагов ZEBOV в Западной Африке, и катастрофического сценария развития ситуации можно было бы избежать.

В-третьих, ряд местных обычаев, широко представленных в Западной Африке, существенно способствуют распространению вирусов, передающихся контактным путем (в том числе — и ZEBOV): совместное омывание тела умершего всеми родственниками (а труп на пике виремии продолжает выделять вирус со всеми биологическими жидкостями), пышные многолюдные похороны, в процессе которых знавшие покойного люди должны обнять его и даже поцеловать (иначе, согласно поверьям, усопший сам придет попрощаться из Горнего Мира), одежда покойного донашивается родственниками. Причем, что важно, искоренение указанных традиций встречается резкое противодействие со стороны традиционного западноафриканского общества. Справедливости ради необходимо отметить, что за последние месяцы правительствами стран Западной Африки и международными организациями проделана большая разъяснительная работа по ослаблению влияния традиционных обычаев населения на эпидемический процесс. Сделано много: стало лучше, чем было, но хуже, чем требуется.

В-четвертых, все перечисленные выше причины синергируют с колоссальной бедностью основной части населения Западной Африки и возникающими отсюда социально-экономическими проблемами. Детская смертность в Гвинейской Республике — и без ZEBOV — достигает уровня 118 на 1000 человек (это один из высочайших показателей в мире). Но самое главное, в регионе отсутствует система здравоохранения (ключевое слово — «система») и санитарно-эпидемиологического надзора (в нашем понимании этих терминов).

В заключение необходимо подчеркнуть, что в Российской Федерации не имеет место ни одна из перечисленных причин. На территории нашей страны отсутствуют (даже теоретически!) условия для формирования природных очагов ZEBOV. Разумеется, сохраня-

ется отличная от нуля вероятность завозных случаев лихорадки Эбола. Однако это будут единичные спорадические случаи, локализованные в самом начале возможного распространения и не имеющие эпидемических последствий. При этом, необходимо понимать, что даже самый тщательный досмотр на границе не сводит вероятность завозных случаев к нулю — пограничные досмотры необходимая, но недостаточная мера. Инфицированный человек в инкубационном периоде (2–21 сут; чаще 4–7 сут), не имея клинически выраженной симптоматики, преодолевает любой досмотр и заболевает уже на новой территории. Сказанное относится и к другим завозным вирусным инфекциям [3, 4].

Лучшая в мире система обеспечения биологической безопасности государства, доставшаяся в наследство от СССР и не растерянная в «лихие девяностые» благодаря самоотверженному труду армии отечественных специалистов, даже при самом неблагоприятном сценарии развития ситуации является гарантией против развития эпидемии лихорадки Эбола в нашей стране по западноафриканскому сценарию.

■ Список литературы

1. Борисевич И.В., Маркин В.А., Фирсова И.В., Евсеев А.А., Хамитов Р.А., Максимов В.А. Эпидемиология, профилактика, клиника и лечение геморрагических лихорадок (Марбург, Эбола, Ласса и Боливийской). *Вопросы вирусологии*. 2006; 51 (5): 8–16.
2. Бутенко А.М. Изучение циркуляции арбовирусов в Гвинейской Республике. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 1996; 2: 40–44.
3. Ларичев В.Ф., Сайфуллин М.А., Акиншина Ю.А., Хуторецкая Н.В., Бутенко А.М. Завозные случаи арбовирусных инфекций в Российской Федерации. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2012; 1: 35–38.
4. Ларичев В.Ф., Сайфуллин М.А., Акиншина Ю.А., Хуторецкая Н.В., Бутенко А.М. Случаи завоза арбовирусных инфекций в Россию. Новые и возвращающиеся инфекции в системе биобезопасности Российской Федерации: учебно-методическое пособие. М.: Первый МГМУ им. И.М. Сеченова. 2014: 72–78.
5. Львов Д.К., Щелканов М.Ю. Отряд Mononegavirales. Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных. Под ред. Д.К. Львова. М.: МИА, 2013: 188–189.
6. Львов Д.К., Щелканов М.Ю. Филовирусы (Filoviridae). Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных. Под ред. Д.К. Львова. М.: МИА, 2013: 202–205.
7. Наумов Н.П., Карташев Н.Н. Зоология позвоночных. Часть 2. Пресмыкающиеся, птицы, млекопитающие. М.: Высшая школа. 1979: 272.
8. Сочинский В.А., Легоньков Ю.А., Конде К., Бутенко А.М., Камара М., Фидаров Ф.М. Клинико-эпидемиологическое изучение острого заболевания, протекающего с геморрагическим синдромом, в округе Мадина Ула области Киндия (1982). *Арбовирусы, паразитозы и бактериальные инфекции в Гвинейской Народной Републике*. Конакри, 1983: 65–69.
9. Субботина Е.Л., Качко А.В., Чепурнов А.А. Свойства белков вируса Эбола. *Вопросы вирусологии*. 2006; 51 (6): 4–10.
10. Субботина Е.Л., Чепурнов А.А. Молекулярные механизмы репродукции вируса Эбола. *Вопросы вирусологии*. 2007; 52 (1): 10–16.
11. After Marburg, Ebola. *Lancet*. 1977; 1: 581–582.
12. 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., Traore A., Kolie M., Malano E.R., Heleze E., Bocquin A., Mely 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., Gunther S. Emergence of Zaire Ebola virus disease in Guinea. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371 (15): 1418–1425.
13. Chan S.Y., Speck R.F., Ma M.C., Goldsmith M.A. Distinct mechanisms of entry by envelope glycoproteins of Marburg and Ebola (Zaire) viruses. *J. Virol.* 2000; 74 (10): 4933–4937.
14. Ebola haemorrhagic fever in Sudan, 1976. Report of a WHO / International study team. *Bull. World Health Organ.* 1978; 56 (2): 247–270.
15. Ebola haemorrhagic fever in Zaire, 1976. Report of an International Commission. *Bull. World Health Organ.* 1978; 56 (2): 271–293.
16. Eick G.N., Jacobs D.S., Matthee C.A. A nuclear DNA phylogenetic perspective on the evolution of echolocation and historical biogeography of extant bats (chiroptera). *Mol. Biol. Evol.* 2005; 22 (9): 1869–1886. doi: 10.1093/molbev/msi180
17. Emond R.T., Evans B., Bowen E.T., Lloyd G. A case of Ebola virus infection. *Br. Med. J.* 1977 (2): 541–544. doi: 10.1136/bmj.2.6086.541

18. Gatherer D. The 2014 Ebola virus disease outbreak in West Africa. *J. Gen. Virol.* 2014; 95 (8): 1619–1624. doi: 10.1099/vir.0.067199-0
19. Geisbert T.W., Jahrling P.B. Use of immunoelectron microscopy to show Ebola virus during the 1989 United States epizootic. *J. Clin. Pathol.* 1990; 43: 813–816.
20. Leroy E.M., Kumulungui B., Pourrut X., Rouquet P., Hassanin A., Yaba P., Délicat A., Paweska J.T., Gonzalez J.P., Swanepoel R. Fruit bats as reservoirs of Ebola virus. *Nature.* 2005; 438 (7068): 575–576. doi: 10.1038/438575a
21. Miranda M.E., Miranda N.L. Reston ebolavirus in humans and animals in the Philippines: a review. *J. Infect. Dis.* 2011; 204 (3): S757–S760. doi: 10.1093/infdis/jir296
22. Negredo A., Palacios G., Vazquez-Moron S., Gonzalez F., Dopazo H., Molero F., Juste J., Quetglas J., Savji N., de la Cruz Martinez M., Herrera J.E., Pizarro M., Hutchison S.K., Echevarria J.E., Lipkin W.I., Tenorio A. Discovery of an ebolavirus-like filovirus in Europe. *PLoS Pathog.* 2011; 7 (10): e1002304. doi: 10.1371/journal.ppat.1002304
23. Pan Y., Zhang W., Cui L., Hua X., Wang M., Zeng Q. Reston virus in domestic pigs in China. *Arch. Virol.* 2014; 159 (5): 1129–1132.
24. Pattyn S., Van der Groen G., Courteille G., Jacob W., Piot P. Isolation of Marburg-like virus from a case of haemorrhagic fever in Zaire. *Lancet.* 1977; 1: 573–574.
25. Pigott D.M., Golding N., Mylne A., Huang Z., Henry A.J., Weiss D.J., Brady O.J., Kraemer M.U.G., Smith D.L., Moyes C.L., Bhatt S., Gething P.W., Horby P.W., Bogoch I.I., Brownstein J.S., Mearns R., Tatem A.J., Khan K., Hay S.I. Mapping the zoonotic niche of Ebola virus disease in Africa. *eLife.* 2014; 3: e04395. doi: 10.7554/eLife.04395
26. 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
27. WHO. Ebola virus disease. Fact sheet (updated September 2014). URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs103/en/> (29.09.2017).

Пять мифов о лихорадке Эбола: где кончается вымысел?

М.Ю. Щелканов, Н. Зуманиги, М.Й. Буаро, В.В. Малеев

Эпидемия лихорадки Эбола, начавшаяся в конце 2013 г., развивавшаяся без должной идентификации первые месяцы 2014 г. и превратившаяся в серьезную региональную проблему, прочно приковывает к себе внимание специалистов, а также политиков и средств массовой информации. Эта эпидемия еще раз показала, что в стремительно глобализирующемся мире любое инфекционное заболевание — даже самое экзотическое — является социально значимым.

Научная информация о лихорадке Эбола долгое время была уделом узких специалистов вследствие высокого уровня биологической опасности и труднодоступности известных природных очагов в Центральной Африке. Все это способствовало подмене научных данных многочисленными мифами, которые часто принимают форму откровенных «информационных фейков», сильно затрудняющих формирование адекватного общественного мнения и проведения противоэпидемических мероприятий.

В данной работе, в процессе разбора пяти наиболее часто встречающихся мифов о лихорадке Эбола, излагаются научные данные о таксономическом статусе возбудителя, истории его открытия, этимологии терминов, причинах возникновения и ранних событиях современной эпидемии в Западной Африке, научно-практической помощи Гвинейской Республике со стороны Российской Федерации.

■ Миф 1. Этиологическим агентом лихорадки является вирус, названный в честь реки, берега которой были эпицентром эпидемии в Конго в сентябре-октябре 1976 г.

Выражение «вирус Эбола», на сегодняшний день, является устаревшим и таксономически несостоятельным. Международный Комитет по таксономии вирусов четко определяет название этиологического агента современной эпидемии лихорадки Эбола в Западной Африке: эболавирус Заир (ZEBOV — *Zaire ebolavirus*) [18, 26, 34]. Именно этот научный термин и следует применять взамен «вируса Эбола», который, в лучшем случае, можно признать научным сленгом — допустимым в неформальном общении, но совершенно недопустимым в официальных сообщениях.

ZEBOV входит в состав рода *Ebolavirus*, который включает 5 вирусов: четыре из них — за исключением вируса Рестон (RESTV — *Reston virus*) — являются возбудителями тяжелых геморрагических лихорадок у людей с высоким уровнем летальности (табл. 1, рис. 1, вклейка, с. III) [9, 10, 35, 37]. Род *Ebolavirus* — наряду с родами *Marburgvirus* и *Cuevavirus* — формирует семейство *Filoviridae* отряда *Mononegavirales* [9, 10]. Род *Marburgvirus* представлен единственным марбургвирусом озера Виктория (LVMARV — *Lake Victoria marburgvirus*), в отношении которого тоже часто используется устаревшее название «вирус Марбург» [29, 39]. Род *Cuevavirus* — это новый член семейства *Filoviridae*, сформированный после изоляции непатогенного для человека вируса Лловиу (LLOV — *Lloviu virus*) [36].

Усложнение таксономической структуры филовирусов должно повлечь за собой в обозримом будущем и изменения в названиях соответствующих нозологий — например, «лихорадка леса Тай», «лихорадка Бундибуге» и т. п. Однако в отсутствие статистически достоверных сравнительных клинических исследований дифференцировать нозологии было бы преждевременно. Поэтому исторически сложившийся термин «лихорадка Эбола» имеет право на существование наряду с более корректным «филовирусная ли-

Таблица. Таксономическая структура семейства *Filoviridae* (*Mononegavirales*) и характеристики описанных эпидемических вспышек, этиологически связанных с его представителями (по [9, 10, 18, 26, 29, 34, 35, 37, 39]; см. рис. 1, вклейка, с. III)

Род	Характеристики эпидемических вспышек				
	год	страна	заболеваемость	смертность	летальность, %
<i>Ebolavirus</i>	Эболавирус Заир (ZEBOV — <i>Zaire ebolavirus</i>) (данные до 2014 г.)				
	1976	Республика Заир*	318	280	88,1
	1977	Республика Заир*	1	1	100,0
	1994	Габонская Республика	52	31	59,6
	1995	Республика Заир*	315	254	80,6
	1996	Габонская Республика	91	66	72,5
	2001–2002	Габонская Республика	65	53	81,5
	2001–2002	Республика Конго**	59	44	74,6
	2003	Республика Конго**	178	157	88,2
	2005	Республика Конго**	12	10	83,3
	2007	Демократическая Республика Конго*	264	187	70,8
	2008	Демократическая Республика Конго*	32	14	43,8
	1976–2008	3 страны в Центральной Африке	1387	1097	79,1 (43,8–100,0)
	Эболавирус Заир (ZEBOV — <i>Zaire ebolavirus</i>) (официальные данные 2014–2015 гг.)				
	2014–2015*	Гвинейская Республика	2799	1807	61,6
		Республика Либерия	8278	3515	42,5
		Республика Сьерра-Леоне	10 094	3049	30,2
		Республика Мали (завозные случаи)	8	6	75,0
		Федеративная Республика Нигерия (завозные случаи)	20	8	40,0
		Республика Сенегал (завозные случаи)	1	0	0,0
		Соединенные штаты Америки (завозные случаи)	4	1	25,0
		Соединенное королевство Великобритания (завозные случаи)	1	0	0,0
		Королевство Испания (завозные случаи)	1	0	0,0
	2014–2015*	3 страны в Центральной Африке; завозные случаи в 6 странах	21 206	8386	39,5 (0,0–75,0)
	Вирус Судан (SUDV — <i>Sudan virus</i>)				
	1976	Республика Судан***	284	151	53,2
	1979	Республика Судан***	34	22	64,7
	2000	Республика Уганда	425	224	52,7
	2004	Республика Судан***	17	7	41,2
	2011	Республика Уганда	1	1	100,0
	2012	Республика Уганда	31	21	67,7
	1976–2012	2 страны в Центральной Африке	792	426	53,8 (41,2–100,0)
	Вирус Бундибуге (BDBV — <i>Bundibugyo virus</i>)				
	2007	Республика Уганда	149	37	24,8
	2012	Демократическая Республика Конго*	57	29	50,9
	2007–2012	2 страны в Центральной Африке	206	66	32,0
	Вирус Леса Тай (TAFV — <i>Tai forest ebolavirus</i>)				
	1994	Республика Кот-д'Ивуар**** (Западная Африка)	1	0	0,0

Окончание таблицы. Таксономическая структура семейства *Filoviridae* (*Mononegavirales*) и характеристики описанных эпидемических вспышек, этиологически связанных с его представителями

Род	Характеристики эпидемических вспышек				
	год	страна	заболеваемость	смертность	летальность, %
<i>Ebolavirus</i>	Вирус Рестон (RESTV — <i>Reston virus</i>)				
	Не вызывает клинически выраженного заболевания у людей. Вызывает эпизоотии среди свиней в Юго-Восточной Азии и западной части Океании				
<i>Marburgvirus</i>	Марбургвирус озера Виктория (LVMARV — <i>Lake Victoria Marburgvirus</i>)				
	1967	Федеративная Республика Германия (завозной случай из Республики Уганды)	29	7	24,1
		Республика Сербия**** (завозной случай из Республики Уганды)	2	0	0,0
	1975	Южно-Африканская Республика (завозной случай из Республики Зимбабве)	3	1	33,3
	1980	Республика Кения	2	1	50,0
	1987	Республика Кения	1	1	100,0
	1998–2000	Демократическая Республика Конго*	154	128	83,1
	2005	Республика Ангола	374	329	88,0
	2007	Республика Уганда	4	2	50,0
	2008	Соединенные штаты Америки (завозной случай из Республики Уганды)	1	0	0,0
		Нидерланды (завозной случай из Республики Уганды)	1	1	100,0
	2014	Республика Уганда	1	1	100,0
	1967–2008	4 страны в Центральной Африке	572	471	82,3 (0,0–100,0)
<i>Cuevavirus</i>	Вирус Лловиу (LLOV — <i>Lloviu virus</i>)				
	Не вызывает клинически выраженного заболевания у людей				

Примечания. * Данные официальной статистики на 13.01. 2015. * В период 1971–1997 гг. Демократическая Республика Конго называлась Республикой Заир. ** Не следует путать Республику Конго и Демократическую Республику Конго. *** В 2011 г. от Республики Судан отделилась Республика Южный Судан — именно на ее территории наиболее активны природные очаги вируса Судан. **** До 1986 г. Республика Кот-д'Ивуар называлась Республика Берег Слоновой Кости. ***** В период 1963–1992 гг. Республика Сербия входила в состав Советской Федеративной Республики Югославия.

хорадка». Подобные ситуации, когда название инфекционного заболевания не вполне совпадает с названием его этиологического агента, или когда одна и та же нозология связана с несколькими разными патогенами, в современной вирусологии не редкость. Первым примером может служить вирус Крымской-Конго геморрагической лихорадки (*Bunyaviridae*, *Nairovirus*), вызывающий заболевание, которое допустимо называть не только «Крымской-Конго геморрагической лихорадкой», но и исторически сложившимся термином «Крымская геморрагическая лихорадка» [1, 7]. Вторым примером может служить геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, которая в различных частях своего ареала связана с различными вирусами из рода *Hantavirus* (*Bunyaviridae*): Добrava-Белград, Сааремаа, Тула, Топографов, река Лена, Хабаровск, Пуумала, Юньань, Сеул, Хантаан, etc. [7, 14]. Другой известный пример такого же рода — грипп, этиологически связанный с вирусами трех различных родов семейства *Orthomyxoviridae*: гриппа А (*Influenzavirus A*), В (*Influenzavirus B*) и С (*Influenzavirus C*) [20, 23].

Начало эпидемии лихорадки Эбола 1976 г. в Демократической Республики Конго (ДРК) официально принято отсчитывать от 28.09.1976, когда в штаб-квартиру ВОЗ в Женеве поступила срочная телеграмма о вспышке заболевания неясной этиологии — «...тифа или

желтой лихорадки ... в районе Бумба, община Ямбуку». Однако начало эпидемии было положено 26.08.1976, когда заболел 44-летний учитель местной школы. Через 4 сут больной был госпитализирован в больницу местного католического прихода, в которой имелось всего пять шприцев, их стерилизация кипячением производилась нерегулярно [24, 30, 31, 38] — последовала внутрибольничная вспышка, быстро распространившаяся в соседние населенные пункты.

Деревня Ямбуку (Yambuku) (2° 49' 23" с.ш., 22° 18' 28" в.д.), ставшая эпицентром эпидемии лихорадки Эбола в 1976 г. [24, 30, 31, 38], находится отнюдь не на берегах реки Эбола, а примерно в сотне километров южнее (рис. 1, вклейка, с. III; рис. 2, вклейка, с. IV). Этот населенный пункт входит в состав префектуры Монгала Экваториальной провинции ДРК. При этом, следует иметь в виду два факта: 1) в период 1971–1997 гг. ДРК называлась Республикой Заир; 2) Республика Конго и ДРК — это два различных государства (поэтому говорить просто «в Конго» некорректно).

После изоляции этиологического агента эпидемии (1976 г.) в ДРК и установления [24, 30, 31, 38] его таксономической близости, но не идентичности ранее открытому (в 1967 г.) вирусу Марбург (ныне — LVMARV) [29] перед сотрудниками специальной миссии ВОЗ встала задача присвоения имени новому вирусу. В принципе, простор для творчества был достаточно широкий, поскольку эпидемия вышла далеко за пределы основного эпидемического очага с эпицентром в Ямбуку — спорадические случаи были зарегистрированы также в городах Бумба, Абумомбази, Киншаса — так что имя новому вирусу можно было бы дать по названию любого из них. Однако, как вспоминает один из первооткрывателей ZEBOV P. Piot [41], возникли серьезные опасения, что ассоциация опасного заболевания с конкретным населенным пунктом может повлечь за собой нежелательные социально-экономические последствия. Наиболее известный пример подобного рода — описанная ранее, в 1969 г., социальная стигматизация жителей нигерийского г. Ласа [43] в связи с идентификацией одноименного вируса Ласса (*Arenaviridae*, *Arenavirus*). Авторитарный президент Республики Заир Мобуту Сесо Секо применял чрезвычайно жесткие меры по локализации эпидемических очагов с привлечением армии, имевшей приказ открывать огонь на поражение в случае необходимости. Поэтому было решено назвать новый вирус в честь какой-либо периферической реки. Напрашивающееся «Конго» не подходило в связи с тем, что вирус Конго уже был известен (позднее — вирус Крымской-Конго геморрагической лихорадки) [1, 7]. Так как несколько образцов биологического материала для изоляции вируса были собраны в г. Абумомбази, расположенном в пойме реки Эбола, именно этот географический объект, удаленный от центра эпидемии, и удостоился сомнительной чести дать свое имя опасному патогену.

Наконец, следует проанализировать постановку корректного ударения в слове «Эбола». По берегам этой реки проживает народ бангала, говорящий на языке лингала¹ [12], принадлежащем бантоидной ветви бенуэ-конголезской группы конго-кордофанской языковой семьи [15]. Название «Эбола» впервые появилось на бельгийских картах в колониальный период в конце XIX в. как неточная калька одного из местных названий, из которых наиболее вероятными являются ebale [eh-ba'-leh] (река) и ebolo [eh-bo'-lo] (часть целого)² [15, 25]. Оба слова начинаются с именного префикса седьмого класса e-; ударение должно падать на первый слог основы [15] — следовательно, в обоих случаях ударение приходится на предпоследний слог: Эбо́ла.

¹ Строго говоря, лингала не связан ни с одним из местных этносов, представляя собой региональный лингва-франка [15].

² Нередко в средствах массовой информации приходится встречать «романтические» версии переводов «Эбола» с лингала как «Белая вода» или «Черная вода». «Белый» переводится на лингала как tremebe [tpe'-mbe'], черный — moyindo [moh-yee'-ndoh], вода — mai [ma'-ee] [25]. Очевидно, что здесь нет никаких фонетических соответствий слову «Эбо́ла».

Бытует мнение, что нет большой разницы, где ставить ударение в слове «Эбола». В предметном отношении разница действительно невелика, так как вряд ли вызовет разночтение даже у неспециалистов. Однако неправильная постановка ударения не только нарушает требование терминологической однозначности, но и имеет соответствующую культурологическую нагрузку [3]: традиции отечественной топонимики включают подчеркнуто уважительное отношение к местной специфике, поскольку веками складывались в единой многонациональной и многоконфессиональной стране, не имевшей опыта строительства собственной колониальной системы, традиционно пренебрегающей туземными обычаями.

■ Миф 2. Современная эпидемия лихорадки Эбола в Западной Африке началась весной 2014 г.

Действительно, 23.03.2014 Африканское Региональное Бюро ВОЗ объявило об эпидемии лихорадки Эбола в Гвинейской Республике (в пределах лесистой части Северо-Гвинейской возвышенности); 29.03.2014 последовало подтверждение первого случая лихорадки Эбола в Республике Либерия, 25.05.2014 — в Республике Сьерра-Леоне. Однако это — официальные датировки. Результаты ретроспективного эпидемиологического исследования показывают, что современная эпидемия лихорадки Эбола в Западной Африке началась еще в декабре 2013 г. [26, 34].

Первым пациентом (П1) стал 2-летний Эмиль Уамунó (Emile Ouamouno), который остро заболел 24.12.2013 с симптомами лихорадки, рвоты, кровавого стула и умер 28.12.2013. Он жил со своей семьей на окраине небольшой (31 хижина) деревни Мельяндú (Meliando) (8° 37' 21.36" с.ш., 10° 3' 51.12" з.д.) в префектуре Гекедú (Gueckedou) провинции Нзерекорé (Nzerekore) (рис. 3, вклейка, с. IV; рис. 4, вклейка, с. V).

В научной литературе приводятся различные даты смерти Эмиля Уамунó (06.12.2013 [26] vs. 28.12.2013 [34]) и первых четырех пациентов (П1–4). Несмотря на то, что публикация [26] появилась раньше и именно ее данные широко цитируются средствами массовой информации, источник [34] вызывает большее доверие, так как его авторы работали непосредственно в Мельяндú, беседовали с очевидцами и проводили сверку с медицинскими записями в местном медицинском пункте. Кроме того, данные [34] по П1–4 лучше согласуются по срокам с последующими эпидемическими событиями.

На первом этапе (до начала марта 2014 г.) эпидемия развивалась по классическому сельскому типу (см. подробности в [18]): источником инфекции стали, по-видимому, выделения крыланов (*Chiroptera*, *Megachiroptera*), которые являются природным резервуаром эболавирусов [33, 40, 42], будучи способны переносить инфекцию бессимптомно. В лесном массиве, окружающем Мельяндú, были обнаружены несколько видов крыланов и летучих мышей. Возможно, источником инфекции стали заразившиеся от крыланов больные и ослабленные летучие мыши (*Chiroptera*, *Microchiroptera*), жившие в дуплистом дереве близ деревни, вокруг которого любили играть дети (см. Приложения в [34]).

Второй жертвой лихорадки Эбола в Мельяндú стала 3-летняя сестра Эмиля Филомэ (П2), умершая 05.01.2014. Мать погибших детей Сиá (П3) плохо почувствовала себя уже на похоронах дочери и умерла 11.01.2014, вслед за ней (13.01.2014) — и ее мать Кумбá (П4). Принимавшая участие в похоронном обряде сестра Кумбы заболела (П5) 20.01.2014 и умерла 26.01.2014, став источником эпидемической вспышки в д. Давá в феврале 2014 г. Так как женщины в африканских деревнях начинают рожать рано, то Кумбá находилась в фертильном возрасте, и когда у нее началось маточное кровотечение ее осматривали местная акушерка (П6) и медсестра (П7), которые тоже заболели 25.01.2014 и 29.01.2014, соответственно, и обе умерли 02.02.2014. П6 была госпитализирована в г. Гекедú, где от нее заразился медицинский работник (П8), который заболел 05.02.2014, самостоятельно отправился в госпиталь г. Масентá (Macenta) и умер 10.02.2014. Родственники П8 — П9

и П10 — завезли инфекцию в г. Баладү (Baladou) и г. Фарако́ (Farako), где эпидемические вспышки были зарегистрированы в конце февраля — начале марта 2014 г. Доктор (П11), лечивший П8 в Масентá, заболел 19.02.2014 и умер 24.02.2014. Два брата П11 (П13–14) заболели 24.02.2014 и умерли с интервалом в сутки 07.03.2014 и 08.03.2014 в Киссидугу (Kissidougou). Другой член семьи П11 после его похорон стал источником (П15) эпидемической вспышки в Нзерегоре (заболел 26.02.2014, умер 28.02.2014).

Таким образом, к концу февраля 2014 г. вирус проник в крупные населенные пункты, и следующая стадия эпидемии начала развиваться по городскому типу (см. [18]), когда высокая плотность населения способствует быстрому распространению вируса контактным путем. В Западной Африке контактный путь распространения инфекционных заболеваний существенно облегчается наличием специфических погребальных обрядов и невероятной скученностью в транспортных средствах. К 26.03.2014, когда ВОЗ объявила об идентификации этиологического агента эпидемии (EBOVZ), эпидемия городского типа уже вырвалась на оперативный простор. В тот момент ее еще можно было остановить с помощью масштабных и слаженных противоэпидемических мероприятий — но осуществить их в условиях сложнейших социально-экономических условий современной Западной Африки оказалось невозможно. 27.03.2014 эпидемия достигла столицы Гвинейской Республики г. Конакри, и число заболевших стало нарастать лавинообразно.

■ **Миф 3. Современная эпидемия лихорадки Эбола в Западной Африке — это результат применения биологического оружия, целенаправленно спланированного либо непреднамеренного (вышедших из-под контроля полевых испытаний)**

Всякий раз, когда ВОЗ объявляет очередную пандемию гриппа А (последний пример — А (H1N1) pdm09 [20]), ученые открывают новый вирус человека (например, вирус иммунодефицита человека [27], вирус тяжелого острого респираторного синдрома [21], вирус ближневосточного респираторного синдрома [21], etc.), вспыхивает крупная эпидемия (лихорадки Эбола в Западной Африке 2014 г. [18, 26, 34]) или эпизоотия с высоким пандемическим потенциалом (оспа обезьян [32], высоковирулентный грипп А птиц [17, 20], etc.) в средствах массовой информации происходит всплеск интереса к конспирологическим версиям, среди которых можно выделить два лейтмотива: 1) провокация фармкомпаний с целью получения сверхприбылей от производства лекарственных средств и вакцин; 2) результат применения биологического оружия. Уместна аналогия: когда идет дождь, продавцы зонтиков получают прибыль, но все же не в состоянии вызывать дождь.

В принципе, любой патоген при грамотном его использовании и достаточной квалификации тех, кто его использует, может стать биологическим оружием. И филловирусы здесь не исключение. Однако, во-первых, сегодня продолжает действовать «Конвенция о запрещении разработки, производства и накопления запасов бактериологического (биологического) и токсинного оружия и об их уничтожении» (1972 г.); во-вторых, сравнимые научные потенциалы наиболее развитых стран не позволяют надеяться на незаметное применение биологического оружия. Технологический паритет в области микробиологии является одной из лучших гарантий неприменения биологического оружия. Одним из важнейших его элементов является система планового мониторинга природных очагов инфекционных заболеваний. В СССР и современной России такая система успешно функционирует [6, 8, 11, 17, 19], представляя собой, по сути, перманентные маневры с целью профилактики применения биологического оружия.

Более того, СССР на безвозмездной основе проводил мониторинговые исследования в интересах обеспечения эпидемиологического благополучия стран, вставших на путь социалистического развития. Так, на базе Гвинейского Института им. Л. Пастера (г. Киндия) в период 1978–1991 гг. успешно работала Российско-Гвинейская вирусологическая и ми-

кробиологическая лаборатория [2]. В публикациях этой лаборатории [13, 28] была описана эпидемическая вспышка геморрагической лихорадки с летальностью свыше 30%, вспыхнувшей в марте–августе 1982 г. среди населения юго-восточной части плато Фута-Джаллон, в супрефектуре Мадина-Ула́ (Madina-Oula) провинции Киндия, на границе Гвинейской Республики и Республики Сьерра-Леоне, проходящей по р. Коленте́ (рис. 3, вклейка, с. IV; рис. 5, вклейка, с. V). Этиологический агент заболевания в то время идентифицировать не удалось, а «...особенности клинического течения болезни в наибольшей степени напоминают описанную симптоматику вирусных геморрагических лихорадок Марбург и Эбола» (цитируется по [13, с. 69]). В 1987 г. было показано, что среди населения Гвинейской Республики имеются специфические антитела против эболавирусов [28]. По-видимому, это было первое указание на существование природных очагов представителей рода *Ebolavirus* на территории Северо-Гвинейской возвышенности. Если бы из-за так называемой «перестройки» не оборвались научно-практические связи между российскими и гвинейскими специалистами, то к 2013 г. уже имелись бы статистически обоснованные данные циркуляции EBOVZ в Западной Африке. А это бы существенно ускорило идентификацию возбудителя и, возможно, позволило бы оперативно взять под контроль эпидемический процесс.

Таким образом, эпидемия лихорадки Эбола в Западной Африке вспыхнула в декабре 2013 г. отнюдь не в результате преднамеренного или непреднамеренного использования биологического оружия, а в результате повышения активности циркуляции EBOVZ в его природных очагах на территории Северо-Гвинейской возвышенности. С учетом данных 2014 г. (см. табл. 1, рис. 1, вклейка, с. III), необходимо внести изменения в классификацию природных очагов филовирсов: Африканская природно-очаговая область теперь подразделяется на две природно-очаговые провинции — Центральноафриканскую (ядро очага — Североконголезский природно-очаговый округ) и Западноафриканскую (ядро очага — Северогвинейский³ природно-очаговый округ) (рис. 1, вклейка, с. III). Природным резервуаром являются крыланы (*Chiroptera*, *Megachiroptera*). Сравнительная характеристика циркуляции филовирсов в выделенных природно-очаговых провинциях должна стать предметом детальных исследований уже в ближайшем будущем. Молекулярно-генетический анализ полноразмерных генетических последовательностей штаммов EBOVZ, изолированных в 2014 г. в Западной Африке, не выявил у них принципиальных отличий от ранее известных вариантов этого вируса. Генетическая дистанция от штаммов, изолированных в 2008 г. в ДРК, составляет около 3% [26], что достаточно для выделения нового генотипа EBOVZ и полностью согласуется с концепцией наличия в Африке двух природно-очаговых провинций.

■ Миф 4. Население Западной Африки охвачено паникой, в том числе будучи напуганным искусственно завышенными показателями летальности

Западная Африка, к огромному сожалению, давно привыкла жить (и при этом — не паниковать) в условиях хронического эпидемического неблагополучия. Достаточно сказать, что детская смертность в странах Западной Африки превышает 60, в иные годы поднимаясь выше 100 (например, в 2008 г. в Республике Сьерра-Леоне и Республике Либерия). Средняя продолжительность жизни 56 лет в Гвинейской Республике, 54 — в Республике Либерия, 45 — в Республике Сьерра-Леоне. В регионе отсутствуют или недостаточно масштабированы системы мониторинга социально значимых инфекций: гриппа, вирусных гепатитов, заболеваний, передающихся половым путем. Территория Западной Африки

³ Название происходит от названия Северо-Гвинейской возвышенности, в свою очередь названной по своему местоположению — на севере Гвинейского залива.

включает сложнейшие в структурно-функциональном отношении сочетанные природные очаги инфекционных заболеваний, среди которых — помимо EBOVZ и TAFV (*Filoviridae, Ebolavirus*) (табл. 1, рис. 1, вклейка, с. III) — следует отметить особо опасные вирусы Ласса (*Arenaviridae, Arenavirus*); Дугбе и Крымской-Конго геморрагической лихорадки (*Bunyaviridae, Nairovirus*); Бвамба, Буньямвера, Мпоко, Симбу, Татагине, Тягиня, Шамонда и Шуни (*Bunyaviridae, Orthobunyavirus*); Бханджа и лихорадки долины Рифт (*Bunyaviridae, Phlebovirus*); Вессельсброн, денге, желтой лихорадки, Западного Нила и Сабоия (*Flaviviridae, Flavivirus*); Кваранфил и озера Чад (*Orthomyxoviridae, Quaranjavirus*); Тогото (*Orthomyxoviridae, Thogotovirus*); Абадина, Киндия и синего языка овец (*Reoviridae, Orbivirus*); Синдбис и Чикунгунья (*Togaviridae, Alphavirus*); бактерии: *Yersinia pestis, Salmonella enterica, S. bongori, S. subterranea* (*Enterobacteriaceae*); *Rickettsia* sp., *Coxiella* sp., *Rochalimaea* sp. (*Rickettsiae*); *Borrelia duttonii* (*Spirochaetaceae*); *Vibrio cholerae* (*Vibrionaceae*); протозои: *Entamoeba histolytica* (*Entamoebidae*); *Listeria monocytogenes* (*Listeriaceae*); *Plasmodium falciparum, P. malariae, P. ovale* и *P. vivax* (*Plasmodiidae*); *Leishmania donovani* (*Trypanosomatidae*). Однако перечень природно-очаговых патогенных микроорганизмов, распространенных в Западной Африке, далеко не исчерпывается приведенным перечнем. Ситуация серьезно осложняется отсутствием современных научных данных о таксономическом статусе, экологии и патогенности подавляющего большинства микроорганизмов, уже известных для данного региона и которые могут быть открыты при развертывании соответствующих мониторинговых программ.

Основной причиной недостаточной развитости системы здравоохранения в Западной Африке является комплекс социально-экономических проблем, уходящих своими корнями в колониальное прошлое этого региона [12, 16]. Непродолжительный по историческим меркам период строительства социализма в Гвинейской Республике позволил при помощи СССР⁴ заложить основы современного здравоохранения и сформировать местные медицинские кадры. Распад СССР в начале 1990-х гг. существенно сократил масштабы этого сотрудничества.

В августе 2014 г. активные рабочие контакты между российскими и гвинейскими медицинскими специалистами были возобновлены: в Гвинейскую Республику прибыла экспертно-рекогносцировочная группа Роспотребнадзора и Минздрава России (рис. 5, вклейка, с. V) [18]. В задачи группы входили обеспечение биологической безопасности посольства и российских граждан; научно-методическая поддержка местных специалистов; сбор аналитической информации непосредственно в очаге эпидемии; ознакомление с опытом гвинейских коллег по диагностике и лечению лихорадки Эбола, установление контактов с представителями ВОЗ и других международных организаций, осуществляющих деятельность по предотвращению распространения эпидемии, возобновление контактов со специалистами Гвинейского Института им. Л. Пастера (г. Киндия), проведение переговоров с Министерством здравоохранения Гвинейской Республики с целью определения масштабов помощи со стороны Российской Федерации, а также получения приглашения на работу российских специализированных противэпидемических бригад (СПЭБов).

По распоряжению Главного государственного санитарного врача Российской Федерации д.м.н. А.Ю. Поповой 21.08.2014 в г. Конакри, в Национальный госпиталь «Донка» Министерства здравоохранения Гвинейской Республики (рис. 6, вклейка, с. V; рис. 7, вклейка, с. VI), были направлены мобильные лабораторные модули, на которых немедленно приступили к работе специалисты ФКУЗ «РосНИПЧИ «Микроб»» (г. Саратов) и ФБУН «ГНЦ ВБ «Век-

⁴ СССР стал первой страной, признавшей независимость Гвинейской Республики уже 05.10.1958, через два дня после объявления независимости. Попытки Франции проводить изоляционистскую политику в отношении своей бывшей колонии вынудили первого Президента Гвинейской Республики Секу Туре ориентироваться на СССР и КНР [16].

тор» (п. Кольцово, Новосибирская область) Роспотребнадзора. Получение приглашения российских СПЭБов имело большую научно-практическую ценность, в первую очередь, для Гвинейской Республики, которая — как и другие страны региона, охваченные эпидемией, — остро нуждалась в средствах современной молекулярной диагностики, а во-вторых, — и для Российской Федерации, так как ПЦР-тест-системы российского производства имели возможность пройти «проверку боем» в условиях реальной эпидемии.

Внедрение методов молекулярной диагностики лихорадки Эбола привело к закономерному снижению статистики летальности. И причина кроется совсем не в том, что прежде летальность сознательно завышалась. Благодаря молекулярной диагностике статистика стала учитывать все, а не только наиболее тяжелые случаи заболевания, что и привело к снижению летальности: 30.06.2014 — 73,4% (303/413); 30.07.2014 — 57,4% (826/1440); 26.08.2014 — 50,6% (1552/3069); 29.10.2014 — 35,9% (4910/13676); 26.11.2014 — 35,7% (5674/15901); 13.01.2014 — 39,5% (8386/21206). Снижение летальности после внедрения методов молекулярной диагностики было описано и при других вирусных инфекциях (см., например, [1, 7, 14, 20]).

По поручению Президента Российской Федерации 14.12.2014 российские военно-медицинские специалисты доставили в Гвинейскую Республику мобильный госпиталь, способный одновременно разместить на лечение 200 пациентов, в составе которого уже к 18.12.2014 были развернуты в г. Киндия (см. рис. 3, вклейка, с. IV), протестированы и штатно функционировали приемно-диагностическое отделение, диагностические лаборатории, три инфекционных отделения, отделение интенсивной терапии, стерилизационная, а также системы контроля за соблюдением санитарного режима. Российские медики организовали для гвинейских коллег курсы лекций повышения квалификации по инфекционным болезням, организовали лечебный процесс, медицинскую логистику, схемы действий при чрезвычайных ситуациях, санитарно-эпидемиологический мониторинг. 17.01.2014 на территории Гвинейского Института им. Л. Пастера (г. Киндия) был открыт российско-гвинейский Центр микробиологических исследований, имеющий собственное клиническое отделение: инфекционный госпиталь, провизорный госпиталь, отделение переливания крови (рис. 8–9, вклейка, с. VI). В г. Киндия была перебазирована часть группировки мобильных лабораторий Роспотребнадзора. На открытии Центра присутствовал Президент Гвинейской Республики Альфа Конде (рис. 10, вклейка, с. VI). Предпринятые меры позволят не только улучшить ситуацию с диагностикой и лечением лихорадки Эбола, но и проводить плановый комплексный мониторинг природных очагов инфекционных заболеваний на территории Западной Африки.

■ Миф 5. Мир стоит перед лицом ужасной пандемии лихорадки Эбола, представляющей угрозу существованию человечества

Беспрецедентные масштабы современной эпидемии лихорадки Эбола в Западной Африке, впервые вышедшей на региональный уровень, могут быть объяснены 4 основными причинами: 1) наличие природных очагов EBOVZ на территории Западной Африки; 2) отсутствие научной информации о функционировании природных очагов EBOVZ в данном регионе (затруднило своевременную идентификацию возбудителя заболевания); 3) наличие своеобразных местных обрядов (в частности — обряда погребения, включающего многочисленные похороны и массовые омовения покойного), которые существенно способствуют распространению инфекционных агентов — включая EBOVZ — контактным путем; 4) сложнейшая социально-экономическая обстановка.

В Европе, Северной Евразии (включая Российскую Федерацию), Южной и Северной Америке отсутствуют природные очаги эболавируса Заир, поскольку ареал природного резервуара — крыланов (*Chiroptera*, *Megachiroptera*) — ограничивается субтропическими зонами Восточного полушария (рис. 1, вклейка, с. III; подробнее — см. в [18]).

С высокой вероятностью, эпидемия лихорадки Эбола не выйдет за границы Западной Африки и закончится, хотя бы уже вследствие формирования достаточной иммунной прослойки среди местного населения этого региона. В остальных странах возможны завозные спорадические случаи заболевания, вероятность разрастания которых до эпидемических вспышек и эпидемий городского типа (см. [18]) определяется уровнем развития системы биологической безопасности конкретной страны.

Следует подчеркнуть, что проблема интродукции патогенных микроорганизмов появилась отнюдь не в связи с лихорадкой Эбола — острота этой проблемы неуклонно возрастает, начиная примерно с середины прошлого века, в связи с интенсификацией пассажирских потоков во всем мире. При этом, медицинский контроль в транспортных пунктах пропуска является необходимой, но недостаточной мерой, поскольку инфекционный больной в инкубационном периоде способен преодолеть самый строгий контроль и заболевает уже на новой территории. В частности, в Российской Федерации ежегодно регистрируют несколько сотен случаев завозных экзотических инфекционных заболеваний [4, 5, 22]. Все эти случаи быстро выявляются, грамотно идентифицируются, в результате проводимых оперативных мероприятий купируются возможные пути передачи возбудителя, и эпидемических вспышек удается избежать. Эффективность этих мероприятий и высокая степень настороженности системы биологической безопасности развитых стран мира (в том числе — Российской Федерации) являются надежным барьером на пути распространения лихорадки Эбола.

■ Список литературы

1. Аристова В.А., Колобухина Л.В., Щелканов М.Ю., Львов Д.К. Экология вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки и особенности клиники на территории России и сопредельных стран. *Вопросы вирусологии*. 2001; 4: 7–15.
2. Бутенко А.М. Изучение циркуляции арбовирусов в Гвинейской Республике. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 1996; 2: 40–44.
3. Веселовский С.Б. Топонимика на службе у истории. *Исторические записки*. 1945; 17: 24–52.
4. Ларичев В.Ф., Сайфуллин М.А., Акиншина Ю.А., Хуторецкая Н.В., Бутенко А.М. Завозные случаи арбовирусных инфекций в Российской Федерации. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2012; 1: 35–38.
5. Ларичев В.Ф., Сайфуллин М.А., Акиншина Ю.А., Хуторецкая Н.В., Бутенко А.М. Случаи завоза арбовирусных инфекций в Россию. *Новые и возвращающиеся инфекции в системе биобезопасности Российской Федерации: учебно-методическое пособие*. М.: Первый МГМУ им. И.М. Сеченова. 2014: 72–78.
6. Львов Д.К., Альховский С.В., Щелканов М.Ю., Дерябин П.Г., Богданова В.С., Федякина И.Т., Бурцева Е.И., Щетинин А.М., Самохвалов Е.И., Прошина Е.С., Кириллов И.М., Ботиков А.Г. Применение современных молекулярно-генетических технологий для обеспечения биологической безопасности. *Вестник Российской военно-медицинской академии*. 2014; 3 (47): 115–127.
7. Львов Д.К., Альховский С.В., Щетинин А.М., Щелканов М.Ю. Буньявирусы (Bunyaviridae). Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных. Под ред. Д.К. Львова. М.: МИА, 2013: 279–298.
8. Львов Д.К., Дерябин П.Г., Аристова В.А., Бутенко А.М., Галкина И.В., Громашевский В.Л., Давыдова А.А., Колобухина Л.В., Львов С.Д., Щелканов М.Ю. Атлас распространения возбудителей природно-очаговых вирусных инфекций на территории Российской Федерации. М.: НПЦ МЗ РФ, 2001: 192.
9. Львов Д.К., Щелканов М.Ю. Филовирусы (Filoviridae). Медицинская вирусология. Под ред. Д.К. Львова. М.: МИА, 2008: 224–228.
10. Львов Д.К., Щелканов М.Ю. Филовирусы (Filoviridae). Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных. Под ред. Д.К. Львова. М.: МИА, 2013: 202–205.
11. Организация эколо-эпидемиологического мониторинга территории Российской Федерации с целью противэпидемической защиты населения и войск: методические рекомендации. Под ред. Д.К. Львова. М.: ФУМБЭП МЗ РФ, НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН, 1993: 128.
12. Собченко А.И. Языки народов Бельгийского Конго. *Современный Восток*. 1959; 2: 47–49.
13. Сочинский В.А., Легоньков Ю.А., Конде К., Бутенко А.М., Камара М., Фидаров Ф.М. Клинико-эпидемиологическое изучение острого заболевания, протекающего с геморрагическим синдромом, в округе Мадина Ула области Киндия (1982). *Арбовирусы, паразитозы и бактериальные инфекции в Гвинейской Народной Революционной Республике. Конакри, 1983: 65–69.*

14. Ткаченко Е.А., Ишмухаметов А.А., Дзагурова Т.К., Синюгина А.А., Коротина Н.А., Набатников П.А., Соцкова С.Е., Баловнева М.В., Малкин А.Е. Актуальные проблемы геморрагической лихорадки с почечным синдромом. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2013; 1: 51–58.
15. Топорова И.Н. Грамматика языка лингала. М.: Институт языкознания РАН, 1994: 260.
16. Фирсов А.А. Экономические проблемы Гвинейской Республики. М.: Наука, 1965: 192.
17. Щелканов М.Ю. Эволюция высоковирулентного вируса гриппа А (H5N1) в экосистемах Северной Евразии (2005–2009 гг.). Дис. ... д-ра биол. наук. М.: НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН, 2010: 488.
18. Щелканов М.Ю., Magassouba N.F., Boiro M.Y., Малеев В.В. Причины развития эпидемии лихорадки Эбола в Западной Африке. *Лечащий врач*. 2014; 11: 30–37.
19. Щелканов М.Ю., Громашевский В.Л., Львов Д.К. Роль эколого-вирусологического районирования в прогнозировании влияния климатических изменений на ареалы арбовирусов. *Вестник РАМН*. 2006; 2: 22–25.
20. Щелканов М.Ю., Колобухина Л.В., Львов Д.К. Грипп: история, клиника, патогенез. *Лечащий врач*. 2011; 10: 33–38.
21. Щелканов М.Ю., Колобухина Л.В., Львов Д.К. Коронавирусы человека (Nidovirales, Coronaviridae): возросший уровень эпидемической опасности. *Лечащий врач*. 2013; 10: 49–54.
22. Щелканов М.Ю., Львов Д.К., Колобухина Л.В., Альховский С.В., Щетинин А.М., Сайфуллин М.А., Кружкова И.С., Аристова В.А., Морозова Т.В., Самохвалов Е.И., Гущина Е.А., Клименко С.М., Арсентьева Т.В., Амброси О.Е., Базарова М.В., Малышев Н.А. Изоляция вируса Чикунгунья в Москве от приезжего из Индонезии (сентябрь 2013 г.). *Вопросы вирусологии*. 2014; 59 (3): 28–34.
23. Щелканов М.Ю., Федякина И.Т., Прошина Е.С., Львов Д.Н., Пономаренко Р.А., Чумаков В.М., Бурцева Е.И., Галкина И.В., Львов Д.К. Таксономическая структура Orthomyxoviridae: современное состояние и ближайшие перспективы. *Вестник РАМН*. 2011; 5: 12–19.
24. After Marburg, Ebola. *Lancet*. 1977; 309 (8011): 581–582. doi: 10.1016/S0140-6736(77)92008-6
25. Akowuah T.A. Lingala-English, English-Lingala: Dictionary and Phrasebook. New York: Hippocrene Books, 1996: 120.
26. 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): 1418–1425. doi: 10.1056/nejmoa1404505
27. Barre-Sinoussi F., Chermann J.C., Rey F., Monagnier L. Isolation of T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science*. 1983; 220 (4599): 868–871.
28. Boiro I., Lomonossov N.N., Sotsinski V.A., Constantinov O.K., Tkachenko E.A., Inapogui A.P., Balde C. Clinico-epidemiologic and laboratory research on hemorrhagic fevers in Guinea. *Bull. Soc. Pathol. Exot. Filiales*. 1987; 80 (4): 607–612.
29. Bonin O. The Cercopithecus monkey disease in Marburg and Frankfurt (Main), 1967. *Acta Zool. Pathol. Antv*. 1969; 48: 319–331.
30. Ebola haemorrhagic fever in Zaire, 1976. Report of an International Commission. *Bull. World Health Organ*. 1978; 56 (2): 271–293.
31. Emond R.T., Evans B., Bowen E.T., Lloyd G. A case of Ebola virus infection. *Br. Med. J.* 1977; 2 (6086): 541–544.
32. Kugelman J.R., Johnston S.C., Mulembakani P.M., Kisalu N., Lee M.S., Koroleva G., McCarthy S.E., Gestole M.C., Wolfe N.D., Fair J.N., Schneider B.S., Wright L.L., Huggins J., Whitehouse C.A., Wemakoy E.O., Muyembe-Tamfum J.J., Hensley L.E., Palacios G.F., Rimoin A.W. Genomic variability of monkeypox virus among humans, Democratic Republic of the Congo. *Emerg. Infect. Dis.* 2014; 20 (2): 232–239.
33. Leroy E.M., Kumulungui B., Pourrut X., Rouquet P., Hassanin A., Yaba P., Délicat A., Paweska J.T., Gonzalez J.P., Swanepoel R. Fruit bats as reservoirs of Ebola virus. *Nature*. 2005; 438 (7068): 575–576. doi: 10.1038/438575a
34. Mari Saéz A., Weiss S., Nowak K., Lapeyre V., Zimmermann F., Dux A., Kühl H.S., Kaba M., Regnaud S., Merkel K., Sachse A., Thiesen U., Villányi L., Boesch C., Dabrowski P.W., Radonić A., Nitsche A., Leendertz S.A., Petterson S., Becker S., Krähling V., Couacy-Hymann E., Akoua-Koffi C., Weber N., Schaade L., Fahr J., Borchert M., Gogarten J.F., Calvignac-Spencer S., Leendertz F.H. Investigating the zoonotic origin of the West African Ebola epidemic. *EMBO Mol. Med.* 2014; 7 (1): 17–23. doi: 10.15252/emmm.201404792
35. Miranda M.E., Miranda N.L. Reston ebolavirus in humans and animals in the Philippines: a review. *J. Infect. Dis.* 2011; 204 (3): 757–760.
36. Negrodo A., Palacios G., Vázquez-Morón S., González F., Dopazo H., Molero F., Juste J., Quetglas J., Savji N., de la Cruz Martínez M., Herrera J.E., Pizarro M., Hutchison S.K., Echevarría J.E., Lipkin W.I., Tenorio A. Discovery of an ebolavirus-like filovirus in Europe. *PLoS Pathog.* 2011; 7 (10): e1002304. doi: 10.1371/journal.ppat.1002304
37. Pan Y., Zhang W., Cui L., Hua X., Wang M., Zeng Q. Reston virus in domestic pigs in China. *Arch. Virol.* 2014; 159 (5): 1129–1132.
38. Pattyn S., van der Groen G., Jacob W., Piot P., Courteille G. Isolation of Marburg-like virus from a case of haemorrhagic fever in Zaire. *Lancet*. 1977; 1 (8011): 573–574.

39. Pavlin B.I. Calculation of incubation period and serial interval from multiple outbreaks of Marburg virus disease. *BMC Res. Notes*. 2014; 7: 906–911.
40. Pigott D.M., Golding N., Mylne A., Huang Z., Henry A.J., Weiss D.J., Brady O.J., Kraemer M.U.G., 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; 3: e04395. doi: 10.7554/eLife.04395
41. Piot P. Part one: A virologist's tale of Africa's first encounter with Ebola. With permission of the publisher, W.W. Norton & Company Inc. (11 August 2014). <http://news.sciencemag.org/africa/2014/08/part-one-virologists-tale-africas-first-encounter-ebola>
42. 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
43. Richmond J.K., Baglole D.J. Lassa fever: epidemiology, clinical features, and social consequences. *Brit. Med. J.* 2003; 327: 1271–1275. doi: 10.1136/bmj.327.7426.1271

Изучение свойств изолятов эболавируса Заир 2014

А.Ю. Попова, В.А. Терновой, О.В. Пьянков, Е.В. Чаусов, Ар.А. Сергеев, А.С. Кабанов, С.А. Боднев, Р.Б. Баяндин, В.М. Блинов, Н'Ф. Магассуба, В.В. Кутырев, Ю.В. Демина, Е.Б. Ежлова, А.П. Агафонов, В.Н. Михеев

В деревне префектуры Гекеду на юге Гвинеи 26 декабря 2013 года 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 этого заболевания. Эпидемия геморрагической лихорадки Эбола, начавшаяся в Республике Гвинея 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 [11]. 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 [9].

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 — Республики Либерии, Гвинейской Республики и Республики Сьерра-Леоне, в которых было зарегистрировано в общей сложности более 27,5 тыс. заболеваний и более 11 тыс. летальных исходов [1].

Эпидемию 2014–2015 гг. вызвал наиболее патогенный для человека эболавирус Заир [4]. Одной из главных задач, стоявших перед эпидемиологами, было получение ответа на вопрос, связано ли непрекращающееся распространение заболевания по странам Западной Африки с изменением свойств эболавируса Заир.

В Республику Гвинея, для оказания содействия в борьбе с заболеванием, был направлен мобильный комплекс специализированной противоэпидемической бригады (МК СПЭБ) Роспотребнадзора РФ, основной задачей которого была организация дифференциальной лабораторной диагностики геморрагической лихорадки Эбола [2].

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

■ Материалы и методы

Материалом для исследования служили 6 образцов крови, 6 образцов грудного молока, 2 образца смывов и по одному образцу семенной жидкости и мочи от больных с лабораторно подтвержденным диагнозом «Геморрагическая 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 были проведены в лаборатории с максимальным уровнем биологической защиты (BSL-4) с использованием изолирующих пневмокостюмов на базе ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор».

Выделение тотальной РНК проводили с использованием набора реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-Преп» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии

Роспотребнадзора, Москва) согласно инструкции производителя. Построение кДНК проводили с использованием комплекта реагентов для получения кДНК на матрице РНК «Реверта-Л» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва) согласно инструкции производителя. Для диагностики лихорадки Эбола использовали зарегистрированные ПЦР-тест-системы отечественного производства «Вектор-ПЦРв-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 наборов «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 была 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 не высока: 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 были взяты для определения последовательности генома эболавируса Заир 2014.

Полный геном из исходного образца был 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 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 было 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 найдено 175 нуклеотидных замен.

Важно отметить, что при сравнении эболавируса Заир 2014 образец GVR15 и вирусом Эбола, вызвавшего вспышку заболевания в Конго в 2012 г. (KC545396) [8] было 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.

Таблица 1. Клинические образцы, собранные в госпитале «Донка», Гвинея, март-апрель 2015 г.

№ образца	Тип образца	Значение C _i 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: ¹ секвенирование генома вируса Эбола осуществлено из вируса прошедшего один пассаж на культуре клеток; ² секвенирование генома вируса Эбола осуществлено из клинического материала; C_i — параметр используется как показатель вирусной нагрузки в образце; + — образец положительный в ПЦР, отр. — образец негативный в ПЦР; КК — культура клеток.

В варианте эболавируса Заир 2014 (образец GVR15) не было найдено укорочения 5'-концевой геномной РНК, которое могло повлиять на механизм репликации вируса [6].

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, были обнаружены мутации A₂₅₇₅→Т (ген NP) и G₆₆₆₈→Т (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, были обнаружены мутации A₂₅₇₇→С (ген NP) и T₆₆₇₇→С (ген GP) и G₆₆₆₈→Т (ген GP). В целом уровень отличия от консенсусной последовательности ближайших вариантов оказался равным 0,03% (7 замен). В геноме изолята, выделенного из образца GVR05, были обнаружены мутации T₁₈₈₁₃→С и T₁₈₈₈₃→G (некодирующая часть геномной РНК). По филогенетическому дереву изолят Эбола GVR05 относится к клайду известных последовательностей выделенных в Сьерра-Леоне в 2014 г. (рис.).

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 [5]. Предположение о том, что вирус уже в процессе эпидемии 2014–2015 гг. приобрел повышенную вирулентность, а потому эпидемическая вспышка заболевания Эбола оказалась столь масштабной, не подтверждается. Полное определение первичной последовательности геномной РНК эболавируса Заир, выделенных весной 2014 г. и осенью 2015 г. в Гвинее, Сьерра-Леоне и Либерии, подтверждает высокую генетическую стабильность вируса, вызвавшего

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

Таблица 3. Сайты гликозилирования варианта эболавируса Заир 2014, образец GVR15

Позиция сайта гликозилирования на гене GP	Нуклеотидная последовательность	Аминокислотная последовательность
6035	ATGGGT...	MGV
6153	...TACAGGTTA...	LQV
6644	...ATGCAACGG...	NAT
6717	...ATGAGACAG...	NET
6747	...ATTTGACCT...	NLT
6804	...ATGAGACAA...	NET
6867	...ACCCCGAAA...	NPE
6920	...ACCTCACTA...	NLT
6983	...ACATCAGTG...	NIS
7031	...ACACAACAA...	NTT
7070	...ATTCTCTGC...	NSS
7190	...ACAGACCCA...	NST
7271	...ACGACAGCA...	NDS
7350	...ACACGAGTA...	NTS
7394	...ACTACAGCG...	NYS
7418	...ACAACACTC...	NNT
7721	...ACGAAACGA...	NET
7886	...ACATAACAG...	NIT

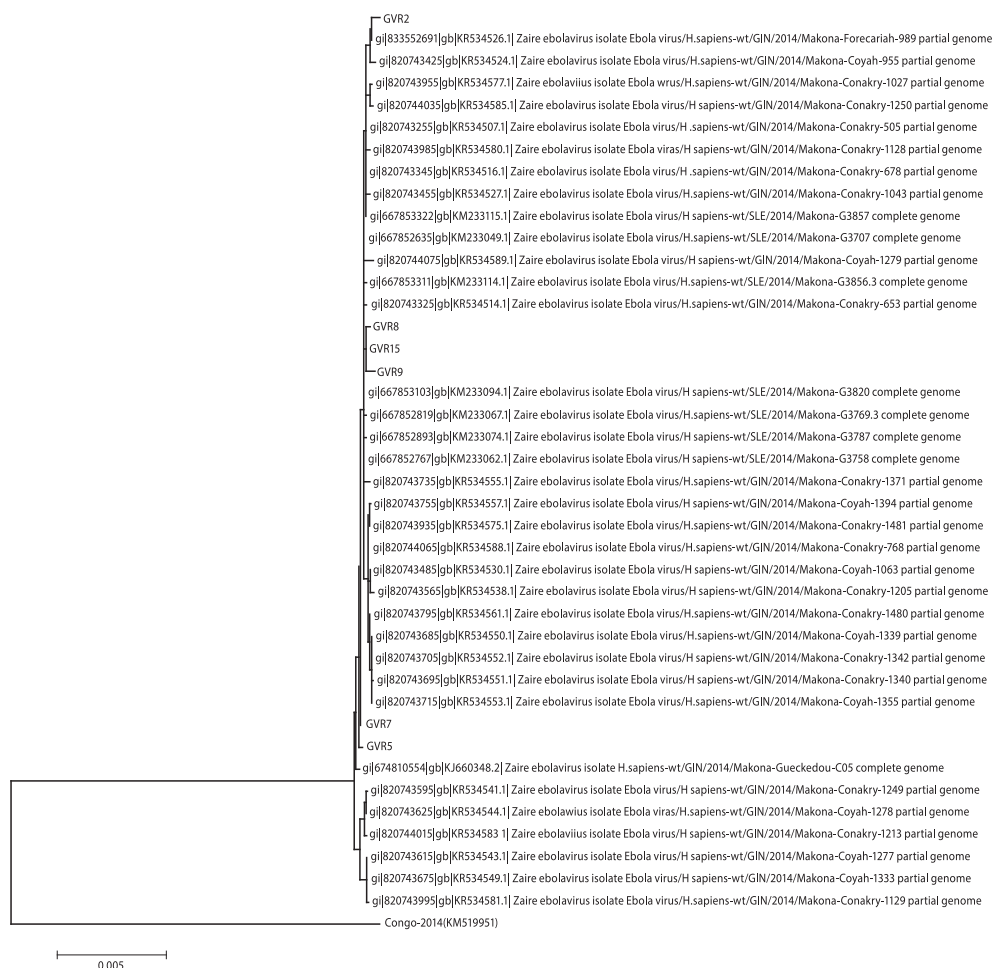


Рисунок. Филогенетическое дерево, построенное на основе полноразмерных нуклеотидных последовательностей эболавируса

Анализ проведен методом «объединения ближайших соседей» с использованием 2-параметрической модели Кимуры. Приведены оригинальные названия штаммов эболавирусов, депонированных в базе данных GenBank.

вспышку заболевания в Западной Африке [5]. Ранее определенные замены нуклеотидной и аминокислотной последовательностей у выделенных изолятов эболавируса, в дальнейшем, у других, выделенных позже, изолятах 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. [7].

Нами установлено, что треть вариантов вируса, выявленные в ходе текущей вспышки, делятся между собой на 2 подгруппы, отличающиеся наличием 4 сцепленных мутаций в позициях 800 (ген NP), 8928 (ген VP30), 15 963 и 17 142 (ген L). Учитывая высокую генетическую стабильность вируса в течении 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. [10]. Есть свидетельство о том, что существуют два варианта эболавируса (вариант Гвинея и вариант Сьерра-Леоне),

которые передавались независимо друг от друга в пределах Гвинеи [10]. Были установлены подтвержденные случаи передачи вируса от человек к человеку и при этом, после первоначального введения карантинных мероприятий, не было 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 [10].

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

■ Список литературы

1. Болезнь вызванная вирусом Эбола. Инф. бюл. ВОЗ № 103. URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs103/ru>
2. Попова А.Ю., Сафронов В.А., Магасуба Н.Ф., Уткин Д.В., Одинокоев Г.Н., Пьянков О.В., Сергеев А.С., Боднев С.А., Кабанов А.С., Куклев В.Е., Лопатин А.А., Раздорский А.С., Никифоров К.А., 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 противозидемической бригады в Республике Гвинея в период эпидемии лихорадки Эбола в 2014 году. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2014; 4: 5–8.
3. Руководство по содержанию и использованию лабораторных животных: пер. с англ. Washington, D.C.: National Academy Press, 1996: 138.
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: 1418–1425.
5. 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., Castillett 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., Molkenthin 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-Županc 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. 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): e01331-14. doi: 10.1101/genomeA.01331-14
7. 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): 1135–1143. doi: 10.3201/eid2107.150522
8. Outbreak news. Ebola, Democratic Republic of the Congo. *Wkly Epidemiol. Rec.* 2012; 87 (44): 421.
9. 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., Nusbbaum C., Schieffelin J.S., Birren B.W., Forget M., Nichol S.T., Palacios G.F., Ndiaye D., Happi C., Gevao S.M., Vandi M.A., Kargbo B., Holmes E.C., Bedford T., Gnirke A., Ströher U., Rambaut A., Garry R.F., Sabeti P.C. Ebola virus epidemiology, transmission, and evolution during seven months in Sierra Leone. *Cell*. 2015; 161 (7): 1516–1526. doi: 10.1016/j.cell.2015.06.007
10. 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): 93–96. doi: 10.1038/nature14490
 11. 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): 1481–1495. doi: 10.1056/NEJMoa1411100

Сравнительный анализ секвенированных образцов вируса *Zaire ebolavirus* из Гвинейской Республики

Я.М. Краснов, В.А. Сафронов, Н.Ю. Носов, В.В. Кутырев, А.Ю. Попова

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 27 965 случаях болезни, 11 298 из них закончились летально [4]. В отдельные временные периоды смертность от болезни, вызванной вирусом Эбола (БВБЭ), составляла порядка 90%. Чрезвычайная ситуация в области общественного здравоохранения, вызванная текущей эпидемией БВБЭ, 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 человеческую 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 *Tai Forest 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 БВБЭ 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 проводили с помощью технологии ПЦР-PB и набора «АмплиСенс EBOV Zaire-FL» (ЦНИИ эпидемиологии). Из образцов материала с положительным ответом осуществляли выделение вирусной РНК с помощью набора «QIAamp Viral RNA Mini Kit» (Qiagen) и последующий синтез кДНК с помощью набора «Реверта-L» (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, Киндия), больной «К.», мужчина, 45 лет, водитель. Поступил в обще-медицинскую 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 выравнивания 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 гг.

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 18 867 (99,5%) нуклеотидов первичной структуры полного генома вируса ZE для образца 223; 18 747 (98,9%) — для образца 802 и 16 679 (88%) — для образца 211.

Полный геном РНК вируса ZE включает от 18 956 до 18 961 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, Киндия, 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 Киндия 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 [ДРК]). Такое значительное отличие (3% и более) говорит о независимом друг от друга возникновении 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 (табл.).

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 отличается 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 внимания, 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 10 342), 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, ДРК); 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 10 342 существенно отличаются от 802 по другим позициям в геноме (21 и 24 SNP). Согласно литературным данным, скорость накопления мутаций в геноме ZE составляет $1-2 \times 10^{-3}$ 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, и затем попавшего в Сьерра-Леоне.

Используя данные работы Н. Ebihara et al. [3] по адаптации генома вируса ZE на мышах, приводящей 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 гг. 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

Таблица. 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.

Позиция по референсу	Референс	Образец 802	Образец 211	Образец 223	Свойство замены
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.

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 неукорененных филогенетических дендрограмм (рис. А, В, вклейка, с. VII).

Филогенетическое дерево А (рис.) 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 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 БВБЭ 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 гг.), 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 15 963 (G на A в гене L) и в позиции 17 142 (Т на С 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 10 218 (замена G на A в некодирующей части гена VP24).

Геномы в центре кластера 5 имеют на 1 SNP больше в позиции 14 019 (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, рис., А). В работе E. Simon-Loriere 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 (рис., А) — вариантам распространенным только в Гвинее с марта по октябрь 2014 г. Две другие генетические линии ZE изначально были 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 (рис., 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 2×10^{-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 гг. 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 является результатом 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 — 10 218 и 17 142, вместо 1849 и 6283; изолят KP342330 (октябрь 2014 г., Республика Гвинея) имеет 5 SNP относительно референса, но тоже в другой комбинации — позиции 800, 6283, 10 218, 15 963 и 17 142, вместо 800, 1849, 6283, 15963 и 17142.

В этой связи кластер 1 (рис., 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 (рис., Б), 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 14 019), 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 (рис., Б). 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, рис., А) представлена относительно небольшим числом изолятов (77), получивших распространение только в Гвинее, и характеризуется постепенным характером приобретения SNP. Второе, наиболее многочисленное направление эволюции (568 геномов, рис., 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.

■ 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.
2. Baize S., Pannetier D., Oestereich L., Rieger T., Koivogui L., Magassouba N., 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: 1418–1425.
3. 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. URL: <http://www.who.int/csr/disease/ebola/situation-reports/en> (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., 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., Bochicchio J., Murphy C., Nusbaum C., Young S., Birren B.W., Grant D.S., Scheffelin J.S., Lander E.S., Hapfi 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): 1369–1372.

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: 307–316.
7. Kuhn J.H., Andersen K.G., Baize S., Bào 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., Happi 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): 4760–4799.
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., TomkinsTinch C., Kislyuk A., Lin M.F., Chapman S., MacInnis B., Matthews A., Bochicchio J., Hensley L.E., Kuhn J.H., Nusbaum C., Schieffelin J.S., Birren B.W., Forget M., Nichol S.T., Palacios G.F., Ndiaye D., Happi C., Gevao S.M., Vandi M.A., Kargbo B., Holmes E.C., Bedford T., Gnirke A., 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): 1516–1526.
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): 215–240.
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): 102–104.
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: 421–430.

Клиническая лабораторная диагностика лихорадки Эбола. Анализ существующих методик и диагностических средств

А.О. Семенцова, В.Г. Дедков, В.А. Терновой, Е.В. Чуб, С.А. Пьянков,
А.П. Агафонов, Р.А. Максютлов, В.В. Малеев, А.Ю. Попова

Лихорадка Эбола — особо опасное заболевание человека и животных, этиологическими агентами которого являются вирусы рода *Ebolavirus*, принадлежащего к семейству *Filoviridae*. В настоящее время род *Ebolavirus* насчитывает пять самостоятельных видов: эболавирус Заир (*Zaire ebolavirus*, ZEBOV), эболавирус Судан (*Sudan ebolavirus*, SUDV), эболавирус Бундибуге (*Bundibugyo ebolavirus*, BDBV), эболавирус Таи Форест (*Tai Forest ebolavirus*, TAFV) и эболавирус Рестон (*Reston ebolavirus*, RESTV) [25]. Вирусы ZEBOV, SUDV и BDBV при инфицировании человека вызывают острые лихорадки, которые объединены в общую нозологическую форму, получившую название лихорадка Эбола [28]. Вирус TAFV также патогенен для человека, однако вызывает лихорадочные состояния, напоминающие клинически лихорадку денге [30]. Пятый представитель рода *Ebolavirus* — вирус RESTV, вызывает тяжелую геморрагическую лихорадку у приматов, но не патогенен для человека [16].

Лихорадка Эбола характеризуется высокой летальностью, которая при отсутствии надлежащего лечения варьируется по разным оценкам от 65–75% для ZEBOV до 55–58% для SUDV и BDBV [28, 31]. С эпидемиологической точки зрения лихорадка Эбола является природно-очаговым зоонозом с контактным механизмом передачи. При этом в качестве наиболее вероятного резервуара для ее возбудителей принято рассматривать крыланов из подотряда *Megachiroptera* рукокрылых (*Chiroptera*), включающего единственное семейство *Pteropodidae* [4]. Однако окончательно вопрос о природном резервуаре вирусов рода *Ebolavirus* к настоящему времени не разрешен.

Впервые человечество столкнулось с лихорадкой Эбола в 1976 г., когда сначала в Судане, а затем и в Республике Заир (в настоящее время Демократическая Республика Конго [ДРК]) возникли вспышки, вызванные вирусами SUDV и ZEBOV. Наибольшее количество пострадавших было зарегистрировано в Республике Заир. Оно составило 318 случаев [12, 13]. В период с 1976 по 2013 гг. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) зарегистрировала 24 спорадические вспышки лихорадки Эбола. При этом суммарное количество заболевших составило 1716 случаев, а летальность варьировалась в диапазоне от 25 до 90% [18]. Однако вспышка 1976 г. в ДРК до недавнего времени считалась крупнейшей.

В декабре 2013 г. на территории Республики Гвинея возникла вспышка лихорадки Эбола, вызванная вирусом ZEBOV, которая распространилась на пять стран, включая Гвинею, Либерию, Нигерию, Сенегал и Сьерра-Леоне. Особенностью данной вспышки, переросшей в эпидемию, стало то обстоятельство, что территорией распространения инфекции стала Западная Африка, где ранее циркуляция вирусов рода *Ebolavirus* не наблюдалась. По этой причине и в силу плохого оснащения лабораторной службы выявление возбудителя произошло с большой задержкой, что привело к запаздыванию соответствующих противоэпидемических мероприятий и распространению инфекции из сельской местности на городские территории с общим количеством населения около 25 млн человек. Суммарное количество пострадавших в результате эпидемии 2013–2016 гг. составило 28 652, при этом 11 325 случаев закончилось летально [7]. Фактически, будучи занесенным в городскую черту, вирус распространялся как контактный антропоноз, при этом оценочное значение показателя базовой скорости репродукции составило около 1,8 [24].

Эпидемия лихорадки Эбола 2013–2016 гг. продемонстрировала слабую готовность как национальных, так и международных организаций здравоохранения к оперативному реагированию на возникающие вызовы подобного типа. Понадобилось более двух лет и усилия всего мирового сообщества, чтобы взять под контроль и ликвидировать эту эпидемию. Одной из серьезных проблем оказалось и слабое развитие средств лабораторной диагностики. Однако острая необходимость диктовала свои условия, вследствие чего за короткий промежуток времени было разработано большое количество как коммерчески доступных наборов для диагностики лихорадки Эбола, так и *in house* диагностикумов, основанных на различных методологических подходах. Данный обзор посвящен сравнению различных методов и средств диагностики лихорадки Эбола, применявшихся в ходе ликвидации эпидемии 2013–2016 гг. в Западной Африке.

■ Принципы клинической лабораторной диагностики лихорадки Эбола

Лабораторная диагностика инфекционных заболеваний базируется на двух принципиально разных подходах: молекулярном, позволяющем выявлять нуклеиновые кислоты инфекционного агента в биологическом материале, и серологическом, основанном на выявлении продуктов реакции антиген–антитело — взаимодействии антигена инфекционного агента с антителами инфицированного макроорганизма. Оба подхода имеют право на существование и в клинической практике дополняют друг друга в общем случае. Однако при диагностике острых инфекций, таких как лихорадка Эбола, эффективность применения этих подходов существенно зависит от сроков проведения анализа. Это связано с запаздыванием развития иммунного ответа на внедрение возбудителя в организм.

Клинический дебют заболевания при инфицировании вирусом Эбола сопровождается лихорадкой и астенизацией больного, обусловленных виремией [47]. Наличие вируса в периферическом кровотоке, а также и в других биологических жидкостях позволяет осуществлять прямую детекцию его молекулярных маркеров, либо антигенных структур на раннем этапе заболевания [14]. Анализ вспышки лихорадки Эбола в Киквите (1995, ДРК) показал, что IgM обнаруживается практически у всех больных на 10–29 сут после появления симптомов заболевания, в большом проценте случаев IgM обнаруживается со 2 до 168 дня с появления симптомов заболевания. IgG обнаруживаются практически у всех больных, начиная с 19 и до 749 сут (срок наблюдения) после появления симптомов заболевания, к моменту вероятной смерти пациента [40].

Таким образом, выявление специфических антител к вирусам Эбола хотя и возможно, но, согласно рекомендациям ВОЗ, используется исключительно как подтверждающий метод, метод ретроспективной диагностики, либо скрининговый метод для изучения сероконверсии в популяционных эпидемиологических исследованиях [49]. Еще одним существенным ограничением на применение серологических методов диагностики лихорадки Эбола является необходимость проведения работ в помещениях с уровнем биологической безопасности BSL-4, что практически нереализуемо в странах, где данное заболевание является эндемичным [9].

Тем не менее, в настоящее время существует большое количество серологических протоколов для диагностики лихорадки Эбола, главным образом, в формате иммуноферментного анализа (ИФА). Часть из них была разработана еще до эпидемии 2013–2016 гг. и предназначалась как для специфической диагностики отдельных эболавирусов [23, 27, 43], так и для скрининговых исследований на наличие антител ко всем представителям рода *Ebolavirus* [34, 35, 41]. Другая часть была разработана непосредственно в ходе последней эпидемии [22, 26]. При этом диагностическая специфичность методов на основе ИФА достигает 96%, а диагностическая чувствительность может достигать 100% при условии проведения исследований в оптимальное время [26].

Однако ни одна из данных методик не была доведена до состояния коммерчески доступной тест-системы и ни одна не была рекомендована ВОЗ для использования в качестве диагностического теста. Тем не менее, на рынке диагностических препаратов стали появляться коммерчески доступные тесты в формате ИФА, например набор на основе рекомбинантного антигена нуклеопротеина (NP) — Human Anti-Zaire Ebola virus Nucleoprotein (NP) IgG ELISA Kit (AE-320520-1, Alpha Diagnostics International, США), либо набор Human Ebola Virus IgG (EV-IgG) ELISA Kit, (MBS9391225, My Bio Source, США), «Human Anti-ZEBOV GP IgG» (AE-320620-1, Alpha Diagnostic Intl. Inc., США). Следует отметить, что их диагностические характеристики не определены и данные наборы могут быть использованы исключительно в научных целях.

В Российской Федерации сотрудниками ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора разработана и зарегистрирована в 2015 г. в качестве изделия медицинского назначения диагностическая система в формате ИФА на основе очищенного природного антигена вируса Эбола «Набор реагентов для иммуноферментного выявления антител классов G и M к вирусу Эбола «Вектор ИФА Эбола-АТ скрин». Данная система успешно применялась в ходе диагностических исследований, проведенных специализированной противозидемической бригадой Роспотребнадзора (СПЭБ) в Гвинейской Республике в 2014–2016 гг. При этом диагностическая специфичность системы достигала 99%, а чувствительность — 98%, при доверительных вероятностях 90% [1].

■ Иммунохроматографические экспресс-тесты

«Быстрые» диагностические тесты (Rapid diagnostic tests, RDT) получили распространение в странах третьего мира, в том числе и африканских, в силу ряда неоспоримых преимуществ, а именно простоты использования, отсутствия необходимости в квалифицированном персонале и специализированном оборудовании, небольшого времени, необходимого для проведения исследования.

Принцип работы подобных тестов основан на выявлении антигенных детерминант возбудителя, связывающегося со специфическими антителами, в результате чего происходит образование иммунных комплексов. Далее иммунный комплекс вторично связывается с мечеными антивидами антителами против специфических антител к возбудителю. В результате реакции образуются окрашенные иммунные комплексы типа «сэндвич». Как правило, реализация работы данных тестов осуществляется в формате латеральной проточной ячейки, представляющей собой полоску фильтровальной бумаги, на которой в виде отдельных полос последовательно нанесены специфические и антивидовые антитела. Для анализа могут быть использованы любые биологические жидкости, содержащие вирус, но, как правило, используется кровь, либо моча.

В ходе текущей эпидемии немецкая компания Senova GmbH активно продвигала свой быстрый хроматографический тест Dediatest-Ebola kit выявляющий антиген VP40 вируса ZEBOV. Однако тест показал себя не с лучшей стороны и не получил одобрения ВОЗ по причине низкой чувствительности и специфичности. Другой быстрый хроматографический тест ReEBOV Antigen rapid Test kit от компании Corgenix, Inc. (США) все же получил одобрение ВОЗ и Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (Food and Drug Administration, USFDA) на применение данного теста при проведении диагностики в полевых условиях. Также, категорически не рекомендовано применение данного теста в аэропортах, на железнодорожных вокзалах и прочих местах массового скопления людей для экспресс-диагностики лихорадки Эбола [49]. Это связано с достаточно низкими диагностическими характеристиками разработанного теста. Хотя разработчики утверждают, что диагностическая чувствительность составляет 100% при диагностической специфичности 92,2% [5]. Это, в общем-то, является приемлемым результатом, однако следует учитывать, что при проведении испытаний тестировались

положительные образцы от пациентов в разгаре заболевания, то есть имевших высокий титр вируса в крови. В то же время при проведении независимых испытаний в процессе аккредитации были получены следующие диагностические показатели: диагностическая чувствительность 91,8%, диагностическая специфичность 84,6%. Значение аналитической чувствительности при этом составило всего $2,11 \times 10^8$ копий/мл [48], что в десятки тысяч раз ниже чувствительности самых худших систем молекулярной диагностики вируса Эбола.

Уже после завершения эпидемии в Западной Африке еще два хроматографических теста — OraSure Ebola Rapid Antigen test (OraSure Technologies, США) и SD Q Line Ebola Zaire Ag (SD Biosensor, Южная Корея) получили одобрение ВОЗ, однако результаты тестирования «быстрыми» тестами должны обязательно быть подтверждены молекулярными методами.

■ Методы диагностики на основе ОТ-ПЦР

Применение молекулярных методов для диагностики лихорадки Эбола имеет довольно длинную историю. Еще в 1995 г. во время вспышки лихорадки Эбола в Кивите (ДРК) сотрудниками CDC (Center for Disease Control and Prevention, США) была применена ОТ-ПЦР методика с электрофоретической детекцией ПЦР-продукта, основанная на амплификации фрагментов L, GP и NP генов определенной длины [42]. Методика продемонстрировала более высокие диагностические характеристики в сравнении с методом ИФА и методами, выявляющими антиген. В 1999 г. CDC рекомендовал метод ОТ-ПЦР для диагностики острых случаев лихорадки Эбола. С тех пор данная методика прочно вошла в арсенал средств диагностики лихорадки Эбола и успешно применяется по сей день, преимущественно в формате ОТ-ПЦР в реальном времени [6].

К началу эпидемии 2013–2016 гг. было разработано и апробировано большое количество протоколов на основе ОТ-ПЦР, как в реальном времени, так и с электрофоретической детекцией, предназначенных для диагностики как отдельных представителей рода *Ebolavirus*, так и всей совокупности известных филовирусов. При этом в качестве мишеней использовались фрагменты генов полимеразы (L-ген) [37, 42], гликопротеина (GP) [17], нуклеопротеина (NP) [21] и белка VP40 [15]. Ввиду небольшой востребованности из коммерчески доступных наборов на рынке существовала лишь одна тест-система RealStar® Filovirus Screen RT-PCR Kit 1.0 производства компании Altona GmbH (Германия), предназначенная для видовой идентификации всех представителей семейства *Filoviridae*. Данная тест-система явилась результатом коммерциализации методики, разработанной институтом тропической медицины им. Бернхарда Нохта в Гамбурге (Bernhard Nocht Institute for Tropical Medicine, Гамбург, Германия) и была признана «золотым стандартом» диагностики филовирусных геморрагических лихорадок [37]. Однако в ходе проведения диагностических исследований оказалось, что существующие методики требуют корректировки в виду генетических различий ранее известных штаммов ZEBOV и штамма Маккона, вызвавшего эпидемию 2013–2016 гг. Наличие данной проблемы было теоретически продемонстрировано в работе Gire S.K. и соавт. [19]. Однако авторы затруднились оценить влияние этих генетических различий на диагностические характеристики существующих методик молекулярной диагностики. Проблема вариабельности в целевой области коснулась и набора компании Altona, однако данная проблема была оперативно решена производителем, и к концу 2014 г. появилась обновленная версия набора RealStar® Filovirus Screen RT-PCR Kit, а также и набор для определения только вируса ZEBOV — RealStar® Zaire Ebolavirus RT-PCR Kit.

Отсутствие надежных средств молекулярной диагностики, а также драматическое увеличение количества пострадавших в ходе эпидемии послужило стимулирующим фактором развития молекулярных методик и коммерческих наборов на их основе для диа-

гностики лихорадки Эбола. К сожалению, из-за большого количества исследовательских групп, принимавших участие в лабораторном обеспечении мероприятий по ликвидации эпидемии на разных ее этапах, а также в силу различной национальной принадлежности и подчиненности, использовались различные протоколы диагностики, сравнительную эффективность которых оценить затруднительно. Тем не менее, *post factum* стали появляться исследования, посвященные сравнению эффективности различных протоколов диагностики лихорадки Эбола, вызванной штаммом ZEBOV Маккона. Наиболее полным исследованием подобного рода является работа швейцарских специалистов, которые провели сравнительное тестирование 11 различных методик ОТ-ПЦР детекции вируса ZEBOV [8]. Шесть методик были представлены коммерчески доступными наборами: RealStar® Filovirus Screen RT-PCR Kit 1.0 (кат. № 441013, Altona, Гамбург, Германия), RealStar® Zaire Ebolavirus RT-PCR Kit 1.0 (кат. № 451003, Altona, Гамбург, Германия), Roche LightMix® Modular Ebola Virus Zaire (кат. № 40-0666-96, Roche, Роткройц, Швейцария), FTD®Ebola (кат. № FTD-71-64, Fast-track Diagnostics (FTD), Слима, Мальта), Lifetech Ebola Virus (Zaire 2014) и Lifetech Lyophilized Ebola Virus (Zaire2014) (кат. № 4489990, Life Technologies, Уолтем, США).

В ходе испытаний было выявлено, что коммерческие наборы, принимавшие участие в исследовании, обладают лучшими характеристиками, чем *in house* методики. Наилучшие результаты показал набор Lifetech Lyophilized Ebola Virus (Zaire 2014). Его чувствительность (предел детекции) составила 62,5 копии транскрибируемого положительного РНК-контроля и 1:243 разведения сыворотки больного лихорадкой Эбола, в то время как остальные наборы имели предел детекции транскрибируемого положительного РНК-контроля от 625 до 1250 копий/мл и детектировали разведения сыворотки больного в диапазоне от 1:27 до 1:81 [8].

В Российской Федерации к началу эпидемии 2013–2016 гг. существовал единственный набор для диагностики лихорадки Эбола «Вектор-ПЦРРВ-Эбола-RG» [2], разработанный в ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (г. Новосибирск). Были получены данные по использованию набора для исследования лиофильно высушенного супернатанта клеток, зараженных вирусом Эбола, штамм Заир, инактивированного прогреванием и γ -излучением. Образец (Ebolavirus standard preparation for diagnostic purposes) был приобретен институтом им. Р. Коха (Robert Koch-Institut, Берлин, Германия) и предоставлен Европейской диагностической сетью завозных вирусных болезней (ENIVD — European Network for Diagnostics of «Imported» Viral Diseases). Специфическая активность образца подтверждена институтами Robert Koch-Institut и Bernhard-Nocht Institute, а также университетом г. Марбург (ФРГ) в реакции ПЦР. Согласно документу, препарат содержит 2×10^7 геном-эквивалентов (ГЭ) на мл вируса Эбола. Методом ПЦР РНК в нативном препарате детектируется примерно на 21–22 цикле (по C_t) и на 24–25 цикле — в разведении 1:10.

В 2014 г. в связи с необходимостью лабораторно-диагностического обеспечения работы Специальной противэпидемической бригады (СПЭБ) Роспотребнадзора в очаге лихорадки Эбола в Республике Гвинея, Центральным НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора была разработана и зарегистрирована диагностическая система в формате ОТ-ПЦР в реальном времени «Амплисенс EBOV(Zaire)-Fl», обладающая высокой аналитической чувствительностью (500 копий в мл), продемонстрировавшая в ходе полевых испытаний высокую диагностическую чувствительность и специфичность [10]. Кроме того, в 2016 г. в России была зарегистрирована тест-система ОМ-Скрин-Эбола Заир/Эбола Судан/Марбург-РВ, производства ЗАО «Синтол».

Помимо наборов и методик с традиционной архитектурой были разработаны также коммерческие системы, позволяющие проводить реакцию ОТ-ПЦР в автоматическом режиме — так называемые системы Lab-on-Chip. Данные системы содержат расходную часть, представляющую закрытые картриджи, содержащие в себе как реагенты для экстракции нуклеиновых кислот, так и реагенты для проведения ОТ-ПЦР в реальном времени.

Помимо картриджа для исследований также необходим специализированный прибор. В картридж посредством прокола вносится исследуемый материал, картридж помещается в прибор, после чего все стадии анализа происходят автоматически без участия оператора.

Среди разработок подобного рода наибольшую известность и распространенность получила система GeneExpert Ebola assay от компании Cepheid, США [10], а также наборы FilmArray NGDS BT-E и FilmArray Biothreat-E test компании BioFire Defense, США [39, 44]. Данные системы были испытаны в полевых условиях в Западной Африке и получили одобрение ВОЗ и FDA в качестве изделий медицинского назначения. Этому способствовал ряд неоспоримых преимуществ подобных изделий, а именно: простота проведения анализа, простота интерпретации результата, низкий риск кросс-контаминации, небольшое время проведения анализа (60–90 мин, включая этап выделения нуклеиновых кислот, против 4 ч для стандартной процедуры экстракции и ОТ-ПЦР). Последняя особенность оказалась чрезвычайно важной постольку, поскольку на Африканском континенте слабо развитая электрическая сеть и нестабильная подача электричества вынуждают пользоваться портативными генераторными установками либо батареями ограниченной емкости. В этой связи время проведения анализа становится драматически важным параметром успешного применения диагностической системы. Помимо очевидных плюсов подобные системы имеют и существенные недостатки, а именно: более низкую чувствительность по сравнению с традиционными ОТ-ПЦР системами, необходимость покупки специализированного оборудования при ограниченном выборе разработанных производителем картриджей для детекции прочих патогенных микроорганизмов, а также высокая стоимость одного исследования. Так, например, стоимость одной реакции Gene Expert Ebola assay в настоящее время составляет около 50 долларов США. Тем не менее, подобные методики могут быть использованы в полевых условиях, например в рамках деятельности мобильных лабораторий, действующих непосредственно в эпидемическом очаге. Однако их применение в референсных лабораториях не обосновано в силу низкой чувствительности и высокой стоимости анализа. Скорее всего, данные методики следует рассматривать в качестве альтернативы хроматографическим тестам.

■ Методы диагностики на основе альтернативных принципов амплификации

Помимо традиционных методик на основе ПЦР/ОТ-ПЦР в последние годы активно развиваются молекулярно-диагностические методики на основе петлевой изотермической амплификации, так называемой LAMP (Loop-mediated isothermal amplification) осуществляемой с помощью фермента Bst ДНК-полимеразы, представляющей собой *in silico* гомолог большой субъединицы ДНК-полимеразы I *Bacillus stearothermophilus*. Фермент обладает 5'-3' ДНК-полимеразной активностью и высокой вытесняющей способностью, но не проявляет 5'-3' экзонуклеазной активности. Для Bst ДНК-полимеразы характерны высокая скорость амплификации, высокая производительность, повышенная толерантность к содержанию солей и температурный оптимум активности в пределах 60–65°C [33]. Сочетание данных свойств позволяет осуществлять амплификацию без создания ступенчатого режима, характерного для ПЦР и, следовательно, не требует наличия такого сложного дорогостоящего оборудования, как амплификатор. Для постановки LAMP можно использовать стандартные термостатирующие приборы или даже водяную баню.

LAMP является относительно новым методом амплификации нуклеиновых кислот, который был разработан Notomi T. и соавт. в 2000 г. [36]. Сущность данного метода заключается в удвоении участка ДНК с высокой специфичностью, эффективностью и скоростью за счет вытесняющей активности Bst ДНК-полимеразы и образования петлевых структур в условиях постоянной температуры. К преимуществам LAMP относятся простота, скорость, высокая специфичность и чувствительность (количество ПЦР-продукта в течение

15–60 мин достигает 10^9 – 10^{10} копий ДНК мишени), экономическая эффективность. В отличие от классической ПЦР в методе LAMP используется четыре либо шесть праймеров, что обеспечивает высокий уровень специфичности.

Учет результатов LAMP осуществляется по свечению интеркалирующего красителя, например SYBR Green I, добавляемого в реакционную смесь, что дает возможность визуализировать продукты реакции в ультрафиолетовом свете [45]. Данный способ пригоден для полевых исследований. Другой способ основан на колориметрической детекции (турбидиметрии) побочных продуктов реакции LAMP, в частности ионов пирофосфата, образованием которых сопровождается синтез специфического продукта амплификации, что приводит к возрастанию оптической плотности в реакционной смеси [20]. Оба варианта детекции могут быть осуществлены как по конечной точке, так и в реальном времени с помощью специализированных приборов, например, прибора для автоматической детекции флуоресцентного сигнала Genie III (OptiGene, Западный Суссекс, Великобритания) при использовании интеркалирующего красителя, либо турбидиметра LA-200 (Eiken Chemical Co. Ltd., Токио, Япония) в случае детекции ионов пирофосфата.

Возможность успешного использования LAMP, либо RT-LAMP для диагностики различных патогенов человека и животных было продемонстрировано неоднократно (см. например [38]).

В последующие годы было разработано большое количество коммерческих тест-систем для диагностики широкого спектра патогенов бактериальной и вирусной этиологии. В качестве основной точки приложения подобных тест-систем является так называемая диагностика point-of-care (у постели больного).

В 2007 г. Kurosaki и соавт. разработали первую методику на основе метода RT-LAMP для диагностики ZEBOV. В качестве мишени для амплификации был выбран фрагмент гена нуклеопротеина (NP). По данным авторов аналитическая чувствительность (предел детекции, Limit of Detection, LOD) составила 20 копий в реакцию, что сравнимо с лучшими методиками на основе ОТ-ПЦР в реальном времени. Таким образом, был продемонстрирован высокий диагностический потенциал наборов с подобной архитектурой в случае детекции молекулярных маркеров ZEBOV.

Во время эпидемии 2013–2016 гг. методика LAMP разработанная Kurosaki и соавт. также применялась в Гвинее, причем в модифицированном варианте, использующем детекцию по двум мишеням. В качестве первой мишени использовался фрагмент гена нуклеопротеина (NP), выбранный ранее, а в качестве второй фрагмент 5'-UTR не транскрибируемой области. Регистрация результата осуществлялась прибором для автоматической детекции флуоресцентного сигнала Genie III (OptiGene, Западный Суссекс, Великобритания) по свечению интеркалятора [29]. Методика была проверена на 100 клинических образцах (44 сыворотки и 56 буккальных соскобов) от больных с подозрением на лихорадку Эбола в Гвинее. Диагностическая специфичность данной методики для обеих мишеней составила 100%, в то время как чувствительность для фрагмента NP составила 97,9%, а для фрагмента 5'-UTR не транскрибируемой области 100%. При этом время проведения реакции составляло 60 минут.

Другая методика на основе LAMP, применявшаяся в Гвинее и Сьерра-Леоне была разработана Li H. и соавт. [32]. В качестве мишени разработчики использовали фрагмент гена нуклеопротеина (NP). Детекция результатов реакции осуществлялась с помощью автоматического турбидиметра LA-200 (Eiken Chemical Co. Ltd., Токио, Япония) по образованию ионов пирофосфата. Реакция занимала 60 мин. Аналитическая чувствительность методики составила $4,56 \times 10^3$ копий контрольной РНК в мл, что также сравнимо с чувствительностью методик на основе ОТ-ПЦР в реальном времени. Было показано отсутствие перекрестных реакций с другими возбудителями геморрагических лихорадок и арбовирусных инфекций.

Таким образом, методики на основе LAMP являются перспективным инструментом диагностики лихорадок, вызванных представителями семейства *Ebolavirus*, особенно в лабораториях со слабо развитой инфраструктурой и плохой оснащенностью, в качестве альтернативы методам на основе ОТ-ПЦР в реальном времени. Однако существует ряд опасений, ограничивающих применение данных методов. А именно: пока остается неясным влияние замен в области посадки праймеров на диагностические свойства наборов на основе LAMP. Из соображений общего характера ясно, что вероятность возникновения замен под четырьмя (шестью) праймерами, используемыми для проведения LAMP, существенно выше, чем таковая для двух праймеров и зонда, используемых для проведения ОТ-ПЦР в реальном времени. Подобными опасениями, вероятно, обусловлено стремление Kurosaki и соавт. в модифицированном варианте методики использовать двухмишенную схему LAMP для повышения надежности. Однако пока отсутствуют коммерчески доступные LAMP-наборы для диагностики лихорадки Эбола.

Подводя итог выше сказанному, следует отметить, что в настоящее время клиническая лабораторная диагностика лихорадки Эбола может быть осуществлена с помощью наборов на основе метода ОТ-ПЦР в реальном времени либо с помощью «быстрых» хроматографических тестов. При этом результаты иммунохроматографии должны быть обязательно подтверждены методом ОТ-ПЦР. В качестве «золотого стандарта» ОТ-ПЦР диагностики принято рассматривать наборы производства компании Altona Diagnostics GmbH, Германия. На момент написания данного обзора ВОЗ одобрила применение пяти наборов на основе метода ОТ-ПЦР в реальном времени и три иммунохроматографических теста, USFDA одобрила применение шести наборов на основе метода ОТ-ПЦР и два иммунохроматографических теста. В Российской Федерации зарегистрированы три набора на основе ПЦР/ОТ-ПЦР в реальном времени.

Сравнительные характеристики тест-систем для молекулярной диагностики лихорадки Эбола, получивших одобрение тех или иных разрешающих инстанций, в качестве изделий медицинского назначения, представлены в сводной таблице. Аккредитованные наборы имеют достаточно широкий диапазон чувствительности: от 500 до $4,2 \times 10^4$ копий/мл. Однако даже наименее чувствительные из них вполне пригодны для диагностических целей, так как уже на ранних этапах заболевания содержание вирусных частиц в периферическом кровотоке больных достигает значений 10^7 копий/мл и выше [46]. В качестве мишеней для амплификации разработчики использовали различные фрагменты генома вируса Эбола, большей частью фрагменты L-гена, кодирующего РНК-зависимую РНК-полимеразу. Это связано с высокой консервативностью данного гена. Однако диагностикумы, основанные на использовании в качестве мишеней фрагментов генов GP (гликопротеина) и NP (нуклеопротеина) также разработаны и имеют право на существование, поскольку сравнительным анализом изолятов ZEBOV показано чередование участков высокой и низкой гомологии на всем протяжении генома [19]. Поэтому не существует особых ограничений при выборе областей генома, которые могут быть использованы в качестве мишеней для ПЦР. Тем не менее, ряд разработчиков в своих тест-системах для большей надежности используют сразу две мишени [8], а некоторые диагностические лаборатории в ходе работы применяют одновременно две и более диагностические системы или методики.

В Российской Федерации также продолжают работы по совершенствованию диагностических систем на основе молекулярных методик для детекции возбудителей филовиральных лихорадок. В частности в Центральном НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора разработаны и готовятся к проведению клинических испытаний наборы в формате мультипрайм ОТ-ПЦР в реальном времени для дифференциальной диагностики вирусов ZEBOV, SUDV и MARV — «Амплисенс® Filoscreen A-Fl» и вирусов BDBV, TAFV и RESTV — «Амплисенс® Filoscreen B-Fl» [48]. В ГНЦ ВБ «Вектор» ведутся разработки диагностических систем для обнаружения вируса Эбола на основе методики LAMP и xMAP-технологии [3].

Таблица. Сравнительные характеристики тест-систем для молекулярной диагностики лихорадки Эбола, получивших одобрение в качестве изданий медицинского назначения

Набор	Производитель	Формат	Плексность	Мишень	Контроли	Время	Предел детекции	Одобрено
RealStar® Filovirus RT-PCR Kit 1.0 (CE-IVD)	Altona Diagnostics GmbH (Qiagen)	OT-ПЦР в реальном времени	Все филловirusы	L	*К+, #ПКО (IVТС)*, ##ВКО (глобин)	4–6 (2)***	$3,4 \times 10^3$ копий/мл	B03
RealStar® Ebolavirus RT-PCR Kit 1.0 (FDA EUA)*	Altona Diagnostics GmbH (Qiagen)	OT-ПЦР в реальном времени	Все эболавirusы	L	К+, ПКО (IVТС), ВКО (глобин)	4–6 (2)	$3,4 \times 10^3$ копий/мл	B03
Liferiver™ Ebola virus (EBOV) real time RT-PCR kit	Shanghai ZJ Bio-Tech Co., Ltd	OT-ПЦР в реальном времени	Все эболавirusы без дифференцировки	NP	К+, ВКО (глобин)	4–6 (2)	$4,23 \times 10^4$ копий/мл	B03
Xpert® Ebola Assay (Also FDA EUA)**	Cepheid	Lab-on-chip OT-ПЦР в реальном времени	ZEBOV	NP, GP	К+, ПКО (IVТС), ВКО (глобин)	1,5	$(1,34-4,23) \times 10^4$ копий/мл	B03
FilmArray Biothreat-E test	BioFire, Biomérieux	Lab-on-chip OT-ПЦР в реальном времени	ZEBOV	L	-	1,25	6×10^4 ФОЕ/мл = 2×10^5 копий/мл	USFDA
FilmArray NGDS BT-E Assay	BioFire Defense, LLC for US Dept. of Defense	Lab-on-chip OT-ПЦР в реальном времени	ZEBOV	NP	-	1,25	10^4 ФОЕ/мл = $3,4 \times 10^4$ копий/мл	USFDA
LightMix® Ebola Zaire RT-PCR Test	Roche	OT-ПЦР в реальном времени	ZEBOV	L	К+, ПКО (IVТС), ВКО (глобин)	4–6 (1,5)	$4,78$ ФОЕ/мл = 2×10^4 копий/мл	USFDA
EZ1 Real-time RT PCR Assay	US Dept. of Defense (in house)	OT-ПЦР в реальном времени	ZEBOV	GP	К+, ПКО (IVТС), ВКО (глобин)	4–6 (1,5)	5 ФОЕ/мл = 2×10^4 копий/мл	USFDA
CDC Ebola Virus NP Real-time RT-PCR Assay	US CDC (in house)	OT-ПЦР в реальном времени	ZEBOV	NP	К+, ПКО (IVТС), ВКО (глобин)	4–6 (1,5)	30 TCID ₅₀ в реакцию	USFDA
CDC Ebola Virus VP40 Real-time RT-PCR Assay	US CDC (in house)	OT-ПЦР в реальном времени	ZEBOV, SUDV	VP40	К+, ПКО (IVТС), ВКО (глобин)	4–6 (1,5)	30 TCID ₅₀ в реакцию	USFDA
Вектор-ПЦРPB-Эбола-RG	ГНЦ ББ «Вектор» Роспотребнадзора	ПЦР в реальном времени	ZEBOV, SUDV	L	К+	4–6 (1,5)	2×10^3 копий/мл	Росздавнадзор МЗ РФ
Амплисен® EBOV(Zaire)-FL	ЦНИИЭ Роспотребнадзора	OT-ПЦР в реальном времени	ZEBOV	L	К+, ПКО (ARPC**), ВКО STI	4–6 (1,5)	5×10^3 копий/мл	Росздавнадзор МЗ РФ
ОМ-Скрин-Эбола Заир/Эбола Судан/Марбург-РБ	ЗАО «Синтол»	OT-ПЦР в реальном времени	ZEBOV, SUDV, MARV	-	К+, ПКО (IVТС), ВКО (глобин)	4–6 (1,5)	10^3 копий/мл	Росздавнадзор МЗ РФ

Примечания. * IVТС (in vitro transcribed positive control — положительный РНК-контроль); ** ARPC (Armored Positive Control — положительный защищенный РНК-контроль). *** В скобках указано время проведения этапа ОТ-ПЦР без учета процедуры пробоподготовки; *К+ — положительный контроль этапа ПЦР; # ПКО — положительный контроль ОТ-ПЦР; ## ВКО — внутренний контрольный образец.

Таким образом, Российская Федерация располагает необходимым набором диагностических средств собственного производства, по своим характеристикам не уступающих лучшим мировым аналогам, что позволяет с большим запасом прочности осуществлять надзорные мероприятия по недопущению завоза на территорию нашей страны особо опасных филовиральных лихорадок, а также оказывать помощь в проведении подобных мероприятий другим странам, в рамках существующих международных соглашений.

■ Список литературы

1. Пьянков С.А., Пьянков О.В., Найденова Е.В., Агафонов А.П., Voiro M.Y., Солодкий В.В., Зайковская А.В., Максимов Н.Л., Маренникова С.С., Бочаров Е.Ф., Офицеров В.И., Лопатин А.А., Щербакова С.А., Кутырев В.В., Михеев В.Н., Демина Ю.В. Опыт использования метода ИФА для выявления антител к вирусу Эбола при работе бригады СПЭБ в республике Гвинея. *Проблемы особо опасных вирусных инфекций*. 2016; 3: 71–75. doi: 10.21055/0370-1069-2016-3-71-75
2. Регистрационное удостоверение на медицинское изделие РЗН 2013/1322. Набор реагентов для амплификации кДНК вируса Эбола (Заир, Судан) с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени (для приборов Rotor-Gene 6000) «Вектор-ПЦРПВ-Эбола -RG» по ТУ 9398-017-05664012-2011. Заявитель: ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»; дата: 11.12.2013.
3. Терновой В.А., Семенцова А.О., Чуб Е.В., Пьянков О.В., Локтев В.Б., Агафонов А.П. Высокоэффективное хМАР-мультиплексирование для обнаружения и идентификации геморрагических лихорадок, включая Эбола. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2015; 3: 94–97. doi: 10.21055/0370-1069-2015-3-94-97
4. Щелканов М.Ю., Марассуба Н'Ф., Дедков В.Г., Шипулин Г.А., Галкина И.В., Попова А.Ю., Малеев В.В. Природный резервуар филовиралов и типы связанных с ними эпидемических вспышек на территории Африки. *Вестник РАМН*. 2017; 72 (2): 112–119. doi: 10.15690/vramn803
5. Boisen M.L., Cross R.W., Hartnett J.N., Goba A., Momoh M., Fullah M., Gbakie M., Safa S., Fonnies M., Baimba F., Koroma V.J., Geisbert J.B., McCormick S., Nelson K.S., Millett M.M., Ootamasathien D., Jones A.B., Pham H., Brown B.L., Shaffer J.G., Schieffelin J.S., Kargbo B., Gbetuwa M., Geva S.M., Wilson R.B., Pitts K.R., Geisbert T.W., Branco L.M., Khan S.H., Grant D.S., Garry R.F. Field validation of the ReEBOV antigen rapid test for point-of-care diagnosis of Ebola Virus infection. *J. Infect. Dis.* 2016; 214 (3): S203–S209. doi: 10.1093/infdis/jiw261
6. Broadhurst M.J., Brooks T.J., Pollock N.R. Diagnosis of Ebola virus disease: past, present, and future. *Clin. Microbiol. Rev.* 2016; 29 (4): 773–793. doi: 10.1128/CMR.00003-16
7. CDC. Outbreaks chronology: Ebola Virus disease. URL: <https://www.cdc.gov/vhf/ebola/outbreaks/history/chronology.html> (29.09.2017)
8. Cherpillod P., Schibler M., Vieille G., Cordey S., Mamin A., Vetter P., Kaiser L. Ebola virus disease diagnosis by real-time RT-PCR: a comparative study of 11 different procedures. *J. Clin. Virol.* 2016; 77: 9–14. doi: 10.1016/j.jcv.2016.01.017
9. De La Vega M.-A., Bello A., Chaillet P., Kobinger G.P. Diagnosis and management of Ebola samples in the laboratory. *Expert Rev. Anti. Infect. Ther.* 2016; 14 (6): 557–567. doi: 10.1080/14787210.2016.1176912
10. Dedkov V.G., Magassouba N.F., Safonova M.V., Deviatkin A.A., Dolgova A.S., Pyankov O.V., Sergeev A.A., Utkin D.V., Odinov G.N., Safronov V.A., Agafonov A.P., Maleev V.V., Shipulin G.A. Development and evaluation of a real-time RT-PCR assay for the detection of Ebola virus (Zaire) during an Ebola outbreak in Guinea in 2014–2015. *J. Virol. Methods*. 2016; 228: 26–30. doi: 10.1016/j.jviromet.2015.11.007
11. Dedkov V.G., Safonova M.V., Bodnev S.A., Pyankov O.V., Agafonov A.P., Maleev V.V., Shipulin G.A. Sensitive multiplex real-time RT-PCR assay for the detection of Filoviruses. Молекулярная диагностика–2017: Сб. тр. IX Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. Тамбов: ООО фирма «Юлис». 2017: 290–292.
12. Ebola haemorrhagic fever in Sudan, 1976. Report of a WHO/International study team. *Bull. World Health Organ.* 1978; 56 (2): 247–270.
13. Ebola haemorrhagic fever in Zaire, 1976. Report of an International Commission. *Bull. World Health Organ.* 1978; 56 (2): 271–293.
14. El Sayed S.M., Abdelrahman A.A., Ozbak H.A., Hemeg H.A., Kheyami A.M., Rezk N., El-Ghoul M.B., Nabo M.M.H., Fathy Y.M. Updates in diagnosis and management of Ebola hemorrhagic fever. *J. Res. Med. Sci.* 2016; 21: 84. doi: 10.4103/1735-1995.192500
15. Erickson B.R., Sealy T.K., Flietstra T., Morgan L., Kargbo B., Matt-Lebby V.E., Gibbons A., Chakrabarti A., Graziano J., Presser L., Flint M., Bird B.H., Brown S., Klena J.D., Blau D.M., Brault A.C., Belser J.A., Salzer J.S., Schuh A.J., Lo M., Zivcec M., Priestley R.A., Pyle M., Goodman C., Bearden S., Amman B.R., Basile A., Bergeron E., Bowen M.D., Dodd K.A., Freeman M.M., McMullan L.K., Paddock C.D., Russell B.J., Sanchez A.J., Towner J.S., Wang D., Zemtsova G.E., Stoddard R.A., Turnsek M., Guerrero L.W., Emery S.L., Stovall J., Kainulainen M.H., Perniciaro J.L., Mijatovic-Rustempasic S., Shakirova G., Winter J., Sexton C., Liu F., Slater K., Anderson R., Andersen L., Chiang C.F., Tzeng W.-P., Crowe S.J., Maenner M.J., Spiropoulou C.F., Nichol S.T., Ströher U. Ebola Virus disease diagnostics,

- Sierra Leone: analysis of real-time reverse transcription-polymerase chain reaction values for clinical blood and oral swab specimens. *J. Infect. Dis.* 2016; 214 (3): S258–S262.
16. Geisbert T.W., Jahrling P.B. Use of immunoelectron microscopy to show Ebola virus during the 1989 United States epizootic. *J. Clin. Pathol.* 1990; 43 (10): 813–816. doi: 10.1136/jcp.43.10.813
 17. Gibb T.R., Norwood D.A., Jr., Woollen N., Henchal E.A. Development and evaluation of a fluorogenic 5' nuclease assay to detect and differentiate between Ebola virus subtypes Zaire and Sudan. *J. Clin. Microbiol.* 2001; 39 (11): 4125–4130.
 18. Gilbert S.C., Warimwe G.M. Rapid development of vaccines against emerging pathogens: the replication-deficient simian adenovirus platform technology. *Vaccine.* 2017; 35: 4461–4464. doi: 10.1016/j.vaccine.2017.04.085
 19. 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., 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.B., Chapman S.B., Bochicchio J., Murphy C., Nusbaum C., Young S., Birren B.W., Grant D.S., Scheiffelin J.S., Lander E.S., Happi C., Geva 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): 1369–1372. doi: 10.1126/science.1259657
 20. Goto M., Honda E., Ogura A., Nomoto A., Hanaki K.-I. Colorimetric detection of loop-mediated isothermal amplification reaction by using hydroxynaphthol blue. *Biotechniques.* 2009; 46: 167–72.
 21. Huang Y., Wei H., Wang Y., Shi Z., Raoul H., Yuan Z. Rapid detection of filoviruses by real-time TaqMan polymerase chain reaction assays. *Viro. Sin.* 2012; 27: 273–277. doi: 10.1007/s12250-012-3252-y
 22. 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. *Viro. Sin.* 2014; 29 (6): 372–380.
 23. Ikegami T., Saijo M., Niikura M., Miranda M.E., Calaor A.B., Hernandez M., Manalo D.L., Kurane I., Yoshikawa Y., Morikawa S. Immunoglobulin G enzyme-linked immunosorbent assay using truncated nucleoproteins of Reston Ebola virus. *Epidemiol. Infect.* 2003; 130: 533–539. doi: 10.1017/S0950268803008264
 24. Jiang S., Wang K., Li C., Hong G., Zhang X., Shan M., Li H., Wang J. Mathematical models for devising the optimal Ebola virus disease eradication. *J. Transl. Med.* 2017; 15 (1): 124–134. doi: 10.1186/s12967-017-1224-6
 25. King M.Q., Adams M.J., Carstens B.E., Lefkowitz J.E. Virus taxonomy: ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. CA: Elsevier. 2012.
 26. Krahling V., Becker D., Rohde C., Eickmann M., Eroğlu Y., Herwig A., Kerber R., Kowalski K., Vergara-Alert J., Becker S. Development of an antibody capture ELISA using inactivated Ebola Zaire Makona virus. *Med. Microbiol. Immunol.* 2015; 205 (2): 173–183. doi: 10.1007/s00430-015-0438-6
 27. Ksiazek T.G., West C.P., Rollin P.E., Jahrling P.B., Peters C.J. ELISA for the detection of antibodies to Ebola viruses. *J. Infect. Dis.* 1999; 179 (1): S192–S198.
 28. Kuhn H.J., Dodd E.L., Wahl-Jensen V., Radoshitzky S.R., Bavari S., Jahrling P.B. Evaluation of perceived threat differences posed by filovirus variants. *Biosec. Bioterr.* 2011; 9 (4): 361–371. doi.org/10.1089/bsp.2011.0051
 29. Kurosaki Y., Magassouba N., Oloniniyi O.K., Cherif M.S., Sakabe S., Takada A., Hirayama K., Yasuda J. Development and evaluation of reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) assay coupled with a portable device for rapid diagnosis of Ebola virus diseases in Guinea. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2016; 10 (2): e004472. doi: 10.1371/journal.pntd.0004472
 30. Le Guenno B., Formenty P., Wyers M., Gounon P., Walker F., Boesch C. Isolation and partial characterisation of a new strain of Ebola virus. *Lancet.* 1995; 345 (8960): 1271–1274. doi: 10.1016/S0140-6736(95)90925-7
 31. Lefebvre A., Fiet C., Belpois-Duchamp C., Tiv M., Astruc K., Aho-Glélé L.S. Case fatality rates of Ebola virus diseases: a meta-analysis of World Health Organization data. *Med. Mal. Infect.* 2014; 44 (9): 412–416.
 32. Li H., Wang X., Liu W., Wei X., Lin W., Li E., Li P., Dong D., Cui L., Hu X., Li B., Ma Y., Zhao X., Lui C., Yuan J. Survey and visual detection of Zaire ebolavirus in clinical samples targeting the nucleoprotein gene in Sierra Leone. *Front. Microbiol.* 2015; 6: 1332–1339. doi: 10.3389/fmicb.2016.00948
 33. Ma Y., Zhang B., Wang M., Ou Y., Wang J., Li S. Enhancement of Polymerase activity of the large fragment in DNA Polymerase I from *Geobacillus stearothermophilus* by site-directed mutagenesis at the active site. *BioMed. Res. Int.* 2016, ID 2906484: 8. doi: 10.1155/2016/2906484
 34. Macneil A., Reed Z., Rollin P.E. Serologic cross-reactivity of human IgM and IgG antibodies to five species of Ebola virus. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2011; 5 (6): e1175. doi: 10.1371/journal.pntd.0001175
 35. 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: 1723–1728.
 36. Notomi T., Okayama H., Masubuchi H., Yonekawa T., Watanabe K., Amino N., Hase T. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Res.* 2000; 28 (12): E63.

37. Panning M., Laue T., Olschlager S., Eickmann M., Becker S., Raith S., Courbot M.C., Nilsson M., Gopal R., Lundkvist A. Diagnostic reverse-transcription polymerase chain reaction kit for filoviruses based on the strain collections of all European biosafety level 4 laboratories. *J. Infect. Dis.* 2007; 196 (2): S199–S204.
38. Parida M., Posadas G., Inoue S., Hasebe F., Morita K. Real-time reverse transcription loop-mediated isothermal amplification for rapid detection of West Nile virus. *J. Clin. Microbiol.* 2004; 42 (1): 257–263.
39. Pinsky B.A., Sahoo M.K., Sandlund J., Kleman M., Kulkarni M., Grufman P., Nygren M., Kwiatkowski R., Baron E.J., Tenover F., Denison B., Higuchi R., Van Atta R., Beer N.R., Carrillo A.C., Naraghi-Arani P., Mire C.E., Ranadheera C., Grolla A., Lagerqvist N., Persing D.H. Analytical performance characteristics of the Cepheid GeneXpert Ebola Assay for the detection of Ebola virus. *PLoS One.* 2015; 10 (11): e0142216. doi: 10.1371/journal.pone.0142216
40. Rowe A.K., Bertolli J., Khan A.S., Makunu R., Muyembe J.J., Bressler D., Williams A.J., Peters C.J., Rodriguez L., Feldman 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 Epidemies à Kikwit. *J. Infect. Dis.* 1999; 179 (1): S28–S35.
41. 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. doi: 10.1128/JCM.39.1.1-7.2001
42. Sanchez A., Ksiazek T.G., Rollin P.E., Miranda M.E.G., Trappier S.G., Khan A.S., Peters C.J., Nichol S.T. Detection and molecular characterization of Ebola viruses causing disease in human and nonhuman primates. *J. Infect. Dis.* 1999; 179 (1): S164–S169.
43. Sobarzo A., Perelman E., Groseth A., Dolnik O., Becker S., Lutwama J.J., Dye J.M., Yavelsky V., Lobel L., Marks R.S. Profiling the native specific human humoral immune response to Sudan Ebolavirus strain gulu by chemiluminescence enzyme-linked immunosorbent assay. *Clin. Vaccine Immunol.* 2012; 19: 1844–1852.
44. Southern T.R., Racsa L.D., Albarrino C.G., Fey P.D., Hinrichs S.H., Murphy C.N., Herrera V.L., Sambol A.R., Hill C.E., Ryan E.L., Kraft C.S., Campbell S., Sealy T.K., Schuh A., Ritchie J.C., Lyon III G.M., Mehta A.K., Varkey J.B., Ribner B.S., Brantly K.P., Ströher U., Iwen P.C., Burd E.M. Comparison of FilmArray and quantitative real-time reverse transcriptase PCR for detection of Zaire Ebolavirus from contrived and clinical specimens. *J. Clin. Microbiol.* 2015; 53 (9): 2956–2960. doi: 10.1128/JCM.01317-15
45. Tomita N., Mori Y., Kanda H., Notomi T. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) of gene sequences and simple visual detection of products. *Nat. Protoc.* 2008; 3: 877–882.
46. Towner J.S., Rollin P.E., Bausch D.G., Sanchez A., Crary S.M., Vincent M., Lee W.F., Spiropoulou C.F., Ksiazek T.G., Lukwiya M., Kaducu F., Downing R., Nichol S.T. Rapid diagnosis of Ebola hemorrhagic fever by reverse transcription-PCR in an outbreak setting and assessment of patient viral load as a predictor of outcome. *J. Virol.* 2004; 78 (8): 4330–4341.
47. Vernet M.-A., Reynard S., Fizez A., Schaeffer J., Pannetier D., Guedj J., Rives M., Georges N., Garcia-Bonnet N., Sylla A.I., Grovogui P., Kerherve J.-Y., Savio C., Savio-Coste S., de Séverac M.-L., Zloczewski P., Linares S., Harouna S., Abdoul B.M., Petitjean F., Samake N., Shepherd S., Kinda M., Koundouno F.R., Joxe L., Mateo M., Lecine P., Page A., Tchamdja T.M., Schoenhals M., Barbe S., Simon B., Tran-Minh T., Longuet C., L'Héritau F., Baize S. Clinical, virological, and biological parameters associated with outcomes of Ebola virus infection in Macenta, Guinea. *JCI Insight.* 2017; 2 (6): e88864. doi: 10.1172/jci.insight.88864
48. World Health Organization. Annex. 2. Considerations for the selection of PCRs for the diagnosis of Ebola disease. 2015. URL: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/175554/2/WHO_EVD_HIS_EMP_15.2_annex_eng.pdf?ua=1&ua=1 (29.09.2017).
49. World Health Organization. Selection and use of Ebola in vitro diagnostic assays. Emergency guidance. 2015. URL: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/175554/1/WHO_EVD_HIS_EMP_15.2_eng.pdf?ua=1&ua=1 (29.09.2017).

Моноклональные антитела и рекомбинантные белки для иммунодиагностики болезни, вызванной вирусом Эбола

Е.И. Казачинская, Ю.В. Никонорова, В.Б. Локтев

В декабре 2013 г. в Африке (в Либерии, Гвинее, Сьерра-Леоне, Нигерии) началась очередная вспышка геморрагической лихорадки Эбола (ГЛЭ). Всемирная организация здравоохранения 8 августа 2014 г. объявила вспышку ГЛЭ важнейшей угрозой для общественного здравоохранения мира (<http://www.who.int/en>). На 24 июня 2015 г. зарегистрировано 27 479 случаев заболевания, из которых 11 217 закончились летально (<http://www.promedmail.org>). Изучение молекулярной эпидемиологии этой вспышки ГЛЭ 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 диагностика ВЭ стала принципиально важным условием для успешной борьбы с этим опасным вирусным заболеванием.

■ Номенклатура, классификация, инфекционный агент

Вирус Эбола (род *Ebolavirus*) относится к семейству *Filoviridae*, как и род *Marburgvirus* (BM) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/Ictv/index.htm>). К роду *Ebolavirus* относятся 4 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 заболевания с высоким уровнем летальности. Вспышки заболевания возникали в основном в таких африканских странах как Заир, Судан, Конго, Уганда, Гвинея, Сьерра-Леоне, Либерия, Нигерия (<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs103/en>). Также было зафиксировано несколько завозных случаев заболевания, а также случаи лабораторного заражения ВЭ. ГЛЭ характеризуется тяжелым течением 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. Специфическая иммунодиагностика и генетическая диагностика ВЭ на момент возникновения вспышки фактически отсутствовала или существовала в виде экспериментальных лабораторных прописей. Это делало диагностику ГЛЭ фактически недоступной для широкого использования органами общественного здравоохранения.

■ Организация генома, структура и функции белков

Вирионы 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 отрицательной одноцепочечной РНК, которая составляет 1,1% от массы вириона. Геном ВЭ состоит из 18 959 нуклеотидов и содержит 7 расположенных по порядку генов: 3'-leader-NP-VP35-VP40-GP-VP30-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.) ответственный за рецепторное связывание и является мишенью для специфических антител; GP2 (502–676 а.о.) содержит домен слияния и иммуносупрессорный домен; 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 [44]. Длина белковой цепи GP ВЭ составляет 676 а.о., молекулярная масса около 150 kDa. В составе белка GP выявлено наличие иммуногенных эпитопов, связывающих нейтрализующие антитела [41]. Процентное содержание белка GP ВЭ в вирионе невысокое — 4,7%, но различия в структуре и антигенности GP позволяют выделять субтипы филовирусов и он является одним из основных вирусных белков, на котором сконцентрированы современные исследования по получению вакцины против ВЭ [12]. Так же как и полный GP, sGP исследовался на возможность использования его для разработки вакцинного препарата [15]. В крови пациентов с лихорадкой Эбола и экспериментально зараженных животных обнаружено большое количество белков GP и sGP [17]. Нуклеопротеин (NP) филовирусов является одним из мажорных структурных белков, его процентное содержание в вирионе составляет 17%. Длина белка — 739 а.о., рассчитанная молекулярная масса — 83 kDa, однако фосфорилирование и О-гликозилирование, необходимое для формирования нуклеокапсидного комплекса увеличивают его электрофоретическую подвижность до 115 kDa. При исследовании вклада филовирусных белков в формирование вирусоподобных частиц (VLPs) было показано, что NP ВЭ самостоятельно, без помощи VP40, не выходит из клеток, поэтому было предположено формирование комплекса этих белков. Комбинация VP40 с GP или NP в 5 раз увеличивала выход VLPs. Обнаружено самое лучшее сочетание для экспрессии: VP40+GP+NP [25]. Во взаимодействии предположительно участвуют 2–150 и 601–739 а.о., что было 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 филовирусов является мажорной молекулой, что соответствует значительному содержанию его в вирионе — 37,7%. Длина белка составляет 326 а.о., молекулярная масса — 40 kDa, имеет гидрофобный аминокислотный профиль [12]. По аналогии с матриксными белками других вирусов, филовирусный 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 вирусоподобные частицы (VLPs) и выходит из клеток, но совместная экспрессия с другими белками повышает количественный уровень выхода вирусоподобных частиц из трансфецированных клеток [25].

Белок VP35 филовирусов является одним из трех мажорных компонентов, составляя 24,5% от массы вириона. Длина белка 340–351 а.о., молекулярная масса — 35 kDa. Являясь кофактором полимеразы, белок VP35 играет важную роль в процессе транскрипции, репликации и инкапсидации ВЭ [13]. Предполагается, что белок VP35 может быть важен для проявления вирулентности филовирусов, так как он блокирует синтез интерферона в зараженных клетках [11]. Мутации в гене VP35 приводят к потере вирулентности ВЭ, что показано на модели морских свинок [37]. Многофункциональность VP35 (кофактор полимеразы, ингибитор интерферона, наличие домена на С-конце для связывания РНК) указывает на его значимость в качестве мишени для терапевтических средств [10] и его вакцинный потенциал [46]. Минорный нуклеопротеин VP30 локализован в рибонуклеокапсидном комплексе, выполняет функцию инкапсидации совместно с NP [11]. Процентное содержание белка в вирионе 6,6%. Было показано, что незначительные изменения в структуре белка VP30 (в кластере для взаимодействия с нуклеопротеином) снижают вирулентность ВЭ [19]. L-белок (РНК-зависимая РНК-полимераза) — компонент рибонуклеинового комплекса [30], самый большой белок (180–205 kDa) филовирусов, но присутствующий в наименьшем количестве (2% от массы вириона). Функция мембрано-ассоциированного белка VP24 пока неясна, но единичные аминокислотные замены влияют на изменение патогенных свойств дикого типа ВЭ.

■ Маркеры и методы для лабораторной диагностики вируса Эбола

Список заболеваний, которые могут вызывать симптомы, подобные филовирусным 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, лихорадка Крымская-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 выявление вируса в чувствительной культуре клеток Vero с последующей идентификацией его методом иммунофлуоресценции, также для первичной изоляции могут быть использованы мыши-сосунки [9]. Однако, несмотря на высокую чувствительность и специфичность, недостатком этих методов является длительность проведения исследования — не менее 5–7 сут, что ограничивает их применение как быстрого и эффективного диагностического инструмента.

Сыворотки крови пациентов, заболевших ГЛЭ в Киквике в 1995 г., были исследованы на наличие антигена и специфических IgG и IgM в ИФА. Вирусный антиген был обнаружен фактически у всех пациентов в течение острого периода, в то время как антитела не всегда обнаруживались, даже перед смертью. В сыворотках выживших IgG и IgM появлялись приблизительно в одно время от начала болезни (8–10 сут), 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 выявления вирусного антигена служат надежным средством для постановки диагноза для пациентов с подозрением на ГЛЭ [24]. Поэтому в настоящее время метод ПЦР успешно развивается и используется для выявления генетического материала филовирусов. Для ПЦР-диагностики ВЭ чаще используют специфические праймеры для фрагмента гена NP [21].

Метод ИФА является важным инструментом при изучении различных аспектов инфекционного процесса. Он используется для обнаружения возбудителя в различных органах и физиологических жидкостях, определения времени его появления и концентрации, оценки динамики появления и накопления специфических антител. При определении специфических антител к ВЭ было установлено, что они могут быть выявлены в реакции связывания комплемента (РСК) на 12-е сут заболевания. В ИФА специфические антитела в низких титрах выявляются уже на 8–9 сут, что позволяет подтвердить диагноз и наблюдать динамику накопления специфических антител [6].

Высокая концентрация антигенов ВЭ в крови заболевших позволяет эффективно выявлять вирусные антигены методом ИФА [6, 43]. 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 система ИФА для выявления ВЭ в тканях инфицированных приматов была описана в 1992 г. Пул из восьми видов МКА, специфичных к ВЭ-Заир и ВЭ-Судан был использован для «захвата» антигена. Порог чувствительности системы составил 10^2 – 10^3 БОЕ/мл. [24]. Эту же систему авторы использовали в исследованиях образцов сывороток крови, собранных от пациентов при вспышках ГЛЭ и кори в 2004 г. в Судане [35]. Для обнаружения очищенного и концентрированного антигена ВЭ-Заир была разработана экспериментальная ИФА тест-система с использованием поликлональных специфических антител кролика [6]. Эта система дала возможность постановки специфического диагноза на 5–6 сут после инфицирования, фактически в конце

инкубационного периода и до развития основных клинических симптомов заболевания. МКА, полученные к рекомбинантному NP ВЭ-Заир, узнающие антигенный сайт, были использованы в ИФА для обнаружения различных штаммов ВЭ (Заир, Рестон и Судан) в материалах от лабораторно инфицированных обезьян. Чувствительность выявления составила 30 нг/100 мкл рекомбинантного NP-Заир [33]. Она была успешно апробирована для выявления ВЭ-Рестон в архивных замороженных образцах печени, селезенки и сыворотках крови, собранных во время вспышки ВЭ-Рестон среди обезьян на Филиппинах в 1996 г. [22]. ИФА с использованием двух видов МКА, специфичных к белку VP40 ВЭ, обеспечивал 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 использованы при полевом испытании метода иммунофильтрации для выявления ВЭ в образцах сывороток крови, мочи, слюны и пота, собранных во время вспышки ГЛЭ 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, экспрессированные в виде полноразмерных копий в бакуло-вирусной 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%-й, без ложноположительных результатов. Кроме того, было 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 были использованы в качестве положительного контроля для разработки ИФА для выявления антигена на основе МКА [33]. В качестве антигена при разработке лабораторной ИФА тест-системы для выявления специфических антител был использован рекомбинантный NP-белок [36]. Получение рекомбинантного белка VP40 ВЭ для целей иммунодиагностики также описано [23, 25, 26]. Рекомбинантный белок VP35 ВЭ-Заир был получен в бакуловирусной системе экспрессии гена VP35 [18] и был успешно использован для тестирования сывороток крови обезьян и человека. Его использование обеспечило 100%-ную чувствительность и специфичность иммунодиагностики. Для исследования вирулентности ВЭ был 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 [49].

Рекомбинантный GP может быть также использован для определения титров специфических антител в сыворотках реконвалесцентов в ИФА тест-системах [27, 36]. Описан эпитоп-блокирующий лабораторный тест ИФА для выявления антител в сыворотках 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 получен с использованием вируса осповакцины со встраиванием соответствующего гена [45] и при трансфекции клеток 293Т-плазмидой, кодирующей GP-ВЭ-Заир, узнавался МКА в иммуноблоттинге [47].

■ 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 для 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 на культуре клеток и полностью защищающих морских свинок от заражения [29]. Следующее сообщение было о получении мышиных МКА, специфичных к пяти уникальным эпитопам рекомбинантного GP ВЭ (Заир), и их способности обеспечивать защиту мышей при введении через 2 дня после заражения [46]. 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 ВЭ [42]. МКА, полученные к рекомбинантному NP ВЭ-Заир, узнавали антигенный сайт, состоящий из 26 аминокислотных С-концевых остатков. Эти МКА были использованы 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 $1,0 \times 10^3$ БОЕ/мл. Интересное исследование посвящено характеристике и использованию МКА, специфичных к матричному белку VP40 ВЭ-Заир (штамм Mayinga), инактивированного 1,5%-м тритоном X100. Из 9 МКА, взаимодействующих с белком VP40 в иммуноблоттинге, четыре взаимодействовали и с рекомбинантным белком, полученном при инфицировании клеток HeLa рекомбинантным вирусом вакцины MVA-T7 с плазмидами, содержащими ген VP40. Два вида МКА были использованы 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 пептидам GP [48]. Описано получение МКА при иммунизации мышей вирусоподобными частицами, несущими фрагменты вирусных белков. 17 видов МКА были специфичны: 2 — к разным эпитопам белка VP40, 3 — к секреторному гликопротеину (sGP) и 12 — к GP1. Авторы предполагают использовать МКА, специфичные к VP40, в качестве потенциальных кандидатов для быстрой диагностики, а МКА, специфичные к разным эпитопам GP, могут найти применение для терапии ГЛЭ [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» были также получены гибридные клеточные линии, продуцирующие МКА, специфичные к белку VP35. 2 клеточных линии: к VP40 — 20 гибридом и к NP — 15 гибридом [3–5]. Для их получения мыши и крысы — доноры селезеночных лимфоцитов для получения гибридных клеточных линий — были иммунизированы вирулентным штаммом ВЭ-Заир (ВЭ-IS) или адаптированным к морским свинкам штаммом 8МС ВЭ-Заир. Панель очищенных МКА была исследована методом 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, позволяли выявлять образовавшийся иммунный комплекс. Всего был исследован 21 вид наиболее высокотитражных МКА, специфичных к белкам ВЭ: 2 — к VP35; 7 — к VP40; 10 — к нуклеопротеину. Из них было сформировано 399 различных сочетаний пар МКА. Инактивированный антиген ВЭ удовлетворительно выявляли 115 пар МКА (ОП в диапазоне от 1,0 до 3,5), из них 29 пар МКА выявляли рекомбинантные белки: 16 пар выявляли рекомбинантный VP40 и 13 пар — рекомбинантный NP. Интересен факт выявления инактивированного ВЭ парами МКА, специфичных к разным вирусным белкам. Эти данные предполагают высокую стабильность комплексов белков в вирусном препарате после его очистки и инаktivации. 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 концентрациях 1–2 нг/мл [5].

■ Рекомбинантные белки ВЭ в ГНЦ ВБ «Вектор»

Для получения рекомбинантных аналогов вирусных белков нами была изолирована вирусная РНК из инактивированного очищенного препарата ВЭ, штамм Mayinga. Полно-размерный ген белка VP35 ВЭ был получен методом ПЦР с вирусспецифической кДНК с использованием специфических праймеров. Полученный ПЦР-фрагмент клонировали в составе плазмиды pQE-31 (Qiagen). Рекомбинантная 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 kDa совпадала с литературными данными и нашими теоретическими расчетами (36 941 kDa) [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. Рекомбинантные белки были исследованы на антигенную специфичность и иммуногенность методами ИФА и иммуноблота. Рекомбинантные аналоги вирусных белков обладали иммуногенностью, вызывая синтез антител до титра 1:2 000 000 в организме иммунизированных аутбредных мышей линии ICR. Также показано, что рекомбинантные 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]. Методами ИФА и иммуноблоттинга было 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, 5]. В нашей лаборатории продолжаются работы по пополнению клонотеки филовиральных генов, необходимых для получения профилактической вакцины против ВЭ и коллекции МКА, возможно нейтрализующих вирус и имеющих перспективу стать основой для получения терапевтических препаратов гуманизированных антител.

В настоящее время полученные панели МКА и рекомбинантные белки используются для разработки быстрого (время проведения анализа 15–20 мин) и простого иммунохроматографического экспресс-метода для выявления антигенов ВЭ в полевых условиях без использования сложного оборудования.

■ 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. *Вопросы вирусологии*. 1996; 6: 270–273.
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. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2010; 106: 32–33.

3. 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. *Медицинская иммунология*. 2010; 3 (12): 177–190.
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. *Вопросы вирусологии*. 2000; 3: 40–44.
5. 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. *Вопросы вирусологии*. 2001; 5: 25–31.
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. *Вопросы вирусологии*. 1995; 40 (1): 31–35.
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. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 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): 639–649.
9. Bente D., Gren J., Strong J.E., Feldmann H. Disease modeling for Ebola and Marburg viruses. *Dis. Model. Mech.* 2009; 2 (1–2): 12–17.
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): 8406–8419.
11. Bukreyev A.A. Characteristics of Filoviridae: Marburg and Ebola Viruses. *Naturwissenschaften*. 1999; 6: 8–17.
12. 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. *Virology*. 2007; 81 (12): 6379–6388.
13. 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): 41–46.
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., Ehichioya D., Ellerbrok H., Fernandez-Garcia M.D., Fizez A., Fleischmann E., Gryseels S., Hermelink A., Hinzmann J., Hopf-Guevara U., Ighodalo Y., Jameson L., Kelterbaum A., Kis Z., Kloth S., Kohl C., Korva M., Kraus A., Kuisma E., Kurth A., Liedigk B., Logue C.H., Lüdtke A., Maes P., McCowen J., Mély S., Mertens M., Meschi S., Meyer B., Michel J., Molkenhain P., Muñoz-Fontela C., Muth D., Newman E.N., Ngabo D., Oestereich L., Okosun J., Olorok T., Omiunu R., Omomoh E., Pallasch E., Pályi B., Portmann J., Pottage T., Pratt C., Priesnitz S., Quarto 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., Stoeker 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. 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): 441–455.
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. *J. EMBO*. 2004; 23: 2175–2184.
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): 379–385.
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): 624–629.
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): 273–277.
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): 372–380.
22. Ikegami T., Niikura M., Saijo M., Miranda M.E., Calao 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): 552–557.

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. *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 immunosorbent assay for Ebola virus in tissues of infected primates. *Clin. Microbiol.* 1992; 30 (4): 947–950.
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. *Virology.* 2004; 78 (14): 7344–7351.
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. *Virol. Meth.* 2003; 111: 21–28.
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: 181–187.
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. *Infect. Dis.* 2007; 196 (2): 184–192.
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. *Virology.* 1999; 73 (7): 6024–6030.
30. Muhlbberger 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. *Virology.* 1998; 72 (11): 8756–8784.
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): 1723–1728.
32. Ndayimirije N., Kindhauser M.K. Marburg hemorrhagic fever in Angola — fighting fear and a lethal pathogen. *N. Engl. J. Med.* 2005; 352 (21): 2155–2157.
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. *Clin. Microbiol.* 2001; 39 (9): 3267–3271.
34. Noda T., Watanabe S., Sagara H., Kawaoka Y. Mapping of the VP40-binding regions of the nucleoprotein of Ebola virus. *Virology.* 2007; 81 (7): 3554–3562.
35. Onyango C.O., Opoka M.L., Ksiazek T.G., Formenty P., Ahmed A., Tukei 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. *Infect. Dis.* 2007; 196 (2): 193–198.
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. *Gen. Virol.* 1998; 79 (11): 2565–2572.
37. Prins K.C., Delpeut S., Leung D.W., Reynard O., Volchkova V.A., Reid S.P., Ramanan P., Cárdenas W.B., Amarsinghe 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): 3004–3015.
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): 218–227.
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. *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., 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): 1069–1074.
42. Takada A., Watanabe S., Okazaki K., Kida H., Kawaoka Y. Infectivity-Enhancing Antibodies to Ebola virus glycoprotein. *J. Virol.* 2001; 75 (5): 2324–2330.
43. Towner J.S., Sealy T.K., Khristova M.L., Albariño 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.
44. 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): 110–119.

45. Volchkova V.A., Klenk H.D., Volchikov V.E. Delta-peptide is the carboxy-terminal cleavage fragment of the nonstructural small glycoprotein sGP of Ebola virus. *Virology*. 1999; 265 (1): 164–171.
46. Wilson J.A., Bray M., Bakken R., Hart M.K. Vaccine potential of Ebola virus VP24, VP30, VP35 and VP40 proteins. *J. Virol*. 2001; 286 (2): 384–390.
47. Wolf K., Beimforde N., Falzarano D., Feldmann H., Schnittler HJ. The Ebola virus soluble glycoprotein (sGP) does not affect lymphocyte apoptosis and adhesion to activated endothelium. *J. Infect. Dis.* 2011; 204 (3): 947–952.
48. 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., Cliffler 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. *Virol. Meth.* 2006; 137 (2): 219–228.
49. Zinzula L., Esposito F., Mühlberger 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): 113–119.

Опыт использования метода ИФА для выявления антител к вирусу Эбола при работе бригады СПЭБ в Гвинейской Республике

С.А. Пьянков, О.В. Пьянков, Е.В. Найденова, А.П. Агафонов, М.И. Буаро, В.В. Солодкий, А.В. Зайковская, Н.Л. Максимов, С.С. Маренникова, Е.Ф. Бочаров, В.И. Офицеров, А.А. Лопатин, С.А. Щербакова, Ю.В. Демина, В.В. Кутырев, В.Н. Михеев

В 2014–2016 гг. в 3 странах Западной Африки (Гвинея, Сьерра-Леоне и Либерия) зарегистрирована эпидемия болезни, вызванной вирусом Эбола (БВБЭ), которую до этого считали эндемичной только для сельских районов Центральной Африки [5]. Общее количество официально зарегистрированных случаев болезни за этот период составило около 28 тыс., 11 тыс. закончились смертельным исходом [8]. Масштаб эпидемии и угроза распространения БВБЭ на другие территории показала необходимость участия всего мирового сообщества в ликвидации данной проблемы. В страны, пострадавшие от БВБЭ, с целью оказания медицинской помощи были направлены бригады специалистов из многих стран мира [3, 4, 8].

В августе 2014 г. Правительством Российской Федерации принято решение об оказании помощи Гвинейской Республике в ликвидации эпидемии БВБЭ. Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации в Гвинейскую Республику направлен мобильный комплекс санитарной противоэпидемической бригады Роспотребнадзора (МК СПЭБ) и группа специалистов, в задачи которых входило осуществление лабораторной диагностики БВБЭ и оказание консультативно-методической помощи [2].

Лабораторную диагностику проводили методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) с целью выявления РНК вируса Эбола, для чего использовали зарегистрированные и разрешенные к применению наборы реагентов отечественного производства «Вектор-ПЦР РВ-Эбола RG» (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор») и «АмплиСенс® EBOV Zaire-FL» (ИнтерЛабСервис). Метод ОТ-ПЦР хорошо зарекомендовал себя при проведении диагностики БВБЭ на ранних стадиях развития инфекционного процесса, когда возбудитель персистирует в организме больного [1, 2].

Но, как известно, при диагностике инфекционных болезней вирусной природы наиболее информативно использовать комплекс методов. Чаще всего применяют молекулярно-генетические методы в сочетании с иммуносерологическими. Иммуноферментный анализ (ИФА) позволяет выявлять антитела классов IgM и IgG к вирусу Эбола в сыворотке крови больных, что дает возможность проводить лабораторную диагностику на более поздних сроках от начала болезни и осуществлять сероэпидемический мониторинг [3, 5, 6]. В Российской Федерации на момент начала работы МК СПЭБ в Гвинейской Республике зарегистрированные препараты для выявления в сыворотке крови больных антител классов IgM и IgG к вирусу Эбола методом ИФА отсутствовали [3].

Целью работы стала разработка набора реагентов для совместного и отдельного выявления антител классов G и M к вирусу Эбола в сыворотке и плазме крови человека методом ИФА, апробация и последующее использование его в период эпидемических проявлений БВБЭ в Гвинейской Республике во время работы лаборатории МК СПЭБ.

■ Материалы и методы

Работу проводили с соблюдением требований СП 1.3.3118-13 «Безопасность работ с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)», «Инструкции по мерам профи-

лактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» (Утв. МЗ СССР 17 января 1991 г.).

При разработке тест-системы в качестве антигена использовали наработанный на культуре клеток Vero с использованием раствора Игла MEM с 8–10% эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота и очищенный в градиенте плотности (10–60%) сахарозы при режиме центрифугирования 130 000g при 4–6°C в течение 4 ч штамм вируса Эбола Заир Н. sapiens-wt/GIN/2015/Kalidie-Kindia-1022 (депонирован в Государственной коллекции возбудителей вирусных инфекций и риккетсиозов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» № V-695).

Процедуру постановки непрямого твердофазного ИФА разделили на две стадии. Контрольные и разведенные в 5 раз исследуемые образцы инкубировали с антигеном, сорбированным на полистироловые планшеты. После пятикратной отмыжки от несвязавшегося с антигеном материала проводили последующую инкубацию: при скрининге — со смесью конъюгатов против IgG и IgM человека; при подтверждении иммунного статуса положительных образцов — раздельно в разных лунках планшета с каждым из конъюгатов. Затем проводили вторую пятикратную отмыжку от не образовавшего иммунные комплексы конъюгата и визуализацию результатов ИФА путем добавления раствора хромогена. Вносили стоп-реагент и учитывали результаты реакции на планшетном ридере при длине волны 450 нм.

Для выяснения диагностической ценности разработанного набора реагентов и валидации его диагностических и аналитических характеристик сформировали панель образцов сыворотки и плазмы крови людей, содержащих и не содержащих антитела к вирусу Эбола. В качестве положительных образцов использовали 139 образцов, собранных на территории Гвинейской Республики от больных и переболевших БВБЭ. Отрицательную референс-панель собрали из сывороток крови людей, полученных из лечебных учреждений Гвинеи от больных с установленным окончательным диагнозом (не БВБЭ), а так же с различными инфекционными болезнями (малярия, Крымская геморрагическая лихорадка, лихорадка Западного Нила, клещевой энцефалит), обратившихся за медицинской помощью в разных городах Российской Федерации, реконвалесцентов с диагнозом «лихорадка Марбург», от вакцинированных против желтой лихорадки, а также здоровых доноров. Всего в работе использовано 902 образца сывороток крови и плазмы (табл. 1).

■ Результаты и обсуждение

На начальном этапе работы для отработки условий проведения ИФА была сформирована рабочая панель сывороток, содержащих и не содержащих антитела к вирусу Эбола, из числа указанных выше. В качестве положительных образцов использовали 5 сывороток крови, полученных в 2015 г. из Гвинеи от больных лихорадкой Эбола с подтвержденным клиническим и лабораторным диагнозом. В качестве отрицательных образцов — 1 сыворотка крови от реконвалесцента с диагнозом «лихорадка Марбург», 2 сыворотки крови от больных с диагнозом «лихорадка Западного Нила», 2 сыворотки крови от больных с диагнозом «Крымская геморрагическая лихорадка». В процессе работы были подобраны оптимальные концентрации антигена, конъюгатов, блокирующих растворов, а также условия проведения ИФА. Диагностическую чувствительность определяли с использованием экспериментальных серий ИФА набора при тестировании образцов сыворотки и плазмы крови реконвалесцентов и больных с лабораторно подтвержденным диагнозом БВБЭ. При проведении ИФА с одновременным применением конъюгатов «анти-IgM» и «анти-IgG» положительный результат выявлен в 100% случаев. Последующее подтверждение полученных данных при раздельном применении конъюгатов также показало наличие антител к вирусу Эбола во всех исследуемых образцах. Таким образом, диагностическая чувствительность разработанных препаратов составила не менее 98% с доверительной вероятностью 90%.

Таблица 1. Образцы сывороток крови и плазмы людей, использованных в исследовании

Исследуемый материал	Количество образцов
Сыворотки крови больных и переболевших БВБЭ (Гвинейская Республика)	139
Сыворотки крови больных с установленным диагнозом (не БВБЭ) (Гвинейская Республика)	214
Сыворотки крови больных с различными инфекционными болезнями (Российская Федерация)	381
Сыворотки крови реконвалесцентов с диагнозом «лихорадка Марбург» (Российская Федерация)	2
Сыворотки крови людей, вакцинированных против желтой лихорадки (Российская Федерация)	23
Сыворотки крови здоровых доноров (Российская Федерация)	143
Всего	902

Специфичность определяли при тестировании образцов сывороток крови и плазмы от людей с различными инфекционными болезнями, но не БВБЭ. При исследовании всех образцов зарегистрирован отрицательный результат как в вариантах реакции одновременного выявления специфических антител (IgM и IgG), так и при раздельной их детекции. Диагностическая специфичность составила не менее 99%.

Проведено сравнение эффективности коммерческого набора реагентов «Human Anti-ZEBOV GP IgG» (Alpha Diagnostic Intl. Inc., США) и экспериментальной серии разработанного ИФА-набора. Для сравнительных исследований использованы 5 сывороток крови, полученных в 2015 г. из Гвинеи от больных БВБЭ, 1 — от реконвалесцента с диагнозом «лихорадка Марбург» и 4 — от больных с диагнозом «лихорадка Западного Нила». Сыворотки титровали с шагом 1:2, начиная с разведения 1:100 и заканчивая разведением 1:102 400. Исследования проводили в соответствии с инструкциями по применению. В экспериментальной серии разработанного ИФА-набора использовали конъюгат против IgG человека.

При проведении тестирования сывороток крови людей с диагнозом «БВБЭ» как с использованием разработанного нами набора, так и с препаратом сравнения выявлены антитела класса IgG к вирусу Эбола. При проведении анализа сывороток крови людей с диагнозом «лихорадка Марбург» и «лихорадка Западного Нила» во всех случаях получен отрицательный результат. Проведенные испытания показали, что чувствительность разработанного ИФА-набора выше, чем у набора «HumanAnti-ZEBOV GP IgG». Результаты приведены в табл. 2. Изучение стабильности набора позволило установить допустимые колебания значений оптической плотности, регистрируемые при тестировании одной пробы с использованием разных серий наборов в течение года для всех испытанных образцов. При исследовании полной контрольной панели (табл. 1) с использованием трех серий разработанного набора, во всех сыворотках крови от больных и переболевших БВБЭ обнаружены суммарные антитела к вирусу Эбола; в пробах от людей с другими инфекционными болезнями и доноров положительных ответов не выявлено, что свидетельствует о 100% воспроизводимости полученных результатов.

После проведения технических и клинических испытаний «Набор реагентов для совместного и раздельного иммуноферментного выявления антител классов G и M к вирусу Эбола «Вектор ИФА Эбола АТ скрин» зарегистрирован в установленном порядке (№ РЗН 2015/3458).

Набор «Вектор ИФА Эбола-АТ скрин» использовали во время работы на базе МК СПЭБ в Гвинейской Республике. При проведении диагностических исследований установлено, что метод ИФА позволяет выявлять специфические IgM не ранее 7 и не позднее 180 сут от начала болезни, а IgG — не ранее 12–14 сут с момента появления у больного клинических признаков БВБЭ и в течение последующих двух лет после выздоровления. Также показано, что примерно к 25-м сут болезни концентрация антител класса M к вирусу Эбола в крови достигает максимальных значений. Высокий уровень антител класса IgG зарегистрирован через 28 сут от начала болезни. С использованием набора «Вектор

Таблица 2. Сравнительное изучение эффективности наборов для выявления антител к вирусу Эбола с использованием положительных и отрицательных образцов сыворотки крови человека

Сыворотка	Титр антител к вирусу Эбола/набор	
	экспериментальная серия разработанного ИФА-набора	«Human Anti-ZEBOV GP IgG»
Сыворотки крови больных с диагнозом «БВБЭ»	1:102 400	1:800
	1:51 200	1:800
	1:102 400	1:1600
	1:51 200	1:800
	1:102 400	1:3200
Сыворотка крови больных с диагнозом «лихорадка Марбург»	< 1:100	< 1:100
Сыворотки больных с диагнозом «лихорадка Западного Нила»	< 1:100	< 1:100
	< 1:100	< 1:100
	< 1:100	< 1:100
	< 1:100	< 1:100

ИФА Эбола АТ скрин» изучены сроки циркуляции специфических антител к вирусу Эбола в крови реконвалесцентов (табл. 3). У 5 реконвалесцентов, выздоровевших 6–7 месяцев назад, обнаружены специфические IgG в титрах 1:10 000–1:100 000. Два из них содержали специфические IgM в титре 1:10. Через 1–1,5 года уровни антител класса IgG существенно снижались, однако продолжали определяться. В результате работы показано, что специфические антитела класса IgG сохраняются у переболевших БВБЭ не менее 2 лет после начала болезни, что указывает на возможность использования данного диагностического препарата в ретроспективных исследованиях.

Таким образом, разработанный набор «Вектор ИФА Эбола-АТ скрин» позволяет выявлять как суммарные, так и специфические антитела классов М и G к вирусу Эбола в сыво-

Таблица 3. Выявление антител к вирусу Эбола в сыворотках крови реконвалесцентов, полученных в разные сроки от начала болезни

Пол	Возраст	Дата от начала заболевания	Титр антител	
			IgM	IgG
М	33	1 год 8 мес.	< 1:5	1:5
М	28	6 мес.	< 1:5	1:10 000
		1 год 7 мес.	< 1:5	1:200
М	45	7 мес.	1:10	1:100 000
		1 год 5 мес.	< 1:5	1:100
М	25	6 мес.	< 1:5	1:10 000
		1 год 8 мес.	< 1:5	1:100
М	30	1 год 3 мес.	< 1:5	1:100
М	26	1 год 3 мес.	< 1:5	1:200
М	20	7 мес.	1:10	1:100 000
		2 года 1 мес.	< 1:5	1:800
М	23	2 года 1 мес.	< 1:5	1:100
М	37	7 мес.	< 1:5	1:100 000
		2 года 1 мес.	< 1:5	1:200
М	30	1 год 8 мес.	< 1:5	1:100
М	16	2 года	< 1:5	1:100

ротках и плазме крови людей. Показано, что ИФА может быть использован как дополнительный лабораторный тест при диагностике БВВЭ (в период клинических проявлений и детекции РНК вируса в биологических жидкостях больного), так и в качестве основного лабораторного метода при проведении ретроспективной диагностики.

Порядок работы был одобрен этическими комитетами лечебных учреждений, представивших образцы для исследования.

■ Список литературы

1. 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., Kanotou 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. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2015; 3: 73–77.
2. Попова А.Ю., Сафронов В.А., Магасуба 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., 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. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2014; 4: 5–8.
3. Эпидемиология, профилактика и лабораторная диагностика болезни, вызванной вирусом Эбола. Под ред. Поповой А.Ю., Кутырева В.В. *Саратов: Буква*, 2015: 244.
4. Baize S., Pannetier D., Oestereich L., Rieger T., Koivogui L., Magassouba N'F., Soropogu 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): 1418–1425. doi: 10.1056/NEJMoa1404505
5. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Outbreaks chronology: Ebola Virus disease. 2014 [cited 06 Sept 2014]. URL: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/resources/outbreaktable.html>
6. Krähling V., Becker D., Rohde C., Eickmann M., Eroğlu Y., Herwig A., Kerber R., Kowalski K., Vergara-Alert J., Becker S. European Mobile Laboratory consortium. Development of an antibody capture ELISA using inactivated Ebola Zaire Makona virus. *Med. Microbiol. Immunol.* 2016; 205 (2): 173–183. doi: 10.1007/s00430-015-0438-6
7. Vu H., Shulenin S., Grolla A., Audet J., He S., Kobinger G., Unfer R.C., Warfield K.L., Aman M.J., Holtsberg F.W. Quantitative serology assays for determination of antibody responses to Ebola virus glycoprotein and matrix protein in nonhuman primates and humans. *Antiviral. Res.* 2016; 126: 55–61. doi: 10.1016/j.antiviral.2015.11.012
8. WHO. Situation report, 28 April 2016. [cited 14 Jul 2016]. URL: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/205686/1/WHOsitrep_28Apr2016_eng.pdf?ua=1

Высокоэффективное xMAP-мультиплексирование для обнаружения и идентификации геморрагических лихорадок, включая Эбола

В.А. Терновой, А.О. Семенцова, Е.В. Чуб, О.В. Пьянков, В.Б. Локтев, А.П. Агафонов

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 различают 14 геморрагических лихорадок; из них 12 свойственны человеку и 2 — животным [4, 5, 10]. 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, 5, 7, 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 (БВБЭ), унесшая более 11 000 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 заболевания и 7 смертельных исходов. В дальнейшем подобное наблюдалось в Судане, Кении и ЮАР. С 1998 по 2000 гг. в Конго зарегистрировано 154 заболевших 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].

Специфические методы лабораторных исследований позволяют выявить вирус или антитела к нему [1]. Серологический диагноз путем выявления IgM антител в крови больных возможен только на пятый день [2, 6, 7]. 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 [9]. 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 полистирольных 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* [8, 14]. Микрочиповые технологии нашли широкое применение во многих лабора-

ториях 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 жидких олигонуклеотидных суспензионных биочипов.

■ Материалы и методы

Клетки Vero 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 клетку. Культуральную среду после проявления ЦПД использовали для выделения РНК вируса.

Нуклеиновые кислоты вирусов выделяли из образцов при помощи набора для выделения РНК/ДНК (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 анти-смысловым 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 Luminex (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 вирус-специфический зонд иммобилизовали на определенном типе микросфер (BioRad, США), отличающихся между собой профилем флуоресценции. Для этого карбоксилированные микросферы 1×10^6 в объеме 25 мкл 50 мМ MES (Aldrich, США) буфера (pH 4,5) активировали с использованием 10 мМ EDC (Aldrich, США) в присутствии 0,1 нМ ДНК-зонда. Реакцию проводили в течение 30 мин при комнатной температуре. Микросферы отделяли от несвязавшихся компонентов центрифугированием, отмывали последовательно растворами 0,02% Tween-20 и 0,1% SDS (Aldrich, США). Для блокирования не связавшихся с зондом активных групп и дальнейшего хранения микросферы ресуспендировали в 10 мМ Tris-EDTA буфере (pH 8,0). 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°C,

гибридизацию проводили в присутствии 4,5 М ТМАС (Aldrich, США) в 50 мМ Трис-ЭДТА буфере (рН 8,0) при постоянной температуре 55°C в течение 15 мин. После внесения конъюгата стрептавидина с R-фикоэритрином (Invitrogen, США) и дополнительной инкубации в течение 5 мин. 55°C 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

Из известных к настоящему моменту последовательностей геномных РНК вирусов Эбола, Марбург, Ласса, Хунин и Мачупо из базы данных GenBank были выбраны уникальные специфические диагностические праймеры и гибридационные зонды, 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 и 5 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 был ковалентно иммобилизован на полимерные флуоресцентные микросферы, отличающиеся между собой профилем флуоресценции. Микросферы, несущие различные ДНК-зонды, смешивали и гибридовали с ПЦР-продуктами от образцов различных вирусов. Реакцию гибридации 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 гибридации 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 позволяет получать и анализировать статистически достоверные данные.

На рисунке представлена гистограмма интенсивности флуоресценции специфичных ДНК-зондов на поверхности микросфер после гибридации 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 гибридации 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 гибридацией использовали процедуру амплификации вирусспецифической кДНК. Это позволило повысить чувствительность системы до 10^2 геном-эквивалентов анализируемых вирусных патогенов в образце. Отрицательные контрольные образцы не гибридовались ни с одним из зондов. Неспецифического или перекрестного взаимодействия выбранных праймеров и зондов с другими вирусами и гетерологичной ДНК и РНК не зарегистрировано.

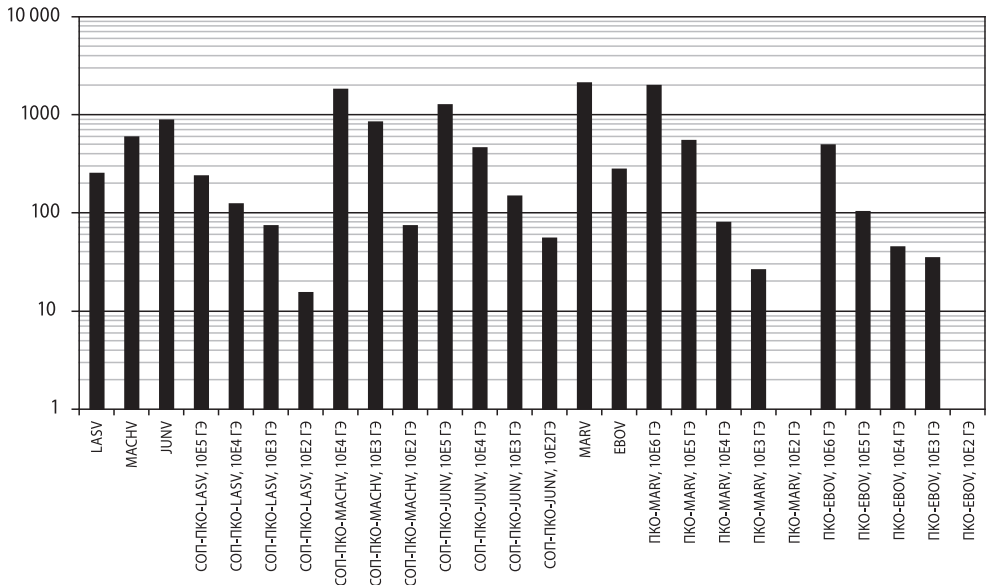


Рисунок. Гистограмма интенсивностей флуоресценции в результате гибридизации специфичных ДНК-зондов на поверхности микросфер с меченым продуктом амплификации

EBOV — Эбола; MARV — Марбург; LASV — Ласса; MACHV — Мачупо; JUNV — Хунин; ПКО — положительный контрольный образец. По оси абсцисс указана медиана интенсивности флуоресценции (MFI) по выборке из 100 проанализированных микросфер с вирусспецифическими зондами. На оси ординат указаны 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).

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 использована 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 ГЭ 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 (филовирюсов 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.

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 рекомбинатных фрагментов этого белка. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 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. *Вопросы вирусологии*. 1997; 42 (3): 115–120.
3. Ambrosio A., Saavedra M., Mariani M., Gamboa G., Maiza A. Argentine hemorrhagic fever vaccines. *Hum. Vaccin*. 2011; 7: 694–700.
4. Amorosa V., MacNeil A., McConnell R., Patel A., Dillon K.E., Hamilton K., Erickson B.R., Campbell S., Knust B., Cannon D., Miller D., Manning C., Rollin P.E., Nichol S.T. Imported Lassa fever, Pennsylvania, USA, 2010. *Emerg. Infect. Dis*. 2010; 16: 1598–1600.
5. Charrel R.N., de Lamballerie X. Zoonotic aspects of arenavirus infections. *Vet. Microbiol*. 2010; 140: 213–220.
6. Чепурнов А.А., Терновое В.А., Тузова М.Н., Чернухин И.В. Подавляющее действие вируса Эбола на пролиферацию in vitro обеспечивается 125-kDa GP вирусным белком. *Immunology Lett*. 1999; 68: 257–261.
7. 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: 2396–2401.
8. Irizarry R.A., Bolstad B.M., Collin F., Cope L.M., Hobbs B., Speed T.P. Summaries of Affymetrix GeneChip probe level data. *Nucl. Acids Res*. 2003; 31 (4): e15.
9. Keller K.L., Iannone M.A. Multiplexed microspherebased flow cytometric assays. *Exp. Hematol*. 2002; 30: 1227–1237.
10. Moraz M.L., Kunz S. Pathogenesis of arenavirus hemorrhagic fevers. *Expert Rev. Anti Infect. Ther*. 2011; 9 (1): 49–59.
11. Sanchez A., Geisbert T.W., Feldmann H. Filoviridae: Marburg and Ebola viruses. In: Knipe D.M., Howley P.M., eds. *Fields virology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006: 1409–1448.
12. Volchov 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: 421–430.
13. Volchov V.E., Чепурнов А.А., Волчкова В.А., Терновое В.А., Кленк H.-D. Molecular characterization of guinea pig-adapted variants of Ebola virus. *Virology*. 2000; 277: 147–155.
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: 909–917.
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): 1585–1588.

Разработка диагностической системы в формате ОТ-ПЦР в реальном времени для выявления РНК вируса Эбола Заир

В.Г. Дедков, М.В. Сафонова, А.А. Девяткин, А.С. Долгова, О.В. Пьянков, А.А. Сергеев, А.П. Агафонов, В.В. Малеев, Г.А. Шипулин

■ Введение

В настоящее время к роду *Ebolavirus*, входящему в семейство *Filoviridae*, относят пять видов вирусов: Заир (EBOV), Судан (SUDV), Рестон (RESTV), Бундибуджио (BDBV) и вирус леса Таи (TAFV) [7]. Три из них — EBOV, SUDV и BDBV являются возбудителями острых лихорадок людей — лихорадок Эбола, летальность которых при отсутствии должного лечения варьирует по разным оценкам от 65–75% для EBOV до 55–58% для SUDV и BDBV [1, 2, 5, 8, 9, 11]. Впервые человечество столкнулось с лихорадкой Эбола в 1976 г. когда сначала в Судане, а затем и в Республике Заир (ныне Демократическая Республика Конго [ДРК]) разразились вспышки, вызванные вирусами SUDV и EBOV. Наибольшее количество пострадавших было зарегистрировано в Республике Заир. Оно составило 318 случаев [8]. В последующие годы спорадические вспышки лихорадки Эбола происходили на территории Центральной Африки, однако вспышка 1976 г. до недавнего времени считалась крупнейшей.

В феврале 2014 г. на территории Республики Гвинея возникла вспышка лихорадки Эбола, вызванная вирусом Заир (EBOV), которая распространилась на пять стран, включая Гвинею, Либерию, Нигерию, Сенегал и Сьерра-Леоне [3]. Особенностью данной вспышки, переросшей в эпидемию, стало то обстоятельство, что территорией распространения инфекции стала западная Африка, где ранее циркуляция вирусов рода Эбола не наблюдалась. По этой причине и в силу плохого оснащения лабораторной службы выявление возбудителя произошло с большой задержкой, что привело к запаздыванию соответствующих противоэпидемических мероприятий и распространению инфекции из сельской местности на городские территории с общим количеством населения около 25 млн человек. Поэтому, не смотря на то, что лихорадка Эбола считается природно-очаговым зоонозом, в настоящее время сложились условия, при которых данное заболевание распространяется в человеческой популяции без участия природного резервуара.

Несмотря на усилия мирового сообщества, число случаев заболевания лихорадкой Эбола в западной Африке продолжает расти. По данным на 07.01.2015 общее число заболевших составило 20 747 случаев, из них 8235 случаев закончились смертельным исходом [18]. Параллельно, в ДРК возникла эндемическая вспышка лихорадки Эбола, также вызванная вирусом Заир (EBOV), который, однако, генетически отличен от изолятов, циркулирующих в Западной Африке [10].

Тяжелая эпидемическая ситуация на Африканском континенте повышает вероятность завоза данного инфекционного агента на территорию Российской Федерации, что требует от компетентных служб выработки стратегии по недопущению распространения вируса Эбола Заир на территорию нашей страны. Одним из компонентов успешной реализации данной стратегии, безусловно, является наличие современных высокочувствительных и специфичных диагностических систем, позволяющим в сжатые сроки достоверно подтвердить наличие либо отсутствие вируса Эбола Заир в образцах от пациентов с подозрением на лихорадку Эбола. На сегодняшний день наиболее чувствительными, специфичными и требующими наименьших временных затрат при проведении анализа являются диагностические системы, принцип действия которых основан на методе ПЦР в реальном времени.

Цель работы — разработка диагностической системы в формате ОТ-ПЦР с гибридно-флуоресцентной детекцией сигнала для выявления РНК вируса Эбола Заир в биологических образцах и определение ее аналитических характеристик.

■ Материалы, методы и результаты

■ Дизайн олигонуклеотидных праймеров и зонда

В качестве мишени для олигонуклеотидных праймеров и зонда выбрали консервативный фрагмент первичной нуклеотидной последовательности гена полимеразы (L-ген) длиной 372 н.т. (позиции 13 997–14 368 н.т. референсного сиквенса EBOV, номер доступа в GenBank NCBI — HQ613402), выявленный путем выравнивания всех представленных в GenBank NCBI первичных нуклеотидных последовательностей вируса Эбола Заир (рис. 1). Выравнивание провели с помощью пакета программ Vector NTI Advanced v.11 (Invitrogen, США). Выбор столь длинного фрагмента в качестве мишени обусловлен желанием иметь возможность подтверждения положительных результатов секвенированием полученного ПЦР-продукта ввиду отсутствия в момент разработки информации о первичных нуклеотидных последовательностях изолятов вируса Эбола Заир, полученных в ходе эпидемии 2014 г. Ретроспективный анализ показал 100% идентичность структур праймеров и зонда первичным нуклеотидным последовательностям изолятов из Западной Африки (текущая эпидемия) [6], а также изолятов из ДРК, полученных в 2014 г. [10].

Дизайн праймеров и зонда проводили с учетом общих требований предъявляемых к олигонуклеотидным праймерам и зондам типа TaqMan при проектировании тест-систем в формате ПЦР в реальном времени [13, 16, 17]. Структуры праймеров и зонда представлены в табл. 1. Оценку температуры плавления праймеров рассчитывали при помощи

(14172) 14172 14180 14190 14200 14210 14220	0 14520 14530 14546
KF782742 (13996) TATTTGAATGGGGTCCAATTGCCTCAGTCCSTTAAACCGGCTACAAGAATGGCA	ATGTTTCTACCGGAATCTAGGAGATCCAGTTACC
KC232800 (13996) TATTTGAATGGGGTCCAATTGCCTCAGTCCSTTAAACCGGCTACAAGAATGGCA	ATGTTTCTACCGGAATCTAGGAGATCCAGTTACC
KC242791 (13996) TATTTGAATGGGGTCCAATTGCCTCAGTCCSTTAAACCGGCTACAAGAATGGCA	ATGTTTCTACCGGAATCTAGGAGATCCAGTTACC
KC242801 (13996) TATTTGAATGGGGTCCAATTGCCTCAGTCCSTTAAACCGGCTACAAGAATGGCA	ATGTTTCTACCGGAATCTAGGAGATCCAGTTACC
KC224440 (13996) TATTTGAATGGGGTCCAATTGCCTCAGTCCSTTAAACCGGCTACAAGAATGGCA	ATGTTTCTACCGGAATCTAGGAGATCCAGTTACC
KC242799 (13996) TATTTGAATGGGGTCCAATTGCCTCAGTCCSTTAAACCGGCTACAAGAATGGCA	ATGTTTCTACCGGAATCTAGGAGATCCAGTTACC
KC242788 (13996) TATTTGAATGGGGTCCAATTGCCTCAGTCCSTTAAACCGGCTACAAGAATGGCA	ATGTTTCTACCGGAATCTAGGAGATCCAGTTACC
KC242787 (13996) TATTTGAATGGGGTCCAATTGCCTCAGTCCSTTAAACCGGCTACAAGAATGGCA	ATGTTTCTACCGGAATCTAGGAGATCCAGTTACC
KC242792 (13996) TATTTGAATGGGGTCCAATTGCCTCAGTCCSTTAAACCGGCTACAAGAATGGCA	ATGTTTCTACCGGAATCTAGGAGATCCAGTTACC
KC242795 (13996) TATTTGAATGGGGTCCAATTGCCTCAGTCCSTTAAACCGGCTACAAGAATGGCA	ATGTTTCTACCGGAATCTAGGAGATCCAGTTACC
KC242794 (13996) TATTTGAATGGGGTCCAATTGCCTCAGTCCSTTAAACCGGCTACAAGAATGGCA	ATGTTTCTACCGGAATCTAGGAGATCCAGTTACC
KC242798 (13996) TATTTGAATGGGGTCCAATTGCCTCAGTCCSTTAAACCGGCTACAAGAATGGCA	ATGTTTCTACCGGAATCTAGGAGATCCAGTTACC
KC242763 (13996) TATTTGAATGGGGTCCAATTGCCTCAGTCCSTTAAACCGGCTACAAGAATGGCA	ATGTTTCTACCGGAATCTAGGAGATCCAGTTACC
KC242793 (13996) TATTTGAATGGGGTCCAATTGCCTCAGTCCSTTAAACCGGCTACAAGAATGGCA	ATGTTTCTACCGGAATCTAGGAGATCCAGTTACC
KC242784 (13996) TATTTGAATGGGGTCCAATTGCCTCAGTCCSTTAAACCGGCTACAAGAATGGCA	ATGTTTCTACCGGAATCTAGGAGATCCAGTTACC
KC242785 (13996) TATTTGAATGGGGTCCAATTGCCTCAGTCCSTTAAACCGGCTACAAGAATGGCA	ATGTTTCTACCGGAATCTAGGAGATCCAGTTACC
KC242790 (13996) TATTTGAATGGGGTCCAATTGCCTCAGTCCSTTAAACCGGCTACAAGAATGGCA	ATGTTTCTACCGGAATCTAGGAGATCCAGTTACC
KC242786 (13996) TATTTGAATGGGGTCCAATTGCCTCAGTCCSTTAAACCGGCTACAAGAATGGCA	ATGTTTCTACCGGAATCTAGGAGATCCAGTTACC
KC242789 (13996) TATTTGAATGGGGTCCAATTGCCTCAGTCCSTTAAACCGGCTACAAGAATGGCA	ATGTTTCTACCGGAATCTAGGAGATCCAGTTACC
KC242796 (13996) TATTTGAATGGGGTCCAATTGCCTCAGTCCSTTAAACCGGCTACAAGAATGGCA	ATGTTTCTACCGGAATCTAGGAGATCCAGTTACC
HQ613403 (13948) TATTTGAATGGGGTCCAATTGCCTCAGTCCSTTAAACCGGCTACAAGAATGGCA	ATGTTTCTACCGGAATCTAGGAGATCCAGTTACC
HQ613402 (13915) TATTTGAATGGGGTCCAATTGCCTCAGTCCSTTAAACCGGCTACAAGAATGGCA	ATGTTTCTACCGGAATCTAGGAGATCCAGTTACC
AY142960 (13996) TATTTGAATGGGGTCCAATTGCCTCAGTCCSTTAAACCGGCTACAAGAATGGCA	ATGTTTCTACCGGAATCTAGGAGATCCAGTTACC
AF499101 (13997) TATTTGAATGGGGTCCAATTGCCTCAGTCCSTTAAACCGGCTACAAGAATGGCA	ATGTTTCTACCGGAATCTAGGAGATCCAGTTACC
EBOV_prb (1) -----TCAGTCCSTTAAACCGGCTACAAGAATGG--	-----CGGAATCTAGGAGATCCAGTTA--
rt_EBOV-f (1) -ATTTGAATGGGGTCCAATTGCC-----	
rt_EBOV-r (1) -----	

Рисунок 1. Фрагмент выравнивания первичных нуклеотидных последовательностей изолятов вируса EBOV в целевой области (372 н.т.). Построение выравнивания проведено с помощью пакета программ Vector NTI v.11 (Invitrogen, США)

программы Oligonucleotide Properties Calculator [16]. Термодинамические характеристики зонда и возможность образования вторичных структур оценивали с помощью программ Oligonucleotide Properties Calculator и MFOLD [15]. Для снижения уровня фонового сигнала на 3'-конец зонда добавили искусственную последовательность из трех нуклеотидных остатков, что позволило сместить термодинамическое равновесие в сторону образования «шпильчатой» вторичной структуры (рис. 2). При синтезе зонда в качестве флуорофора использовали R6G (родамин 6 Ж), а в качестве тушителя — BHQ-1 (black hole quencher-1).

■ Создание положительного контрольного образца

Ввиду отсутствия генетического материала вируса Эбола Заир, создание положительных контрольных образцов осуществляли синтетическим методом на основе ампликона, включающего в себя таргетную область и фланкирующие последовательности нуклеотидов. Ампликон получали методом «степ-аут» ПЦР. Для этого синтезировали 8 пар олигонуклеотидов прямой и обратной ориентации со средней длиной 65 н.т. и перекрытием 25 н.т. Дизайн олигонуклеотидов осуществляли на основании референсного сиквенса EBOV (код доступа в GenBank NCBI — HQ613402).

Для получения промежуточных продуктов амплификации готовили 25 мкл реакционной смеси, содержащей 0,5 мкл соответствующего ПЦР-продукта, по 50 пмоль прямого и обратного олигонуклеотидов, 2,5 мкл дНТФ (1,76 мМ, АмплиСенс, Россия), 10 мкл ПЦР-смеси Blue2 (АмплиСенс, Россия). Термоциклирование проводили в следующем режиме: 94°C — 45 с, 94°C — 20 с, 50°C — 30 с, $n = 5$; 72°C — 10 мин. Реакцию проводили с использованием термоциклера Махуген II (Ахуген, США). Результат амплификации контролировали электрофоретическим методом в 1,5% агарозном геле с добавлением бромистого этидия. Конечный ПЦР-продукт очищали с помощью набора MiniElute gel extraction kit (Qiagen, Германия), лигировали в плазмидный вектор pGEM-T (Promega, США) под контролем промотора T7 РНК-полимеразы и трансформировали им *Escherichia coli* (штамм XL1 blue) [13]. Рекombинантные плазмиды из индивидуальных клонов очищали с помощью набора Plasmid Mini prep kit (Ахуген) и проверяли их на наличие правильной ориентации и отсутствие мутаций в области посадки праймеров и зонда. Проверку осуществляли методом Сэнгера с помощью прибора для автоматического капиллярного секвенирования ABI-Prism 3500 XL (Applied Biosystems, США). Плазмиды с прямыми вставками использовали для получения рекомбинантной РНК на основе MS2 фага в защитной белковой оболочке [4]. Полученный продукт обрабатывали ДНКазой-I (Fermentas, Латвия) для удаления остатков ДНК, измеряли концентрацию, разбавляли в стабилизирующем растворе RNA-later (Life Technologies, США) и использовали далее в качестве положительного защищенного РНК-контроля (ПКО). Отсутствие в препарате ПКО остаточной ДНК после обработки контролировали с помощью специфических праймеров и зонда в ходе проведения реакции ПЦР в реальном времени (без стадии обратной транскрипции).

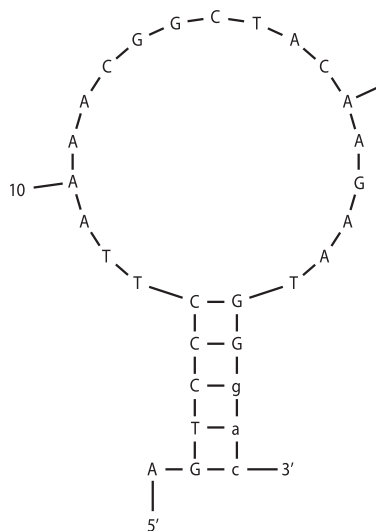


Рисунок 2. Вторичная структура специфического зонда EBOV_prb (по данным mfold)

Три олигонуклеотидных остатка на 3'-конец введены искусственно для придания устойчивости вторичной структуре зонда

Таблица 1. Дизайн олигонуклеотидных праймеров и зонда

Праймер/зонд	Последовательность (5'-3')	Тип зонда	Размер ампликона
rt_EBOV-f	ATT TGA ATG GGG TCC AAT TGC C	TaqMan	372 п.о.
rt_EBOV-r	TAA CTG GAT CTC CTA GAT TCC G		
EBOV_prb	R6G-A GTC CCT TAA AAC GGC TAC AAG AAT GGg ac-BHQ1		

Измерение концентрации рекомбинантного контроля осуществляли на приборе QX100 system (Bio-Rad) с помощью набора One-step ddPCR Super mix For Probes kit (Bio-Rad) и специфических праймеров и зонда (табл. 1).

■ Состав реакционной смеси и режим амплификации

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-r (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 для ПЦР в реальном времени RotorGene 6000 (Qiagen, Германия) в следующем режиме: 50°C — 15 мин; 95°C — 15 мин; 95°C — 10 с, 55°C — 20 с, 72°C — 15 с, n = 45. Детекцию проводили при 55°C на канале Yellow.

■ Аналитическая чувствительность и специфичность

Специфичность диагностической системы оценивали с помощью кДНК из высоко-титражных культур 23 видов вирусов, принадлежащих к 10 различным семействам (см. табл. 2), а также 30 образцов клинического материала (плазма) от клинически здоровых людей. В результате исследования ложноположительных результатов не зафиксировано.

Для оценки аналитической чувствительности готовили с десятикратным шагом разведения положительного контрольного образца (ПКО) известной концентрации на плазме, выделяли с помощью набора для экстракции нуклеиновых кислот РИБО-преп (АмплиСенс, Россия) согласно рекомендациям производителя и исследовали с помощью диагностической системы для выявления минимального порогового разведения, при котором образец детектируется как положительный. По данным исследования аналитическая чувствительность системы составила 2×10^3 ГЭ (копий ПКО) в мл.

Также аналитическую чувствительность оценивали с помощью стандартного диагностического образца вируса Эбола Заир, предоставленного институтом Роберта Коха (Берлин, Германия). Препарат представляет собой инаktivированные и лиофилизированные вирусные частицы известной концентрации и рекомендован Всемирной организацией здравоохранения как тест-объект для оценки работоспособности систем, используемых для диагностики вируса Эбола Заир. Согласно прилагаемому паспорту, разведенный в 100 мкл стандартный диагностический образец содержал инаktivированные вирусные частицы в концентрации 2×10^7 ГЭ/мл. Из полученного раствора методом последовательных разведений готовили образцы стандартного препарата в концентрациях 5×10^3 , 10^3 , 10^2 ГЭ/мл. Для приготовления разведений использовали буфер ТЕ (АмплиСенс, Россия). Из полученных разведений выделяли вирусную РНК с помощью набора для выделения Viral RNA kit (Qiagen, Германия) согласно рекомендациям производителя, и исследовали с помощью разработанной системы для выявления минимального разведения, при котором стандартный образец детектируется как положительный. По данным исследования аналитическая чувствительность системы, оцененная данным способом, составила 10^3 ГЭ в мл.

Нормализованные кривые флуоресцентного сигнала, полученные при оценке аналитической чувствительности диагностической системы, представлены на рис. 3 (А, Б).

Таблица 2. Перечень вирусов, использованных для оценки специфичности

Вид	Акроним	Семейство	Род	Тип нуклеиновой кислоты
Вирус Тягиня	TAHV	Bunyaviridae	Orthobunyavirus	кДНК
Вирус Батаи	BATV	Bunyaviridae	Orthobunyavirus	кДНК
Вирус Инко	INKV	Bunyaviridae	Orthobunyavirus	кДНК
Вирус Крымской-Конго геморрагической лихорадки	CCHFV	Bunyaviridae	Nairovirus	кДНК
Вирус Дхори	DHOV	Orthomyxoviridae	Thogotovirus	кДНК
Вирус гриппа А/Н1N3	FLUAV(Н1N3)	Orthomyxoviridae	Influenzavirus А	кДНК
Вирус гриппа А/Н3N2	FLUAV(Н3N2)	Orthomyxoviridae	Influenzavirus А	кДНК
Вирус гриппа В	FLUBV	Orthomyxoviridae	Influenzavirus В	кДНК
Вирус желтой лихорадки	YFV	Flaviviridae	Flavivirus	кДНК
Вирус лихорадки Западного Нила	WNV	Flaviviridae	Flavivirus	кДНК
Вирус клещевого энцефалита	TBEV	Flaviviridae	Flavivirus	кДНК
Вирус Синдбис	SNDBV	Togaviridae	Alphavirus	кДНК
Вирус Чикунгунья	CHIKV	Togaviridae	Alphavirus	кДНК
Вирус краснухи	RUBV	Togaviridae	Rubivirus	кДНК
Вирус Кемерово, штамм 21/10	KEMV-21/10	Reoviridae	Orbivirus	кДНК
Вирус Трибеч, штамм Tr19	TRBV-Tr19	Reoviridae	Orbivirus	кДНК
Ротавирус А	RVA	Reoviridae	Rotavirus	кДНК
ЕСНО-вирус, тип 11	ECHO11	Picornaviridae	Enterovirus	кДНК
Вирус иммунодефицита человека, тип 1	HIV-1	Retroviridae	Lentivirus	кДНК
Вирус бешенства	RABV	Rhabdoviridae	Lyssavirus	кДНК
Цитомегаловирус, тип 5	HCMV-5	Herpesviridae	Cytomegalovirus	ДНК
Парвовирус В19	B19	Parvoviridae	Erythroparvovirus	ДНК
Респираторный коронавирус Среднего Востока	MERS	Coronaviridae	Betacoronavirus	ДНК

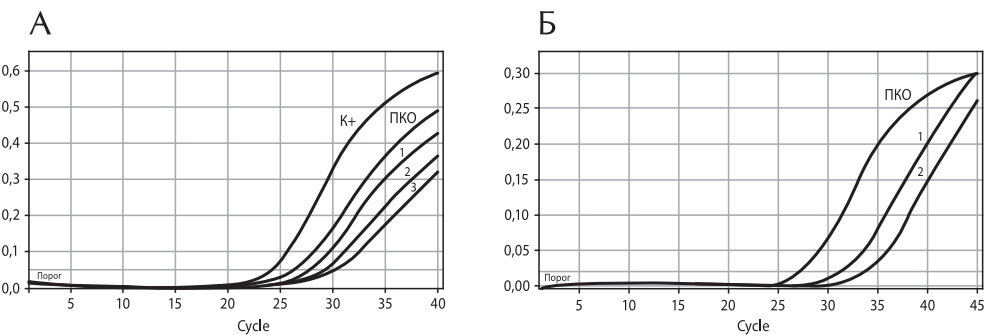


Рисунок 3. Аналитическая чувствительность диагностической системы. Нормализованные кривые флуоресценции

А. Защищенный РНК-контроль (1 — 5×10^4 Гэ/мл, 2 — 10^4 Гэ/мл, 3 — 2×10^3 Гэ/мл). Б. Стандартный контрольный образец (1 — 5×10^3 Гэ/мл, 1 — 10^3 Гэ/мл).

■ Обсуждение

Была создана первая отечественная диагностическая система в формате ОТ-ПЦР в реальном времени для диагностики вируса Эбола Заир. Система содержит полный комплект реагентов для проведения анализа, включая реагенты для выделения РНК. Наличие защищенного положительного контрольного образца позволяет контролировать качество всех этапов проведения анализа, в том числе и этапа выделения нуклеиновых кислот.

Аналитическая чувствительность системы, оцененная двумя способами, совпадает в пределах погрешности измерения методом ПЦР в реальном времени и составляет $1\text{--}2 \times 10^3$ ГЭ в мл. Полученное пороговое значение чувствительности аналогично таковым для зарубежных аналогов и является стандартной для диагностических систем в формате ОТ-ПЦР в реальном времени.

К сожалению, большинство из ранее разработанных диагностических систем оказалось малопригодно для выявления изолятов из Западной Африки, поскольку те имеют замены в областях, выбранных разработчиками в качестве мишеней для амплификации [6]. Данное обстоятельство создало определенные трудности в организации адекватной лабораторной диагностики лихорадки Эбола, чем, возможно, и объясняется невысокий процент лабораторно подтвержденных случаев заболевания.

За счет удачного выбора таргетной области для амплификации разработанная система способна одинаково успешно выявлять изоляты, циркулирующие как в Западной, так и в Центральной Африке. Разработанная диагностическая система поможет не только сохранить санитарно-эпидемиологическое благополучие в отношении вируса Эбола Заир на территории Российской Федерации, но и будет способствовать ликвидации продолжающейся эpidемии лихорадки Эбола на Африканском континенте.

■ Выводы

Разработана диагностическая система в формате ОТ-ПЦР в реальном времени для выявления РНК вируса Эбола Заир.

Результаты испытаний показали, что разработанная система по своим аналитическим характеристикам не уступает ведущим зарубежным аналогам и является надежным инструментом диагностики лихорадки Эбола, вызванной вирусом Заир.

■ Список литературы

1. Платонов А.Е., Платонова О.В., Малеев В.В. Эбола, 2014 г. Эпидемиологические и социальные аспекты. *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы*. 2014; 5: 34–49.
2. Baron R.C., McCormick J.B., Zubeir O.A. Ebola virus disease in southern Sudan: hospital dissemination and intrafamilial spread. *Bull. World Health Organ*. 1983; 61 (6): 997–1003.
3. Centers for Disease Control and Prevention. 2014–2016 Ebola Outbreak in West Africa. URL: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/outbreaks/2014-west-africa/index.html/> (27.09.2017).
4. Cheng Y., Niu J., Zhang Y., Huang J., Li Q. Preparation of His-tagged armored RNA phage particles as a control of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus. *J. Clin. Microb.* 2006; 44 (10): 3557–3561.
5. Ebola hemorrhagic fever in Zaire, 1976. *Bull. World Health Organ*. 1978; 56 (2): 271–293.
6. Gire K.S., 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., 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.B., Chapman S.B., Bochicchio J., Murphy C., Nusbaum C., Young S., Birren B.W., Grant D.S., Scheffelin J.S., Lander E.S., Hapfi 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): 1369–1372. doi: 10.1126/science.1259657
7. King M.Q., Michael A.J., Carstens B.E., Lefkowitz J.E. Virus taxonomy: ninth report of the International committee on taxonomy of viruses. CA: Elsevier. 2012.
8. Kuhn H.J., Dodd E.L., Wahl-Jensen V., Radoshitzky R.S., Bavari S., Jahrling B.P. Evaluation of perceived threat differences posed by filovirus variants. *Biosec. Bioterr.* 2011; 9 (4): 361–371.

9. Lefebvre A., Fiet C., Belpois-Duchamp C., Tiv M., Astruc K., Glélé L.S.A. Case fatality rates of Ebola virus diseases: a meta-analysis of World Health Organization data. *Med. Mal. Infect.* 2014; 44 (9): 412–416. doi: 10.1016/j.medmal.2014.08.005
10. Maganga G.D., Kapetshi J., Berthet N., Kebela Ilunga B., Kabange F., Mbala Kengebeni 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): 2083–2091. doi: 10.1056/NEJMoa1411099
11. Okware S.I., Omaswa F.G., Zaramba S., Opio A., Lutwama J.J., Kamugisha J., Rwaguma E.B., Kagwa P., Lamunu M. An outbreak of Ebola in Uganda. *Trop. Med. Int. Health.* 2002; 7 (12): 1068–1075.
12. Oligo Calc: oligonucleotide properties calculator. URL: <http://www.basic.northwestern.edu/biotools/OligoCalc.html> (27.09.2017).
13. PCR primer design. Ed. Yuryev A. *Methods in molecular biology. Totowa, New Jersey: Humana Press. 2007: 432.*
14. Sambrook J., Fritsch E.E., Maniatis T. *Molecular cloning, a laboratory manual. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press. 1989: 676.*
15. The UNAFold Web Server. URL: <http://mfold.rna.albany.edu/> (27.09.2017).
16. Tyagi S., Kramer F.R. Molecular beacons: probes that fluoresce upon hybridization. *Nat. Biotechnol.* 1996; 14 (3): 303–308. doi: 10.1038/nbt0396-303
17. Van Pelt-Verkuil E., Van Belkum A., Hays J.P. *Principles and technical aspects of PCR amplification. New York: Springer. 2008: 330.*
18. World Health Organization. Ebola situation reports. URL: <http://www.who.int/csr/disease/ebola/situation-reports> (27.09.2017).

Совершенствование диагностической системы в формате ОТ-ПЦР в реальном времени «Амплисенс EBOV (Zaire)-FL» для детекции РНК вируса Эбола Заир

В.Г. Дедков, М.В. Сафонова, С.А. Боднев, А.С. Кабанов, В.А. Сафронов, А.А. Лопатин, В.Е. Куклев, Д.В. Уткин, В.В. Малеев, Г.А. Шипулин

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., 28 041 случай, 11 302 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 направила 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 (РУ № 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 13 997–14 368 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.

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 13 997–14 165 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 14 146–14 165 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, Германия). 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 набора 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 целевой области позволил модифицировать программу амплификации, исключив из нее стадию элонгации при 72°C.

Замена обратного праймера в системе «Амплисенс EBOV (Zaire)-FL» также позволила сократить размер целевого фрагмента более чем в 2 раза, что привело к увеличению порога чувствительности с 2×10^3 ГЭ (копий ПКО) в 1 мл до 2×10^2 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 $\Delta C_t = 4 \pm 2,2$ цикла, где $\Delta C_t = (C_{t \text{ стандарт}} - C_{t \text{ мод}})$. 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.

■ Список литературы

1. Дедков В.Г., Сафонова М.В., Деяткин 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. *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы*. 2015; 2: 26–32.
2. Ebola situation report. 26 August 2015. URL: <http://apps.who.int/ebola/current-situation/ebola-situation-report-26-august-2015> (16.10.2017).
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): 320–326.
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., 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., 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): 1369–1372.
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): 2083–2091.
 6. Oligonucleotide Properties Calculator. URL: <http://www.basic.northwestern.edu/biotools/OligoCalc.html> (16.10.2017).

Изучение сохранения вируса Эбола в биологических жидкостях пациента на поздних стадиях выздоровления

А.А. Лопатин, Е.В. Найденова, В.А. Сафронов, А.С. Раздорский, Д.В. Уткин, Ж.А. Касьян, А.А. Крицкий, В.А. Терновой, А.Е. Нестеров, А.А. Сергеев, А.А. Силла, В. Каному, М.Й. Буаро, Ю.В. Демина, В.Ю. Хорошилов, А.Ю. Попова, В.В. Кутырев

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 (БВБЭ). За это время (по состоянию на 09.08.2015) официально зарегистрировано 27 965 случаев, 11 298 из них закончились летальным исходом [1]. Беспрецедентный масштаб и длительность текущей эпидемии БВБЭ, которая получила статус чрезвычайной ситуации в области общественного здравоохранения, определяют необходимость всестороннего изучения риска, связанного с переболевшими лицами. В настоящее время в Западно-Африканском регионе насчитывается свыше 16 000 человек, перенесших БВБЭ, большая часть из которых испытывает остаточные клинические проявления.

Данные о персистенции возбудителя БВБЭ 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 выздоровевшими 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 БВБЭ 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 БВБЭ, 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 БВБЭ 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 БВБЭ 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 БВБЭ 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 «БВБЭ», проходившей лечение в госпитале Научного клини-

ко-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» (РУ 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» (РУ 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 Киндия (Гвинейская Республика), поступила в госпиталь НКДЦЭМ 10 апреля 2015 г. с симптомами, характерными для БВВЭ (лихорадка с подъемом температуры до 38,4°C, 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 Киндия 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.

Таблица. 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 Vero	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	–			

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 жидкостей (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.

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 БВБЭ 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 БВБЭ.

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.

■ Список литературы

1. Болезнь, вызванная вирусом Эбола. Информационный бюллетень ВОЗ № 103. URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs103/ru> (17.04.2015).
2. Попова А.Ю., Сафронов В.А., Магасуба 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., 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 противэпидемической бригады в Республике Гвинея в период эпидемии лихорадки Эбола в 2014 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 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, 2014: 61.
4. Bausch D.G., Townner 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): S142–147.
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): 238–239.
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–S35.
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): 669–675. doi: 10.1093/cid/civ397

Другие природно-очаговые инфекции

Итоги и перспективы изучения некоторых природно-очаговых инфекционных болезней в Гвинейской Республике

Е.В. Найденова, К.С. Захаров, К.А. Никифоров, М.Ю. Карташов, Д.А. Агафонов, Ж.А. Касьян, Н.А. Плеханов, А.М. Поршаков, С.А. Яковлев, С.А. Пьянков, А.А. Крицкий, Е.Г. Оглодин, Д.В. Уткин, Р.Б. Баяндин, А.С. Кабанов, Ал.А. Сергеев, М.Г. Диалло, И. Нурдин, Ж.-П. Тупу, М. Диалло, И.В. Кутырев, А.С. Раздорский, В.А. Сафронов, А.А. Лопатин, С. Бумбали, С.А. Щербакова, М.И. Буаро, В.В. Кутырев

Российско-Гвинейское сотрудничество в области изучения распространения природно-очаговых инфекций на территории Гвинейской Республики началось в 70-х гг. прошлого столетия. В то время, на базе Советско-Гвинейской научно-исследовательской вирусологической и микробиологической лаборатории (ВИМЛ), были получены данные о циркуляции возбудителей бактериальных и вирусных инфекций на территории всех ландшафтно-географических зон Гвинеи (арбовирусов (Ласса, желтой лихорадки, Западного Нила, Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ), Чикунгунья, Бханджа и др.), хантавирусов, ряда риккетсий и других возбудителей болезней человека и животных) [2, 3, 4].

В соответствии с распоряжением Правительства Российской Федерации от 25.07.2015 № 1448 в рамках реализации российско-гвинейского научно-технического сотрудничества в области эпидемиологии, профилактики и мониторинга бактериальных и вирусных инфекций, актуальных для Гвинейской Республики, исследования были продолжены [6, 9].

Целью настоящей работы было получение современных данных о циркуляции возбудителей природно-очаговых инфекционных болезней во всех ландшафтно-географических зонах Гвинейской Республики.

■ Материалы и методы

Работу проводили на базе мобильного комплекса СПЭБ, вирусологической лаборатории Исследовательского института прикладной биологии Гвинеи (г. Киндия, Гвинейская Республика) и Российско-гвинейского научно-исследовательского центра эпидемиологии и профилактики инфекционных болезней (РГНИЦЭПИБ) в 2015–2017 гг. [9]

Образцы крови людей забирали в количестве 5 мл с использованием системы для забора крови по общепринятой методике из локтевой вены натошак [5]. Для исследования было отобрано 1375 образцов сывороток крови людей, проживающих во всех 4 ландшафтно-географических зонах Гвинеи. Материал исследовали методом ИФА с целью выявления иммуноглобулинов класса IgG к возбудителям. Для подтверждения полученных результатов и исключения возможности неспецифической реакции все сыворотки были дополнительно исследованы методом ИФА на наличие иммуноглобулинов класса IgM. Также методом ПЦР были исследованы сыворотки крови лихорадящих больных.

Сбор иксодовых клещей осуществляли на территории всех 4 ландшафтно-климатических зон Гвинейской Республики. Эктопаразитов снимали с крупного и мелкого рогатого скота, домашних и бродячих собак. Всего было собрано 4125 экземпляров клещей 8 видов: *Amblyomma variegatum* (Fabricius, 1794), *Haemaphysalis leachi* (Audouin, 1826), *Hyalomma truncatum* (Koch, 1844), *Rhipicephalus decoloratus* (Koch, 1844), *Rhipicephalus geigy* (Aeschliman & Morel, 1965), *Rhipicephalus annulatus* (Say, 1821), *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806), *Rhipicephalus senegalensis* (Koch, 1844). Сбор и определение клещей осу-

ществляли в соответствии с МУ 3.1.3012-11, регламентирующих данный вид работы [10]. Комплектацию пулов проводили с учетом вида, пола, фазы развития и упитанности отдельных особей.

Имаго кровососущих комаров отлавливали при помощи автоматической ловушки Mosquito trap MT 100, за период исследования было накоплено 3698 ч. За данный период было собранно 2059 экземпляров кровососущих комаров, относящихся к 17 видам: *Anopheles* (5), *Aedes* (7), *Culex* (4), *Mansonia* (1).

Исследованию подлежали мелкие млекопитающие, которые отлавливались в окрестностях г. Киндия с помощью трапиковых живоловок Шермана, давилок Геро и дуговых капканов № 1 и 2. Всего отработано 2039 ловушко-ночей. При этом отловлено 413 экземпляров, принадлежащих к 11 видам: травяные мыши *Arvicanthis* (1), хомяковидные крысы *Cricetomys* (1), полосатые мыши — *Lemniscomys* (1), жестковолосые мыши — *Lophuromys* (2), многососковые мыши — *Mastomys* (1), домовые мыши — *Mus* (1), ручьевые крысы — *Pelomys* (1), мягковолосые крысы — *Praomys* (1), крысы — *Rattus* (1), землеройковые — *Crocidurinae* (1).

Отлов рукокрылых проводился сетями и мобильными ловушками в пещерах и путем расстановки сетей между деревьями. Добыто 193 экземпляра рукокрылых 6 видов: большие складчатогубы *Mops* (1), щелеморды *Nycteris* (1), пальмовые крыланы *Eidolon* (1), домовые гладконосы *Scotophilus* (1), летучие собаки *Rousettus* (1), подковогубы *Hipposideros* (1).

Орнитологическими сетями длиной 10 и 12 метров добывались также птицы. Отловлен 51 экземпляр 11 видов, относящихся к семействам: вьюрковые ткачики *Estrildidae* (1), вдовушковые *Viduidae* (1), настоящие козодои *Caprimulgidae* (1), ласточковые *Hirundinidae* (4), голубиные *Columbidae* (2), зимородковые *Alcedinidae* (1) и сизоворонковые *Coraciidae* (1). В исследование брали суспензии головного мозга птиц.

Сведения о биологическом и клиническом материале, использованном в данной работе, представлены в табл. 1.

Подготовку проб осуществляли в соответствии с МУ 1.3.2569-09 [8] и инструкциями фирм-производителей. Полученный клинический материал был протестирован методами иммуноферментного анализа (ИФА) и полимеразной цепной реакции (ПЦР). При исследовании полевого материала вирусный антиген обнаруживали методом ИФА, ПЦР применяли для выявления ДНК/РНК возбудителей [5]. Перечень диагностических препаратов, используемых в работе, представлен в табл. 2.

■ Результаты и обсуждение

Гвинейская Республика расположена в Западной части Африки. Граничит на северо-западе с Гвинеей-Бисау, на севере — с Сенегалом, на севере и северо-востоке — с Мали, на востоке — с Кот-д'Ивуаром, на юге — с Либерией и Сьерра-Леоне. Западная часть страны омывается водами Атлантического океана. Длина береговой линии составляет около 320 км. Площадь государства — 245 860 км². Население страны, по данным на конец 2016 г., составляет около 13 млн человек [7]. Территория государства условно разделена на 4 ландшафтно-географические зоны (рис.).

Таблица 1. Виды исследуемого материала, использованного в данной работе

№ п/п	Вид исследуемого материала	Количество проб (экземпляров)
1	Сыворотки крови практически здоровых людей	1375 (1375)
2	Сыворотки крови от лихорадящих больных	37 (37)
3	Суспензии клещей	695 (4125)
4	Суспензии комаров	134 (2059)
5	Суспензии органов птиц	51(51)
6	Суспензии органов мелких млекопитающих и рукокрылых	606 (606)

Таблица 2. Перечень препаратов, которые были использованы в работе

Нозологическая форма/ этиологический агент	Вид исследуемого материала	Метод	Наименование тест-системы (производитель)
Вирусные инфекции			
Вирус ККГЛ	Сыворотки крови людей	ПЦР	АмплиСенс ССНФV-FI (ФБУН ЦНИИЭ)
		ИФА	БиоСкрин-ККГЛ комплект М (ЗАО «Биосервис»)
		ИФА	БиоСкрин-ККГЛ комплект G (ЗАО «Биосервис»)
	Суспензии клещей	ПЦР	АмплиСенс ССНФV-FI (ФБУН ЦНИИЭ)
		ИФА	БиоСкрин-ККГЛ комплект AG (ЗАО «Биосервис»)
Вирус Западного Нила	Сыворотки крови людей	ПЦР	АмплиСенс WNV-FI (ФБУН ЦНИИЭ)
		ИФА	БиоСкрин-ВЗН комплект М (ЗАО «Биосервис»)
		ИФА	БиоСкрин-ВЗН комплект G (ЗАО «Биосервис»)
	Суспензии комаров	ПЦР	АмплиСенс WNV-FI (ФБУН ЦНИИЭ)
		ИФА	БиоСкрин-ВЗН комплект AG (ЗАО «Биосервис»)
	Суспензии клещей	ИФА	БиоСкрин-ВЗН комплект AG (ЗАО «Биосервис»)
	Суспензии органов птиц	ПЦР	АмплиСенс WNV-FI (ФБУН ЦНИИЭ)
Вирусы Денге	Сыворотки крови людей	ПЦР	АмплиСенс Dengue-FI (ФБУН ЦНИИЭ)
		ИФА	БиоСкрин-Денге комплект М (ЗАО «Биосервис»)
		ИФА	БиоСкрин-Денге комплект G (ЗАО «Биосервис»)
	Суспензии комаров	ПЦР	АмплиСенс Dengue-FI (ФБУН ЦНИИЭ)
		ИФА	БиоСкрин-Денге комплект G (ЗАО «Биосервис»)
Вирус Чикунгунья	Сыворотки крови людей	ИФА	БиоСкрин-Чикунгунья комплект М (ЗАО «Биосервис»)
		ИФА	БиоСкрин-Чикунгунья комплект G (ЗАО «Биосервис»)
	Суспензии комаров	ИФА	БиоСкрин-Чикунгунья комплект AG (ЗАО «Биосервис»)
Вирус Синдбис	Сыворотки крови людей	ИФА	БиоСкрин-Синдбис комплект М (ЗАО «Биосервис»)
		ИФА	БиоСкрин-Синдбис комплект G (ЗАО «Биосервис»)
	Суспензии комаров	ИФА	БиоСкрин-Синдбис комплект AG (ЗАО «Биосервис»)
Вирус Батаи	Сыворотки крови людей	ИФА	БиоСкрин-Батаи комплект М (ЗАО «Биосервис»)
		ИФА	БиоСкрин-Батаи комплект G (ЗАО «Биосервис»)
	Суспензии комаров	ИФА	БиоСкрин-Батаи комплект AG (ЗАО «Биосервис»)
Вирус Бханджа	Сыворотки крови людей	ИФА	БиоСкрин-Бханджа комплект М (ЗАО «Биосервис»)
		ИФА	БиоСкрин-Бханджа комплект G (ЗАО «Биосервис»)
	Суспензии клещей	ИФА	БиоСкрин-Бханджа комплект AG (ЗАО «Биосервис»)
Хантавирусы	Сыворотки крови людей	ИФА	ВектоХанта-IgM (ЗАО «ВекторБест»)
		ИФА	ВектоХанта-IgG (ЗАО «ВекторБест»)

Нозологическая форма/ этиологический агент	Вид исследуемого материала	Метод	Наименование тест-системы (производитель)
Бактериальные инфекции			
Возбудители лептоспироза	Сыворотки крови людей	ПЦР	АмплиСенс Leptospira-FI (ФБУН ЦНИИЭ)
		ИФА	Лептоспироз-ИФА-IgG (ООО «Omnix»)
	Суспензии органов мелких млекопитающих	ПЦР	Амплисенс Leptospira-FI (ФБУН ЦНИИЭ)
Возбудители боррелиозов	Сыворотки крови людей	ПЦР	Амплисенс Borrelia-FI (ФБУН ЦНИИЭ)
		ИФА	Боррелиоз-ИФА-IgM (ООО «Omnix»)
		ИФА	Боррелиоз-ИФА-IgG (ООО «Omnix»)
	Суспензии клещей	ПЦР	Амплисенс Borrelia-FI (ФБУН ЦНИИЭ)
Возбудитель лихорадки Ку	Сыворотки крови людей	ПЦР	АмплиСенс Coxiella burnetii-FL (ФБУН ЦНИИЭ)
		ИФА	ИФА-анти-Ку (НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера)
	Суспензии клещей	ПЦР	АмплиСенс Coxiella burnetii-FL (ФБУН ЦНИИЭ)
		ИФА	ИФА-Ку-АНТИГЕН (НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера)
Возбудитель туляремии	Суспензии органов мелких млекопитающих	ПЦР	Ген Francisella tularensis — РФ (ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб»)
	Суспензии клещей	ПЦР	Ген Francisella tularensis — РФ (ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб»)

■ Вирус Крымской-Конго геморрагической лихорадки

Всего за время работы методом ИФА с целью выявления антител класса IgG к вирусу ККГЛ были выявлены в 28 (2,4%) сыворотках из 1375, что свидетельствует о возможной циркуляции возбудителя на территории Республики Гвинея. В материале от лихорадящих больных методом ПЦР РНК возбудителя не выявлена.

При исследовании 695 суспензий клещей методом ИФА и ПЦР было получено 7 (1,1% от общего количества исследуемых проб) и 26 (3,7%) положительных результатов соответственно. Положительные пробы были зарегистрированы во всех 4 ландшафтно-географических зонах, что свидетельствует о распространении возбудителя на всей территории Гвинеи.

В результате работы были получены сведения о видовом составе клещей, участвующих в циркуляции возбудителя. Вирусные маркеры (РНК и антиген) были обнаружены в пробах, представленных видами *Am. variegatum*, *Rh. geigy* и *Rh. sanguineus*. По данным Бутенко А.М., во время работы ВИМЛ в 80-х гг. прошлого столетия, штаммы вируса ККГЛ были выделены из клещей, относящихся к этим же видам [2, 3]. В остальных случаях результаты исследований были отрицательные. Данный факт позволяет предположить, что наиболее активную роль в качестве резервуара и переносчика возбудителя КГЛ на этой территории играют представители вышеуказанных систематических групп.

■ Вирус Западного Нила

При исследовании панели образцов сывороток крови людей, проживающих на всей территории Гвинеи, методом ИФА было выявлено 495 (36%) положительных проб. В материале от людей с признаками лихорадки положительных проб зафиксировано не было.

При исследовании суспензий комаров ни РНК, ни антиген вируса Западного Нила не выявлены. В органах птиц РНК возбудителя также не зарегистрирована. Методом ИФА вирусный антиген не обнаружен.

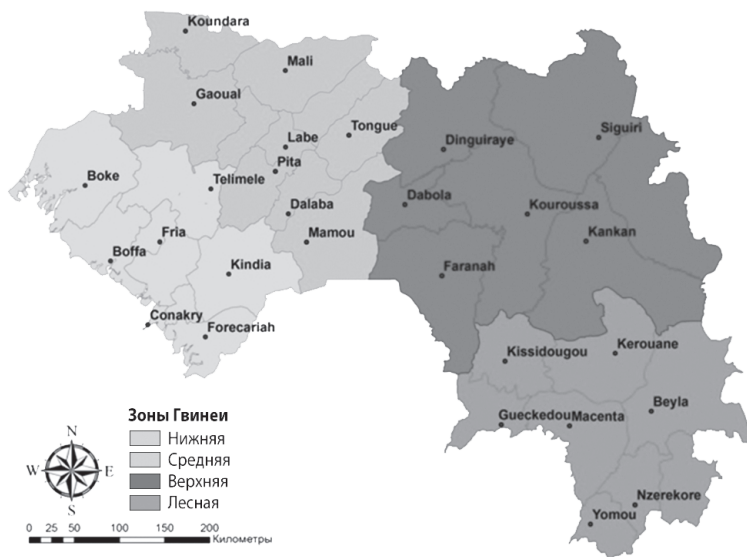


Рисунок. Ландшафтно-географические зоны Гвинеи

■ Вирусы Денге

Методом ИФА в сыворотках крови практически здоровых людей иммуноглобулины класса IgG обнаружены в 363 (26,4%) случаях. В материале от больных с лихорадкой неясной этиологии методом ПЦР РНК вирусов Денге выявлена не была.

Суспензии комаров также исследовали методами ИФА с целью выявления вирусного антигена и ПЦР — для обнаружения РНК вируса. Вирусный антиген содержали 5 проб из 134, что составило 3,7%. РНК вирусов Денге в исследуемом материале выявлена не была.

■ Вирус Чикунгунья

Материал был исследован только методом ИФА. В сыворотках крови людей были выявлены антитела к вирусу в 222 случаях, что составило 16,1%.

В суспензиях комаров вирусный антиген обнаружен не был.

■ Вирус Синдбис

Весь материал также был исследован только методом ИФА в виду отсутствия диагностических препаратов, позволяющих обнаружить РНК вируса.

В 21 случае (1,5%) из 1375 в сыворотках крови людей были выявлены антитела IgG к вирусу Синдбис. Из 134 проб комаров 2 содержали антиген вируса Синдбис, что составило 1,5% от всех исследуемых проб.

■ Вирус Батаи

В данном случае исследования также проводились только методом ИФА.

Иммуноглобулины класса IgG к вирусу Батаи в сыворотках крови людей были зарегистрированы в 71 (5,8%) образце.

Пробы комаров не содержали антиген вируса Батаи.

■ Вирус Бханджа

При исследовании образцов крови жителей Гвинеи методом ИФА были выявлены антитела к вирусу Бханджа в 33 случаях (2,4%).

В материале от клещей положительных проб методом ИФА также выявлено не было.

■ Хантавирусы

Для выявления циркуляции хантавирусов на территории Гвинейской Республики были исследованы только сыворотки крови практически здоровых людей. Кровь исследовали методом ИФА с целью выявления антител класса IgG к возбудителям. При исследовании 86 проб 7,2% из них оказались положительными.

■ Возбудители лептоспироза

Ранее на территории Гвинейской Республики возбудителей лептоспироза не выявляли. Это связано, скорее всего, с недостатком знаний в отношении данного возбудителя и отсутствием диагностических возможностей [1, 11].

При исследовании образцов сывороток крови людей антитела класса IgG к лептоспирам были выявлены в 75 (5,5% от общего количества) случаях, что свидетельствует о возможном контакте людей с возбудителем и не исключает риск заражения.

Определенный интерес представляет случай заболевания лептоспирозом на территории Гвинейской Республики, выявленный в марте 2017 г. Пациент Б., 36 лет, проживающий в г. Киндия (Гвинейская Республика), поступил в региональный госпиталь Киндии 18.03.2017. Для проведения дифференциальной диагностики проба была направлена в лабораторию РГНИЦЭПИБ (г. Киндия). После ряда проведения исследований в сыворотке крови пациента была обнаружена 16S РНК возбудителей лептоспироза.

Для выявления циркуляции лептоспирозов на территории Гвинейской Республики было проведено исследование суспензий органов от 606 мелких млекопитающих, отловленных в различных регионах Гвинеи. Положительный ответ был получен в 14% случаях.

■ Возбудители боррелиозов

При изучении иммунной прослойки населения к возбудителям боррелиозов положительные результаты были получены в 68 сыворотках крови, что составило 5,7%.

На территории некоторых стран Западной Африки были выявлены возбудители боррелиозов в пробах от клещей [12]. В суспензиях клещей, отловленных на территории Гвинейской Республики, методом ПЦР ДНК возбудителей боррелиозов была выявлена в 6% случаев.

■ Возбудитель лихорадки Ку

Изучение иммунной структуры населения Гвинейской Республики в отношении коксифеллезозов началось в 80-е гг. прошлого столетия. В это время на базе советско-гвинейской микробиологической и вирусологической лабораторий была проведена работа по определению иммунной структуры населения к возбудителям риккетсиозов и лихорадки Ку [4]. В настоящее время работы в данном направлении были продолжены, в результате чего антитела класса IgG к *Coxiella burnetii* выявлены в 61 (4,4% от общего количества) случаях, что совпадает с данными, полученными ранее, и подтверждает циркуляцию возбудителя на данной территории.

Так же методами ПЦР и ИФА были исследованы суспензии иксодовых клещей различных видов, которые являются основными переносчиками *Coxiella burnetii*. Методом ПЦР ДНК возбудителя была выявлена в 12,5% проб, а антиген возбудителя — в 12,9%.

■ Возбудитель туляремии

При анализе 695 проб клещей и 236 суспензий органов (печень и селезенка) мелких млекопитающих с целью выявления ДНК *Francisella tularensis* специфической амплификации выявлено не было, что может свидетельствовать об отсутствии циркуляции данного возбудителя и эпидемическом благополучии по туляремии на территории Гвинеи.

Таким образом, в результате проведенного комплекса исследований были получены современные данные о циркуляции возбудителей природно-очаговых инфекционных болезней на территории Гвинейской Республики. После 30-летнего перерыва были об-

новлены сведения о распространении некоторых арбовирусов, хантавирусов, возбудителя лихорадки Ку во всех ландшафтно-географических зонах Гвинейской Республики, показана возможность существования природных очагов лептоспироза и боррелиозов на данной территории.

Природно-климатические условия страны, разнообразие обитающих видов иксодовых клещей, а также большое количество сельскохозяйственных животных, находящихся в личной собственности населения, являются предпосылками для активной циркуляции возбудителей различных инфекционных болезней бактериальной и вирусной природы и возникновению вспышек заболеваний, в связи с чем актуальной задачей остается продолжение изучения вопроса о распространении данных инфекций и проведение эпизоотологического мониторинга с целью определения видов носителей и переносчиков в разных ландшафтно-географических зонах Гвинейской Республики. Полученные сведения позволят установить их природную очаговость и проводить своевременные профилактические (противоэпидемические) мероприятия.

Исследование выполнялось в рамках НИР 61-1-16 «Совершенствование эпидемиологического надзора за особо опасными и природно-очаговыми инфекционными болезнями бактериальной, риккетсиозной и вирусной этиологии в их сочетанных природных очагах в Гвинейской Республике» (2015–2017 гг.).

■ Список литературы

1. Ананьина Ю.В. Лептоспирозы людей и животных: тенденции распространения и проблемы профилактики. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2010; 2 (51): 13–16.
2. Бутенко А.М. Изучение циркуляции арбовирусов в Гвинейской Республике. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 1996; 2: 40–45.
3. Бутенко А.М., Трусова И.Н. Заболеваемость Крымской геморрагической лихорадкой в странах Европы, Африки и Азии (1943–2012 гг.). *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2013; 5: 46–49.
4. Каливоги С., Буаро М.Е., Константинов О.К., Плотникова Л.Ф. Иммуная структура населения и домашних животных Гвинейской Республики в отношении риккетсиозов группы клещевой пятнистой лихорадки и лихорадки Ку. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2013; 1: 28–30.
5. Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней: практическое руководство. Под ред. Г.Г. Онищенко и В.В. Кутырева. 2-е изд., перераб. и доп. М.: ЗАО «Шико», 2013: 560.
6. Найденова Е.В., Пьянков С.А., Крицкий А.А., Касьян Ж.А., Раздорский А.С., Лопатин А.А., Сафронов В.А., Чаусов Е.В., Sylla A.L., Boumbaly S., Ibrachim N., Diallo M.G., Sow I.S., Barry M., Щербакова С.А., Boiro M.I., Кутырев В.В. Выявление специфических антител к арбовирусам в сыворотках крови людей, проживающих в провинции Киндиа, Гвинейская Республика. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; 3: 62–65. doi: 10.21055/0370-1069-2016-3-62-65
7. Население Гвинеи. URL: <http://countrymeters.info/ru/guinea>
8. Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-II групп патогенности: методические указания. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009: 43.
9. Попова А.Ю., Сафронов В.А., Магасуба 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., 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 году. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2014; 4: 5–8.
10. Сбор, учет и подготовка к лабораторному исследованию кровососущих членистоногих в природных очагах опасных инфекционных болезней: методические указания. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011: 55.
11. Allan K.J., Halliday J.E.B., Cleaveland S. Renewing the momentum for leptospirosis research in Africa. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2015; 109: 605–606. doi: 10.1093/trstmh/trv072
12. Diatta G., Duplantier J.-M., Granjon L., Bâ K., Chauvancy G., Ndiayed M., Trapee J.-F. Borrelia infection in small mammals in West Africa and its relationship with tick occurrence inside burrows. *Acta Tropica*. 2015; 152: 131–140. doi: 10.1016/j.actatropica.2015.08.016
13. World Health Organization. Report of the Second Meeting of the Leptospirosis Burden Epidemiology Reference Group. Geneva: World Health Organization, 2011.

Опыт проведения эпизоотологического мониторинга территории Гвинейской Республики

С.А. Яковлев, А.М. Поршаков, К.С. Захаров, Н.В. Попов, А. Туре, Н. Кейта, Ю.В. Демина, В.В. Кутырев

Природная очаговость бактериальных, вирусных и риккетсиозных инфекционных болезней в Гвинейской Республике остается белым пятном, хотя к настоящему времени здесь уже установлена циркуляция возбудителей лихорадок Эбола, Ласса, Западного Нила, Крымской геморрагической лихорадки (КГЛ), геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС), желтой лихорадки, Бханджа, Буньямвера, Дугбе, Форекарях, Джое, Абадина, синего языка овец, Киндия, Чикунгунья, лихорадки долины Рифт (ЛДР), Фомеде, Коленте, Сабоя и Ank-6909, лептоспироза [1]. Серологическое исследование биоматериалов выявило антитела к 15 вирусам, в том числе Сабоя, Зинга, Фомиде, Ank-6909, Коленте, желтой лихорадки, Уганда-С, Западного Нила, Зика, Крымской-Конго геморрагической лихорадки, Ласса, Синдбис, Чикунгунья, Абадина [2, 4, 6, 7]. Также установлено широкое распространение риккетсий *Rickettsia africae* (Kelly et al., 1996) (возбудитель африканской клещевой пятнистой лихорадки), *Coxiella burnetii* (Derrick, 1939; Philip, 1948) (возбудитель лихорадки Ку) и *Cowdria ruminantium* (Moshkovski, 1947) (возбудитель коудриоза, инфекционного гидроперикардита домашнего скота) [1, 16, 17]. Причем среди различных систематических групп фоновых видов млекопитающих Гвинейской Республики, наибольшее эпизоотологическое значение, как носителей природно-очаговых инфекций, имеют многочисленные представители следующих отрядов: грызуны (*Rodentia*), рукокрылые (*Chiroptera*), приматы (*Primates*), парнокопытные (*Artiodactyla*) [8, 10, 11]. Основными переносчиками природно-очаговых инфекций на территории Гвинейской Республики являются иксодовые клещи (*Amblyomma*, *Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Hyalomma*, *Rhipicephalus* [*Boophilus*]) и комары (*Aedes*, *Anopheles*, *Culex*) [6]. В современных условиях для повышения контроля за природно-очаговыми инфекционными болезнями, на территории Гвинейской Республики, необходима разработка адекватной стратегии и тактики эпизоотологического обследования. Следует отметить особую актуальность проведения эпизоотологического мониторинга в природных очагах опасных инфекционных болезней с учетом имеющегося опыта тяжелых эпидемиологических последствий связанных с распространением болезни, вызванной вирусом Эбола в 2014–2015 гг. [14]. В связи с этим основной целью настоящего исследования явилось уточнение видового спектра носителей и переносчиков возбудителей, опасных природно-очаговых инфекционных заболеваний, имеющих эпидемиологическое значение в различных ландшафтно-географических районах Гвинейской Республики. В дальнейшем данное направление исследований можно использовать как основу для разработки комплекса профилактических мероприятий направленного, в конечном итоге, на обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения [12, 14].

■ Материалы и методы

В 2015–2016 гг. специалистами ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора и Исследовательский институт прикладной биологии Гвинеи (Institut de Recherche et de Biologie Appliquee de Guinee — IRBAG) проведен отлов кровососущих членистоногих и грызунов в центральной части префектуры Киндия. Имаго кровососущих комаров отлавливали при помощи электрической ловушки Mosquito trap MT 100, за период исследования было накоплено 3697,9 ч. За данный период было собранно и определено до вида 2059 экземпляров кровососущих комаров, относящихся к 17 видам. Номенклатура комаров дана по работе J.F. Reinert [17] 2004 г. и N. Becker 2010 г. [15]. Иксодовых клещей

собирали с сельскохозяйственных животных (КРС и МРС) и собак. Во время проведения исследований было осмотрено 1052 прокормителя, при этом собранно 4125 экземпляров иксодовых клещей, относящихся к 7 видам. Номенклатура иксодовых клещей дана по работе A.R. Walker, A. Bouattour (2003) [18]. Мелкие млекопитающие (ММ) отлавливались с помощью крысоловок системы «Геро» и дуговых капканов № 1 и 2. Было выставлено 2039 орудий лова. При этом отловлено 413 ММ, принадлежащих к 11 видам. Отлов рукокрылых проводился сетями и мобильными ловушками в пещерах и путем расстановки сетей между деревьев. Добыто 193 экземпляра рукокрылых шести видов. При проведении отловов в пещерах и гротах в целях защиты ловцов применялись защитные костюмы Tychem, полнолицевые маски, резиновые сапоги, резиновые перчатки, корнцанги. С целью обнаружения скоплений рукокрылых в пещерах использовались приборы: тепловизоры Pulsar XD38S белорусского производства и приборы ночного видения Диполь D2MV SL. Для отлова рукокрылых на дневках (пещеры) и в открытых стациях использовали паутинные сети. Отлов рукокрылых в жилых и заброшенных строениях проводился мобильными ловушками.

Все этапы эпизоотологического обследования осуществлялись в соответствии с требованиями действующих нормативных документов и оперативными планами. При определении тактики эпизоотологического обследования учитывался конкретный набор инфекций, на обнаружение которых в первую очередь направлено обследование. В соответствии с этим определяется спектр носителей и переносчиков, подлежащих отлову в конкретный период.

■ Результаты и обсуждения

Комары являются потенциальными переносчиками возбудителей инфекций различной этиологии. По литературным данным на территории Гвинейской Республики зарегистрировано 147 видов кровососущих комаров: *Anopheles* (36), *Aedes* (48), *Culex* (47), *Eretmapodites* (8), *Ficalbia* (3), *Malaya* (3), *Mansonia* (2). В 2015–2016 гг. в префектуре Киндия с помощью ловушки Mosquito Trap MT-100 было собрано 2059 имаго кровососущих комаров относящихся к 17 видам: *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762), *Ae. (Diceromyia) faspalpis* (Edwards, 1912), *Ae. (Aedimorphus) hirsutus* (Theobald, 1901), *Ae. (Neomelaniconion) macintoshi* (Huang, 1987), *Ae. (Aedimorphus) ochraceus* (Theobald, 1901), *Ae. (Fredwardsius) vittatus* (Bigot, 1861), *Ae. (Diceromyia) faspalpis* (Edwards, 1912), *Anopheles (Cellia) funestus* (Giles, 1900), *An. (Cellia) arabiensis* (Patton, 1905), *An. (Anopheles) coustani* (Lavaran, 1900), *An. (Cellia) gambiae* (Giles, 1902), *An. (Cellia) pretoriensis* (Theobald, 1903), *Culex* (Meigen, 1818), *Cx. pipiens quinquefasciatus* (Say, 1823), *Cx. (Culex) univittatus* (Theobald, 1901), *Cx. (Culex) antennatus* (Becker), *Mansonia (Mansonioides) uniformis* (Theobald, 1901). В сборах доминировали имаго *Cx. pipiens quinquefasciatus* индекс доминирования (ИД) 60%, далее следуют *Ae. aegypti* 13,5%, *An. arabiensis* 5,1%, *An. coustani* 9,3%, *An. longipalpis* 4,3%, *Ae. ochraceus* 1,2%. ИД остальных видов (*Mansonia uniformis*, *Cx. univittatus*, *An. protoriensis*, *An. gambiae*, *Ae. faspalpis*, *Ae. vittatus*, *Ae. macintoshi*, *Ae. hirsutus*, *An. funestus*, *Ae. dendrophilus*) в сумме составляет 4,2%.

На размножение, численность и распространение кровососущих комаров, оказывают влияние различные факторы: экологические, социально-бытовые, но ведущую роль играет фактор сезонных климатических изменений.

Количество кровососущих комаров в Республике Гвинея, несмотря на круглогодично положительную температуру, не является постоянной величиной. В начале влажного сезона их численность обычно возрастает. Затем количество начинает снижаться, что обуславливается выпадением избыточного количества осадков, которые промывают стоячие водоемы, в которых происходит основной выплод комаров, а также небольшие скопления воды в дуплах деревьев, небольших неровностях почвы и т. п. В конце влажного сезона, когда количество осадков становится незначительным, численность комаров

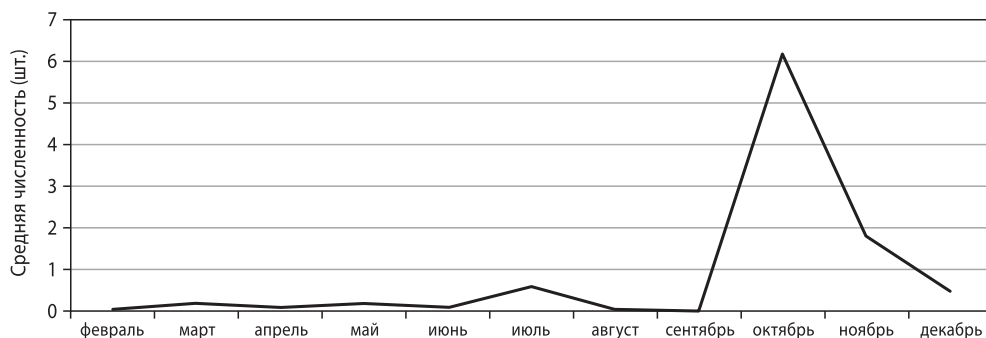


Рисунок 1. Численность кровососущих комаров в 2016 г. (префектура Киндия, г. Киндия)

начинает возрастать, достигая максимума в начале сухого сезона. В течение сухого сезона численность комаров продолжает снижаться, вследствие дефицита влаги и отсутствия стоячих водоемов, пригодных для развития личинок и выплода имаго. Следующий подъем численности приходится на начало сезона дождей.

Нами проведен анализ численности кровососущих комаров на территории института IRBAG в течение 2016 г. (рис. 1). Пик численности приходится на сентябрь–ноябрь, конец дождливого — начало сухого сезонов.

Рядом с непересыхающими водоемами, в городах и крупных поселениях, в связи с постоянным наличием мест выплода имаго комаров, динамика численности кровососущих комаров отличается от представленной на графике.

Иксодовые клещи имеют большее эпидемиологическое значение. По литературным данным иксодовые клещи Гвинейской Республики представлены 7 родами — *Amblyomma*, *Aponomma*, *Haemaphysalis*, *Rhipicephalus* (*Boophilus*), *Hyalomma*, *Rhipicephalus*, *Ixodes*, включающими 34 вида. В 2015–2016 гг. с крупного рогатого скота было собранно 4125 экземпляров иксодовых клещей.

Современная фауна клещей семейства *Ixodidae* в сборах была представлена родами *Haemaphysalis*, *Rhipicephalus* (*Boophilus*), *Amblyomma*, *Hyalomma*. Доминирующий вид клещей — *Amblyomma variegatum* (Fabricius, 1794) (индекс доминирования (ИД) 64,7), *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *geigy* (Aeschliman & Morel, 1965) (ИД 19,6), *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (ИД 6,0), *Haemaphysalis leachi* (Audouin, 1826) (ИД 5,1), *Rhipicephalus decoloratus* (Koch, 1844) (ИД 3,8), *Hyalomma truncatum* (Koch, 1844) (ИД 0,6), *Rhipicephalus senegalensis* (Koch, 1844) (ИД 0,07). Индекс обилия клещей составляет 2,4%. Индекс встречаемости 50,5. Сезонная динамика индексов встречаемости иксодовых клещей на территории Гвинейской Республики представлена в табл. 1.

С 68 осмотренных собак было снято 156 иксодовых клеща трех видов. Индексы доминирования распределились следующим образом: *Ha. leachi* (ИД 71,6), *Rh. sanguineus* (ИД 23,3), *Am. variegatum* (ИД 5,1). Индекс обилия клещей составляет 1,3%.

Таблица 1. Сезонная динамика индексов встречаемости иксодовых клещей на территории Гвинейской Республики в 2015–2016 гг.

Индекс обилия по видам	Сезоны года	
	дождливый сезон	засушливый сезон
<i>Am. variegatum</i>	55,5	98,1
<i>Hy. truncatum</i>	2,3	—
<i>Rh. geigy</i>	41,9	—
<i>Ha. leachi</i>	—	1,9
<i>Rh. decoloratus</i>	—	4,7
<i>Rh. sanguineus</i>	11,0	4,8
<i>Rh. senegalensis</i>	—	0,9
Общий индекс обилия	3,3	4,5
Общий индекс встречаемости	44,1	58,5

За период исследования в иксодовых клещах Гвинейской Республики было выявлено присутствие ДНК *R. africae*, *B. ivorensis*, *B. africana*, *C. burnetii*. Впервые для данного региона были обнаружены *Ehrlichia* spp. [9]. ДНК *C. burnetii* и *Rickettsia* spp. выявлена в пробах от всех видов исследованных клещей. ДНК *Rickettsia* spp. и *C. burnetii* была также обнаружена в яйцах *Rh. geigy*, что подтверждает факт возможной трансвариальной передачи этих патогенов [5].

Территория Гвинеи характеризуется богатой фауной обитающих здесь животных. Из мелких млекопитающих зарегистрировано более 50 видов грызунов и рукокрылых, которые в большинстве своем являются носителями опасных инфекционных болезней. В префектуре Киндия видовой спектр отловленных грызунов и насекомоядных был представлен: крыса травяная — *Arvicanthis rufinus* (Temminck, 1853), гамбийская хомяковая крыса — *Cricetomys gambianus* (Waterhouse, 1840), землеройковые — *Crocidurinae* sp. (Milne-Edwards, 1872), мышь полосатая — *Lemniscomys striatus* (Linnaeus, 1758), мышь Ансорджа — *Lophuromys ansorgei* (de Winton, 1896), мышь Сикапуса — *Lophuromys sikapusi* (Temminck, 1853), крыса многососковая — *Mastomys* sp. (Thomas, 1915), домовые мыши — *Mus* sp. (Linnaeus, 1758), мышь домовая — *Mus musculus* (Linnaeus, 1758), крыса ручьевая — *Pelomys fallax* (Peters, 1852), крыса лесная мягковолосая — *Praomys rostratus* (Miller, 1900), крыса черная — *Rattus rattus* (Linnaeus, 1758).

Средний процент попадания ММ в орудия лова составил 20,2. Наиболее распространенными являются *Mastomys* — 8,3% (индекс доминирования ИД составил 40,9), *R. rattus* — 8,1% (40,2) далее следует род *Mus* — 1,1% (5,3) и *C. gambianus* — 0,9% (4,6). Прочие виды в сумме составляют 2% попадания (табл. 2).

Отмечено, что предпочтительными биотопами для обитания таких полусинантропных видов, как *C. gambianus*, *R. rattus*, *Mastomys* spp., являются лесо-кустарники, жилые дома, складские и хозяйственные постройки. Синантропный вид *M. musculus* отмечен здесь только в жилых домах и хозяйственных постройках. Наиболее многочисленными из мелких млекопитающих оказались представители рода *Mastomys*, далее следуют *R. rattus*, *M. musculus* и *C. gambianus*.

Таблица 2. Показатели численности мелких млекопитающих и индексы доминирования фоновых видов в различных биотопах Гвинейской Республики в 2015–2016 гг.

Мелкие млекопитающие	Биотопы										Средние показатели численности и индекса доминирования по видам ММ	
	лесо- кустарники	околоводные	сельскохозяйст- венные		жилые дома и хоз. постройки		складские помещения					
	средние показатели численности мелких млекопитающих и индекса доминирования фоновых видов по биотопам											
	%	ИД	%	ИД	%	ИД	%	ИД	%	ИД	%	ИД
<i>A. rufinus</i>	0,3	2,0	—	—	—	—	0,2	0,8	—	—	0,05	0,5
<i>C. gambianus</i>	1,1	7,3	—	—	0,2	1,3	1,6	6,4	0,4	1,0	0,9	4,6
<i>Crocidurinae</i> sp.	0,8	5,9	—	—	0,6	3,9	0,4	1,6	—	—	0,5	2,7
<i>L. striatus</i>	—	—	—	—	1,2	7,8	—	—	—	—	0,4	2,4
<i>L. ansorgei</i>	0,1	0,1	—	—	—	—	0,2	0,8	—	—	0,04	0,2
<i>L. sikapusi</i>	0,1	0,1	—	—	—	—	—	—	—	—	0,04	0,2
<i>Mastomys</i> sp.	10,9	74,2	16,6	58,9	0,2	1,3	5,3	27,7	22,7	6,1	8,3	40,9
<i>M. musculus</i> , <i>Mus</i> sp.	—	—	—	—	—	—	5,3	16,9	—	—	1,1	5,3
<i>P. fallax</i>	—	—	2,4	8,3	—	—	0,2	0,8	—	—	0,05	0,5
<i>P. rostratus</i>	0,3	1,2	—	—	1,4	9,1	—	—	—	—	0,4	2,2
<i>R. rattus</i>	0,8	5,9	9,5	3,3	1,4	9,1	11,6	47,6	34,5	92,8	8,1	40,2
Средний процент попадания в ловушки	13,7		28,6		15,9		24,5		37,1		20,2	

Изменение видового состава и численности ММ заметны и по сезонам года. В течение сезона дождей — отловлены: *R. ratus*, *C. gambianus*, *Mastomys*, *Grocedura* sp., *M. musculus*, *L. ansorgei*, *L. sikapusi*, *P. rostratus*. Средний показатели численности зверьков составляли 20,4% попадания в орудия лова.

В 2015–2016 гг. в сухой сезон видовой спектр мелких млекопитающих в отловах представлен: *R. rattus*, *C. gambianus*, *Mastomys* sp., *Crocidurinae* sp., *M. musculus*, *L. ansorgei*, *P. rostratus*, *P. fallax*, *A. rufinus*. Средние показатели численности зверьков достигали 28,7% попадания в орудия лова. Сезонная динамика численности мелких млекопитающих в различных биотопах на территории Гвинейской Республики в 2015–2016 гг. представлена в табл. 3.

В сезон дождей наиболее высокие показатели численности зверьков характерны для закрытых биотопов, жилых и различных складских помещений. В сухой сезон наиболее заселенными оказались биотопы с хорошей кормовой базой (огороды, плантации), а также складские помещения.

При отлове рукокрылых (*Chiroptera*) добытые зверьки представлены шестью видами: *Mops thersites* (Thomas, 1903) (Бульдоговые летучие мыши, или складчатогубые), *Nycteris hispida* (Schreber, 1775) (Щелеморд мохнатый), *Eidolon helvum* (Kerr, 1792) (Пальмовый крылан), *Scotophilus leucogaster* (Cretzschmar, 1826), *Rousettus aegyptiacus* (E. Geoffroy, 1810) (Египетская летучая собака, или нильский крылан), *Hipposideros ruber* (Noack, 1893) (Красный листонос). Всего добыто 193 экземпляра. Основная доля отловленных рукокрылых добыта при постановках паутинных сетей в пещерах и гротах.

В заключение отметим, что в результате выполненных исследований эпизоотологического профиля в 2015–2016 гг. установлен широкий видовой спектр грызунов, насекомых, рукокрылых, а также кровососущих членистоногих (комары, иксодовые клещи) на территории Гвинейской Республики. При этом их современное эпизоотологическое и эпидемиологическое значение требуют дальнейшего изучения. В настоящее время также большой эпизоотологический интерес вызывают фоновые виды мелких хищных млекопитающих (виверровые, псовые, куны, мангустовые, кошачьи), дикие и домашние свиньи, которые в силу своих экологических особенностей тесно контактируют с широким спектром полусинантропных видов грызунов, рукокрылых, насекомых (отлов и поедание падали), а, кроме того, могут служить промежуточным звеном передачи возбудителей инфекционных болезней к домашним животным и человеку [3, 13]. В частности, мелкие хищные (молодые генетты, циветты и др.) нередко становятся добычей полудиких собак в окрестностях сельских населенных пунктов. В связи с этим весьма перспективным направлением поиска резервуаров возбудителей различных инфекционных болезней бактериальной и вирусной этиологии на территории Гвинейской Республики является исследование проб полевого материала от фоновых видов хищных млекопитающих (*Carnivora*). При этом особое внимание следует уделять домашним собакам *Canis lupus familiaris* и кошкам *Felis silvestris catus* которые могут играть основную роль в передаче возбудителей природно-очаговых инфекционных болезней от диких животных к человеку [11]. Принимая во внимание большую информативность результатов исследования различных групп кровососущих чле-

Таблица 3. Сезонная динамика численности мелких млекопитающих в различных биотопах на территории Гвинейской Республики в 2015–2016 гг.

Биотопы	Показатели численности зверьков (% попадания в орудия лова) по сезонам года	
	сезон дождей	сухой сезон
Жилые дома и хоз. постройки	24,8	27,9
Лесо-кустарниковые	13,5	21,5
Сельскохозяйственные	20,0	34,5
Складские помещения	31,1	34,3
Околоводные	—	28,6

нистоногих для оценки пространственного распределения возбудителей особо опасных инфекционных болезней на территории Гвинейской Республики, необходимо увеличение объемов сбора иксодовых клещей и комаров, в первую очередь, в окрестностях населенных пунктов.

■ Список литературы

1. Буаро М.Е., Каливоги С., Константинов О.К., Плотникова Л.Ф., Бальде Н.М.С., Диалло М.Б. Сероэпидемиологическое и эпизоотологическое изучение клещевых риккетсиозов в Гвинейской Республике. *Пест-Менеджмент (РЭТ-инфо)*. 2013; 1 (85): 22–28.
2. Бутенко А.М. Изучение циркуляции арбовирусов в Гвинейской Республике. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 1996; 2: 40–45.
3. Бутенко А.М. Ретроспективные данные по изучению лихорадки Эбола в Африке. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2015; 20: 39–43.
4. Иванов А.П., Ткаченко Е.А., Ван-дер Гроен Г., Бутенко А.М., Константинов О.К. Непрямой иммуоферментный метод для лабораторной диагностики геморрагических лихорадок Ласса и Эбола. *Вопросы вирусологии*. 1986; 2: 186–190.
5. Карташов М.Ю., Найденова Е.В., Никифоров К.А., Баяндин Р.Б., Яковлев С.А., Захаров К.С., Поршаков А.М., Агафонов Д.А., Лопатин А.А., Зайковская А.В., Ibrahim N., Toucou J.P., Ibrahim A.B., Diallo M., Kalivogui S., Boumbaly S., Boiro M.Y., Щербакова С.А., Максютов Р.А., Кутырев В.В. Выявление ДНК возбудителей риккетсиозов, передаваемых клещами, на территории Гвинейской Республики. *Молекулярная диагностика–2017: сб. тр. IX всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием; под ред. академика РАН В.И. Покровского*. 2017; 2: 176–177.
6. Константинов О.К., Буаро И., Балде С., Чунина Л.М., Линев М.Б., Маринина В.Л. Изучение экологии клещей семейства Ixodidae и их роль в циркуляции арбовирусов и риккетсий на территории Средней Гвинеи. *Арбовирусы, паразитозы и бактериальные инфекции в ГНПП. Конакри*, 1983: 54–56.
7. Константинов О.К., Диалло С.М., Инапоги А.П., Ба А., Камара С.К. Млекопитающие Гвинеи как резервуары и носители арбовирусов. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2006; 1: 34–39.
8. Константинов О.К., Инапоги А.П., Лабзин В.В., Попов Н.В. Фауна млекопитающих Гвинейской Республики как резервуаров и носителей возбудителей природно-очаговых инфекций. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2004; 2: 20–24.
9. Макенов М.Т., Журенкова О.Б., Григорьева Я.Е., Карань Л.С., Захаров К.С., Поршаков А.М., Яковлев С.А., Toure A.H., Константинов О.К. Скрининг трансмиссивных инфекций в иксодовых клещах Гвинеи. *Молекулярная диагностика–2017: сб. тр. IX всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием; под ред. академика РАН В.И. Покровского*. 2017; 2: 203–204.
10. Попов Н.В., Краснощеков А.А. Особенности видового состава и численности фоновых видов грызунов в окрестностях сельских населенных пунктов Гвинеи. *РЭТ-Инфо*. 2001; 3: 24–26.
11. 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. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2015; 3: 39–41.
12. Попов Н.В., Топорков В.П., Сафронов В.А., Кузнецов А.А., Рябов С.В., Санджиев Д.Н., Кутырев В.В. Современные направления снижения уровня заболеваемости природно-очаговыми инфекционными болезнями на территории Российской Федерации. *Эпидемиология и инфекционные болезни*, 2013; 5: 15–17.
13. 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. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2015; 3: 10–12.
14. 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. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2015; 3: 42–48.
15. Becker N., Petric D., Zgomba M., Boaseà C., Dahl C., Madonà M., Kaiser A. Mosquitoes and their control. 2010: 608.
16. Konstantinov O.K., Butenko A.M., Bachkirtse V.N., Pack T.P., Popov N.V. Les tiques de la famille Ixodidae comme reservoir d'arbovirus en Republique de Guinee. II. Les arbovirus. *Revue Elev. Med. Vet. Pays Trop.* 1990; 43 (1): 15–22.
17. Reinert J.F., Harbach R.E., Kitching I.J. Phylogeny and classification of Aedini (Diptera: Culicidae), based on morphological characters of all life stages. *Zoological Journal of the Linnean Society*. 2004; 142: 289–368.
18. Walker A.R., Bouattour A., Camicas J.-L., Estrada-Peña A., Horak I.G., Latif A.A., Pegram R.G., Preston P.M. Ticks of domestic animals in Africa: a guide to identification of species. 2003: 221.

Выявление РНК возбудителей лептоспироза в материале от мелких млекопитающих, отловленных в провинции Киндия Гвинейской Республики

Е.В. Найденова, Д.В. Уткин, А.М. Поршаков, К.С. Захаров, Ж.А. Касьян, С.А. Яковлев, К.А. Никифоров, Д.А. Агафонов, А.А. Крицкий, Р.Б. Баяндин, М.Ю. Карташов, А.А. Лопатин, А.С. Раздорский, В.А. Сафронов, С. Бумбали, М.И. Буаро, С.А. Щербакова, В.В. Кутырев

■ Введение

Спирохеты, относящиеся к роду *Leptospira*, являются возбудителями лептоспирозов людей и животных [3]. Лептоспирозы относятся к зоонозам с мировым распространением. Наиболее высокий уровень их эпидемического проявления отмечается в странах с влажным субтропическим и тропическим климатом [9]. Источниками патогенных лептоспир, относящихся к 250 сероварам и 17 геномным видам, служат дикие и домашние животные многих видов. Основными хозяевами (резервуарами) возбудителя инфекции среди диких млекопитающих являются грызуны (серые полевки, мыши, крысы и другие) и насекомоядные (ежи, землеройки). В хозяйственных (антропургических) очагах эту роль играют домашние животные — собаки, свиньи, крупный рогатый скот, овцы, реже — козы и лошади. Инфекция передается человеку посредством прямого контакта с мочой инфицированных животных или через объекты окружающей среды, загрязненные мочой животных-носителей, главным образом через воду, почву и растения, иногда пищевые продукты. Территории, на которых выявлено носительство лептоспир среди диких животных или носительство у домашних животных, считают очагами лептоспироза, потенциально опасными для человека [3]. Предупреждение случаев заболеваний лептоспирозом среди людей, возникновения эпидемических очагов зависит от своевременной оценки данных эпизоотологического мониторинга среди диких и домашних млекопитающих.

По данным ВОЗ в странах Африки заболеваемость лептоспирозом может быть высокой на фоне отсутствия данных о степени заболевания человека и носительства среди различных видов животных [4]. Штаммы *Leptospira* spp. изолировали в ЮАР, Зимбабве, Демократической Республике Конго, Кении, Мадагаскаре, Нигерии, Гане, Египте, Танзании [7]. Данные о наличии лептоспироза в Гвинейской Республике отсутствуют. Ранее в сыворотках крови людей, проживающих на территории г. Конакри и провинции Киндия выявлены антитела к лептоспирам [2, 10]. Усугубляющими факторами возможного распространения инфекции в Гвинейской Республике являются сезоны дождей, близость сточных вод к жилым помещениям. В связи с этим, является актуальным изучение возможной циркуляции возбудителя лептоспироза среди мелких млекопитающих.

■ Материалы и методы

Исследованию подлежали мелкие млекопитающие, отловленные на территории Научно-исследовательского института прикладной биологии Гвинеи в Киндии (Institut de Recherche en Biologie Appliquée de Guinée à Kindia (IRBAG) — ранее Институт Пастера Гвинеи l'Institut Pasteur de Guinée à Kindia [Pastoria]) и в окрестностях г. Киндия — административного центра Региона Киндия Гвинейской Республики (рис. 1, вклейка, с. VIII). Материал доставлен из населенных пунктов Danmakhania, Daoudaya, Ferefou II, Fommede, Khabuya, Koliady II, Samoria, Yabara (рис. 2, вклейка, с. VIII). Разбор и анализ полевого материала проводили на базе Российско-Гвинейского научно-исследовательского центра эпидемиологии и профилактики инфекционных болезней.

Методом ПЦР исследовали образцы внутренних органов (печени, селезенки, почек, легких) 208 экземпляров диких мелких млекопитающих:

- 145 грызунов (*Rodentia*): черных крыс *Rattus rattus* (75), натальских мышей *Mastomys natalensis* (55), *Praomys* sp. (10), в том числе *Praomys daltoni* (= *Myomys daltoni*) (3), домово-вой мыши *Mus musculus* (3), ручьевой крысы *Pelomys fallax* (1), жестковолосой мыши *Lophuromys sikapusi* (1);
- 2 насекомоядных (*Insectivora*) — белозубки *Crocidura* sp. (2);
- 61 рукокрылых (*Chiroptera*) — гладконоса домового белобрюхого *Scotophilus leucogaster* (32), складчатогуба *Tadarida thersites* (23), мохнатого щелеморда *Nisteris hispida* (4), пальмового крылана *Eidolon helvum* (2). В выборку включены представители отряда рукокрылых на основании имеющихся сведений о наличии лептоспир у летучих мышей [4, 7].

В связи с тем, что указанные виды млекопитающих являются носителями ряда возбудителей I–II групп патогенности (чумы, туляремии, лихорадки Ласса, Эбола), все работы по подготовке проб проводили в боксе микробиологической безопасности III класса с соблюдением требований биологической безопасности в соответствии с СП 1.3.3118-13 [1].

Таблица 1. Инфицированность мелких млекопитающих лептоспирозом по видам

Вид животного	Место отлова (населенный пункт)	Количество исследованных животных	Количество инфицированных животных	Частота встречаемости инфицированных животных, %
<i>M. natalensis</i>	Koliady II	35	14	40,0
	Pastoria	11	2	18,2
	Ferefou II	8	0	0
	Yabara	1	0	0
<i>P. daltoni</i>	Pastoria	3	2	66,7
<i>Praomys</i> sp. (другие виды)	Pastoria	5	0	0
	Koliady II	2	0	0
<i>R. rattus</i>	Samoria	52	0	0
	Koliady II	8	0	0
	Pastoria	4	0	0
	Ferefou II	4	1	25,0
	Khabya	4	0	0
	Danmakhanian	2	0	0
	Daoudaya	1	0	0
<i>M. musculus</i>	Koliady II	1	0	0
	Yambara	1	0	0
	Khabya	1	0	0
<i>P. fallax</i>	Koliady II	1	0	0
<i>L. sikapusi</i>	Pastoria	1	0	0
<i>Crocidura</i> sp.	Pastoria	1	0	0
	Khabya	1	0	0
<i>S. leucogaster</i>	Pastoria	17	0	0
	Fommede	15	0	0
<i>T. thersites</i>	Pastoria	12	0	0
	Fommede	10	0	0
	Danmakhanian	1	0	0
<i>N. hispida</i>	Pastoria	4	0	0
<i>E. helvum</i>	Koliady II	2	0	0

Таблица 2. Инфицированность мелких млекопитающих лептоспирозом по населенным пунктам

Место отлова (населенный пункт)	Количество исследованных животных	Количество инфицированных животных (% от общего числа положительных проб)	Частота встречаемости инфицированных животных, %
Pastoria	58	4 (21,1)	6,9
Samoria	52	0	0
Koliady II	49	14 (73,7)	28,6
Fommede	25	0	0
Ferefou II	12	1 (5,3)	8,3
Khabya	6	0	0
Danmakhanja	3	0	0
Yabara	2	0	0
Daudia	1	0	0
Bcero	208	19 (100)	9,1

В боксе готовили 10% гомогенаты органов на стерильном 0,9% растворе хлорида натрия, центрифугировали при 3000 об./мин в течение 2 мин, затем 0,1 мл супернатанта переносили в 0,3 мл лизирующего раствора и инкубировали 20 мин при температуре 65°C. Выделение РНК *Leptospira* spp. осуществляли с помощью «Комплекта реагентов для экстракции РНК/ДНК из клинического материала «АмплиПрайм РИБО-преп» (ИнтерЛабСервис, Россия) в соответствии с инструкцией по применению.

Выявление РНК *Leptospira* spp. проводили с использованием комплекта реагентов для проведения реакции обратной транскрипции 16S РНК и ПЦР-амплификации кДНК патогенных генов лептоспир с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» «АмплиСенс® *Leptospira*-FL» (ИнтерЛабСервис, Россия). Проведение реакции и учет результатов осуществляли на приборе для проведения ПЦР в режиме реального времени Rotor-Gene Q (Qiagen, Германия).

Результаты и обсуждение

В результате исследований методом ПЦР объединенных проб органов животных (легкие и почки) РНК патогенных лептоспир обнаружена в 16 образцах многососковых мышей *M. natalensis*, двух образцах *P. daltoni*, одном образце черной крысы *R. rattus*, на основании чего можно предположить, что представители этих видов могут играть основную роль в циркуляции лептоспир на данной территории (табл. 1).

Следует отметить, что 16S РНК патогенных видов лептоспир у других представителей видов мелких млекопитающих не обнаружена. Наибольшая инфицированность животных лептоспирозом среди многососковых мышей вида *M. natalensis* отмечена в поселке Koliady II близ Киндия (табл. 2, рис. 2).

Таблица 3. Данные о местообитании животных — носителей возбудителей лептоспироза

№ пробы	Вид животного	Место отлова, биотоп
2	<i>M. natalensis</i>	Koliady II плантация
4	<i>M. natalensis</i>	Koliady II плантация
5	<i>M. natalensis</i>	Koliady II плантация
11	<i>P. daltoni</i>	Pastoria, плантация маниока
12	<i>P. daltoni</i>	Pastoria, плантация маниока
14	<i>M. natalensis</i>	Pastoria, манговая роща
16	<i>M. natalensis</i>	Pastoria, развалины
29	<i>M. natalensis</i>	Koliady II плантация
36	<i>M. natalensis</i>	Koliady II берег реки
40	<i>M. natalensis</i>	Koliady II, жилой дом
41	<i>M. natalensis</i>	Koliady II, жилой дом
42	<i>R. rattus</i>	Ferefou, кухня
44	<i>M. natalensis</i>	Koliady II рисовое поле
45	<i>M. natalensis</i>	Koliady II рисовое поле
46	<i>M. natalensis</i>	Koliady II рисовое поле
47	<i>M. natalensis</i>	Koliady II рисовое поле
52	<i>M. natalensis</i>	Koliady II берег реки
111	<i>M. natalensis</i>	Koliady II рисовое поле
204	<i>M. natalensis</i>	Koliady II плантация

Местообитания грызунов, имеющих в материале от которых зарегистрированы положительные находки 16S РНК лептоспир, сосредоточены вблизи водных биотопов (берег реки), возделываемых человеком сельскохозяйственных хозяйств (рисовые поля, плантации, огороды), возле жилых построек (табл. 3).

Циркуляция возбудителей лептоспироза среди *M. natalensis* с частотой встречаемости от 0,6% [7] до 6% [8] описана ранее другими авторами. Данный вид грызунов является наиболее массовым в странах Африки к югу от Сахары [5]. Относительно высокие показатели выявления 16S РНК патогенных видов лептоспир среди выловленных грызунов вида *M. natalensis* могут представлять опасность для здоровья человека.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о возможной циркуляции возбудителя лептоспироза в окрестностях г. Киндия и указывают на необходимость дальнейшего изучения распространения возбудителя как на данной территории, так и во всех ландшафтно-географических зонах Гвинейской Республики для обеспечения охраны здоровья населения.

■ Список литературы

1. Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности): санитарно-эпидемиологические правила (СП 1.3.3118–13). Утверждены постановлением врио Главного государственного санитарного врача РФ от 28 ноября 2013 г. № 64. URL: http://rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=3552 (25.10.2017).
2. Найденова Е.В., Уткин Д.В., Поршаков А.М., Лопатин А.А., Никитин П.П., Раздорский А.С., Сафронова В.А., Sylla A.L., Boumbaly S., Voiro M.I., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Выявление маркеров возбудителей лептоспироза в биологическом и клиническом материале, собранном в провинции Киндия, Гвинейская Республика // Достижения в области обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия в государствах — участниках СНГ в рамках реализации стратегии ВОЗ по внедрению ММСП (2005 г.) до 2016 года. Материалы XIII науч.-практ. конф. Под ред. д.м.н., проф. А.Ю. Поповой, акад. РАН В.В. Кутырева. Саратов: ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», 2016: 159–160.
3. Об утверждении СП 3.1.7.2835–11 «Профилактика лептоспирозной инфекции у людей»: постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 20.01.2011 № 6. URL: <http://docs.cntd.ru/document/902259211> (25.10.2017).
4. Allan K.J., Biggs H.M., Halliday J.E.B., Kazwala R.R., Maro V.P., Cleaveland S., Crump J.A. Epidemiology of Leptospirosis in Africa: A Systematic Review of a Neglected Zoonosis and a Paradigm for “One Health” in Africa. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015; 9 (9): e0003899. doi: 10.1371/journal.pntd.0003899
5. Christensen J.T. Home range and abundance of *Mastomys natalensis* (Smith, 1834) in habitats affected by cultivation. *Afr. J. Ecol.* 1996; 34 (3): 298–311.
6. Dietrich M., Mühldorfer K., Tortosa P., Markotter W. Leptospira and bats: story of an emerging friendship. *PLoS Pathog.* 2015; 1 (11): e1005176. doi: 10.1371/journal.ppat.1005176
7. Mgode G.F., Machang'u R.S., Mhamphi G.G., Katakweba A., Mulungu L.S., Durnez L., Leirs H., Hartskeerl R.A., Belmain S.R. Leptospira serovars for diagnosis of leptospirosis in humans and animals in Africa: common Leptospira isolates and reservoir hosts. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015; 9 (12): e0004251. doi: 10.1371/journal.pntd.0004251
8. Mgode G.F., Mhamphi G., Katakweba A., Paemelaere E., Willekens N., Leirs H., Machang'u R.S., Hartskeerl R.A. PCR detection of Leptospira DNA in rodents and insectivores from Tanzania. *Belg. J. Zool.* 2005; 135 (12): 17–19.
9. World Health Organization. Report of the Second Meeting of the Leptospirosis Burden Epidemiology Reference Group. Geneva: World Health Organization. 2011. URL: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44588/1/9789241501521_eng.pdf (25.10.2017).
10. Zimmermann S., ter Meulen A., Calvet E., Koivogui L., Sylla O., Goris M., Hartskeerl R., ter Meulen J. Seroprevalence and reservoirs of leptospirosis in Conakry (Guinea). *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2007; 29 (2): S49.

Выявление специфических антител к арбовирусам в сыворотках крови людей, проживающих в провинции Киндия, Гвинейская Республика

Е.В. Найденова, С.А. Пьянков, А.А. Крицкий, Ж.А. Касьян, А.С. Раздорский, А.А. Лопатин, В.А. Сафронов, Е.В. Чаусов, А.А. Силла, С. Бумбали, И. Нурдин, М.Г. Диалло, И.С. Соу, М.С. Барри, С.А. Щербакова, М.И. Буаро, В.В. Кутырев

По материалам ВОЗ, от острых лихорадочных болезней в странах Западной Африки ежегодно погибают более 250 тыс. человек [10]. Причем значительную долю в нозологической структуре регистрируемых лихорадок традиционно составляют малярия и брюшной тиф. Указанные цифры, тем не менее, не отражают всей полноты конъюнктуры заболеваемости в Западноафриканском регионе в связи с тем, что в качестве критериев постановки диагноза в большинстве случаев используются только клинические данные [8]. С начала 2014 г. на фоне эпидемии болезни, вызванной вирусом Эбола (БВБЭ), зарегистрированной на территории Гвинейской Республики, Либерии и Сьерра-Леоне, и при привлечении международных ресурсов уровень лабораторной диагностики значительно повысился [2, 3]. Но, несмотря на отработанную схему индикации отдельных возбудителей инфекционных болезней, часто регистрируются случаи заболевания, этиологический агент которых не установлен. Возможно это связано с отсутствием достаточного объема знаний медицинского персонала в отношении других инфекций и ограниченным набором диагностических тест-систем. При этом существует вероятность того, что определенное количество лихорадочных болезней вызвано арбовирусами, которые зачастую не рассматриваются в качестве возможного инфекционного агента [9].

На территории Гвинейской Республики в разные годы выявлена циркуляция большого спектра арбовирусов — возбудителей лихорадок денге, желтой, Западного Нила, Зика (сем. *Flaviviridae*), Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ), лихорадок долины Рифт, Батаи (сем. *Bunyaviridae*), Чикунгунья (сем. *Alphaviridae*), способных привести к гибели людей [1, 6]. Маркеры арбовирусов ранее обнаружены в материале от носителей и переносчиков, отловленных в разных географических зонах Гвинейской Республики [1]. Одним из ключевых показателей циркуляции арбовирусов на определенной территории и наличия природных очагов арбовирусных инфекционных болезней является выявление антител к возбудителю в сыворотках крови людей, проживающих в данной местности [4].

В настоящее время, в связи с ограниченными возможностями лабораторной диагностики и недостаточным уровнем научных данных о распространении арбовирусов в Западной Африке, отсутствуют достоверные и актуальные сведения по заболеваемости арбовирусными инфекционными болезнями среди населения.

Целью работы явилось изучение уровня иммунной прослойки населения к возбудителям лихорадок денге, Западного Нила, Чикунгунья и ККГЛ среди жителей провинции Киндия Гвинейской Республики.

■ Материалы и методы

Исследования проводили на базе Института Пастера Гвинеи и стационарного инфекционного госпиталя НКДЦЭМ ОК «РУСАЛ» (CREMS). Диагностическую работу осуществляли российские специалисты с использованием мобильного комплекса специализированной противоэпидемической бригады Роспотребнадзора (МК СПЭБ Роспотребнадзора) [3].

Таблица 1. Характеристика исследуемого контингента

Возрастные группы	Количество проб		Общее количество (%)*
	мужчины	женщины	
до 15	11	15	26 (7,9)
от 15 до 25	28	59	87 (26,7)
от 25 до 35	36	40	76 (23,3)
от 35 до 45	21	21	42 (12,9)
от 45 до 55	19	19	38 (11,7)
от 55 до 65	12	18	30 (9,2)
от 65 до 75	11	8	19 (5,8)
от 75	5	3	8 (2,5)
Итого	143 (43,9%)	183 (56,1%)	326

*Проценты указаны от общего количества исследуемых образцов.

Образцы крови людей собраны в период с мая 2015 по февраль 2016 г. от больных с симптомами, исключающими арбовирусную этиологию и без подозрения на БВБЭ, а так же от работников госпиталя НКДЦЭМ. Кровь забирали в количестве 5 мл из локтевой вены, натошак, с использованием системы для забора крови по общепринятой методике. Все полученные образцы протестированы методом ОТ-ПЦР с помощью набора реагентов «АмплиСенс EBOV Zaire-FL» (ПУ РЗН 2014/2036 от 16.10.2014, ИнтерЛабСервис, Россия) для исключения вероятности выявления РНК вируса Эбола. Во всех случаях результат был отрицательным. Сыворотки также исследованы методом иммунохроматографического анализа (ИХА) с использованием набора реагентов для определения антигенов возбудителей малярии Malaria Ag P.f/Pan (SD BIOLANE, Южная Корея). Образцы, содержащие антиген малярийного плазмодия, исключили из дальнейшего исследования с целью снижения вероятности неспецифических реакций.

Клинический материал на всех этапах исследования расценивался как потенциально опасный в связи с тем, что на территории Гвинеи регистрируются случаи болезни, вызванные вирусом Ласса [5, 7]. Работа с материалом проводилась в боксе микробиологической безопасности III класса.

Полученные сыворотки исследовали методом иммуноферментного анализа (ИФА) для выявления антител класса IgG к вирусам денге, Западного Нила, ККГЛ и Чикунгунья. Образцы тестировали с использованием коммерческих наборов производства ЗАО «Био-сервис» (г. Боровск, Россия) в соответствии с инструкциями, прилагаемыми к препаратам. Оптическую плотность измеряли с основным фильтром 450 нм. Для подтверждения полученных результатов и исключения возможности неспецифической реакции все сыворотки дополнительно исследовали методом ИФА на наличие иммуноглобулинов класса IgM к вирусам денге, Западного Нила, ККГЛ и Чикунгунья с применением наборов того же производителя.

Для исследования отобрано 326 образцов крови жителей г. Киндии Гвинейской Республики, 183 (56,1%) из них взяты у женщин, а 143 (43,9%) — у мужчин.

С целью обеспечения репрезентативности выборки жителей региона, для исследования выбирались сыворотки от людей различных возрастов в пропорциях, соответствующих естественному демографическому распределению в Гвинейской Республике. Исключение составила группа до 15 лет в связи с отсутствием достаточного количества проб от лиц данного возраста.

Наибольшее количество образцов принадлежало людям в возрасте от 15 до 25 лет — 87 сывороток и от 25 до 35–76 сывороток (26,7 и 23,3% соответственно). Меньше всего исследуемых проб было в группе от 75 лет — 8 (2,5%). Данные о принадлежности представленных в настоящем исследовании жителей к возрастной группе и полу приведены в табл. 1.

Результаты и обсуждение

Всего во время исследований выявлено 267 (82% от общего количества исследуемых образцов) положительных образцов. Самое большое количество сывороток содержали антитела класса G к вирусам денге (133 образца, что составило 40,7% от общего числа исследованных проб). Антитела к вирусу Западного Нила выявлены в 120 (36,8%) пробах. В 12 (3,7%) случаях зарегистрированы антитела к вирусу Чикунгунья и в 2 (0,6%) — к вирусу ККГЛ (табл. 2).

Положительные результаты, в большинстве случаев, получены при исследовании материала, собранного от людей в возрасте от 25 до 35 лет. Антитела к арбовирусам содержали 74 (22,7%) образца из 76 обследованных, из них к вирусу Западного Нила — 33 (10,1%) образца, к вирусам денге — 37 (11,3%), Чикунгунья — 3 (0,9%) и ККГЛ — 1 (0,3%). Наименьшее количество позитивных проб зарегистрировано при исследовании материала от людей, отнесенных к возрастной группе после 75 лет. Общий уровень иммунной прослойки к арбовирусам в данной возрастной группе составил 2,5%.

Антитела к арбовирусам содержали 154 (47,2%) из 183 сывороток у женщин и 113 (34,7%) из 143 — у мужчин. Достоверного отличия по уровню иммунной прослойки среди мужчин и женщин не отмечено.

При исследовании образцов сывороток крови с целью обнаружения антител класса IgM к вирусам денге, Западного Нила, Чикунгунья и ККГЛ во всех случаях получены отрицательные результаты, что позволяет исключить острую фазу болезни и свидетельствует об отсутствии неспецифических ответов, а также косвенно подтверждает правильность полученных результатов.

При анализе иммунной прослойки у жителей городов или сельской местности выявлено относительно равномерное распределение (47,8 и 52,2% соответственно), что не характерно для арбовирусных инфекционных болезней и может явиться следствием высокой миграционной активности в Западноафриканском регионе.

Таблица 2. Выявление антител к арбовирусам в сыворотках крови жителей провинции Киндия Гвинейской Республики

Возрастные группы	Количество проб, содержащих антитела класса IgG к вирусам												Кол-во положительных проб (%)*
	Западного Нила			Денге			Чикунгунья			ККГЛ			
	мужчины	женщины	всего (%)*	мужчины	женщины	всего (%)*	мужчины	женщины	всего (%)*	мужчины	женщины	всего (%)*	
до 15	3	5	8 (2,5)	4	1	5	0	0	0	0	0	0	13 (4,0)
от 15 до 25	5	20	25 (7,7)	5	25	30	1	4	5	0	0	0	60 (18,4)
от 25 до 35	14	19	33 (10,1)	20	17	37 (11,3)	1	2	3 (0,9)	1	0	1 (0,3)	74 (22,7)
от 35 до 45	10	10	20 (6,1)	8	12	20	0	0	0	0	0	0	40 (12,7)
от 45 до 55	8	7	15 (4,6)	10	8	18	2	1	3	0	0	0	36 (11,0)
от 55 до 65	6	6	12 (3,7)	4	8	12	1	0	1	0	0	0	25 (7,7)
от 65 до 75	3	1	4 (1,2)	3	4	7	0	0	0	0	0	0	11 (3,4)
от 75	2	1	3 (0,9)	2	2	4 (1,2)	0	0	0	0	1	1 (0,3)	8 (2,5)
Итого	51	69	120 (36,8)	56	77	133 (40,7)	5	7	12 (3,7)	1	1	2 (0,6)	267 (82,0)

*Проценты указаны от общего количества исследуемых образцов.

Выявление 82% положительных образцов, преимущественно отобранных от людей в возрастной группе от 25 до 35 лет (то есть наиболее социально активный возраст) в целом соответствует аналогичным показателям проводимых ранее в Западной Африке исследований [6].

Таким образом, полученные данные указывают на наличие иммунной прослойки населения Гвинейской Республики к арбовирусным инфекциям, что является подтверждением циркуляции на территории страны вирусов Западного Нила, денге и Чикунгунья. Кроме того, выявление единичных образцов, содержащих антитела класса IgG к вирусу ККГЛ, также свидетельствует о возможной циркуляции этого возбудителя на данной территории.

Учитывая большую эпидемиологическую значимость арбовирусных инфекционных болезней, актуальной задачей является продолжение изучения вопроса о доле арбовирусов в структуре лихорадочных заболеваний на территории Гвинейской Республики. Также необходимо проведение эпизоотологического мониторинга для выявления носителей и переносчиков арбовирусов на данной территории с целью установления природной очаговости, что, в свою очередь, позволит усовершенствовать и повысить эффективность профилактических (противоэпидемических) мероприятий.

■ Список литературы

1. Бутенко А.М. Изучение циркуляции арбовирусов в Гвинейской Республике. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 1996; 2: 40–45.
2. 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., Kanomou 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. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2015; 3: 73–77.
3. Попова А.Ю., Сафронов В.А., Магасуба 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., 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 году. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2014; 4: 5–8.
4. Титенко А.М. Факторы, способствующие появлению и обнаружению новых вирусных инфекций. *Эпидемиология и инфекция болезни*. 2004; 1: 51–55.
5. Fichet-Calvet E., Rogers D.J. Risk maps of Lassa fever in West Africa. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2009; 3 (3): e388. doi: 10.1371/journal.pntd.0000388
6. Jentes E.S., Robinson J., Johnson B.W., Conde I., Sakouougui Y., Iverson J., Beecher S., Bah M.A., Diakite F., Coulibaly M., Bausch D.G., Bryan J. Acute arboviral infections in Guinea, West Africa, 2006. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2010; 83 (2): 388–394. doi: 10.4269/ajtmh.2010.09-0688
7. Klempa B., Koulemou K., Auste B., Emmerich P., Thome-Bolduan C., Gunther S., Koivogui L., Kruger D.H., Fichet-Calvet E. Seroepidemiological study reveals regional co-occurrence of Lassa and Hantavirus antibodies in Upper Guinea, West Africa. *Trop. Med. Int. Health.* 2013; 18 (3): 366–371. doi: 10.1111/tmi.12045
8. Park S.E., Pak G.D., Aaby P., Adu-Sarkodie Y., Ali M., Aseffa A., Biggs H.M., Bjerregaard-Andersen M., Breiman R.F., Crump J.A., Cruz Espinoza L.M., Eltayeb M.A., Gasmelseed N., Hertz J.T., Im J., Jaeger A., Parfait Kabore L., von Kalkreuth V., Keddy K.H., Konings F., Krumkamp R., MacLennan C.A., Meyer C.G., Montgomery J.M., Ahmet Niang A., Nichols C., Olack B., Panzner U., Park J.K., Rabezanahary H., Rakotozandrainy R., Sampo E., Sarpong N., Schütt-Gerowitt H., Sooka A., Soura A.B., Sow A.G., Tall A., Teferi M., Yeshitela B., May J., Wierzbza T.F., Clemens J.D., Baker S., Marks F. The relationship between invasive nontyphoidal Salmonella disease, other bacterial bloodstream infections, and malaria in Sub-Saharan Africa. *Clin. Infect. Dis.* 2016; 62 (1): S23–S31. doi: 10.1093/cid/civ893
9. 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): 1176–1182. doi: 10.3201/eid2007.131265
10. WHO. Beyond Ebola, keeping patients and health workers safe. URL: <http://www.who.int/features/2016/ipc-ebola-guinea/en> (11.05.2016)

Холера и другие кишечные инфекции

Эпидемиологический анализ ситуации по холере на территории Африки и проблемы профилактики

И.Г. Карнаухов, Н.Б. Челдышова, А.К. Гражданов, А.А. Крицкий,
С.П. Заднова, О.В. Кедрова, А.В. Иванова, В.П. Топорков,
Н.И. Смирнова, А. Буаро, С. Бумбали, М.Й. Буаро, В.В. Кутырев

Холера — особо опасная инфекционная болезнь, характеризующаяся профузной диареей и пандемическим распространением. Всего насчитывается 7 пандемий холеры, первые шесть из которых были вызваны холерными вибрионами классического биовара. Причиной последней, седьмой пандемии холеры, продолжающейся в настоящее время, являются штаммы холерного вибриона биовара Эль Тор [8, 29].

■ Первые шесть пандемий холеры в Африке

Впервые азиатская холера, вызванная холерными вибрионами классического биовара, появилась в Африке еще в 1820 г., в период первой пандемии, когда эпидемические проявления были зарегистрированы на восточном побережье континента [2]. Распространение холеры по странам Африки в период второй пандемии (1836–1837 гг.) происходило двумя волнами: вначале болезнь была занесена на северо-западное побережье в Марокко, а затем вторая волна стала распространяться вдоль побережья Индийского океана, поразив восточный регион — Сомали, Кению и Танзанию. В результате погибло более 70 тыс. человек [44]. Во время третьей пандемии в 1848 г. холера проникла в Египет, вызвав там обширную эпидемию и унеся более 30 тыс. человеческих жизней. Впоследствии инфекция распространилась по Нилу в северную часть Египта и Судан [44]. Эпидемии холеры наблюдались также в Уганде и Занзибаре в 1858–1859 гг. [30]. В период четвертой пандемии холера, попав в 1868–1870 гг. на континент через Марокко, получила широкое распространение в странах Северной (Тунис и Алжир) и Западной Африки (Сенегал, Гамбия, Португальская Гвинея (ныне Гвинея-Бисау), а затем и на востоке континента — в Эфиопии, Танзании, Сомали, Мозамбике, на Занзибаре, Мадагаскаре и других островах Индийского океана. Во время пятой пандемии холера несколько раз была занесена на территорию Африки различными путями. Первый раз в 1883 г. холера попала в Египет с паломниками из Мекки и унесла 58 тыс. жизней. Вторая волна холеры началась в 1893–1896 гг. и была более масштабной, захватив Ливию, Тунис, Алжир, Марокко, Судан, Египет и французскую часть Западной Африки, ныне включающей Кот-д'Ивуар, Буркина-Фасо, Гвинею, Нигер, Мавританию, Бенин, Сенегал, Мали [30]. Шестая пандемия холеры на Африканском континенте затронула лишь Египет, унеся в 1902 г. более 34 тыс. человеческих жизней [9].

Последняя эпидемия азиатской холеры в Африке наблюдалась в межпандемический период (в 1947 г.) в Египте и была вызвана отступлением английских войск с зараженных холерой индийских и пакистанских территорий [9]. Было установлено 32 тыс. случаев заболеваний и 20 тыс. смертей [43]. С 1947 по 1970 гг. холера в Африке не регистрировалась.

Таким образом, вспышки и эпидемии классической холеры на Африканском континенте регистрировали в период всех пандемий, но они имели исключительно завозной характер. Завоз холерных вибрионов происходил либо паломниками, следовавшими с караванами из Мекки, либо морским путем на торговых судах [30].

■ Седьмая пандемия холеры на Африканском континенте

Впервые холерный вибрион биовара Эль Тор был занесен в Африку в 1970 г. двумя независимыми путями: с паломником из Мекки на самолете в г. Конакри, Гвинея (Западная Африка) и на торговых судах из стран Ближнего Востока в Сомали, Эфиопию и Джибути

Таблица. Количество случаев и смертность от холеры в Африке во время седьмой пандемии (по данным ВОЗ) [11–27, 45]

Годы	Количество случаев		Количество летальных исходов		Уровень летальности, %	Количество стран Африки, сообщивших о холере
	чел.	% от мирового	чел.	% от мирового		
1970	11 086	17,26	747	9,91	6,74	16
1971	72 654	41,79	11 427	43,73	15,73	23
1972	5137	6,40	386	3,62	7,51	18
1973	6337	5,83	636	6,31	10,04	16
1974	6074	6,22	582	7,61	9,58	17
1975	6650	7,15	504	7,12	7,58	14
1976	3180	4,63	194	4,91	6,10	14
1977	9502	15,02	462	21,22	4,86	13
1978	24 643	31,72	1591	47,44	6,46	20
1979	21 586	37,43	1869	53,72	8,66	19
1980	18 742	43,81	1185	60,64	6,32	16
1981	19 415	37,47	1581	64,77	8,14	18
1982	46 924	70,51	2988	77,85	6,37	16
1983	37 383	56,99	1903	71,30	5,09	15
1984	17 504	59,65	1711	93,50	9,77	15
1985	31 884	70,41	3837	93,27	12,03	21
1986	35 585	67,43	3490	87,98	9,81	18
1987	31 324	64,06	2658	91,78	8,49	17
1988	23 583	53,03	1500	79,87	6,36	13
1989	39 951	68,92	1445	86,58	3,62	16
1990	38 683	55,18	2288	78,38	5,91	11
1991	155 358	26,04	13 998	72,55	9,01	22
1992	91 081	19,72	5291	65,55	5,81	20
1993	76 713	20,36	2532	37,35	3,30	16
1994	161 983	42,14	8128	76,48	5,02	28
1995	71 081	33,69	3024	60,16	4,25	26
1996	108 535	75,71	6216	92,93	5,73	28
1997	118 349	80,28	5853	93,27	4,95	25
1998	211 748	72,24	9856	93,10	4,65	29
1999	206 746	81,30	8728	95,13	4,22	28
2000	118 932	86,77	4610	93,93	3,88	27
2001	173 359	94,06	2590	94,94	1,49	28
2002	137 866	96,88	4551	99,72	3,30	23
2003	108 067	96,86	1884	99,47	1,74	29
2004	95 560	94,26	2331	99,40	2,44	31
2005	125 082	94,80	2230	98,15	1,78	31
2006	234 349	98,92	6303	99,87	2,69	33
2007	166 583	93,61	3994	99,08	2,4	44
2008	179 323	94,32	5074	98,66	2,83	36
2009	217 333	98,24	4883	98,73	2,25	30
2010	115 106	36,25	3397	45,04	2,951	23
2011	188 678	31,99	4183	53,52	2,22	27
2012	117 570	47,91	2042	67,30	1,7	27
2013	56 329	43,64	1366	64,99	2,43	22
2014	105 287	55,25	1882	84,36	1,79	19
2015	71 176	41,27	937	71,85	1,3	16

(Восточная Африка) [35]. Вскоре вспышки холеры стали отмечать и в других странах Африки — Ливии, Тунисе, Алжире, Марокко, Кении, Уганде, Анголе и др. К концу 1971 г. о случаях холеры сообщили 25 стран Африки [44].

При этом наиболее широкое распространение холера получила в странах Западной Африки (в Сьерра-Леоне, Либерии, Код-д'Ивуаре, Гане, Того, Бенине (Дагомея), Нигерии и др.), что могло быть связано с отсутствием иммунной прослойки у населения, так как ранее холера в большинстве этих стран не регистрировалась. Эпидемии охватили 15 из 16 стран Западной Африки; за период 1970–1980 гг. здесь было зарегистрировано 87 486 больных холерой [46].

В целом, по данным ВОЗ, с 1970 по 1980 гг. холера была выявлена в 36 из 54 стран Африки, количество заболевших составило 185 591 человек, а количество умерших — 19 583 человека (табл.).

В период с 1981 по 1990 гг. происходит смещение эпицентра проявлений холеры с запада на восток континента, при этом идет формирование 12 вторичных эндемичных очагов в Восточной (Бурунди, Танзания, Руанда, Кения, Мозамбик), Западной (Гана, Либерия, Нигерия), Центральной (Ангола, Камерун, Демократическая Республика Конго [ДРК]) и Южно-Африканской Республике (ЮАР). Общее количество больных холерой увеличивается в 1,8 раза по сравнению с предыдущим десятилетием [4, 46]. В 1982 г. Африканский континент впервые становится лидером по числу случаев холеры, оставив позади страны Азии и Европы (рис.).

Начиная с 1991 г. количество случаев холеры в мире увеличилось в 8 раз по сравнению с 1990 г. и в 3,4 раза по сравнению с 1971 г. (рис.). Вероятно, указанный подъем заболеваемости холерой в Африке был связан с появлением штаммов холерного вибриона, которые в результате горизонтального переноса приобрели гены антибиотикорезистентности, локализованные на мобильных генетических элементах, таких как SXT-элемент, плазмиды IncS, интегроны I и II класса и др. [28, 39, 40, 43].

Наибольшее количество случаев холеры наблюдалось в Южной Америке. В Африке заболеваемость холерой с 1991 по 2000 гг. также выросла в 4 раза по сравнению с 1981–1990 гг. и в 7,5 раз по сравнению с 1971–1980 гг. (табл.). Всего за период с 1991 по 2000 гг. о случаях холеры сообщило 43 из 60 африканских государств [12, 46]. Среднее количество стран, ежегодно поражаемых холерой в 1991–2000 гг., увеличилось в 1,5 раза по сравнению с 1971 по 1990 гг. Пик эпидемических проявлений холеры в Африке пришелся

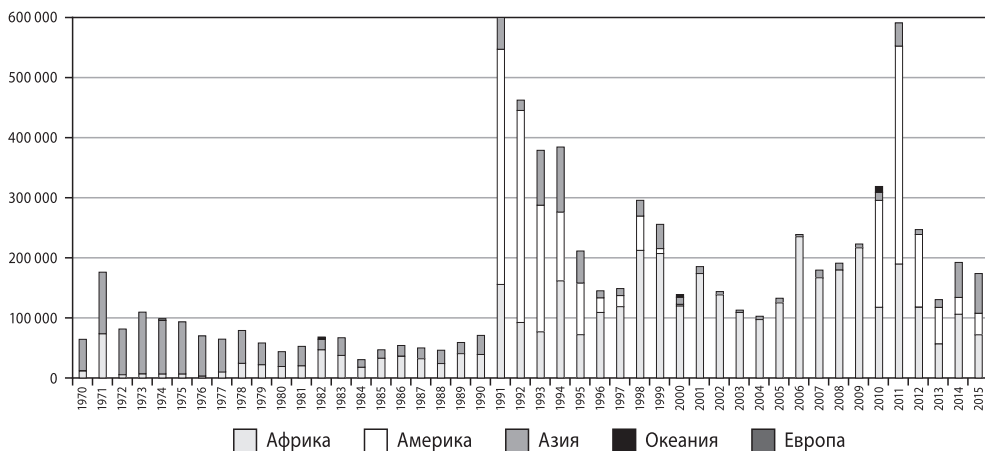


Рисунок. Количество случаев холеры по годам и континентам (по данным ВОЗ) [11–27, 45]

на 1998–1999 гг., когда было зарегистрировано 418 494 случая холеры и 18 584 летальных исхода. Наиболее пораженными оказались территории таких стран, как ДРК, Кения, Малави, Мозамбик, Нигерия, Уганда и Танзания [11, 12, 45]. По данным литературы, именно в этот период на территории Африки (в Мозамбике и Зимбабве) впервые были зарегистрированы новые варианты возбудителя холеры Эль Тор, возникшие в Юго-Восточной Азии, несущие профаг CTXφClass с генами холерного токсина холерных вибрионов классического биовара [35].

С 2001 по 2010 гг. в мире наблюдалось снижение уровня заболеваемости холерой в 1,7 раза, в то время как в Африке этот показатель наоборот вырос в 1,2 раза. За этот период еще 17 стран Африки (Замбия, Зимбабве, Малави, Сомали, Уганда, Эфиопия, Бенин, Гвинея, Гана, Гвинея-Бисау, Нигер, Сенегал, Сьерра-Леоне и другие) были отнесены к эндемичным по холере [6]. Этот подъем заболеваемости видимо был вызван множественными заносами на континент новых геновариантов, несущих гибридный профаг CTXφHibrid, которые совмещали гены холерных вибрионов 2-х биоваров: классического (*ctxB1*) и Эль Тор (*rstREltor*) [33, 38].

Очередной подъем заболеваемости холерой в мире наблюдался в 2011 г. и был связан с крупной эпидемией холеры в Гаити, которая была вызвана геновариантами, образованными в более поздний период их эволюции, несущими новую аллель гена *ctxB7*, отличающуюся от *ctxB1* наличием замены цитозина на аденин (С/А) в позиции 58 [10]. В Африке в 2011 г. количество случаев холеры также увеличилось, но не превысило 32% от общемирового уровня. В последние 5 лет на Африканском континенте наблюдается тенденция к снижению уровня заболеваемости холерой [23–27]. Однако Африка продолжает оставаться регионом с наиболее высоким уровнем заболеваемости холерой и летальности от этого заболевания.

Одной из стран, где холера, начиная с 1994 г., регистрируется практически ежегодно (за исключением 1997 и 2010 гг.), является Республика Гвинея [1, 5, 12, 14, 46]. Как уже отмечалось, первая эпидемия холеры Эль Тор, наблюдалась в 1970 г., когда заболело 6378 человек, 518 из которых умерли [1]. Три следующие эпидемии происходили с промежутками в 8 лет (в 1978, 1986 и 1994 гг.) и оказались более масштабными: было зарегистрировано от 9 тыс. до 31 тыс. случаев холеры. Наиболее крупная эпидемия имела место в прибрежной части Нижней Гвинеи в 1994 г., когда заболело 31 442 человека, 676 из которых умерли. При этом заносы холерного вибриона на территорию Гвинеи были официально зарегистрированы лишь дважды — в 1994 и 2012 гг. [1, 42]. В связи с этим Гвинейская Республика была отнесена к эндемичным по холере территориям.

Последняя эпидемия холеры в Гвинее 2012 г. была связана с заносом инфекции рыбаками из Сьерра-Леоне и охватила 6 из 7 провинций Республики Гвинея (Киндия, Боке, Фарана, Канкан, Маму и Нзерекоре) и столицу Конакри, поразив 7351 человека и унеся 138 человеческих жизней (1,8%) [1, 24]. В последующие годы отмечено резкое снижение числа случаев заболевания холерой: 319 — в 2013 г., 2 — в 2014 г., 0 — в 2015 и 2016 гг. Снижение заболеваемости холерой связывают, во-первых, с повышением уровня санитарной грамотности населения и эффективными профилактическими мерами, предпринимаемыми в рамках борьбы с эпидемией лихорадки Эбола, во-вторых — с массовой превентивной иммунизацией 96% населения страны вакциной Shanchol в 2014 г. [1].

Итак, седьмая пандемия холеры значительно отличается от всех предшествующих пандемий как по характеру течения эпидемического процесса, так и по длительности существования эпидемических очагов. В отличие от классической холеры, которая проникнув на Африканский континент, вызывала эпидемии и вспышки холеры длительностью в среднем не более 5–6 лет, а потом бесследно исчезала до нового заноса, холера Эль Тор в короткие сроки широко распространилась и укоренилась на континенте, поразив более 50 стран во всех его регионах и сформировав более 20 вторичных эндемичных очагов.

■ Факторы, способствующие широкому распространению холеры в Африке

Столь масштабному эпидемическому распространению холерного вибриона биовара Эль Тор несомненно способствовали неоднократные заносы на континент новых вариантов возбудителя, несущих гены антибиотикорезистентности и синтезирующих холерный токсин классического типа. Этому же благоприятствовали и негативные социальные и санитарно-гигиенические факторы, сложившиеся на Африканском континенте. Социальными факторами, способствующими распространению холеры, являются низкий уровень жизни, недостаток квалифицированной медицинской помощи, частые гражданские войны, приводящие к массовой миграции населения, проживание в лагерях беженцев в условиях высокой плотности населения, недостатка воды и отсутствия санитарно-гигиенических средств [30, 37]. Санитарно-гигиенические факторы, такие как низкий уровень санитарной культуры населения, отсутствие элементарных гигиенических навыков (мытьё рук с мылом), отсутствие во многих странах Африканского континента систем централизованного водоснабжения и канализации также способствуют распространению инфекции [30, 37, 41]. Важную роль в развитии вспышек холеры в Африке играют и погоднo-климатические и географические факторы. Так, в странах, расположенных в непосредственной близости от экватора, вспышки холеры отмечаются чаще и приводят к большему количеству случаев заболевания [31]. В Западной Африке эндемичные по холере территории располагаются вдоль прибрежных морских лагун с влажным тропическим климатом, откуда холера в периоды эпидемий распространяется на речные и пустынные районы [4, 41]. В Центральной и Восточной Африке эндемичные регионы в основном сосредоточены в области Великих Африканских озер (Рудольф, Виктория, Танганьика, Ньяса, Эдуард, Альберт и Киву) и озера Чад, являющихся естественными резервуарами для холерных вибрионов. В Южной Африке распространению холеры способствует река Лимпопо [33, 34, 38].

Вспышки холеры чаще отмечаются в дождливые и засушливые сезоны. В сезон дождей переполненные реки заливают стоки и выгребные туалеты, в результате чего загрязненная вода попадает в источники водоснабжения (колодцы, реки, пруды и озера) [37, 41]. Особенно высокий уровень осадков наблюдается в годы Эль-Ниньо, когда на фоне повышения температуры поверхностного слоя воды происходит усиленное размножение фито- и зоопланктона, являющегося питательной средой для холерного вибриона [38, 41]. В засушливые периоды вероятность возникновения эпидемии холеры также возрастает в среднем на 15–29% при увеличении температуры воздуха на 1°C за счет уменьшения запасов питьевой воды и неурожая, вызывающих массовые народные волнения и войны, а также миграцию населения [41, 44, 45]. Помимо указанных факторов большое значение для развития холеры имеет недостаток в питании витамина А и белка, а также гипохлоридрии, вызванной бактерией *Helicobacter pilory*, эндемичной для многих африканских стран [32, 38].

Сравнительный анализ динамики развития холеры в Африке и в России наглядно подтверждает, что укоренение холеры, вызванной холерными вибрионами биовара Эль Тор, стало возможным на Африканском континенте только благодаря совокупности различных факторов. Так, в период седьмой пандемии холера Эль Тор впервые одновременно появилась в Африке и России в 1970 г., но дальнейшая ее «судьба» оказалась различной. В отличие от в Африке, где холера вот уже 50 лет проявляется ежегодно, вызывая обширные вспышки и эпидемии, в России серьезные эпидемические проявления регистрировались лишь первые 3–4 года и имели ограниченное распространение, позже отмечались отдельные вспышки либо единичные заболевания, затем холера исчезала до следующего заноса. На большинстве территорий длительность эпидемических осложнений не превышала 1–4 года [9]. Вторичных очагов холеры, характерных для Африканского континента, на территории России также не сформировалось [6, 9].

Таким образом, именно совокупность биологических свойств холерного вибриона биовара Эль Тор, социальных, санитарно-гигиенических и природно-климатических факторов, сложившихся на Африканском континенте, явилось причиной длительной циркуляции холерного вибриона биовара Эль Тор на территории Африки и развития эпидемических осложнений по холере.

■ Проблемы профилактики

На сегодняшний день Африканский континент является наиболее пораженным холерой регионом мира, которая составляет серьезную проблему для здравоохранения многих африканских стран. Отсюда проведение мероприятий по санитарной охране территории отдельных государств этой части света связано с чрезвычайными сложностями. Обычных мер по своевременному выявлению заносов холеры уже явно не достаточно, поскольку во многих странах Африканского континента сформировались эндемичные очаги холеры и заболевания холерой регистрируют почти ежегодно без заносов извне, что позволяет утверждать об укоренении здесь этой инфекции. Профилактика холеры в данном регионе должна быть направлена на весь комплекс факторов, способствующих распространению и укоренению холеры (социальные, санитарно-гигиенические и т. п.).

В целом почти для каждой африканской страны актуальны проблемы устойчивого экономического развития, борьбы с бедностью и решения социальных задач, благоустройства населенных мест, гарантированного обеспечения питьевой водой и адекватной системой очистки сточных вод.

Важным компонентом является формирование в странах Африки национальных систем надзора и профилактики холеры, которые должны иметь строго определенную законодательную, правовую и методическую базу [7]. Основные принципы государственного эпидемиологического надзора должны соответствовать Международным медико-санитарным правилам (2005) и отвечать международным требованиям и нормам. Первоочередной задачей является подготовка целевых Государственных программ борьбы с холерой, которые будут предусматривать все элементы систематического лабораторного и эпидемиологического мониторинга за опасной инфекционной болезнью в масштабе страны. Для эффективного достижения поставленных в программе целей и унификации подхода важна разработка информационно-методических документов, обязательных для выполнения на территории всей страны. Учитывая социальные и климатогеографические особенности отдельных провинций внутри страны, необходимо составление региональных комплексных планов профилактики холеры. Следующим важным этапом профилактики холеры должна стать выработка тактики дифференцированного для различных административных территорий эпидемиологического надзора [7]. Для чего необходимо провести районирование территорий государств по эпидемиологическим проявлениям холеры. Согласно рекомендациям ВОЗ в государствах или регионах, где осуществление экстренных и текущих профилактических мероприятий в полном объеме по разным причинам затруднено, необходимо планировать и обязательно проводить вакцинацию населения против холеры.

Так, в рамках сотрудничества России и Гвинейской Республики по проблеме борьбы с опасными инфекционными болезнями, Национальному агентству санитарной безопасности Республики Гвинея передано в дар 5 тыс. доз вакцины холерной бивалентной химической, произведенной в Российском научно-исследовательском противочумном институте «Микроб» Роспотребнадзора.

Плановые профилактические противохолерные мероприятия должны иметь государственный характер и проводить их необходимо ежегодно в масштабе всей страны. Выполнение таких планов станет возможным только на основе улучшения общего медицинского обслуживания и обучения населения гигиеническим навыкам. В каждой стране

необходимо укрепление национальной лабораторной сети, специальное обучение медицинских кадров, создание госпитальной базы на случай эпидемических осложнений (холерные госпитали). В эндемичных по холере районах нужны особые меры, в том числе формирование центральных групп быстрого реагирования с использованием мобильных лабораторных комплексов.

Деятельность по предупреждению холеры в странах Африки должна быть непрерывной. Основу такой работы составляет обязательное взаимное информирование всех звеньев, участвующих в борьбе с холерой, для своевременного введения в действие всего комплекса мероприятий для обнаружения, локализации и ликвидации очагов опасной болезни.

Миграция населения — один из ведущих факторов развития эпидемий [5], поэтому важно предусмотреть возможность миграционных процессов в конкретных странах и возникновении политической нестабильности. Составление сезонных и долгосрочных прогнозов эпидемических проявлений холеры позволит более объективно планировать профилактические и противоэпидемические мероприятия в странах Африки и в случае ухудшения ситуации своевременно обращаться за помощью в международные организации.

Эффективной может быть и помощь отдельной страны. Наглядным примером этого стали результаты участия российских медиков в ликвидации эпидемии лихорадки Эбола в Гвинейской Республике [3].

Таким образом, возникновению и существованию стойких эндемичных очагов холеры на территории Африканского континента способствует совокупность таких факторов, как биологические свойства возбудителя, социальные и санитарно-гигиенические особенности, а также ряд других факторов, которые в большинстве своем не могут быть устранены усилиями только самих африканских государств и требуют участия международных организаций. Одной из первоочередных задач для обеспечения контроля за холерой и предотвращения вспышек заболевания является создание национальных систем эпидемиологического надзора и профилактики холеры и внедрение современных молекулярно-генетических методов диагностики, что позволит повысить эффективность противоэпидемических мероприятий. В этой связи необходимо продолжение разработки научных основ противохолерных мероприятий с учетом местных условий каждой страны и Африканского континента в целом, а также полученных в процессе мониторинга и молекулярно-генетических исследований новых данных об эпидемиологических особенностях современной холеры Эль Тор и ее возбудителя.

■ Список литературы

1. Буаро М.И., Константинов О.К., Бумбали С., Ришар Ж., Лама Н.Е. Холера в Гвинее: эпидемиология, меры борьбы и профилактики. *Инфекционные болезни*. 2016; 14 (1): 24–28.
2. Ганин В.С. По тропам эпидемических катастроф. *Иркутск: НЦРВХ СО РАМН*, 2011.
3. Ликвидация эпидемии Эбола в Гвинейской Республике: опыт работы специализированной противоэпидемической бригады Роспотребнадзора. Под ред. д-ра мед. наук, профессора А.Ю. Поповой; академик РАН, д-ра мед. наук, профессора В.В. Кутырева. М.: ООО «Творческий информационно-издательский центр», 2016: 354.
4. Марамович А.С., Пинигин А.Ф. Эндемичные очаги холеры в Африке. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*, 1995, 2 (Прил.): 101–108.
5. Москвитина Э.А., Горобец А.В., Прометной В.И. Эпидемиологическое значение миграции населения при холере. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2003; 1: 15–19.
6. Москвитина Э.А., Мазрухо А.Б., Адаменко О.Л., Кругликов В.Д. Холера в начале XXI века. Прогноз на глобальном уровне. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2012; 1 (111): 11–16.
7. Онищенко Г.Г., Москвитина Э.А., Кругликов В.Д., Титова С.В., Адаменко О.Л., Водопьянов А.С., Водопьянов С.О. Эпидемиологический надзор за холерой в России в период седьмой пандемии. *Вестник РАМН*, 2015; 2: 249–256.
8. Смирнова Н.И., Горяев А.А., Кутырев В.В. Эволюция генома возбудителя холеры в современный период. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*, 2010; 4: 11–19.

9. Холера в СССР в период VII пандемии. Под ред. В.И. Покровского. М.: Медицина, 2000: 472.
10. Adewale A.K., Pazhani G.P., Abiodun I.B., Afolabi O., Kolawole O.D., Mukhopadhyay A.K., Ramamurthy T. Unique clones of *Vibrio cholerae* O1 El Tor with haitian type ctxB allele implicated in the recent cholera epidemics from Nigeria, Africa. *PLoS ONE*. 2016; 11 (8): e0159794. doi: 10.1371/journal.pone.0159794
11. Cholera, 1999. *Wkly Epidem. Rec.* 2000; 75 (31): 249–256.
12. Cholera, 2000. *Wkly Epidem. Rec.* 2001; 76 (31): 233–240.
13. Cholera, 2001. *Wkly Epidem. Rec.* 2002; 77 (31): 257–268.
14. Cholera, 2002. *Wkly Epidem. Rec.* 2003; 78 (31): 269–276.
15. Cholera, 2003. *Wkly Epidem. Rec.* 2004; 79 (31): 281–288.
16. Cholera, 2004. *Wkly Epidem. Rec.* 2005; 80 (31): 261–268.
17. Cholera, 2005. *Wkly Epidem. Rec.* 2006; 81 (31): 297–308.
18. Cholera, 2006. *Wkly Epidem. Rec.* 2007; 82 (31): 273–284.
19. Cholera, 2007. *Wkly Epidem. Rec.* 2008; 83 (31): 269–284.
20. Cholera, 2008. *Wkly Epidem. Rec.* 2009; 84 (31): 309–324.
21. Cholera, 2009. *Wkly Epidem. Rec.* 2010; 85 (31): 293–308.
22. Cholera, 2010. *Wkly Epidem. Rec.* 2011; 86 (31): 325–340.
23. Cholera, 2011. *Wkly Epidem. Rec.* 2012; 87 (31–32): 289–304.
24. Cholera, 2012. *Wkly Epidem. Rec.* 2013; 88 (31): 321–336.
25. Cholera, 2013. *Wkly Epidem. Rec.* 2014; 89 (31): 345–356.
26. Cholera, 2014. *Wkly Epidem. Rec.* 2015; 90 (40): 517–544.
27. Cholera, 2015. *Wkly Epidem. Rec.* 2016; 91 (38): 433–440.
28. Dalsgaard A., Forslund A., Sandvang D., Arntzen L., Keddy K. *Vibrio cholerae* O1 outbreak isolates in Mozambique and South Africa in 1998 are multiple-drug resistant, contain the SXT element and the aad2 gene located on class 1 integrons. *J. Antimicrob. Chemother.* 2001; 48: 827–838. doi: 10.1093/jac/48.6.827
29. Faruque S.M., Nair G.B. *Vibrio cholerae* genomics and molecular biology. UK, Norfolk: Caister Academic Press, 2008: 218.
30. Echenberg M.J. Africa in the time of cholera. New York: Cambridge University Press, 2011: 208.
31. Emch M., Feldacker C., Islam M.S., Ali M. Seasonality of cholera from 1974 to 2005: a review of global patterns. *Int. J. Health Geogr.* 2008; 20 (7): 31. doi: 10.1186/1476-072X-7-31
32. Harris J.B., LaRocque R.C., Chowdhury F., Khan A.I., Logvinenko T., Faruque A.S.G., Ryan E.T., Qadri F., Calderwood S.B. Susceptibility to *Vibrio cholerae* infection in a cohort of household contacts of patients with cholera in Bangladesh. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2008; 2 (4): e221. doi: 10.1371/journal.pntd.0000221
33. Ismail H., Smith A.M., Tau N.P., Sooka A., Keddy K.H. Cholera outbreak in South Africa, 2008–2009: laboratory analysis of *Vibrio cholerae* O1 strains. *J. Infect. Dis.* 2013; 208: 39–45. doi: 10.1093/infdis/jit200
34. Kaas R.S., Ngandjio A., Nzouankeu A., Siriphap A., Fonkoua M.-C., Aarestrup F.M., Hendriksen R.S. The Lake Chad basin, an isolated and persistent reservoir of *Vibrio cholerae* O1: a genomic insight into the outbreak in Cameroon, 2010. *PLoS ONE*. 2016; 11 (5): e0155691. doi: 10.1371/journal.pone.0155691
35. Langa J.P., Sema C., Deus N.D., Colombo M.M., Taviani E. Epidemic waves of cholera in the last two decades in Mozambique. *J. Infect. Dev. Ctries.* 2015; 9 (6): 635–641. doi: 10.3855/jidc.6943
36. Lan R., Reeves P.R. Pandemic spread of cholera: genetic diversity and relationships within the seventh pandemic clone of *Vibrio cholerae* determined by amplified fragment length polymorphism. *Clin. Microbiol. J.* 2002; 40 (1): 172–181. doi: 10.1128/JCM.40.1.172–181.2002
37. Nair G. Cholera outbreaks. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2014; 379: 1–259.
38. Nkoko D.B., Giraudoux P., Plisnier P.-D., Tinda A.M., Piarroux M., Sudre B., Horion S., Muyembe Tamfum J.-J., Ilunga B.K., Piarroux R. Dynamics of cholera outbreaks in Great Lakes region of Africa, 1978–2008. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17 (11): 2026–2034. doi: http://dx.doi.org/10.3201/eid1711.110170
39. Opintan J.A., Newman M.J., Nsia-Poodoh O.A., Okeke I.N. *Vibrio cholerae* O1 from Accra, Ghana carrying a class 2 integron and the SXT element. *J. Antimicrob. Chemother.* 2008; 62: 929–933. doi: 10.1093/jac/dkn334
40. Pugliese N., Maimone F., Scarsia M., Materu S.F., Pazzani C. SXT-related integrating conjugative element and IncC plasmids in *Vibrio cholerae* O1 strains in Eastern in Eastern Africa. *J. Antimicrob. Chemother.* 2009; 63: 438–442. doi: 10.1093/jac/dkn542
41. Rebaudet S., Sudre B., Faucher B., Piarroux R. Environmental determinants of cholera outbreaks in inland Africa: a systematic review of its main transmission foci and propagation routes. *J. Infect. Dis.* 2013; 1 (208): 46–54. doi: 10.1093/infdis/jit195
42. Rebaudet S., Mengel M.A., Koivogui L., Moore S., Mutreja A., Kande Y., Yattara O., Keita V.S., Njanpop-Lafourcade B.-M., Fournier P.-E., Garnotel E., Keita S., Piarroux R. Deciphering the origin of the 2012 cholera epidemic in Guinea by integrating epidemiological and molecular analyses. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2014; 8 (6): 1–10. doi: 10.1371/journal.pntd.0002898

43. Scarscia M., Pugliese N., Maimone F., Mohamud K.A., Ali I.A., Grimont P.A., Pazzani C. Cholera in Ethiopia in the 1990s: epidemiologic patterns, clonal analysis, and antimicrobial resistance. *Int. J. Med. Microbiol.* 2009; 299 (5): 367–372. doi: 10.1016/j.ijmm.2008.10.004
44. Swerdlow D.L., Isaacson M. Epidemiology of cholera in Africa. In: I.R. Wachsmuth, P.A. Blake, O. Olsvik (eds.), *Vibrio cholerae and cholera: molecular to global perspectives. Washington, D.C.: ASM Press, 1994: 297–307.*
45. Trærup S.L., Ortiz R.A., Markandya A. The costs of climate change: a study of cholera in Tanzania. *Int. J. Environ. Res. Public. Health.* 2011; 8 (12): 4386–4405. doi: 10.3390/ijerph8124386
46. WHO report on global surveillance of epidemic-prone infectious diseases. WHO/CDS/CSR/ISR/2000/1. URL: http://www.who.int/csr/resources/publications/surveillance/WHO_CDS_CSR_ISR_2000_1/en

Молекулярно-генетические свойства штаммов *Vibrio cholerae* биовара Эль Тор, циркулирующих на Африканском континенте

Н.Б. Челдышова, Н.И. Смирнова, С.П. Заднова, Я.М. Краснов,
А.А. Крицкий, М.И. Буаро, В.В. Кутырев

Холера, острая диарейная болезнь, вызываемая штаммами *Vibrio cholerae*, продолжает оставаться приоритетной проблемой мирового здравоохранения [8, 21, 25]. Семь известных пандемий холеры были вызваны штаммами *V. cholerae* O1 серогруппы, имеющими две хромосомы и относящимися к двум разным биоварам, классическому и Эль Тор, которые различаются между собой по фено- и генотипическим свойствам. *V. cholerae* классического биовара был возбудителем первых шести пандемий азиатской холеры (1817–1923 гг.), тогда как последняя, седьмая, начавшаяся в 1961 г. и продолжающаяся до сих пор, вызвана *V. cholerae* биовара Эль Тор [7, 25]. К ключевым факторам патогенности, абсолютно необходимым для развития холерной инфекции, относятся токсин-корегулируемые пили адгезии (ТКПА) и холерный токсин (ХТ), которые соответственно определяют колонизацию вибрионами тонкого кишечника и профузную диарею — основной клинический симптом при холере. На протяжении текущей пандемии возбудитель холеры в течение более 50 лет претерпевал различные генетические изменения, наиболее значимые из которых затронули ключевые гены патогенности, пандемичности и антибиотикорезистентности [7, 43, 48]. Вследствие накопленных в процессе эволюции изменений генома эпидемически опасные штаммы *V. cholerae* биовара Эль Тор были разделены на две основные группы. В первую группу входят типичные штаммы, вызвавшие седьмую пандемию холеры и доминировавшие на всех континентах до 1991 г., во вторую — атипичные или генетически измененные (геноварианты), впервые появившиеся в 1991 г. [6, 36]. Секвенирование полных геномов типичных штаммов и их вариантов выявило существенные молекулярно-биологические различия между ними. Так, отличительной особенностью геновариантов является присутствие в их профаге СТХф другого аллеля гена *ctxB*, кодирующего В-субъединицу ХТ, а именно с *ctxB1*. Этот аллель, характерный для *V. cholerae* классического биовара, отличается от аллеля *ctxB3* типичных штаммов наличием однонуклеотидных замен цитозина на тимин (С/Т) в двух позициях — 115 и 203 [7, 27, 36]. Кроме того, у ряда геновариантов претерпел изменения также и ген *tcpA*, локализованный на острове патогенности (ОП) VPI-1 и отвечающий за синтез основной субъединицы ТКПА. Для такого гена, обозначенного как *tcpA^{crs}*, характерна замена аденина на гуанин (А/Г) в позиции 266 [28]. Изменения в геноме геновариантов коснулись также и острова пандемичности VSP-II, который у большинства современных штаммов имеет делецию от 2 до 20 генов [14, 48]. Указанные особенности геновариантов обусловили их гипервирулентность [45]. Показано, что в период седьмой пандемии глобальное распространение холеры происходило из Бангладеш в виде трех независимых, но перекрывающихся по времени волн, для каждой из которых структура генома возбудителя имела ряд особенностей [33].

В настоящее время одним из наиболее пораженных холерой континентов является Африка, где ежегодно заболевает холерой более 50–60 тыс. человек [8, 21]. В последние годы возросшая миграция населения из эндемичных по холере регионов Африки определяют реальную возможность заноса инфекции из этого континента в другие страны мира, включая Россию. Складывающаяся ситуация послужила основанием для молекулярно-биологического анализа штаммов *V. cholerae*, вызвавших эпидемии холеры в Афри-

ке в современный период, а также о путях их распространения. В настоящем обзоре будут кратко представлены данные о холере в Африке, а также на основании литературных и собственных данных будет проведен анализ структуры генома циркулирующих на этом континенте штаммов возбудителя и показаны их филогенетические связи.

■ Эпидемии холеры в Африке

Эпидемиологические расследования позволяют говорить о том, что впервые возбудитель холеры Эль Тор был занесен в Африку в 1970 г. из стран Юго-Восточной Азии [1, 4, 31]. В целом по данным ВОЗ в течение 11 лет (с 1970 по 1980 гг.) холера была зарегистрирована в 36 из 54 стран Африки, количество заболевших холерой составило 5% от мирового уровня. Этот процесс сопровождался формированием вторичных эндемичных очагов холеры, где возбудитель присутствовал постоянно, обычно в поверхностных водоемах. Вместе с тем происходили и заносы возбудителя из других континентов. Такая ситуация привела к тому, что с 1981 г. Африка становится самым пораженным холерой континентом в мире [4].

В 1991 г. в мире отмечался новый подъем заболеваемости холерой, которая в Африке в 1991–2000 гг. выросла в 4 и в 7,5 раз по сравнению с 1971–1980 и 1981–1990 гг. соответственно. В следующее десятилетие, с 2001 по 2010 гг., на фоне мирового снижения уровня заболеваемости холерой на Африканском континенте количество среднегодовых случаев холеры возрастает до 155 263, а среднее количество стран, поражаемых холерой ежегодно, — до 30. Наиболее пораженными оказались такие страны, как Ангола, Эфиопия, Судан, ДРК и Танзания [5, 16–20]. Особо важно, что подъем заболеваемости был в значительной мере связан с появлением на континенте новых вариантов возбудителя с повышенной патогенностью. В современный период эпидемиологическая обстановка на Африканском континенте остается крайне неблагоприятной [9, 24, 29]. Несмотря на отмеченную тенденцию снижения в динамике заболеваемости холерой на континенте, в ВОЗ продолжают поступать тревожные сообщения об эпидемиях и крупных вспышках. Так, в 2010–2015 гг. эпидемии холеры были зарегистрированы в Нигерии, Камеруне, Сьерра-Леоне, Гвинейской Республике, Танзании, Южном Судане [8, 21]. 2016 год не стал исключением. К его четвертому кварталу только в Западной и Центральной Африке эпидемические вспышки холеры были выявлены в 19 странах [49]. Из всех африканских стран, пораженных холерой, наибольший интерес для нас представляет Гвинейская Республика, расположенная в Западной Африке, с которой проводятся совместные исследования в области изучения эпидемиологии и молекулярного мониторинга бактериальных и вирусных инфекций. Первая вспышка холеры в этой стране была зарегистрирована в 1970 г. На протяжении последующих пяти вспышек (1978, 1986, 1994, 1995 и 1998 гг.) было выявлено более 58 тыс. больных [1]. И, начиная с 2002 г., вспышки холеры происходят практически регулярно, что явилось основанием говорить о формировании эндемичного очага на этой территории. Вместе с тем в 1994 и 2012 гг. были официально зарегистрированы и заносы холерного вибриона на территорию Гвинейской Республики [1, 11, 41]. Таким образом, возбудитель холеры Эль Тор, проникнув в Африку в 1970 г. стремительно распространился по ее территории и к 2012 г. сформировались вторичные эндемичные очаги холеры, что создает реальные условия для распространения этой особо опасной инфекции не только на Африканском континенте, но и за его пределами.

■ Молекулярно-генетический анализ штаммов возбудителя холеры

Известно, что проявление эпидемического процесса зависит не только от социальных и природно-экологических условий, но и от биологических свойств популяции возбудителя. Это и определило необходимость анализа данных о молекулярно-генетических свойствах штаммов, циркулирующих на Африканском континенте. Как уже отмечалось, проникновение холеры на Африканский континент в 1970 г. произошло сразу в несколько территориально отдаленных друг от друга регионов. Однако сведения о структуре гено-

мов возбудителей отсутствуют. Можно лишь предполагать, что они относились к типичным штаммам возбудителя холеры Эль Тор, которые с первой волной седьмой пандемии (1970–1989 гг.) достаточно быстро распространились по всей Африке, включая ее южную и центральную части [33].

Результаты нашего анализа секвенированных полных геномов штаммов, выделенных в Кении (штамм RS9, 1985 г.; номер доступа в NCBI GeneBank ACHX01000000), Анголе (штамм A5, 1989 г.; NZ_CWSE00000000) и Мозамбике (штаммы A152, A154, A155, 1991 г.; NZ_CWOB00000000, NZ_CWNX00000000, CWOE00000000), подтвердили их принадлежность к типичным. Было установлено, что по составу мобильных элементов, несущих ключевые гены патогенности и пандемичности, и их структуре эти штаммы практически не отличались от референтного штамма *V. cholerae* биовара Эль Тор N16961, изолированного в Бангладеш в 1975 г. (рис. 1а). В геноме этих штаммов присутствовали профаги вирулентности TLCφ, CTXφ^{Eltor} с генами *ctxB3*, *rstR*^{Eltor} и RS1φ, а также острова патогенности (VPI-1 и VPI-2) и пандемичности (VSP-I и VSP-II), характерные для вибрионов Эль Тор, вызвавших первые эпидемии холеры в Индии и Бангладеш. Вместе с тем была выявлена генетическая изменчивость указанных штаммов, которая состояла в появлении у ряда изолятов генов резистентности к лекарственным препаратам. Так, в геноме изолятов из Анголы (1989 г.) присутствовал ген резистентности к ампициллину, а штаммы из Кении (1985 г.) несли гены устойчивости к стрептомицину, ампициллину и тетрациклину [12, 30].

Особый интерес для нас представляли штаммы, выделенные в этот же временной период в Гвинейской Республике. Проведенный нами молекулярно-генетический анализ семи штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, изолированных от больных и из объектов внешней среды в 1986 г. в Гвинее и хранящихся в Государственной коллекции патогенных бактерий при РосНИПЧИ «Микроб», показал, что указанные изоляты также относились к типичным штаммам возбудителя холеры Эль Тор. Согласно данным ПЦР-анализа и фрагментарного секвенирования, в состав профага CTXφ и ОП VPI-1 входили ключевые гены патогенности, характерные для типичных штаммов, а именно, гены *ctxB3* и *rstR*^{Eltor} (профаг CTXφ^{Eltor}), а также ген *tcpA*^{Eltor} (ОП VPI-1) (табл. 1). Последующее секвенирование нами полного генома одного из них (G33) и анализ полученных данных подтвердили присутствие в геноме всех профагов, связанных с вирулентностью (TLCφ, CTXφ^{Eltor} с генами *ctxB3*, *rstR*^{Eltor} и RS1φ), и ОП с генами типичных штаммов возбудителя (VPI-1 с геном *tcpA*^{Eltor} и VPI-2). Геном

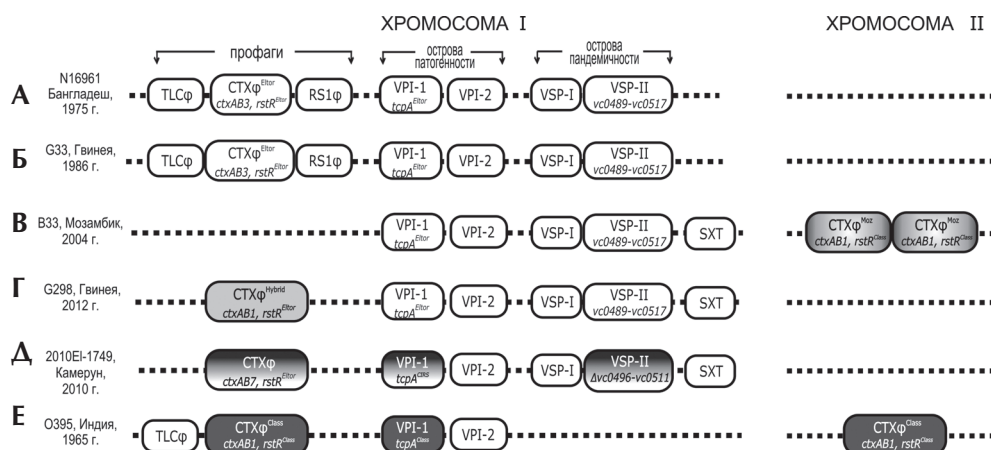


Рисунок 1. Схематическое изображение структуры генома различных штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор, выделенных в Африке (Б–Д), а также референтных штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор N16961 (А) и *V. cholerae* классического биовара O395 (Е)

Таблица 1. Результаты ПЦР-анализа и фрагментарного секвенирования эпидемических штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор, выделенных на территории Гвинеи в 1986 г.

Штаммы	Источник	СТХф		RS1ф	VPI-1			VPI-2		
		<i>ctxA</i>	<i>ctxB3</i>	<i>rstC</i>	<i>tcpA^{El}</i>	<i>mop</i>	<i>toxT</i>	<i>nanH</i>	<i>hel1760</i>	<i>rep1803</i>
G25	больной, Конакри	+	+	+	+	+	+	+	+	+
G33	больной, Форекария	+	+	+	+	+	+	+	+	+
G99	вода, Молота	+	+	+	+	+	+	+	+	+
G113	больной, Киндия	+	+	+	+	+	+	+	+	+
G121	больной, Киндия	+	+	+	+	+	+	+	+	+
G190	вода, Киндия	+	+	+	+	+	+	+	+	+
G317	больной, Киндия	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M818*	больной, Астрахань, 1972	+	+	+	+	+	+	+	+	+
569B*	больной, Индия, 1950	+	<i>ctxB1</i>	–	<i>tcpA^{class}</i>	+	+	+	+	+

Примечание: * штаммы *V. cholerae* M818 биовара Эль Тор и 569B классического биовара взяты в качестве положительных контролей.

также содержал два интактных острова пандемичности — VSP-I и VSP-II (рис. 1Б). Таким образом, полученные нами данные показывают, что на протяжении почти 20 лет с 1970 по 1991 гг. на Африканском континенте циркулировали типичные штаммы *V. cholerae* биовара Эль Тор, возникшие в Юго-Восточной Азии и занесенные оттуда в Африку с первой волной седьмой пандемии холеры [33].

Тем временем в процессе микроэволюции на территории Бангладеш в 90-х гг. прошлого столетия возникают новые варианты возбудителя, несущие мутации в мобильных элементах, связанных с патогенностью и пандемичностью. Характерной особенностью этих вариантов стало появление в их геноме измененного профага СТХф. Сформировались клоны либо с профагом СТХф^{class} холерных классических вибрионов, либо с гибридным профагом СТХф^{hybr}, содержащим новый аллельный вариант гена *ctxB*, а именно *ctxB1*, характерный для *V. cholerae* классического биовара, но сохранившим ген *rstE^{Elor}*, присущий типичным вибрионам Эль Тор [7, 36]. Более того, в результате генетической изменчивости к 2002–2003 гг. в этом же регионе формируется еще один новый вариант возбудителя. Возникают клоны, у которых в профаге СТХф выявляется ранее неизвестный аллельный вариант гена *ctxB* — *ctxB7*, который отличается от аллеля *ctxB1* дополнительной мутацией — заменой С на А в позиции 58. К тому же возникают генетические изменения в острове патогенности VPI-1 и острове пандемичности VSP-I [6, 43, 48]. Глобальное распространение таких измененных штаммов с усиленной вирулентностью и высоким пандемическим потенциалом происходило со второй и третьей волной седьмой пандемии [33].

Вполне закономерно, что важным последствием таких событий стало появление в Африке новых вариантов возбудителя холеры Эль Тор. Согласно недавним исследованиям, впервые атипичные штаммы были занесены из Бангладеш в Мозамбик и Зимбабве в 1997–1998 гг., хотя ранее считали, что они появились в первой из этих стран лишь в 2004 г. [33]. В результате секвенирования полного генома одного из них, изолированного в 2004 г. в Мозамбике (B33, номер доступа NZ_ACHZ00000000), обнаружили выраженные генетические отличия его от типичных. Оказалось, что он нес на малой хромосоме два профага СТХф с генами *rstR^{class}* и *ctxB1*, присущими возбудителю холеры классического биовара (рис. 1Е). Последовательность гена *rstA*, входящая в состав профага, была также идентична таковой классических вибрионов примерно на 30%. В то же время, остальная часть генома профага СТХф этих штаммов не отличалась от нуклеотидной последовательности СТХф^{Elor}. Вследствие такой мозаичной структуры эти профаги были обозначены как СТХф^{Moz} [15, 26]. Кроме того, в их хромосоме отсутствовали профаги TLСф и RS1ф. К тому же в их геноме появился новый мобильный элемент — интегративный конъюгативный

элемент, относящийся к SXT/R391 семейству, который определяет резистентность к нескольким лекарственным препаратам (рис. 1В) [22]. Такие штаммы выявлялись и на территории других стран Африки вплоть до 2008 г. [25]. Так, по данным секвенирования одного из штаммов из ЮАР (G4222, 2001 г., NZ_ANNBO1000000) эти изоляты также содержали в своем геноме профаги CTXφ^{Moz}, имеющие мозаичную структуру, и SXT-элемент, тогда как профаги TLCφ и RS1φ отсутствовали. Таким образом, представленные результаты говорят о том, что возникшие в процессе микроэволюции новые варианты возбудителя холеры с измененным геномом профага CTXφ и лекарственной устойчивостью не только проникли на Африканский континент, но и адаптировались к новым условиям окружающей среды, став причиной многочисленных эпидемий.

Более глобальные масштабы приобретает распространение штаммов, в геноме которых присутствует гибридный профаг CTXφ^{Hybr}. Как указано выше, этот профаг несет аллель *ctxB1*, характерный для классических вибрионов, но, в отличие от мозамбикских, в его геноме сохраняется ген *rstR*^{Eltor} вибрионов Эль Тор (*rstR*^{Eltor}/*ctxB1*). В то же время структура островов патогенности (VPI-1 и VPI-2) и пандемичности (VSP-I и VSP-II) была практически идентична или имела высокую степень гомологии с таковыми типичных штаммов. В настоящее время практически все выделяемые в Африке штаммы являются геновариантами с гибридным профагом, о чем свидетельствуют результаты анализа полнотных нуклеотидных последовательностей штаммов, выделенных в Зимбабве в 2003 г. (ALDC00000000), Замбии в 2004 г. (ALDD01000000, NZ_ALDE00000000), Джибути в 2007 г. (CWQD01000000, CWPZ01000000, CWQA01000000), Танзании в 2009 г. (NZ_CWRV00000000), ЮАР в 2009 г. (NZ_AHGJ00000000), Кении в 2005, 2007 и 2009 г., а также литературные данные [35, 44]. Большинство из указанных штаммов несут те или иные мобильные элементы с генами антибиотикорезистентности. К этой же группе относятся и атипичные штаммы, вызвавшие эпидемию холеры в 2012 г. на территории Гвинейской Республики (рис. 1Г). Основанием для такого утверждения служат данные, полученные французскими исследователями при полногеномном секвенировании одного из них — G298 (номер доступа CDQI00000000). Установлено, что указанный штамм нес в своем геноме одну копию профага CTXφ^{Hybr}, локализованного на 1-й хромосоме, но у него не были найдены профаги TLCφ и RS1φ. Присутствующие острова патогенности (VPI-1 и VPI-2) и пандемичности (VSP-I и VSP-II) в целом были идентичны таковым типичных штаммов. В геноме этого штамма имелся также SXT-элемент, несущий гены резистентности к сульфаметоксазолу/триметоприму, стрептомицину и хлорамфениколу [41].

Следует особо отметить обнаружение в Африке и других вариантов возбудителя, сформированных в Бангладеш в более поздний период. В 2009–2010 гг. в Нигерии и Камеруне (Западная Африка) были выявлены штаммы, содержащие профаг CTXφ^{Hybr}, несущий новую аллель гена *ctxB* — *ctxB7*, который, в отличие от аллеля *ctxB1*, несет дополнительную замену C/A в позиции 58 [38]. Анализ нуклеотидной последовательности одного из таких штаммов (NZ_AHGC00000000), выделенного в Камеруне в 2010 г., подтвердил наличие профага CTXφ^{Hybr} (*rstR*^{Eltor}/*ctxB7*). К тому же была изменена нуклеотидная последовательность и второго ключевого гена патогенности, входящего в состав VPI-1, — гена *tcpA*, у которого в позиции 266 аденин был заменен на гуанин (A/G). Кроме того, у острова пандемичности VSP-II отсутствовал протяженный участок, захватывающий гены *vc0496*–*vc0512* (рис. 1Д). Таким образом, в течение почти 46 лет на Африканском континенте эпидемии холеры были вызваны генетически разнообразными штаммами возбудителя — как типичными, так и его новыми вариантами с измененной структурой ключевых генов патогенности, обусловившей усиление их патогенности. Именно такие варианты возбудителя уже к 2003–2004 гг. практически полностью вытеснили типичные штаммы, обусловив повышение среднегодового уровня заболеваемости холерой и среднегодового количества стран, поражаемых холерой (рис. 2Б).

Помимо изучения структуры генома выделенных штаммов, многие исследователи проводили молекулярное типирование для выявления их филогенетических связей и происхождения. Проведение риботипирования, пульс-гельэлектрофореза (PFGE), MLVA-и SNP-типирования, изучение полиморфизма длин амплифицированных фрагментов (AFLP) показало, что холера на Африканском континенте появилась в результате заноса из Бангладеш и Индии [10, 23, 47]. Так, на основе анализа AFLP, полученных при исследовании штаммов, выделенных в 1970 г. в разных регионах, было подтверждено не менее трех независимых заносов холеры на территорию Западной, Восточной и Северной Африки [31]. Филогенетический анализ методом MLVA 38 клинических штаммов, изолированных во время с эпидемии холеры в Гвинее в 2012 г., показал, что все исследуемые штаммы имеют существенное генетическое сходство, что указывает на общее происхождение от одного клона [41]. SNP-типирование 198 штаммов из различных стран Юго-Восточной Азии, Южной Америки и Африки, включая один изолят (G298) из Гвинейской Республики (2012 г.), позволило выявить несколько основных групп штаммов, выделенных в период седьмой пандемии и имеющих генетические различия друг от друга. Вместе с тем было установлено, что геном гвинейского штамма G298, относящийся к группе атипичных штаммов третьей волны седьмой пандемии, имел четкие генетические отличия от всех других изученных атипичных штаммов, циркулирующих в Мозамбике (2004–2005 гг.), Кении (2005–2010 гг.), ДРК (2008–2013 гг.), Замбии (2012 г.). На этом основании штамм был выделен в отдельный кластер [41]. Наиболее филогенетически близким к нему оказался штамм, выделенный в 1994 г. в Бангладеш. Кроме того полученные результаты указывали на занос этого штамма из соседней страны — Сьерра-Леоне [28]. Следует также особо отметить результаты SNP-типирования одного из штаммов, изолированных в 2010 г. в Камеруне, который нес ряд дополнительных мутаций, указанных выше. Оказалось, что этот штамм был генетически близок штаммам из Индии (2009 г.) и из Гаити (2010), которые также имели новые мутации в ключевых генах патогенности [42].

Для выяснения происхождения представленных выше типичных штаммов возбудителя и его вариантов, выделенных в разные временные периоды в различных странах Африки, мы также провели их молекулярное типирование методом SNP-анализа. Изучено 30 штаммов, вызвавших эпидемии в Африке (1985–2012 гг.), и 23 штамма, изолированных на эндемичных по холере территориях в Индии (1977–2004 гг.) и Бангладеш (1975–2001 гг.). При сравнении нуклеотидных последовательностей полных геномов 53 указанных штаммов с референтной последовательностью *V. cholerae* биовара Эль Тор N16961, при использовании программного обеспечения «Wombac» 2.0, было обнаружено 979 одинаковых нуклеотидных замен, или SNPs, в 704 коровых ортологичных генах, расположенных на обеих хромосомах. На основе их анализа было построено филогенетическое дерево, отражающее генетическое родство штаммов, которое четко разделено на четыре основных кластера, которые различаются между собой в среднем по 96 SNPs (рис. 2А). В первый входят все изученные типичные штаммы. Из них пять штаммов были выделены в Африке (Кения, 1985 г.; Ангола, 1989 г.; Мозамбик, 1991 г.), а восемь изолятов — в Индии (1977–1980 гг.) и Бангладеш (1975–1980 гг.). Особо важно присутствие в данной группе референтного штамма N16961 из Бангладеш (1975 г.), который имеет значительное количество общих единичных замен с африканскими штаммами, отличаясь от них на 52–88 SNPs. Эти данные могут указывать на то, что эпидемические осложнения по холере в Африке, по крайней мере, в 1985–1991 гг., были результатом заноса типичного пандемического клона с эндемичных территорий Бангладеш и Индии с первой волной пандемии (рис. 2А, 1). Второй кластер представлен генетически измененными штаммами из Мозамбика (2004–2005 гг.) и Южной Африки (2001 г.), несущими описанный выше особый тип профага СТХφ (СТХφMoz), а также из Бангладеш (1991–1994 гг.) и Индии (1991 г.), являющимися первыми возникшими вариантами возбудителя и названными матлабскими [36]. Отличия этих аф-

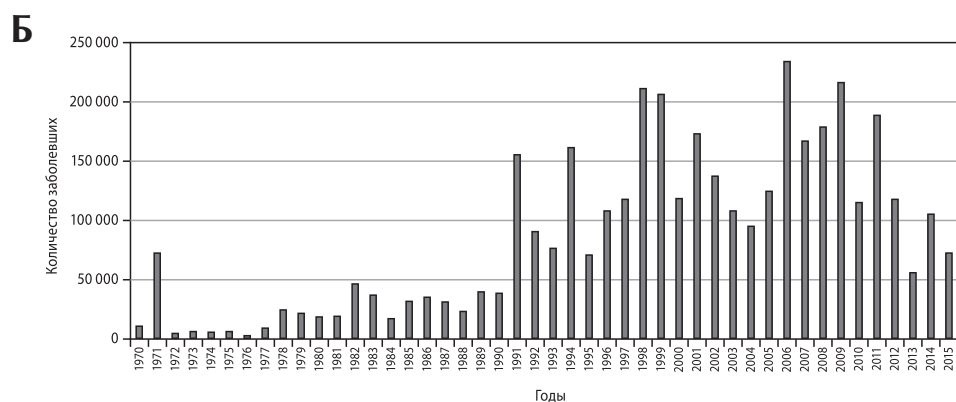
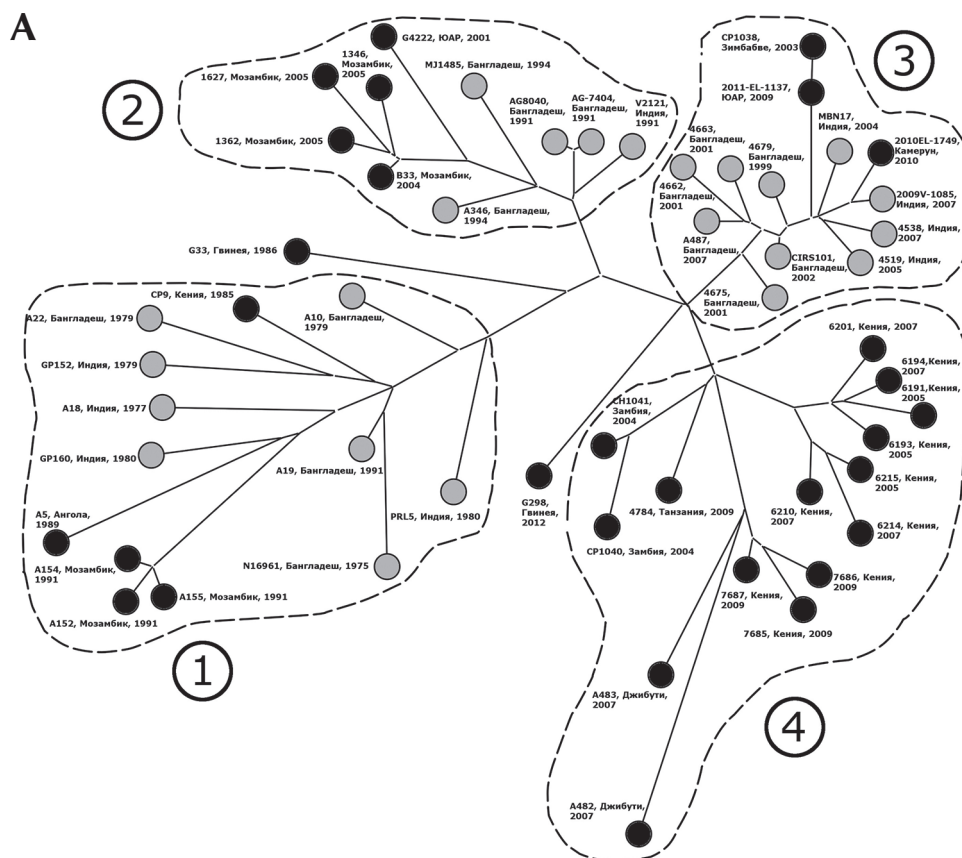


Рисунок 2. Филогенетическое дерево штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор, выделенных в различных странах Африки и Юго-Восточной Азии в период седьмой пандемии (А), и количество случаев заболевания холерой, зарегистрированных на Африканском континенте за период с 1970 по 2015 гг. (Б)

Филогенетическое дерево, построенное на основе полногеномного SNP-анализа (программа BioNumerics v. 7.6. Метод — Maximum parsimony tree), включает геномы штаммов, выделенных в Африке (черные кружки), а также в Юго-Восточной Азии (белые кружки). В качестве референтного штамма *V. cholerae* биовара Эль Тор использован штамм N16961 (Бангладеш, 1975).

риканских штаммов от референтного были более значимы (109–122 SNPs), тогда как от изолятов из Юго-Восточной Азии из этой группы они различались лишь на 38–51 SNPs. Это означает, что они появились в указанных странах Африки в результате заноса и являются, видимо, производными варианта, вызвавшего эпидемию холеры в Бангладеш в 1994 г. (рис. 2А, 2).

В третий кластер входят штаммы из Зимбабве (2003 г.), ЮАР (2009 г.) и Камеруна (2010 г.), а также из Индии (2005–2007 гг.) и Бангладеш (1999–2007 гг.). Все штаммы этой группы были геновариантами, тем не менее, они различались между собой. Среди трех африканских изолятов один штамм (Камерун, 2010 г.) по структуре генома не отличался от штамма CIRS101 (Бангладеш, 2002 г.) и нес в профаге СТХфHybr новую аллель гена *ctxB* (*ctxB7*). Два других изолята несли в геноме профаг СТХфHybr с аллелем *ctxB1*. От референтного африканские штаммы отличались на большее число SNPs (120–127 SNPs) по сравнению с таковыми из двух первых кластеров. Вместе с тем эти штаммы различались от азиатских штаммов этой группы лишь на 10–44 SNPs. Эти данные позволяют говорить о том, что штаммы из Африки (с аллелем *ctxB1* либо *ctxB7*) были занесены на этот континент также из Юго-Восточной Азии со второй и третьей волной пандемии (рис. 2А, 3). Четвертый кластер был сформирован исключительно из штаммов, выделенных в Южной и Восточной Африке: в Замбии (2004 г.), Кении (2005–2009 гг.), Джибути (2007 г.) и Танзании (2009 г.). Несмотря на то, что эти штаммы также относились к геновариантам возбудителя, их отличия как от референтного штамма, так и от штаммов, вошедших в третью группу, оказались наиболее значимыми и составили 118–166 и 50–133 SNPs соответственно (рис. 2А, 4). Следует отметить, что территории Замбии, Кении и Танзании являются вторичными эндемичными очагами холеры и расположены в районе Великих Африканских озер, являющихся естественным резервуаром холерного вибриона [38]. Это обстоятельство, а также отсутствие в этой группе азиатских штаммов позволяет предположить, что эпидемии холеры в этих странах были связаны не с завозом штаммов из Юго-Восточной Азии. Вполне возможно, что эпидемические осложнения были вызваны штаммами, которые уже длительное время циркулируют на территории Африканского континента.

Что касается двух штаммов, выделенных в Гвинейской Республике в 1986 и 2012 гг., то они сформировали отдельные кластеры (см. рис. 2А). Несмотря на то, что штамм G33 (1986 г.) является типичным, его геном различался с референтным типичным штаммом по 101 SNPs, а от всех других типичных африканских штаммов первого кластера отличия составляли 128–132 SNPs. Более того было обнаружено 42 уникальных SNPs, отличающих его от всех остальных анализируемых геномов. Это может говорить о том, что указанный штамм, видимо, длительное время циркулировал в Западной Африке и приобрел под влиянием различных природных факторов значительные генетические отличия от других сравниваемых штаммов. Второй штамм G298 (2012 г.), содержащий профаг СТХфHybr (рис. 1Г), различался от африканских штаммов с тем же профагом, но входящими в 3-й или 4-й кластеры, на 75–82 и 66–121 SNPs соответственно, и содержал 34 уникальных SNPs, отличающих его от всех остальных изучаемых геномов. Это послужило основанием для выделения его в отдельный кластер, что полностью совпадает с данными французских исследователей [41]. Таким образом, эпидемии холеры на территории Африки в разные временные периоды были вызваны генетически различными штаммами, включающими как типичные штаммы возбудителя, так и его разные варианты, возникшие в Юго-Восточной Азии. На основе SNP-типирования 53 штаммов выделено четыре основных генетически обособленных кластера. Штаммы, входящие в них, были либо занесены на этот континент, либо циркулируют в сформированных эндемичных очагах, локализованных на территории ряда стран Африки.

■ Устойчивость штаммов *V. cholerae* к антибиотикам

Особый интерес представляет вопрос об устойчивости штаммов, выделенных в Африке, к лекарственным препаратам, поскольку возникновение и распространение таких штаммов является одной из наиболее важных проблем в современном здравоохранении. Несмотря на то, что резистентность к антибиотикам не является фактором вирулентности, она играет важную роль в персистенции и диссеминации патогенных штаммов *V. cholerae*. Первые сообщения о выявлении в Африке штаммов *V. cholerae* с множественной устойчивостью (к трем и более антибиотикам) относятся к типичным штаммам, выделенным в Кении в 1982–1985 гг. [30]. В последующие годы появление таких штаммов было зарегистрировано практически во всех странах континента. Как известно, в распространении генов лекарственной устойчивости участвуют различные мобильные элементы: интегрированные конъюгативные элементы, плазмиды, транспозоны, интегроны с генными кассетами и т. д. [2, 3, 34]. В штаммах *V. cholerae*, выделяемых на Африканском континенте, встречаются многие из них. Так, гены устойчивости одновременно к четырем лекарственным препаратам — сульфаметоксазолу (*sulII*), триметоприму (*dfr*), хлорамфениколу (*floR*) и стрептомицину (*strB*) входят в состав SXT — генетического элемента [34], который выявлен в геновариантах возбудителя, изолированных во многих странах Южной и Восточной Африки, начиная с 1994 г. [22, 30, 34]. Наряду с SXT-элементом в некоторых штаммах было обнаружено присутствие интегров 1-го или 2-го класса (ЮАР, Мозамбик, Танзания, 1997–1998 гг., Гана, 2006) [22, 29, 39]. Вместе с тем в клетках штаммов, изолированных в 1994–1996 гг. в Эфиопии и Сомали, была выявлена IncC плазида, кодирующая резистентность к триметоприму, ампицилину, хлорамфениколу, стрептомицину и сульфаметоксазолу [40, 46]. Таким образом, в настоящее время в странах Африки циркулируют генетически измененные штаммы *V. cholerae* биовара Эль Тор, характеризующиеся множественной лекарственной устойчивостью, связанной с присутствием либо SXT-элемента, либо конъюгативных плазмид и интегров [37, 44]. Необходимо отметить появление в последние годы (2008–2012 гг.) новых вариантов возбудителя, несущих мутации (однонуклеотидные замены) в хромосомных генах *gyrA* и *parC*, кодирующих соответственно А-субъединицу ДНК-гиразы и топоизомеразу IV [13]. Вследствие этих мутаций у клинических штаммов снизилась устойчивость к антибиотикам нового поколения — флуорохинолонам (ципрофлоксацин). Этот факт указывает на необходимость мониторинга чувствительности к антибиотикам штаммов как на фено-, так и на генотипическом уровне для повышения эффективности проводимой терапии.

В заключение следует отметить, что проведенный сравнительный анализ полученных нами и представленных в GenBank нуклеотидных последовательностей полных геномов 30 клинических штаммов, выделенных на территории Африки в разные периоды седьмой пандемии холеры (1985–2012 гг.), указывает на их большое генетическое разнообразие. Установлено, что эпидемии холеры в Африке, начавшиеся в 1970 г., около двух десятилетий были обусловлены типичными штаммами возбудителя, занесенными из Индии и Бангладеш. В настоящее время холера в Африке вызвана новыми вариантами возбудителя, возникшими в Юго-Восточной Азии в результате не только приобретения новых генов через горизонтальный перенос, но и изменения генома ранее присутствовавших островов патогенности и пандемичности. Именно такие геноварианты с усиленной вирулентностью могут быть занесены из Африканского континента в другие страны мира, включая Россию. В результате проведенного нами SNP-анализа 53 штаммов, циркулирующих в Африке, а также выделенных в Юго-Восточной Азии, установлены филогенетические связи большинства африканских и азиатских штаммов. Вместе с тем штаммы, циркулирующие в районе Великих Африканских озер с 2004 по 2005 гг., являются, видимо, эндемичны-

ми для Африки. Существующее генетическое разнообразие штаммов с разным уровнем вирулентности и резистентности к лекарственным препаратам свидетельствует о необходимости проведения постоянного молекулярного мониторинга возбудителя холеры в Африке.

■ Список литературы

1. Буаро М.И., Константинов О.К., Бумбали С., Ришар Ж., Лама Н.Е. Холера в Гвинее: эпидемиология, меры профилактики. *Инфекционные болезни*. 2016; 14 (1): 24–28. doi: 10/20953/729-9225-2016-1-24-28
2. Заднова С.П., Смирнова Н.И. Выявление генов антибиотикоустойчивости в штаммах *Vibrio cholerae* O1 и O139 серогрупп. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2015; 3: 3–10.
3. Ильина Т.С. Мобильные ISCR-элементы: структура, функции и роль в создании, наращивании и распространении блоков бактериальных генов множественной резистентности к антибиотикам. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2012; 4: 3–13.
4. Марамович А.С., Пинигин А.Ф. Эндемичные очаги холеры в Африке. *Журнал микробиологии, эпидемиологии, иммунобиологии*. 1995; 2: 101–108.
5. Москвитина Э.А., Мазрухо А.Б., Адаменко О.Л., Кругликов В.Д. Холера в начале XXI века. Прогноз на глобальном уровне. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2012; 111: 11–16.
6. Смирнова Н.И., Агафонов Д.А., Кульшань Т.А., Краснов Я.М., Кутырев В.В. Микроэволюция возбудителя холеры в современный период. *Вестник РАМН*. 2014; 7–8: 46–53.
7. Смирнова Н.И., Горяев А.А., Кутырев В.В. Эволюция генома возбудителя холеры в современный период. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2010; 4: 11–19.
8. Титова С.В., Москвитина Э.А., Кругликов В.Д., Самородова А.В., Тюленева Е.Г., Монахова Е.В., Писанов Р.В., Водопьянов А.С., Архангельская И.В., Иванова С.М., Ковалева Т.В., Водопьянов С.О. Холера: оценка эпидемиологической обстановки в мире и России в 2006–2015 гг. Прогноз на 2016 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; 1: 20–27. doi: 10.21055/0370-1069-2016-1-20-27
9. Adewale A.K., Pazhani G.P., Abiodun I.B., Afolabi O., Kolawole O.D., Mukhopadhyay A.K., Ramamurthy T. Unique clones of *Vibrio cholerae* O1 El Tor with haitian type ctxB allele implicated in the recent cholera epidemics from Nigeria, Africa. *PLoS ONE*. 2016; 11 (8): e0159794. doi: 10.1371/journal.pone.0159794
10. Aidara A., Koblavi S., Boye C.S., Raphenon G., Gassama A., Grimont F., Grimont P.A. Phenotypic and genotypic characterization of *Vibrio cholerae* isolates from a recent cholera outbreak in Senegal: comparison with isolates from Guinea-Bissau. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1998; 58 (2): 163–167.
11. Boiro M.Y., Lama N., Barry M., Diallo R., Morillon M. Cholera in Guinea: the 1994–1995 epidemic. *Med. Trop.* 1999; 59 (3): 303–306.
12. Ceccarelli D., Spagnoletti M., Bacci D., Cappuccinelli P., Colombo M.M. New *V. cholerae* atypical El Tor variant emerged during the 2006 epidemic outbreak in Angola. *BMC Microbiol.* 2011; 11: 130–137. doi: 10.1186/1471-2180-11-130
13. Chattaway M.A., Aboderin A.O., Fashae K., Okoro C.K., Opintan J. A, Okeke I.N. Fluoroquinolone-resistant enteric bacteria in Sub-Saharan Africa: clones, implication and research needs. *Front. Microbiol.* 2016; 7: 558. doi: 10.3389/fmicb.2016.00558
14. Chin C.S., Sorenson J., Harris J.B., Robins W.P., Charles R.C., Jean-Charles R.R., Bullard J., Webster D.R., Kasarskis A., Peluso P., Paxinos E.E., Yamaichi Y., Calderwood S.B., Mekalanos J.J., Schadt E.E., Waldor M.K. The origin of the Haitian cholera outbreak strain. *N. Engl. J. Med.* 2011; 364 (1): 33–42. doi: 10.1056/NEJMoa1012928
15. Choi S.Y., Lee J.H., Kim E.J., Lee H.R., Jeon Y.S., von Seidlein L., Deen J., Ansaruzzaman M., Lucas G.M.E.S., Barreto A., Songane F.F., Mondlane C., Nair G.B., Czerkinsky C., Clemens J.D., Chun J., Kim D.W. Classical RS1 and environmental RS1 elements in *Vibrio cholerae* O1 El Tor strains harbouring a tandem repeat of CTX prophage: revisiting Mozambique in 2005. *J. Med. Microbiol.* 2010; 59: 302–308. doi: 10.1099/jmm.0.017053-0
16. Cholera annual report 2001. *Wkly Epidem. Rec.* 2002; 77 (31): 257–268.
17. Cholera annual report 2002. *Wkly Epidem. Rec.* 2003; 78 (31): 269–276.
18. Cholera annual report 2003. *Wkly Epidem. Rec.* 2004; 79 (31): 281–288.
19. Cholera annual report 2004. *Wkly Epidem. Rec.* 2005; 80 (31): 261–268.
20. Cholera annual report 2005. *Wkly Epidem. Rec.* 2006; 81 (31): 297–308.
21. Cholera annual report 2015. *Wkly Epidem. Rec.* 2016; 91 (38): 433–440.
22. Dalsgaard A., Forslund A., Sandvang D., Arntzen L., Keddy K. *Vibrio cholerae* O1 outbreak isolates in Mozambique and South Africa in 1998 are multiple-drug resistant, contain the SXT element and the aad2 gene located on class 1 integrons. *J. Antimicrob. Chemother.* 2001; 48: 827–838. doi: 10.1093/jac/48.6.827
23. Dalsgaard A., Mortensen H. F., Molbak K., Dias F., Serichantalergs O., Echeverria P. Molecular characterization of *Vibrio cholerae* O1 strains isolated during cholera outbreaks in Guinea-Bissau. *J. Clin. Microbiol.* 1996; 34 (5): 1189–1192.

24. Eibach D, Herrera-León S, Gil H, Hogan B, Ehlikes L, Adjabeng M., Kreuels B., Nagel M., Opare D., Fobil J.N., May J. Molecular epidemiology and antibiotic susceptibility of *Vibrio cholerae* associated with a large cholera outbreak in Ghana in 2014. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2016; 10 (5): e0004751. doi: 10.1371/journal.pntd.0004751
25. Faruque S.M., Nair G.B. *Vibrio cholerae*: genomics and molecular biology. Norfolk: Caister Academic Press. 2008.
26. Faruque S.M.A., Tam V.C., Chowdhury N., Diraphat P., Dziejman M., Heidelberg J.F., Clemens J.P., Mekalanos J.J., Nair G.B. Genomic analysis of the Mozambique strain of *Vibrio cholerae* O1 reveals the origin of El Tor strains carrying classical CTX prophage. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007; 104: 5151–5156. doi: 10.1073/pnas.0700365104
27. Goel A.K., Jain M., Kumar P., Bhadauria S., Krmboj D.V., Singh L. A new variant of *Vibrio cholerae* O1 El Tor causing cholera in India. *J. Infect.* 2008; 57: 280–281. doi: 10.1016/j.jinf.2008
28. Grim C.J., Choi J., Chun J., Jeon Y.S., Taviani E., Hasan N.A., Haley B., Huq A., Colwell R.R. Occurrence of the *Vibrio cholerae* seventh pandemic VSP-I island and a new variant. *OMICS.* 2010; 14 (1): 1–7. doi: 10.1089/omi.2009.0087
29. Kaas R.S., Ngandjio A., Nzouankeu A., Siriphat A., Fonkoua M.C., Aarestrup F.M., Hendriksen R.S. The Lake Chad basin, an isolated and persistent reservoir of *Vibrio cholerae* O1: a genomic insight into the outbreak in Cameroon, 2010. *PLoS ONE.* 2016; 11 (5): e0155691. doi: 10.1371/journal.pone.0155691
30. Kiiru J.N., Saidi S.M., Goddeeris B.M., Wamae N.C., Butaye P., Kariuki S.M. Molecular characterization of *Vibrio cholerae* O1 strains carrying an SXT/R391-like element from cholera outbreaks in Kenya: 1994–2007. *BMC. Microbiol.* 2009; 9 (1): 275. doi: 10.1186/147-2180-9-275
31. Lan R., Reeves P.R. Pandemic spread of cholera: genetic diversity and relationships within the seventh pandemic clone of *Vibrio cholerae* determined by amplified fragment length polymorphism. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40 (1): 172–181. doi: 10.1128/JCM.40.1.172-181.2002
32. Langa J.P., Sema C., Deus N.D., Colombo M.M., Taviani E. Epidemic waves of cholera in the last two decades in Mozambique. *J. Infect. Dev. Ctries.* 2015; 9 (6): 635–641. doi: 10.3855/jidc.6943
33. Mutreja A., Kim D.W., Thomson N., Connor T.R., Lee J.H., Kariuki S., Croucher N.J., Choi S.Y., Harris S.R., Lebens M., Niyogi S.K., Kim E.J., Ramamurthy T., Chun J., Wood J.L.N., Clemens J.D., Czerkinsky C., Nair G.B., Holmgren J., Parkhill J., Dougan G. Evidence for several waves of global transmission within the seventh cholera pandemic. *Nature.* 2011; 477 (7365): 462–465. doi: 10.1038/nature10392
34. Mwansa J.C., Mwaba J., Lukwesa C., Bhuiyan N.A., Ansaruzzaman M., Ramamurthy T., Alam M., Nair G.B. Multiply antibiotic-resistant *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor strains emerge during cholera outbreaks in Zambia. *Epidemiol. Infect.* 2006; 134: 847–853. doi: 10.1017/S0950268806007254
35. Naha A., Chowdhury G., Ghosh-Banerjee J., Senoh M., Takahashi T., Ley B., Thriemer K., Deen J., Seidlein L.V., Ali S.M., Khatib A., Ramamurthy T., Nandy R.K., Nair G.B., Takeda Y., Mukhopadhyay A.K. Molecular characterization of high-level-cholera-toxin-producing El Tor variant *Vibrio cholerae* strains in the Zanzibar Archipelago of Tanzania. *J. Clin. Microbiol.* 2013; 51 (3): 1040–1045. doi: 10.1128/JCM.03162-12
36. Nair G.B., Faruque S.M., Bhuiyan N.A., Kamruzzaman M., Siddique A.K., Sack D.A. New variants of *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor with attributes of the classical biotype from hospitalized patients with acute diarrhea in Bangladesh. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40 (9): 3296–3299. doi: 10.1128/JCM.40.9.3296-3299.2002
37. Ngwa MC, Masalla T, Esemu S, Fumoloh FF, Kracalik I, Cella E., Alam M.T., Akoachere J.-F., Liang S., Salemi M., Morris J.G., Ali A., Ndip L.M. Genetic studies of *Vibrio cholerae* in South West Cameroon — a Phylogenetic analysis of isolates from the 2010–2011 Epidemic. *PLoS Currents Outbreaks.* 2016; Aug 12. Edition 1. doi: 10.1371/currents.outbreaks.13b4e5e36a5c0831a1663fbd5713fe9
38. Nkoko D.B., Giraudoux P., Plisnier P.-D., Tinda A.M., Piarroux M., Sudre B., Horion S., Tamfum J.-J.M., Ilunga B.K., Piarroux R. Dynamics of cholera outbreaks in Great Lakes region of Africa, 1978–2008. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17 (11): 2026–2034. doi: 10.3201/eid1711.110170
39. Opintan J.A., Newman M.J., Nsiah-Poodoh O.A., Okeke I.N. *Vibrio cholerae* O1 from Accra, Ghana carrying a class 2 integron and the SXT element. *J. Antimicrob. Chemother.* 2008; 62: 929–933. doi: 10.1093/jac/dkn334
40. Pugliese N., Maimone F., Scarsia M., Materu S.F., Pazzani C. SXT-related integrating conjugative element and IncC plasmids in *Vibrio cholerae* O1 strains in Eastern in Eastern Africa. *J. Antimicrob. Chemother.* 2009; 63: 438–442. doi: 10.1093/jac/dkn542
41. Rebaudet S., Mengel M.A., Koivogui L., Moore S., Mutreja A., Kande Y., Yattara O, Keita V.S., Njanpop-Lafourcade B.-M., Fournier P.-E., Garnotel E., Keita S., Piarroux R. Deciphering the origin of the 2012 cholera epidemic in Guinea by integrating epidemiological and molecular analyses. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2014; 8 (6): 1–10. doi: 10.1371/journal.pntd.0002898
42. Reimer A.R., Domselaar G.V., Stroika S., Walker M., Kent H., Tarr C., Talkington D., Rowe L.A., Olsen-Rasmussen M., Frace M., Sammons S.A., Dahourou G.A., Boncy J., Smith A.M., Mabon P., Petkau A., Graham M., Gilmour M.W., Gerner-Smidt P. Comparative genomics of *Vibrio cholerae* from Haiti, Asia, and Africa. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17 (11): 2113–2121. doi: 10.3201/eid1711.110794
43. Safa A., Nair G.B., Kong R.Y.C. Evolution of new variants of *Vibrio cholerae* O1. *Trends. Microbiol.* 2010; 18 (1): 46–54. doi: 10.1016/j.tim.2009.10.003

44. Saidi S.M., Chowdhury N., Awasthi S.P., Asakura M., Hinenoya A., Iijima Y. Prevalence of *Vibrio cholerae* O1 El Tor variant in a cholera-endemic zone of Kenya. *J. Med. Microbiol.* 2014. 63: 415–420. doi: 10.1099/jmm.0.068999-0
45. Satchell K.J., Jones C.J., Wong J., Queen J., Agarwal S., Yildiz F.H. Phenotypic analysis reveals that the 2010 Haiti cholera epidemic is linked to a hypervirulent strain. *Infect. Immun.* 2016; 84 (9): 2473–2481. doi: 10.1128/IAI.00189-16
46. Scarscia M., Pugliese N., Maimone F., Mohamud K.A., Ali I.A., Grimont P.A.D., Pazzani C. Cholera in Ethiopia in the 1990s: epidemiologic patterns, clonal analysis, and antimicrobial resistance. *Int. J. Med. Microbiol.* 2009; 299 (5): 367–372. doi: 10.1016/j.ijmm.2008.10.004
47. Sharma C., Ghosh A., Dalsgaard A., Forslund A., Ghosh R.K., Bhattacharya S.K., Shimada T., Ramamurthy T., Takeda T., Yamasaki S., Takeda Y., Nair B.G. Molecular evidence that a distinct *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor strain in Calcutta may have spread to the African continent. *J. Clin. Microbiol.* 1998; 36 (3): 843–844.
48. Taviani E., Grim C.J., Choi J., Chun J., Haley B., Hasan N.A., Huq A., Colwell R.R. Discovery of novel *Vibrio cholerae* VSP-II genomic islands using comparative genomic analysis. *FEMS Microbiol. Lett.* 2010; 308 (2): 130–137. doi: 10.1111/j.1574-6968.2010.02008.x
49. UNICEF: Cholera outbreaks in Central and West Africa: 2016 region update — week 36. URL: https://www.unicef.org/cholera/files/WCA_Cholera_Update_W34.pdf (17.10.2017)

Мониторинг водоемов Гвинейской Республики на наличие возбудителей холеры и острых кишечных инфекций

А.А. Крицкий, А.С. Абдрашитова, С. Бумбали, И.В. Тучков, Е.А. Билько, Д.А. Агафонов, Н.А. Плеханов, К.А. Никифоров, Е.В. Найденова, Ж.А. Касьян, Е.Г. Оглодин, А.М. Поршаков, С.А. Яковлев, Д.А. Ситмбетов, И. Нурдин, Т. Камара, И. Абдул-Бастои, С. Диалло, А. Буаро, М.Г. Диалло, М. Ба, М.И. Буаро

Холера как особо опасная болезнь, требующая проведения мероприятий по санитарной охране территорий, остается актуальной для множества стран, и особенно для развивающихся, где мероприятия по санитарной охране зачастую реализуются не в полном объеме. К одной из таких стран, на сегодняшний день, относится и Гвинейская Республика.

Холера на территории Гвинейской Республики была впервые зарегистрирована в 1970 г. в столице — г. Конакри. Всего за весь период эпидемиологического наблюдения с 1970 по 2016 гг., на территории Гвинейской Республики, по данным ВОЗ, было зарегистрировано более 68 000 случаев заболевания, из которых 3375 закончились летально. Крупнейшие вспышки холеры отмечались в 1994 г. (более 30 000 случаев) и в 2012 г. (более 7000 случаев). Показательно, что обе вспышки были связаны с заносом инфекции из сопредельных государств. В последние годы отмечено резкое снижение заболеваемости холерой. Так в 2014 г. было выявлено всего 2 больных, в 2015 и 2016 гг. — ни одного. Показательно, что данный резкий спад заболеваемости совпал с эпидемией, вызванной вирусом Эбола, в странах Западной Африки. Возможно, что развернутые при поддержке международного сообщества и Российской Федерации в частности, беспрецедентные противоэпидемические меры по ликвидации эпидемии Эбола, поднявшие уровень санитарного благополучия Гвинейской Республики на качественно новый уровень, позволили свести к историческому минимуму заболеваемость холерой.

Однако, несмотря на отсутствие случаев заболеваемости, обстановка по холере в данной стране остается напряженной, так как сохраняется риск заноса инфекции с сопредельных территорий. Кроме того, рядом авторов выдвигается предположение о наличии вторичных природных очагов холеры на территории Гвинейской Республики.

Также, для Гвинейской Республики, не менее актуальна проблема острых кишечных инфекций, особенно вызываемых сальмонеллами и шигеллами, так *Salmonella* spp. и *Shigella* spp., наряду с *Vibrio cholerae*, внесены в список актуальных для Гвинейской Республики патогенных микроорганизмов, составленный Гвинейским национальным агентством по санитарной охране (ANSS — Agence Nationale de Sécurité Sanitaire).

С целью выявления штаммов указанных микроорганизмов в различных водоисточниках в 2016–2017 гг. в рамках выполнения НИР «Молекулярно-биологические свойства штаммов возбудителя холеры, циркулирующих на территории Гвинейской Республики, и их филогенетический анализ» по распоряжению Правительства РФ от 25 июля 2015 г. № 1448-р был произведен мониторинг водоисточников различного типа на территории префектуры Киндия, включая столицу Республики — г. Конакри.

Вода для исследований отбиралась из различных как естественных, так и искусственных водоисточников на территории префектуры Киндия, а также в различных районах г. Конакри. На каждый образец воды заполнялся формуляр, где указывалась точка отбора, номер образца, дата отбора, тип водоисточника, отдаленность от жилищ, частота посещения населением.

Доставленные образцы воды концентрировались методом вакуумной фильтрации через мембранные фильтры с диаметром пор 0,4 мкм. Из полученных концентратов воды производилось выделение ДНК с использованием набора реагентов «ДНК-сорб В» («АмплиСенс», Россия). Выделенная ДНК тестировалась на наличие ДНК *Shigella* spp., *Salmonella* spp. при помощи тест-системы «АмплиСенс ОКИ-скрин» («АмплиСенс», Россия), позволяющей вести детекцию ДНК в режиме реального времени. Параллельно образец исследовался на наличие ДНК *V. cholerae* при помощи тест-системы «АмплиСенс *Vibrio cholerae*-FL» («АмплиСенс», Россия). Данная тест-система позволяет определять принадлежность исследуемого образца к виду *Vibrio cholerae* по выявлению участка видоспецифичного гена *hly*, принадлежность к серогруппе O1 — по участку гена *wbeT*, к серогруппе O139 — по участку гена *wbfR*. Также с помощью данной тест-системы возможна детекция основных генов патогенности возбудителя холеры — *ctxA* и *tcpA*, кодирующих соответственно биосинтез А-субъединицы холерного токсина и основную субъединицу токсин-корегулируемых пилей адгезии. Анализ и интерпретация результатов велись в соответствии с инструкциями и методическими рекомендациями производителя тест-системы. Образцы воды, в которых было показано наличие гена принадлежности к *V. cholerae*, высевались на 1% пептонную воду и инкубировались 6 ч при 37°C. Затем делался высеив на вторую 1% пептонную воду, а также на чашки с щелочным и TCBS агаром (элективная среда для холерного вибриона). Посевы инкубировали при температуре 37°C. Через 7 ч инкубации учитывались результаты роста на второй пептонной воде, а спустя 18 ч просматривали посевы на щелочном и TCBS агаре. Учитывали характер роста на жидких и твердых средах, морфологию колоний, изменение цвета колоний на TCBS агаре. Колонии, выросшие на щелочном агаре, отбирали для тестирования на наличие индофенолоксидазы с использованием тест-полосок ОКСИ-тест (Himedia, Индия). Культуры, давшие положительный результат, исследовались в реакции агглютинации с диагностическими сыворотками, позволяющими определять принадлежность к серогруппам O1 или O139 (Микроб, Россия).

Всего был собран и исследован 231 образец воды: 105 образцов было отобрано в различных районах города Конакри и 126 из сельских районов префектуры Киндия. При этом 76 образцов воды было отобрано из природных водоисточников, среди которых 32 включали воду Атлантического океана с береговой линии Конакри. 155 образцов было отобрано из различных искусственных водоисточников, таких как колодцы, водораздаточные цистерны, а также сточные канавы.

Генетический материал *V. cholerae* (видоспецифичный участок гена *hly*) был обнаружен в 15 образцах, 11 из которых были отобраны из искусственных водоисточников и сточных канав, 3 — из океана, 1 — из небольшой речки. Большая часть положительных результатов (11 из 15) была получена при исследовании воды из города Конакри. Необходимо отметить, что все исследуемые образцы воды не содержали гены, определяющие принадлежность к O1 или O139 серогруппам, а также гены факторов патогенности.

Часть образцов воды, давшие положительный результат на наличие гена *hly* (12 проб), были взяты для проведения бактериологического исследования. При этом колонии на питательных средах формировали только 10 образцов, из них 8 дали положительный тест на наличие индофенолоксидазы и были использованы для постановки слайд-агглютинации с диагностическими холерными сыворотками O1 и O139. Однако ни одна из культур не агглютинировалась указанными сыворотками. Таким образом, выделенные культуры относятся к *V. cholerae* не O1/не O139 серогруппе.

Генетический материал *Salmonella* spp. был детектирован в 39 образцах (17% от общего), 19 из которых были отобраны в различных районах города Конакри, и 20 в префектуре Киндия. В подавляющем большинстве случаев (35 из 39, что составляет 90%) генетический материал сальмонелл обнаруживался в искусственных водоисточниках — колодцах и водораздаточных резервуарах.

Генетический материал *Shigella* spp. был обнаружен только в 3 образцах, отобранных из природных водоемов на территории населенных пунктов, в которые осуществляется слив сточных вод — два образца были взяты в небольших реках сельских районов, и один из эстуария в г. Конакри. В одном случае генетический материал шигелл был детектирован одновременно с материалом сальмонелл (проба воды из реки Таху).

Таким образом, нами показан достаточно высокий процент (17%) контаминации водоемов сальмонеллами, что может представлять собой серьезную эпидемиологическую опасность и требует эпидемиологического надзора и санации. Наличие в отдельных образцах воды вибрионов не O1/не O139 группы, способных вызывать кишечные инфекции, указывает на неблагоприятное санитарное состояние водоема и также требует проведения дальнейшего мониторинга.

Сравнительная характеристика особенностей микробиоты кишечника жителей Гвинейской Республики и России

А.Ю. Попова, Л.А. Кафтырева, Л.В. Сужаева, Е.В. Войтенкова, А.В. Забровская, С.А. Егорова, М.А. Макарова, З.Н. Матвеева, Е.В. Зуева, А.А. Порин, М.И. Буаро, О.К. Константинов, Арег А. Тотолян

■ Введение

В настоящее время важность бактерий для жизнедеятельности, нормального развития и полноценного функционирования человеческого организма не вызывает сомнений, она доказана многочисленными исследованиями как отечественных, так и зарубежных авторов [2, 3, 10, 17, 19]. В желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) здорового человека в результате длительной совместной эволюции сформировалась сложная многокомпонентная экологическая система, содержащая большое количество разнообразных видов бактерий и называемая «микробиотой» [2]. На ее функциональное состояние, видовой состав, количественные характеристики влияют разнообразные биотические и абиотические факторы: климатические, экологические, социальные и др. Являясь открытой системой, микробиота, с одной стороны обладает определенной устойчивостью, а с другой — способностью изменяться под действием указанных выше факторов [7, 12]. Адаптационные возможности микробиоты зависят не только от внешних воздействий, но и тесно связаны с индивидуальными генетическими особенностями макроорганизма, состоянием его иммунной системы. В настоящее время показано, что нарушение слаженного функционирования сложных микробиоценозов кишечника играет ведущую роль в возникновении и развитии многих патологических процессов как инфекционного, так и неинфекционного характера [1, 9, 10, 23, 27].

Состав микробиоты кишечника формируется с первых дней жизни новорожденного, варьирует в зависимости от возраста и характера питания [1, 4]. По мере развития возрастных процессов у людей изменяется состав ассоциаций микроорганизмов в кишечнике (снижается содержание *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp. и др.) [8].

Дисбиоз — количественное и качественное нарушение гомеостаза кишечной микробиоты, как уже было сказано выше, играет важную роль в патогенезе различных заболеваний [14]. При этом дисбиотические состояния в зависимости от степени нарушений состава микробиоты, а также интенсивности и продолжительности вызвавших их причин, могут либо исчезать вследствие включения компенсаторных механизмов, либо переходить в патологическую стадию, требующую специфической терапии.

Изучению микробиоты кишечника, как у детей, так и у взрослых, посвящено много работ. Благодаря исследованиям, проводимым в рамках проекта «Микробиом человека» (Human Microbiome Project), участники смогли составить комплексное представление о многообразии микроорганизмов, заселяющих биотопы организма человека. Результаты генетического анализа показали, что в организме человека обитают свыше 10 тыс. видов различных микроорганизмов, а наиболее колонизированным органом является кишечник: количество бактерий варьирует от 10^{10} – 10^{11} клеток в 1 г в тонком кишечнике до 10^{12} — в толстом кишечнике [5].

Отмечено, что микробиота кишечника у клинически здоровых людей, проживающих в разных регионах и странах, может значительно различаться. Например, отличитель-

ными особенностями микробиоты детей, проживавших в Монголии, в рационе питания которых преобладали мясные продукты, являлось избыточное количество *Clostridium* spp. на фоне выраженного дефицита *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp. и других анаэробных неспорообразующих бактерий. У детей, проживавших в России и находившихся на смешанной диете, в кишечной микробиоте также отмечен дефицит *Bifidobacterium* spp. и *Lactobacillus* spp. Однако в целом содержание этих микроорганизмов было значительно выше, чем у детей, проживавших в Монголии. В то же время у детей, проживавших в России, присутствовали в избыточном количестве различные виды *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* spp., дрожжеподобные грибы рода *Candida*. У одной трети от числа обследованных детей, проживавших в Швейцарии, было повышено содержание представителей *Enterobacteriaceae*, а у 16,7% отсутствовали *Enterococcus* spp. и у 50% — снижено количество *Bifidobacterium* spp. [7].

При обследовании здоровых жителей Вьетнама и России было установлено, что у жителей Вьетнама в пробах фекалий содержалось больше *Enterobacteriaceae* и меньше *Lactobacillus* spp., чем у россиян, также выявлены различия и в видовой принадлежности *Enterococcus* spp. [6]. У жителей Уганды, Японии, Индии количество бактериоидов было ниже, чем у жителей стран Европы и Америки [21]. Выявлены особенности микробиоты у жителей высокогорных и равнинных районов Китая, различных регионов Индии, Индонезии, Японии, Монголии и Гонконга [16, 18, 24, 25, 27].

Цель исследования — в рамках пилотного проекта провести сравнительное изучение качественного и количественного состава аэробной и анаэробной микробиоты кишечника на случайной малой выборке проб испражнений жителей Гвинейской Республики (г. Конакри) и России (Санкт-Петербург).

■ Материалы и методы

Лабораторные исследования проводили в лаборатории кишечных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера. Исследованы 106 проб фекалий, полученных от 46 жителей Гвинейской Республики (г. Конакри) в возрасте от 24 до 64 лет и от 60 жителей Санкт-Петербурга в возрасте от 19 до 63 лет. Определение качественного и количественного состава микробных сообществ кишечника проведено в осенне-зимние периоды (декабрь 2015 г., октябрь 2016 г.). Обследуемые лица были клинически здоровы и не имели в анамнезе соматических и инфекционных заболеваний ЖКТ в течение 12 месяцев, предшествовавших исследованию. Опрос об особенностях питания показал, что рацион обследуемой группы жителей Гвинейской Республики включал большое количество местных овощей, фруктов, зерновых культур и ограниченное количество мясных и, особенно, натуральных молочных продуктов. Обследуемая группа жителей Санкт-Петербурга придерживалась характерной для нашей страны диеты с достаточным потреблением мясных, молочных и растительных продуктов.

Содержание микроорганизмов (бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Staphylococcus* spp., дрожжеподобные грибы рода *Candida*, неферментирующие грамотрицательные бактерии и др.) в 1 г фекалий определяли бактериологическим методом. Для выделения и идентификации бактерий использовали отечественные селективные и дифференциально-диагностические питательные среды, согласно действующим нормативным документам. Родовую и видовую идентификацию проводили с использованием бактериологического анализатора Vitek 2 Compact, рутинных биохимических тестов, а также MALDI-TOF масс-спектрометрии. Для MALDI-TOF масс-спектрометрии бактериальные клетки из изолированных колоний, выросших на дифференциально-диагностических плотных питательных средах в течение 18–24 ч инкубации, наносили тонким слоем на лунки MALDI мишени, с последующим наложением 1 мкл матрицы, представляющей собой насыщенный раствор α -циано-4-гид-

роксиборной кислоты (Bruker Daltonics, Германия) в водном растворе 50% ацетонитрила и 2,5% трифторуксусной кислоты (Sigma-Aldrich). Спектры образцов получали в линейном положительном режиме работы MALDI-TOF масс спектрометра «Microflex LRF» (Bruker Daltonics, Германия) с помощью программного обеспечения «FlexControl» 3.3 (Bruker Daltonics, Германия). Перед измерением прибор калибровали, используя бактериальный тест-стандарт (Bruker Daltonics, Германия). Спектральные профили образцов представляли собой сумму ионов, полученных от 240 лазерных вспышек в разных местах каждой лунки MALDI мишени, выполненных в автоматическом режиме в диапазоне масса/заряд (m/z) от 2000 до 20 000 Da. Идентификацию микроорганизмов осуществляли с помощью программного обеспечения «MALDI Biotyper RTC» (Bruker Daltonics, Германия) путем сопоставления масс-спектров каждого исследуемого образца с данными эталонных спектров из таксономической базы и вычислением коэффициентов совпадения, представленных в виде оценок в баллах.

Степени микробиологических нарушений оценивали согласно Отраслевому стандарту ОСТ № 91500.11.004-2003 «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника», Федеральным клиническим рекомендациям «Определение дисбиотических изменений желудочно-кишечного тракта по маркерам содержимого кишечника» (2015). Для оценки различий результатов в сравниваемых группах применяли критерий χ^2 Пирсона, $p < 0,05$ и точный критерий Фишера, вычисленные с использованием онлайн калькулятора medstatistica.ru. 95% доверительные интервалы рассчитывали по методу Уилсона.

■ Результаты

Согласно ОСТ № 91500.11.004-2003 и ФКР 2015 г. степени микробиологических нарушений характеризуются снижением количества облигатных, повышением количества факультативных (условно-патогенных) микроорганизмов (УПМ) и появлением их ассоциаций. Используя эти критерии, дисбиотические нарушения были выявлены в обеих сравниваемых группах: у 100% (95% ДИ: 92,3–100) обследованных из Гвинейской Республики и у 86,7% (95% ДИ: 75,8–93,1) обследованных из Санкт-Петербурга (табл. 1).

Незначительные отклонения от нормы (первая степень микробиологических нарушений) встречалась в группе жителей Санкт-Петербурга в 32,7% (95% ДИ: 21,5–46,2), в группе жителей Гвинейской Республики в 19,6% (95% ДИ: 10,7–33,2). Выявленные изменения характеризовались снижением количества *Bifidobacterium* spp. (до 10^8 – 10^7 КОЕ/г), *Lactobacillus* spp. (до 10^6 КОЕ/г), «типичных» *Escherichia coli* (до 10^6 КОЕ/г).

Нарушения микробиоценоза, соответствующие второй степени, встречались у 60,8% (95% ДИ: 46,5–73,6) в группе обследованных жителей Гвинейской Республики и у 57,7% (95% ДИ: 44,2–70,1) обследованных жителей Санкт-Петербурга. Отклонения от показате-

Таблица 1. Степень микробиологических нарушений желудочно-кишечного тракта у жителей Гвинейской Республики и Санкт-Петербурга

Сравниваемые группы	Кол-во проб, в которых выявлены нарушения		Степень выраженности микробиологических нарушений		
			1	2	3
Жители Санкт-Петербурга	52	абс.	17	30	5
		%	32,7	57,7	9,6
		95% ДИ	21,5–46,2	44,2–70,1	4,2–20,6
Жители Гвинеи	46	абс.	9	28	9
		%	19,6	60,8	19,6
		95% ДИ	10,7–33,2	46,5–73,6	10,7–33,2
Значение χ^2 (df = 1)			2,158	0,102	1,973
Уровень значимости (P)			> 0,05	> 0,05	> 0,05

Таблица 2. Содержание облигатных и факультативных микроорганизмов в пробах фекалий жителей Гвинейской Республики и Санкт-Петербурга

Сравниваемые группы	Количество проб		Число проб, содержавших в 1 г фекалий количество								
			облигатных микроорганизмов, соответствующее норме				факультативных микроорганизмов, превышающее норму				
			<i>Bifidobacterium</i> spp.	<i>Lactobacillus</i> spp.	<i>Enterococcus</i> spp.	<i>Escherichia coli</i> типичные	Атипичные <i>Escherichia coli</i>	<i>Clostridium</i> spp.	Условно-патогенные энтеробактерии	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida</i> spp.
Жители Санкт-Петербурга	60	абс.	50	43	49	39	10	15	21	10	9
		%	83,3	71,6	81,6	65,0	16,7	25	35,0	16,7	15,0
		95%ДИ	72,0–90,7	59,2–81,5	70,1–89,4	52,4–75,8	9,3–28,0	15,8–37,2	24,2–47,6	9,3–28,0	8,1–26,1
Жители Гвинейской Республики	46	абс.	31	37	26	28	20	9	27	16	7
		%	67,4	80,4	56,5	60,8	43,5	19,6	58,7	34,8	15,2
		95%ДИ	53,0–79,1	66,8–89,3	42,2–69,8	46,5–73,6	30,2–57,8	10,7–33,2	44,3–71,7	22,7–49,2	7,6–28,2
Значение χ^2 (df = 1)			3,672	1,081	7,956	0,191	9,224	0,439	5,9	4,616	0,001
Уровень значимости (P)			> 0,05	> 0,05	< 0,05	> 0,05	< 0,05	> 0,05	< 0,05	< 0,05	> 0,05

лей нормы характеризовались снижением содержания *Bifidobacterium* spp. (до 10^7 КОЕ/г) и *Lactobacillus* spp. (до 10^5 КОЕ/г), дисбалансом в количественном и качественном составе *Escherichia coli* (наличием «атипичных» штаммов с гемолитической активностью, и неспособных ферментировать лактозу), а также появлением в микробиоте УПМ и их ассоциаций в количестве, превышающем 10^5 КОЕ/г.

Третья степень нарушений микробиоценоза в группе жителей Гвинейской Республики встречалась в 19,6% (95% ДИ: 10,7–33,2), в группе жителей Санкт-Петербурга в 9,6% (95% ДИ: 4,2–20,6).

Нарушения характеризовались выраженным снижением количества облигатных бактерий (*Bifidobacterium* spp. — менее 10^7 КОЕ/г, *Lactobacillus* spp. — менее 10^5 КОЕ/г), увеличением содержания УПМ и их ассоциаций в количестве 10^6 и выше КОЕ/г. При сравнении распространенности каждой из трех степеней дисбиотических нарушений между популяцией жителей Гвинейской Республики и популяцией жителей Санкт-Петербурга различия не выявлены, однако внутри каждой популяции обнаружены статистически значимые различия в распределении долей дисбиотических нарушений различных степеней. У жителей Гвинейской Республики преобладали нарушения второй степени, различия между распространенностью нарушений первой и третьей степени не выявлены. У жителей Санкт-Петербурга распространенность дисбиотических нарушений третьей степени достоверно ниже, чем первой и второй степени, однако различий между распространенностью нарушений первой и второй степени не выявлено. При этом как у жителей Гвинейской Республики, так и у жителей Санкт-Петербурга доля нарушений третьей степени достоверно ниже, чем второй степени.

Ассоциации УПМ в разных по составу сочетаниях обнаружены в составе микробиоты у 30,4% обследованных жителей Гвинейской Республики (95% ДИ: 19,1–44,8) и у 18,3% жителей Санкт-Петербурга (95% ДИ: 10,6–29,9). При этом ассоциации УПМ у обследованных жителей Гвинейской Республики всегда содержали *Staphylococcus aureus*.

В табл. 2 представлены данные о количестве проб, соответствующих нормативным показателям по содержанию облигатных и факультативных микроорганизмов, значимых

Таблица 3. Частота обнаружения условно-патогенных микроорганизмов в фекалиях жителей Гвинейской Республики и Санкт-Петербурга

Сравниваемые группы	Всего проб		Число проб, содержавших условно-патогенные микроорганизмы							
			<i>Klebsiella</i> spp.	<i>Citrobacter</i> spp.	<i>Enterobacter</i> spp.	<i>Proteus</i> spp.	<i>Hafnia alvei</i>	<i>Comamonas kerstersii</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida</i> spp.
Жители Санкт-Петербурга	60	абс.	12	3	5	0	1	1	10	9
		%	20,0	5,0	8,3	0	1,7	1,7	16,7	15,0
		95%ДИ	11,8–31,8	1,7–13,7	3,6–18,1	0,0–6,0	0,3–8,9	0,3–8,9	9,3–28,0	8,1–26,1
Жители Гвинейской Республики	46	абс.	12	4	4	1	6	8	16	7
		%	26,1	8,7	8,7	2,2	13,0	17,4	34,8	15,2
		95%ДИ	15,6–40,3	3,4–20,3	3,4–20,3	0,4–11,3	6,1–25,7	9,1–30,7	22,7–49,2	7,6–28,2
Точный критерий Фишера			0,48992	0,46430	1,00	0,43396	0,04111	0,0096	0,04096	1,00

для определения выраженности дисбиотических состояний. В сравниваемых группах доли проб, соответствующих нормативным показателям по количеству *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp. и «типичной» *Escherichia coli*, статистически значимо не отличались.

Статистически значимые различия выявлены в количестве проб, соответствующих норме по содержанию бактерий *Enterococcus* spp.: у жителей Санкт-Петербурга — 81,6% (95% ДИ: 70,1–89,4), у жителей Гвинейской Республики — 56,5% (95% ДИ: 42,2–69,8). Видовой состав *Enterococcus* spp. был идентичен в обеих группах. Доли *E. faecium* и *E. faecalis* были практически одинаковыми и составляли 38,7 и 32,3% соответственно в группе жителей Санкт-Петербурга и 38,9 и 33,3% в группе жителей Гвинейской Республики. В обеих группах встречались единичные находки других видов (*E. avium*, *E. durans*, *E. galinarum*, *E. hirae*, *E. casseliflavus*).

Анализ содержания факультативных микроорганизмов выявил статистически значимые отличия в отношении некоторых бактерий. В группе обследованных жителей Гвинейской Республики чаще встречались пробы с «атипичными» (гемолитическими и лактозонегативными) *Escherichia coli*, превышавшими норму: 43,5% (95% ДИ: 30,2–57,8) по сравнению с 16,7% (95% ДИ: 9,3–28,0) в группе жителей Санкт-Петербурга. Неферментирующие грамотрицательные бактерии *Comamonas kerstersii* обнаружены в 17,4% (95% ДИ: 9,1–30,7) проб жителей Гвинейской Республики и в 1,7% (95% ДИ: 0,3–8,9) проб жителей Санкт-Петербурга (табл. 3).

Статистически значимых различий в распространенности факультативных условно-патогенных энтеробактерий у жителей Санкт-Петербурга и Гвинейской Республики не обнаружены: *Klebsiella* spp. — 20% (95% ДИ: 11,8–31,8) и 26,1% (95% ДИ: 15,6–40,3), *Citrobacter* spp. — 5% (95% ДИ: 1,7–13,7) и 8,7% (95% ДИ: 3,4–20,3), *Enterobacter* spp. — 8,3% (95% ДИ: 3,6–18,1) и 8,7% (95% ДИ: 3,4–20,3), *Proteus* spp. — 0% (95% ДИ: 0,0–6,0) и 2,2% (95% ДИ: 0,4–11,3), *Clostridium* spp. — 25% (95% ДИ: 15,8–37,2) и 19,6% (95% ДИ: 10,7–33,2), *Candida* spp. — 15% (95% ДИ: 8,1–26,1) и 15,2% (95% ДИ: 7,6–28,2) соответственно.

При сравнении результатов двух выборок обнаружено, что *Staphylococcus aureus* и *Hafnia alvei* встречались чаще в группе жителей Гвинейской Республики, однако при проекции результатов на популяции отличия были статистически не значимы: *Staphylococcus aureus* 34,8% (95% ДИ: 22,7–49,2) и 16,7% (95% ДИ: 9,3–28,0); *Hafnia alvei* — 13% (95% ДИ: 6,1–25,7) и 1,7% (95% ДИ: 0,3–8,9).

■ Обсуждение

Человеческое сообщество постоянно сталкивается с различными новыми проблемами, несмотря на прогресс во многих областях медицинской науки и здравоохранения. Одной из таких проблем в настоящее время является нарушение микробного баланса ЖКТ, приводящее к дисбиотическим состояниям организма человека. Анализ микробиоты ЖКТ у здоровых людей, проживающих в разных регионах мира, представленный в работах многих исследователей, показывает существенные колебания ее количественного и качественного состава [11, 13, 15, 16, 17, 18, 20, 24, 25, 26, 27].

Результаты пилотного проекта, проведенного нами, показали, что в сравниваемых группах практически здоровых людей жителей Санкт-Петербурга, придерживавшихся относительно сбалансированной диеты с преобладанием белков животного происхождения, и жителей Гвинейской Республики, у которых в пищевом рационе преобладали овощи и злаки на фоне дефицита животных белков, значимые различия в содержании облигатных бактерий (*Bifidobacterium* spp. и *Lactobacillus* spp.), ответственных за колонизационную резистентность (одного из важнейших факторов системы антиинфекционной защиты), не выявлены. По нашим данным распространенность дисбиотических нарушений разной степени выраженности отмечалась с одинаковой частотой у жителей Гвинейской Республики и у жителей Санкт-Петербурга. При этом, внутри каждой популяции обнаружены статистически значимые различия в распределении долей дисбиотических нарушений различных степеней. Как у жителей Гвинейской Республики, так и у жителей Санкт-Петербурга доля нарушений третьей степени выявлялась реже, по сравнению с долей нарушений второй степени.

Выявлены достоверные различия в видовом составе факультативной части микробиоты. У жителей Гвинейской Республики чаще обнаруживали «атипичные» *Escherichia coli* (ремолитические и лактозонегативные) и неферментирующие грамотрицательные бактерии *Comamonas kerstersii*.

Мы получили отличия в сравниваемых группах в отношении *Staphylococcus aureus* и *Hafnia alvei* (точный критерий Фишера 0,04096 и 0,04111 соответственно), однако при проекции результатов на популяции отличия были статистически не значимы, необходимо проведение дальнейших исследований на большей выборке. Следует отметить, что указанные бактерии относятся к УПМ и санитарно-показательным микроорганизмам. При определенных условиях любые УПМ могут вызывать заболевания человека, в том числе у лиц с ослабленным иммунитетом (гнойно-септические инфекции, пищевые токсикоинфекции и др.). С другой стороны, наличие этих бактерий в ЖКТ может отражать особенности среды обитания макроорганизма. Это подтверждается на примере полученных нами данных о содержании *Comamonas kerstersii* в ЖКТ в группе обследованных жителей Гвинейской Республики. Для этих микроорганизмов экологической нишей является окружающая среда: по данным литературных источников штаммы *Comamonas* spp. часто выделяли при исследовании проб заболоченной почвы и воды открытых водоемов, смывов с фруктов и овощей, планктона, кишечника термитов и др. *Comamonas kerstersii* нередко присутствует в микробных сообществах, ассоциированных с природными биоценозами и процессами биodeградации [28]. Более частые находки *Comamonas kerstersii* и «атипичных» *Escherichia coli* характеризуют особенности микробиоты ЖКТ жителей Гвинейской Республики. Можно предположить, что это обусловлено влажным тропическим климатом, низким социально-экономическим уровнем, а также преобладанием в пищевом рационе местных овощей и фруктов.

■ Благодарность

Авторы выражают благодарность Софроновой Марине Юрьевне за консультативную помощь при написании статьи.

Список литературы

1. Бондаренко В.М., Малеев В.В., Лиходед В.Г. Кишечная микрофлора, ожирение и диабет 2 типа. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2014; 3: 42–49.
2. Бондаренко В.М., Рыбальченко О.В. Анализ профилактического и лечебного действия пробиотических препаратов с позиций новых научных технологий. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2015; 2: 90–104.
3. Бухарин О.В. Инфекционная симбиология. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2015; 4: 4–9.
4. Денисова С.Н., Тарасова О.В., Ильенко Л.И. Сенцова Т.Б., Богданова С.В., Ревякина В.А., Белицкая М.Ю. Биохимические маркеры в оценке функционального состояния кишечной микрофлоры у детей на искусственном вскармливании. *Педиатрия*. 2016; 95 (3): 109–117.
5. Домотенко Л.В., Шепелин А.П., Морозова Т.П. Питательные среды для основных представителей нормофлоры кишечника. *Бактериология*. 2016; 1 (1): 48–53.
6. Ермоленко Е.И., Котылева М.П., Буй Т.Л.А., Чан Т.Н., Буй Т.Т.Н., Нго Т.Н., Краева Л.А., Гончаров А.Е., Карасева А.Б., Киреева А.Г., Суворов А.Н. Исследования микробиоты жителей Вьетнама и России. *J. Trop. Sci. Tech*. 2016; 12: 24–34.
7. Коршунов В.М., Поташник Л.В., Ефимов Б.А., Володин Н.Н., Коршунова О.В., Gyr K., Frei R., Reber H., Iéréndorzh D. Микрофлора кишечника у детей Монголии, России и Швейцарии. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2001; 2: 61–64.
8. Коршунов В.М., Поташник Л.В., Ефимов Б.А., Коршунова О.В., Смянов В.В., Gyr K., Frei R. Качественный состав нормальной микрофлоры кишечника у лиц различных возрастных групп. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2001; 2: 57–61.
9. Костюкевич О.И. Влияние кишечной микрофлоры на здоровье человека. От патогенеза к современным методам коррекции дисбиоза. *Русский медицинский журнал*. 2011; 5: 304.
10. Максимов О.В., Гервасиева В.Б., Зверев В.В. Микробиота кишечника и аллергические заболевания. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2014; 3: 49–60.
11. Нисевич Н.И., Гаспарян М.О., Новокшенов А.А. К вопросу о дисбактериозе кишечника детей. *Педиатрия*. 1999; 1: 98–100.
12. Нормофлора и дисбактериозы человека. Под ред. А.Л. Котовой. Алматы: ТОО «Люкс Биндер Сервис», 2008: 254–255.
13. Определение дисбиотических изменений желудочно-кишечного тракта по маркерам содержимого кишечника: федеральные клинические рекомендации. М., 2015: 36.
14. Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника: отраслевой стандарт ОСТ 91500.11.0004. Приказ МЗ РФ № 231 от 09.06.2003.
15. Шептулин А.А. Синдром избыточного роста бактерий и дисбактериоз кишечника: их место в современной гастроэнтерологии. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колонопроктологии*. 1999; 3: 54–56.
16. Chatterjee B., Thakur S.S. Microbial profiling: extend ethnicity of human microbiome. *Nature*. 2012; 487: 39.
17. David L.A., Maurice C.F., Carmody R.N., Gootenberg D.B., Button J.E., Wolfe B.T., Ling A.V., Devlin A.S., Varma Y., Fischbach M.A., Biddinger S.B., Dutton R.J., Turnbaugh P.J. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*. 2014; 505: 559–563.
18. Dehingia M., Thangjam K., Talukdar N.C., Talukdar R., Reddy N., Mande S.S., Deka M., Khan M.R. Gut bacterial diversity of the tribes of India and comparison with the worldwide data. *Sci. Rep.* 2015; 5: 18563.
19. Ding T., Schloss P.D. Dynamics and associations of microbial community types across the human body. *Nature*. 2014; 509: 357–360.
20. Faller R.J., LaMont J.T. Microbial factors in inflammatory bowel disease. *Gastroenterol. Clin. North. Am.* 2002; 31 (1): 41–62.
21. Hill M., Grawther J., Drasar B. Bacteria and aetiology of cancer of the large bowel. *Lancet*. 1971; 7690: 95.
22. Hooper L.V., Midtvedt T., Gordon J.I. How host–microbial interaction shape the nutrient environment of the mammalian intestine. *Annu. Rev. Nutr.* 2002; 22: 283–307.
23. Huycke M.M., Gaskins H.R. Commensal bacteria, redox stress, and colorectal cancer: mechanisms and models. *Exp. Biol. Med. (Maywood)*. 2004; 229: 586–597.
24. Kwok L.Y., Zhang J., Guo Z., Gesudu Q., Zheng Y., Qiao J., Huo D., Zhang H. Characterization of fecal microbiota across seven Chinese ethnic groups by quantitative polymerase chain reaction. *PLoS One*. 2014; 9 (4).
25. Li L., Zhao X. Comparative analyses of fecal microbiota in Tibetan and Chinese Han living at low or high altitude by barcoded 454 pyrosequencing. *Sci. Rep.* 2015; 5: 14682. doi: 10.1038/srep14682
26. Mitsuoka T. Intestinal flora and host. *Asian Med. J.* 1988; 31 (7): 400–409.

27. Nakayama J., Watanabe K., Jiang J., Matsuda K., Chao S.H., Haryono P., La-Ongkham O., Sarwoko M.A., Sujaya I.N., Zhao L., Chen K.T., Chen Y.P., Chiu H.H., Hidaka T., Huang N.X., Kiyohara C., Kurakawa T., Sakamoto N., Sonomoto K., Tashiro K., Tsuji H., Chen M.J., Leelavatcharamas V., Liao C.C., Nitisingprasert S., Rahayu E.S., Ren F.Z., Tsai Y.C., Lee Y.K. Diversity in gut bacterial community of school-age children in Asia. *Sci. Rep.* 2015; 5: 8397. doi: 10.1038/srep08397
28. Opota O., Ney B., Zanttti G., Jatton K., Greub G., Prod'homme G. Bacteremia caused by *Comamonas kerstersii* in a patient with diverticulosis. *J. Clin. Microbiol.* 2014; 52 (3): 1009–1012.

Выделение и особенности идентификации *Comamonas kerstersii* при изучении микробиоты кишечника жителей Санкт-Петербурга и Гвинейской Республики

Е.В. Войтенкова, З.Н. Матвеева, М.А. Макарова, С.А. Егорова,
А.В. Забровская, А.В. Сужаева, Е.В. Зуева, А.А. Кафтырева

■ Введение

Группа неферментирующих бактерий (НФБ) включает хемоорганотрофные грамотрицательные микроорганизмы, относящиеся к разным родам и семействам, объединенным в одну группу по отсутствию способности осуществлять процессы брожения (расщепление углеводов в анаэробных условиях). Наиболее важное клиническое значение из НФБ имеют представители родов *Pseudomonas* и *Acinetobacter* как возбудители инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. В таксономии псевдомонад в последние годы произошли существенные изменения: бактерии, ранее относившиеся к *Pseudomonas*, в настоящее время, на основании изучения гомологии методом гибридизации rRNA, разделены на пять основных кластеров, которые выделены в самостоятельные роды или семейства [18]. К первой группе относятся бактерии рода *Pseudomonas*. Микроорганизмы, относившиеся к третьей rRNA гомологичной группе, классифицированы как семейство *Comamonadaceae*, включающее роды *Comamonas*, *Delftia* и *Acidovorax*. Род *Comamonas*, описанный в 1985 г., включал один вид — *Comamonas terrigena* [10]. В дальнейшем детальное изучение штаммов, входящих в этот род (вид) позволило разделить их на три самостоятельных вида: *C. terrigena*, *C. aquatica*, *C. kerstersii* [22]. В настоящее время род *Comamonas* включает 21 вид [14].

Бактерии рода *Comamonas* — аэробные, неспорообразующие грамотрицательные палочки, подвижные за счет полярно расположенных жгутиков, оксидазо- и каталазоположительные, хорошо растут на простых и дифференциально-диагностических питательных средах, не окисляют и не ферментируют углеводы, оптимальная температура роста +35...40°C. Способность бактерий рода *Comamonas* выживать в объектах внешней среды (пробах воды, почвы и растений), в том числе во влажных условиях госпитальной среды и на медицинском оборудовании, позволяет считать их условно-патогенными микроорганизмами (УПМ) [15].

Цель исследования: изучение биологических свойств и чувствительности к антимикробным препаратам (АМП) штаммов *Comamonas kerstersii*, выделенных из проб испражнений здоровых людей, проживающих в Санкт-Петербурге и Гвинейской Республике.

■ Материалы и методы

Работа проводилась в лаборатории кишечных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера. Исследованы 1532 пробы фекалий, полученных от жителей Санкт-Петербурга и 46 проб жителей Гвинейской Республики. Обследованные лица были клинически здоровы и не имели признаков заболеваний желудочно-кишечного тракта в течение 6 месяцев, предшествовавших исследованию. Содержание микроорганизмов (семейства *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* spp., дрожжеподобных грибов рода *Candida*, НФБ и др.) в 1 г фекалий определяли количественным методом при посеве проб на различные селективные и дифференциально-диагностические питательные среды [1, 3]. Родовую и видовую идентификацию выделенных микроорганизмов проводили, ис-

пользуя рутинные биохимические тесты, коммерческую тест-систему «НЕФЕРМ тест24» (MIKROLATEST, Эрба Рус, Россия), результаты интерпретировали с помощью прилагаемого производителем программного обеспечения. Трудноидентифицируемые микроорганизмы исследовали масс-спектрометрическим методом на приборе MALDI-TOF масс-спектрометре «Microflex LRF». Спектры образцов получали в линейном положительном режиме работы с помощью программного обеспечения «FlexControl» 3.3 (Bruker Daltonics, Германия). Идентификацию осуществляли на основе программного обеспечения «MALDI Biotyper RTC» путем сопоставления масс-спектров каждого исследуемого образца с данными эталонных спектров из таксономической базы и вычислением коэффициентов совпадения, представленных в виде оценок в баллах. Кроме того, идентификацию штаммов проводили, используя карту GN для грамотрицательных микроорганизмов бактериологического анализатора Vitek 2 Compact (BioMérieux, Франция).

Чувствительность к АМП (минимальные подавляющие концентрации, МПК) определяли методом градиентных концентраций с полосками M.I.C.Evaluator™ (OXOID, Великобритания) на агаре Мюллера–Хинтон (НИЦФ, Россия). В тестирование включили АМП из группы цефалоспоринов расширенного спектра (цефтазидим, цефотаксим, цефепим), карбапенемы (имипенем, меропенем), фторхинолоны (ципрофлоксацин), аминогликозиды (гентамицин, амикацин), тетрациклин, хлорамфеникол и триметоприм/сульфаметоксазол. Интерпретацию результатов проводили согласно руководству CLSI M100-S27, таблице 2B-5 «Minimal Inhibitory Concentration Breakpoints (µg/ml) for Other Non-Enterobacteriaceae», где представлены пограничные значения МПК антибиотиков для тестирования штаммов, не относящихся к семейству *Enterobacteriaceae*, включая *Pseudomonas* spp. и другие неприхотливые, неферментирующие глюкозу, грамотрицательные палочки (за исключением *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *Burkholderia cepacia*, *B. mallei*, *B. pseudomallei* и *Stenotrophomonas maltophilia*, *Aeromonas* spp. и *Vibrio* spp.) [9]. Критерии интерпретации согласно CLSI M100-S27: цефтазидим, цефотаксим и цефепим — $S \leq 8,0$ мг/л, $R \geq 32,0$ мг/л; имипенем и меропенем — $S \leq 4,0$ мг/л, $R \geq 16,0$ мг/л; ципрофлоксацин — $S \leq 1,0$ мг/л, $R \geq 4,0$ мг/л; гентамицин — $S \leq 4,0$ мг/л, $R \geq 16,0$ мг/л; амикацин — $S \leq 16,0$ мг/л, $R \geq 64,0$ мг/л; тетрациклин — $S \leq 4,0$ мг/л, $R \geq 16,0$ мг/л; хлорамфеникол — $S \leq 8,0$ мг/л, $R \geq 32,0$ мг/л; триметоприм/сульфаметоксазол — $S \leq 2/38$ мг/л, $R \geq 4/76$ мг/л.

■ Результаты

В составе микробиоты кишечника у жителей Санкт-Петербурга среди УПМ чаще всего обнаруживали *Klebsiella* spp. и *Staphylococcus aureus*, частота обнаружения составляла 20 и 16,7% соответственно. НФБ выделяли реже. *Pseudomonas aeruginosa* встречалась в 0,9% случаев. Другие виды рода *Pseudomonas* (*P. monteilii*, *P. putida*) встречались в единичных случаях. Также были выделены 2 штамма *Comamonas kerstersii*.

При обследовании 46 жителей Гвинейской Республики из УПМ с наибольшей частотой также обнаруживали *Staphylococcus aureus* (34,8%) и *Klebsiella* spp. (26,1%). В 8 случаях (17,4%) были выделены НФБ, которые идентифицированы как *Comamonas kerstersii*.

У всех обследуемых лиц в микробиоте кишечника *Comamonas kerstersii* содержались в количестве, превышающем норму (у жителей Санкт-Петербурга — 10^6 КОЕ/г, у жителей Гвинейской Республики — от 10^6 до 10^9 КОЕ/г). Во всех случаях *Comamonas kerstersii* обнаруживались в ассоциации с другими УПМ (*Klebsiella* spp., *Candida* spp., *Hafnia alvei*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter* spp.).

Идентификация штаммов *Comamonas kerstersii* с использованием различных методов и биохимических тестов показала различные результаты:

1. Рутинные биохимические тесты позволили отнести штаммы к группе НФБ (грамотрицательным, подвижным, каталазо- и оксидазоположительным, неферментирующим углеводы бактериям).

2. Тестами, входящими в набор «НЕФЕРМ тест24», штаммы были идентифицированы как *Comamonas testosteroni*.
3. Тестами карты GN анализатора VITEC 2, также как и тестами «НЕФЕРМ тест24» штаммы отнесены к *Comamonas testosteroni*.
4. Методом масс-спектрометрии с коэффициентом совпадения 2,19–2,33 все штаммы идентифицированы как *Comamonas kerstersii*.

Следует учесть, что бактерии *Comamonas kerstersii* не могут быть идентифицированы тестами, входящими в набор «НЕФЕРМ тест24» и карту GN VITEC 2, так как в базах данных обоих методов представлена характеристика только *Comamonas testosteroni*. Таксономическая база масс-спектрометрии включает эталонные спектры пяти видов *Comamonas* из 21 известных, в том числе и *Comamonas kerstersii*.

МПК антибиотиков различных групп штаммов *C. kerstersii* приведены в таблице. МПК цефтазидима составляла ряд от 0,75 до 2 мг/л; цефотаксима — от 0,75 до 4 мг/л; цефепима — от 0,25 до 1,5 мг/л; имипенема и меропенема — от 0,125 до 0,19 мг/л; ципрофлоксацина — от 0,06 до > 32 мг/л; тетрациклина — от 4 до 128 мг/л; хлорамфеникола — от 1 до 3 мг/л, триметоприм/сульфаметоксазола — от 0,25 до > 32 мг/л. МПК гентамицина для всех штаммов была 2 мг/л, амикацина — 3–4 мг/л. Два штамма *C. kerstersii*, выделенные от жителей Санкт-Петербурга (№ 8 и 9 в табл.), согласно критериям CLSI были чувствительны ко всем тестируемым АМП.

Штаммы, выделенные от жителей Гвинейской Республики, характеризовались нечувствительностью хотя бы к одному тестируемому АМП: ципрофлоксацину (4 штамма), тетрациклину (5 штаммов) и триметоприм/сульфаметоксазолу (5 штаммов), причем практически все штаммы характеризовались одновременно нечувствительностью к нескольким АМП: ципрофлоксацину и триметоприм/сульфаметоксазолу (2 штамма), тетрациклину и триметоприм/сульфаметоксазолу (2 штамма), ципрофлоксацину и тетрациклину (1 штамм). Один штамм был нечувствителен одновременно к ципрофлоксацину, тетрациклину и триметоприм/сульфаметоксазолу.

■ Обсуждение

Микроорганизмы рода *Comamonas* чаще всего выделяют из различных объектов окружающей среды, таких как заболоченная почва, перегной, вода открытых водоемов,

Таблица. МПК антимикробных препаратов штаммов *Comamonas kerstersii*

№ п/п	МПК, мг/мл										
	цефтазидим	цефотаксим	цефепим	имипенем	меропенем	ципрофлоксацин	гентамицин	амикацин	тетрацилин	хлорамфеникол	триметоприм/сульфаметоксазол
1	2,0	4,0	1,5	0,125	0,125	> 32,0	2,0	4,0	8,0	3,0	> 32,0
2	1,0	1,0	0,38	0,125	0,125	0,06	2,0	3,0	128,0	1,0	> 32,0
3	0,75	0,75	0,38	0,125	0,125	8,0	2,0	4,0	4,0	1,5	> 32,0
4	0,5	0,75	0,25	0,125	0,125	4,0	2,0	4,0	4,0	1,5	> 32,0
5	0,75	0,5	0,25	0,125	0,125	0,06	2,0	3,0	8,0	1,0	0,38
6	0,75	0,75	0,38	0,125	0,125	0,06	2,0	3,0	6,0	1,5	> 32,0
7	0,75	1,0	0,5	0,19	0,19	4,0	2,0	4,0	8,0	1,0	1,5
8	0,75	1,0	0,38	0,125	0,125	0,12	2,0	3,0	4,0	1,5	0,25
9	0,75	1,0	0,38	0,125	0,19	0,12	2,0	4,0	4,0	1,5	0,38

из содержимого кишечника термитов, реже от людей. Длительное время бактерии этого рода считались не патогенными для человека, однако, в последние годы появились сообщения о выделении *C. kerstersii* и *C. testosteroni* от пациентов с инвазивными инфекциями, при этом публикации об этиологической значимости *C. testosteroni* более многочисленны [6, 7, 12, 13, 16, 20, 21].

Эти микроорганизмы были выделены при катетер-ассоциированных инфекциях (бактериемиях), перитонитах, аппендицитах, послеоперационных осложнениях в виде гнойно-септических инфекций (ГСИ), менингитах и др. В Аргентине за период с 2010 по 2015 гг. *C. kerstersii* в ассоциации с другими УПМ были выделены из абсцесса надпочечника, при остром аднексите, из абдоминальной жидкости у 12 пациентов при острых перитонитах, развившихся вследствие гангренозных или перфорированных аппендицитов [4, 5]. В Великобритании в течение двух лет *C. kerstersii* были выделены от 27 госпитализированных пациентов с диареей. Авторы предположили, что носительство этого микроорганизма в кишечнике, может встречаться чаще, чем считалось ранее, так как были недоступны современные методы идентификации [8].

Идентификация бактерий рода *Comamonas* представляет значительные трудности. Это связано с относительно недавним их определением в отдельный род, выделением этих бактерий практически всегда в составе микробных ассоциаций при ГСИ, а также со сложностями их дифференциации от видов *Pseudomonas*. До последнего времени идентификация штаммов основывалась на изучении биохимической активности, при этом для внутривидового типирования необходимо было изучить не менее 11 специальных тестов. Тест-системы и микробиологические анализаторы, используемые в лабораторной практике, не позволяют проводить точную идентификацию этих труднотипируемых бактерий и дифференцировать виды *C. kerstersii* от *C. testosteroni*, поскольку в базах данных многих методов включен только один вид — *C. testosteroni*.

По мере расширения баз данных идентификационная способность методов будет включать более широкий спектр микроорганизмов, в том числе и другие виды *Comamonas*.

Публикации об этиологической значимости *C. kerstersii* появились вскоре после того, как для идентификации микроорганизмов в бактериологических лабораториях стали использовать метод времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF), достоверность результатов идентификации была подтверждена молекулярно-генетическими методами [4, 5, 8, 17].

В связи с вышесказанным, многие авторы считают, что этиологическая роль *C. kerstersii* в настоящее время недооценена, так как в описанных ранее случаях инфекций, сопровождавшихся выделением микроорганизмов семейства *Comamonadaceae*, идентификация штаммов проводилась методами, которые не позволяют точно дифференцировать виды внутри рода.

При исследовании микробиоты кишечника 1532 человек без признаков острой кишечной патологии, проживающих в Санкт-Петербурге, за период с 2015–2017 гг. штаммы *C. kerstersii* были выделены у двух пациентов, в то время как при обследовании 46 жителей Гвинейской Республики данный микроорганизм был обнаружен у 8 человек. Возможно, частое обнаружение *C. kerstersii* связано с климатическими и социально-экономическими условиями Гвинейской Республики [19].

Определение чувствительности к АМП штаммов *C. kerstersii* как возбудителей ГСИ осложняется отсутствием данных о природной устойчивости этих микроорганизмов, а также критериев интерпретации результатов тестирования в Клинических рекомендациях «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» и в рекомендациях Европейского Комитета по определению чувствительности микроорганизмов к антибиотикам (EUCAST) [2, 11]. Единственным руководством, где представлены критерии интерпретации, которые могут быть использованы при тестировании штаммов *C. kerstersii*, является документ CLSI M100-S27 [9].

Данные немногочисленных зарубежных исследований чувствительности штаммов *C. kerstersii* не позволяют провести сравнение результатов, поскольку некоторые авторы использовали в тестировании диско-диффузионный метод, не рекомендованный CLSI для тестирования этих микроорганизмов [8], или данные, полученные с использованием других критериев интерпретации [4, 5]. Тем не менее, результаты, представленные в виде значений МПК, позволяют сделать заключение, что среди штаммов *C. kerstersii*, выделенных в разное время, была отмечена устойчивость к фторхинолонам, триметоприм/сульфаметоксазолу и амикацину [4, 5, 17]. Наши результаты подтверждают высокую активность *in vitro* цефалоспоринов расширенного спектра, карбапенемов, аминогликозидов и хлорамфеникола в отношении штаммов *C. kerstersii*. Нечувствительные (к ципрофлоксацину, триметоприм/сульфаметоксазолу и тетрациклину) штаммы *C. kerstersii* были выделены только от жителей Гвинейской Республики.

■ Список литературы

1. Определение дисбиотических изменений желудочно-кишечного тракта по маркерам содержимого кишечника: федеральные клинические рекомендации. М., 2015: 36.
2. Определение чувствительности к антимикробным препаратам: клинические рекомендации. Версия 2015–02. URL: <http://www.antibiotic.ru/minzdrav/files/docs/clrec-dsma2015.pdf> (12.11.2017).
3. Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника: отраслевой стандарт. (ОСТ 91500.11.0004). Приказ МЗ РФ № 231 от 09.06.2003. URL: <https://normativ.kontur.ru/document?moduleId=1&documentId=62571> (12.11.2017).
4. Almuzara M., Barberis C., Veiga F., Bakai R., Cittadini R., Ocampo C.V., Serena M.A., Cohen E., Ramirez M.S., Famiglietti A., Stecher D., del Castillo M., Vay C. Unusual presentations of *Comamonas kerstersii* infection. *New Microbes New Infect.* 2017; 19: 91–95.
5. Almuzara M.N., Cittadini R., Ocampo C.V., Bakai R., Traglia G., Ramirez M.S. Intra-abdominal infections due to *Comamonas kerstersii*. *J. Clin. Microbiol.* 2013; 51: 1998–2000.
6. Arda B., Aydemir S., Yamazhan T., Hassan A., Tünger A., Serter D. *Comamonas testosteroni* meningitis in a patient with recurrent cholesteatoma. *APMIS.* 2003; 111: 474–476.
7. Barbaro D.J., Mackowiak P.A., Barth S.S., Southern P.M. Jr. *Pseudomonas testosteroni* infections: eighteen recent cases and a review of the literature. *Rev. Infect. Dis.* 1987; 9: 124–129.
8. Biswas J., Fitchett J., O'Hara G. *Comamonas kerstersii* and the perforated appendix. *J. Clin. Microbiol.* 2014; 52: 31–34.
9. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 27th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2017: 224.
10. De Vos P., Kersters K., Falsen E., Pot B., Gillis M., Segers P., De Ley J. *Comamonas Davis* and *Park* 1962 gen. nov., nom. rev. emend., and *Comamonas terrigena* Hugh 1962 sp. nov., nom. rev. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1985; 35: 443–453. doi: 10.1099/00207713-35-4-443
11. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 7.1, valid from 2017–03–10. URL: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_7.1_Breakpoint_Tables.pdf (12.11.2017).
12. Farshad S., Norouzi F., Aminshahidi M., Heidari B., Alborzi A. Two cases of bacteremia due to an unusual pathogen, *Comamonas testosteroni*, in Iran and a review literature. *J. Infect. Develop. Countries.* 2012; 6: 521–525.
13. Gul M., Ciragil P., Bulbuloglu E., Aral M., Alkis S., Ezberci F. *Comamonas testosteroni* bacteremia in a patient with perforated acute appendicitis. *ACTA MICROBIOL. IMM. H.* 2007; 54: 317.
14. List of prokaryotic names with standing in nomenclature. URL: <http://www.bacterio.net/comamonas.html> (12.11.2017).
15. Nakipoglu Y., Buyukbaba-Boral O., Aksozek A., Aydin S., Derbentli S. Evaluation of the contaminant organisms of humidifier reservoir water and investigation of the source of contamination in a university hospital in Turkey. *Am. J. Infect. Control.* 2005; 33: 62–63.
16. Nseir W., Khateeb J., Awawdeh M., Ghali M. Catheter-related bacteremia caused by *Comamonas testosteroni* in a hemodialysis patient. *Hemodial. Int.* 2011; 15: 293–296.
17. Opota O., Ney B., Zanetti G., Jatón K., Greub G., Prod'homme G. Bacteremia caused by *Comamonas kerstersii* in a patient with diverticulosis. *J. Clin. Microbiol.* 2014; 52: 1009–1012.
18. Palleroni N.J., Kinsawa R., Contopoulou R., Doudoroff M. Nucleic acid homologies in the genus *Pseudomonas*. *J. Syst. Bacteriol.* 1973; 23: 333–339.
19. Popova A.Yu., Kaftyreva L.A., Suzhaeva L.V., Voitenkova E.V., Zbrovskaya A.V., Egorova S.A., Makarova M.A., Matveeva Z.N., Zueva E.V., Porin A.A., Buaro M.Y., Konstantinov O.K., Totolian A.A. Comparative Characteristics of the Microbiome of the Intestines of the Residents of the Republic of Guinea and Russia. *Russian Journal of Infection and Immunity.* 2017; 325–330.

20. Reddy A.K., Murthy S.I., Jalali S., Gopinathan U. Post-operative endophthalmitis due to an unusual pathogen, *Comamonas testosteroni*. *J. Med. Microbiol.* 2009; 58: 374–375.
21. Tsui T.L., Tsao S.M., Liu K.S., Chen T.Y., Wang Y.L., Teng Y.H., Lee Y.T. *Comamonas testosteroni* infection in Taiwan: reported two cases and literature review. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 2011; 44: 67–71.
22. Wauters G., De Baere T., Willems A., Falsen E., Vaneechoutte M. Description of *Comamonas aquatica* comb. nov. and *Comamonas kerstersii* sp. nov. for two subgroups of *Comamonas terrigena* and emended description of *Comamonas terrigena*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2003; 53: 859–862.

Чувствительность к антимикробным препаратам штаммов энтеробактерий, выделенных при изучении микробиоты кишечника жителей Гвинейской Республики и Санкт-Петербурга

С.А. Егорова, М.А. Макарова, Л.А. Кафтырева, Л.В. Сужаева,
А.В. Забровская, З.Н. Матвеева, Е.В. Войтенкова

■ Введение

В настоящее время развитие устойчивости возбудителей инфекционных заболеваний к антимикробным препаратам (АМП) оказывает неблагоприятный эффект на здоровье человека из-за снижения клинической эффективности этиотропной терапии. Полирезистентные штаммы микроорганизмов являются причиной возникновения тяжелых форм внутрибольничных гнойно-септических инфекций, а также других инфекционных заболеваний (туберкулеза, дизентерии, сальмонеллез, брюшного тифа). В современных условиях, по оценке ВОЗ устойчивость возбудителей к АМП является глобальной общемировой проблемой, которая должна быть преодолена безотлагательно. В связи с этим в 2015 г. Всемирная ассамблея здравоохранения приняла глобальный план действий по борьбе с устойчивостью к АМП [1]. Одним из направлений «сдерживания» антибиотикорезистентности является мониторинг циркуляции резистентных штаммов микроорганизмов, а также генов, детерминирующих устойчивость к АМП. Два вида энтеробактерий (*Klebsiella pneumoniae* и *Escherichia coli*) входят в перечень индикаторных микроорганизмов, за устойчивостью которых к клинически значимым АМП проводится надзор в странах Евросоюза. Особое внимание уделяют штаммам, устойчивым к цефалоспорином расширенного спектра (ЦРС) и карбапенемам (продуцирующим бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС) и карбапенемазы) [6].

Результаты исследований, проводимых в РФ в последнее десятилетие, показали, что устойчивые штаммы энтеробактерий — возбудителей как нозокомиальных, так и внебольничных инфекций выделяли из различного клинического материала в российских стационарах, особенно в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ). В 2013–2016 гг. в популяции нозокомиальных штаммов *E. coli* 50–70% были устойчивы к ЦРС и фторхинолонам, более 20–30% — к аминогликозидам. В популяции штаммов *K. pneumoniae* резистентность была более выражена: 80–90% устойчивы к ЦРС и фторхинолонам, более 60% — к аминогликозидам, появилась резистентность к карбапенемам (около 10%). Высокие уровни резистентности отмечены и у штаммов, выделенных во внебольничных условиях: к ЦРС около 30% штаммов *E. coli* и более 50% штаммов *K. pneumoniae*, к фторхинолонам — каждый второй штамм, к аминогликозидам — около 20% *E. coli* и 40% *K. pneumoniae*; доля штаммов *K. pneumoniae*, устойчивых к карбапенемам — около 2% [2, 4, 5, 8].

Известно, что резистентные к АМП штаммы энтеробактерий могут входить в состав микробиоты кишечника. Колонизируя организм здорового человека, устойчивые штаммы не вызывают заболеваний желудочно-кишечного тракта, при этом здоровый человек становится носителем и источником выделения таких штаммов или детерминант резистентности во внешнюю среду. Штаммы различных бактерий, несущие гены, ответственные за продукцию БЛРС и карбапенемаз, обнаружены в сточных водах городских систем, воде открытых водоемов, почве, в испражнениях сельскохозяйственных и домашних животных [10].

Цель исследования состояла в сравнительной оценке чувствительности к АМП штаммов условно-патогенных энтеробактерий (УПЭ), выделенных из проб испражнений жителей Гвинейской Республики и Санкт-Петербурга.

■ Материалы и методы

Изучена чувствительность к АМП 1018 штаммов УПЭ, выделенных в 2015–2016 гг. из проб испражнений жителей Гвинейской Республики (121 штамм) и Санкт-Петербурга (897 штаммов) при изучении микробиоты кишечника [9]. Популяция исследованных штаммов включала 604 штамма *E. coli* и 414 штаммов других УПЭ (*Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *Citrobacter* spp., *Hafnia alvei*). Определение чувствительности к АМП проводили диско-диффузионным методом согласно Клиническим рекомендациям «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» [3] с использованием дисков производства Oxoid. В исследование включили следующие АМП: ампициллин (ампициллин и амоксициллин/клавулановая кислота); ЦРС (цефтазидим и цефотаксим); карбапенемы (меропенем); хинолоны (налидиксовая кислота и цiproфлоксацин); аминогликозиды (гентамицин, тобрамицин, амикацин); тетрациклины (тетрациклин); нитрофураны (нитрофурантоин); триметоприм/сульфаметоксазол и хлорамфеникол. Учитывая тот факт, что многие виды УПЭ обладают природной устойчивостью к аминопенициллинам, чувствительность к этой группе АМП определяли только у штаммов *E. coli* и *Proteus mirabilis*.

У штаммов бактерий, нечувствительных к бета-лактамам, изучили механизмы резистентности, используя подтверждающие тесты: фенотипические (тест синергизма с двумя дисками, тест «ESBL+AmpC Screen Kit» производства Rosco Diagnostica, Дания) и молекулярно-генетические (ПЦР с электрофоретической детекцией со специфическими праймерами к генам, кодирующим бета-лактамазы различных молекулярных классов: TEM, SHV, OXA, CTX-M, AmpC), используя праймеры и условия, описанные ранее [7]. Состав реакционной смеси: 2xTaq Master mix green HS (Алкор Био, Россия), соответствующие праймеры в конечной концентрации 0,4 мкМ.

■ Результаты и обсуждение

По результатам тестирования популяция штаммов УПЭ, выделенных от жителей Гвинейской Республики и Санкт-Петербурга, была представлена штаммами чувствительными к АМП (16,5 и 71,3% соответственно), резистентными к 1–2 классам АМП (35,5 и 17,6% соответственно), а также штаммами с множественной устойчивостью к 3 и более классам АМП (47,9 и 11,1% соответственно) (табл. 1).

Частота выделения штаммов, резистентных к отдельным АМП, различалась у жителей Гвинейской Республики и Санкт-Петербурга в зависимости от группы АМП (табл. 2). Все изученные штаммы сохраняли чувствительность к карбапенемам. В популяции штаммов, выделенных от жителей Гвинейской Республики, отмечена высокая частота устойчивости к трем классам АМП: тетрациклинам — 63,2 на 100 исследованных штаммов, триметоприму/сульфаметоксазолу — 59,5 и аминопенициллинам — 48,4. Устойчивость к хинолонам составила 17,4, нитрофуранам — 12,0, хлорамфениколу — 9,9, ЦРС — 9,1 и аминогликозидам — 6,6. В популяции штаммов УПЭ, выделенных от жителей Санкт-Петербурга, частота выделения устойчивых штаммов была значительно ниже и составила для аминопенициллинов и тетрациклинов 18,8 и 14,6 соответственно. Частота выделения штаммов, устойчивых к другим АМП, колебалась от 4,1 до 8,8 на 100 исследованных штаммов.

В ходе исследования у штаммов УПЭ, устойчивых к бета-лактамам (ампициллину и ЦРС), провели детекцию генов, кодирующих продукцию бета-лактамаз часто встречающихся молекулярных классов: TEM, SHV, OXA, CTX-M и AmpC.

В популяции изученных штаммов УПЭ природно чувствительными к аминопенициллинам являются штаммы *E. coli* и *Proteus mirabilis*. Другие виды УПЭ (*Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Hafnia alvei*) характеризуются природной устойчивостью к аминопе-

Таблица 1. Частота выделения штаммов УПЭ с различными фенотипами резистентности от жителей Гвинейской Республики и Санкт-Петербурга (на 100 исследованных штаммов)

Генотип резистентности штаммов к АМП	Гвинейская Республика (n = 121)			Санкт-Петербург (n = 897)		
	абс.	на 100 исследованных штаммов	95%ДИ	абс.	на 100 исследованных штаммов	95%ДИ
Чувствительные	20	16,5	11,0–24,2	640	71,3	68,3–74,2
Устойчивые (всего):	101	83,5	75,7–89,0	257	28,7	25,8–31,7
– к 1–2 классам АМП	43	35,6	27,6–44,4	158	17,6	15,3–20,2
– к 3 и более классам АМП	58	47,9	39,2–56,8	99	11,1	9,1–13,3
Продуцирующие БЛРС	11	9,1	5,2–15,5	68	7,6	6,0–9,5

Таблица 2. Частота выделения штаммов УПЭ, устойчивых к АМП (на 100 исследованных штаммов)

АМП		Гвинейская Республика (n = 121)			Санкт-Петербург (n = 897)		
		абс.	на 100 исследованных штаммов	95%ДИ	абс.	на 100 исследованных штаммов	95%ДИ
β-лактамы	Аминопенициллины ¹	45	46,9 ²	37,2–56,8	96	18,8 ³	15,6–22,4
	ЦРС	11	9,1	5,2–15,5	68	7,6	6,0–9,5
	Карбапенемы	0	0	0–3,1	0	0	0–0,4
Хинолоны		21	17,4	11,6–25,1	79	8,8	7,1–10,8
Тетрациклины ¹		74	63,2 ⁴	54,2–71,4	131	14,6	12,4–17,1
Аминогликозиды		8	6,6	3,4–12,5	37	4,1	3,0–5,6
Нитрофураны ¹		14	12,0 ⁴	7,3–19,1	43	4,8	3,6–6,4
Триметоприм/сульфаметоксазол		72	59,5	50,6–67,8	65	7,2	5,7–9,1
Хлорамфеникол		12	9,9	5,8–16,5	69	7,7	6,1–9,6

Примечание: ЦРС — цефалоспорины расширенного спектра; ¹ оценивали чувствительность штаммов УПЭ, относящихся к видам, природно чувствительным к данному классу АМП; ² оценивали чувствительность *E. coli* и *Proteus mirabilis* (96 штаммов); ³ оценивали чувствительность *E. coli* и *Proteus mirabilis* (511 штаммов); ⁴ оценивали чувствительность штаммов УПЭ (117 штаммов) без учета *Proteus* spp., природно устойчивых к нитрофуранам.

нициллинам, поэтому их чувствительность к этой группе препаратов в данном исследовании не оценивали. Выявлен 141 штамм *E. coli*, устойчивый к аминопенициллинам: 45 штаммов от жителей Гвинейской Республики и 96 штаммов от жителей Санкт-Петербурга. Гены, кодирующие продукцию бета-лактамазы широкого спектра (БЛШС) — TEM-1, найдены у подавляющего большинства штаммов (80,0 и 83,3% соответственно); OXA — у 3 штаммов (6,7%), выделенных от жителей Гвинейской Республики, и 5 штаммов (5,2%), выделенных в Санкт-Петербурге; SHV — у 1 штамма, выделенного в Санкт-Петербурге.

У трех штаммов (3,1%), выделенных от жителей Санкт-Петербурга, выявлены одновременно гены БЛШС двух молекулярных классов: TEM и OXA. Гены часто встречающихся БЛШС (TEM, SHV, OXA) не выявлены у 13 штаммов, характеризующихся, возможно, другими механизмами резистентности.

Молекулярно-генетическое исследование 79 штаммов УПЭ, устойчивых к ЦРС, показало, что штаммы *K. pneumoniae*, выделенные как от жителей Гвинейской Республики (2 штамма), так и Санкт-Петербурга (13 штаммов), обладали генами БЛРС генетического семейства CTX-M, генетической группы CTX-M1 (табл. 3). У подавляющего большинства штаммов *E. coli* (9 от жителей Гвинейской Республики и 55 от жителей Санкт-Петербурга) выявлены гены, кодирующие БЛРС генетического семейства CTX-M (81,8 и 92,7% соответственно), которые относились внутри семейства к двум генетическим группам: CTX-M1

Таблица 3. Доля штаммов УПЭ (*E. coli* и *K. pneumoniae*), продуцирующих бета-лактамазы различных молекулярных классов

Бета- лактамазы	Число штаммов, выделенных от жителей					
	Гвинеи́йской Респу́блики			Санкт-Петербу́рга		
	абс.	%	95% ДИ	абс.	%	95% ДИ
Штаммы, устойчивые к ампициллину						
Всего штаммов	45	100	—	96	100	—
TEM	36	80,0	66,2–89,1	83	86,5	78,2–91,9
SHV	0	0	0–7,9	1	1,0	0,2–5,7
OXA	3	6,7	2,3–17,9	5	5,2	2,2–11,6
Другие БЛШС	6	13,3	6,3–26,2	7	7,3	3,6–14,3
Штаммы, устойчивые к ЦРС						
Всего штаммов	11	100	—	68	100	—
TEM	0	0	0–25,9	2	2,9	0,8–10,1
SHV	0	0	0–25,9	2	2,9	0,8–10,1
AmpC CMY	0	0	0–25,9	1	1,5	0,3–7,9
CTX-M, из них:	9	81,8	52,3–94,9	63	92,7	83,9–96,8
– CTX-M1	8	72,7	43,4–90,3	46	67,6	55,8–77,6
– CTX-M9	1	9,1	1,6–37,7	17	25,1	16,2–36,4
Другие БЛРС	2	18,2	5,1–47,7	0	0	0–5,3

(72,7 и 67,6% соответственно) и CTX-M9 (9,1 и 25,1% соответственно). Кроме того, у штаммов *E. coli*, выделенных в Санкт-Петербурге, обнаружены гены, кодирующие продукцию БЛРС генетических семейств TEM и SHV (2,9%), а также цефалоспорины молекулярного класса C (AmpC, генетической группы CMY) у одного штамма (1,5%). Гены широко распространенных БЛРС (CTX-M, TEM, SHV, AmpC) не выявлены у 2 штаммов *E. coli* жителей Гвинеи́йской Респу́блики, возможно характеризующихся другими механизмами резистентности.

Проведенные исследования показали, что резистентные штаммы УПЭ выделены в составе микробиоты кишечника как у жителей Гвинеи́йской Респу́блики, так и Санкт-Петербу́рга. При этом следует отметить, что у жителей Гвинеи́йской Респу́блики устойчивые штаммы выявлены достоверно чаще, чем у жителей Санкт-Петербу́рга (83,5 и 28,7 на 100 исследованных штаммов соответственно), включая штаммы с множественной резистентностью к АМП (47,9 и 11,1 соответственно). У жителей Гвинеи́йской Респу́блики высока частота выделения штаммов УПЭ, устойчивых к «старым» АМП, которые часто применяли в 70-е гг. прошлого столетия, но редко используются в настоящее время в РФ и других европейских странах для лечения инфекций различной локализации: тетрациклинам (63,2), триметоприм/сульфаметоксазолу (59,5) и незащищенным аминопенициллинам (48,4). Частота выявления штаммов, устойчивых к современным клинически значимым АМП (ЦРС, фторхинолоны, аминогликозиды) практически не отличалась у жителей Гвинеи́йской Респу́блики и Санкт-Петербу́рга. Установлено, что резистентность к бета-лактамам штаммов УПЭ, выделенных как у жителей Гвинеи́йской Респу́блики, так и Санкт-Петербу́рга, обусловлена практически одним механизмом — продукцией бета-лактамаз широкого и расширенного спектра различных генетических семейств. Выявленные закономерности соответствуют глобальным тенденциям формирования резистентности к АМП у штаммов энтеробактерий в мире: устойчивость к аминопенициллинам у *E. coli* обусловлена продукцией бета-лактамазы широкого спектра TEM-1 (80% штаммов от жителей Гвинеи́йской Респу́блики и 86,5% — Санкт-Петербу́рга), а устойчивость к ЦРС — продукцией БЛРС генетической группы CTX-M1 (72,7 и 67,6% соответственно).

Наши исследования показали, что в составе нормальной микробиоты кишечника жителей разных континентов (Европа и Африка) присутствуют бактерии (*Klebsiella pneumoniae* и *Escherichia coli*), штаммы которых характеризуются резистентностью к клинически значимым АМП (бета-лактамам), обусловленной единым механизмом, глобально распространенным в популяциях энтеробактерий.

■ Список литературы

1. ВОЗ: Глобальный план действий по борьбе с устойчивостью к противомикробным препаратам. URL: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/254884/1/9789244509760-rus.pdf?ua=1>
2. Егорова С.А., Кафтырева Л.А., Липская Л.В., Коноваленко И.Б., Пясетская М.Ф., Курчикова Т.С., Ведерникова Н.Б., Морозова О.Т., Смирнова М.В., Попенко Л.Н., Любушкина М.И., Савочкина Ю.А., Макарова М.А., Сузаева Л.В., Останкова Ю.В., Иванова М.Н., Павелкович А.М., Наабер П., Сепп Э., Кыльялг С., Мицюлявичене И., Балодэ А. Штаммы энтеробактерий, продуцирующие бета-лактамазы расширенного спектра и метало-бета-лактамазу NDM-1, выделенные в стационарах в странах Балтийского региона. *Инфекция и иммунитет*. 2013; 3 (1): 29–36.
3. Определение чувствительности к антимикробным препаратам: клинические рекомендации, версия 2015-2. URL: <http://www.antibiotic.ru/minzdrav/files/docs/clrec-dsma2015.pdf>
4. Светличная Ю.С., Колосовская Е.Н., Кафтырева Л.А., Дарына М.Г., Егорова С.А., Макарова М.А. Микробиологический мониторинг в системе эпидемиологического надзора за госпитальными инфекциями. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2014; 1 (74): 9–14.
5. Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Склеенова Е.Ю., Иванчик Н.В., Микотина А.В., Дехнич А.В., Козлов Р.С. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов Enterobacteriaceae в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН» 2013–2014. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2017; 19 (1): 49–56.
6. Antimicrobial resistance surveillance in Europe. Annual report of the European EARS-Net 2015. URL: <https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/antimicrobial-resistance-europe-2015.pdf>
7. Dallenne C., Da Costa A., Decré D., Favier C., Arlet G. Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important b-lactamases in Enterobacteriaceae. *J. Antimicrob. Chemother.* 2010; 65: 490–495.
8. Pavelkovich A., Balode A., Edquist P., Egorova S., Ivanova M., Kaftyreva L., Konovalenko I., Kõljalg S., Lillo J., Lipskaya L., Miciuleviciene J., Pai K., Parv K., Pärna K., Rööp T., Sepp E., Štšepetova J., Naaber P. Detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in the Baltic Countries and St. Petersburg Area. *BioMed Res. Int.* 2014; ID 548960. doi: 10.1155/2014/548960
9. Popova A.Yu., Kaftyreva L.A., Suzhaeva L.V., Voitenkova E.V., Zabrovskaya A.V., Egorova S.A., Makarova M.A., Matveeva Z.N., Zueva E.V., Porin A.A., Buaro M.Y., Konstantinov O.K., Totolian A.A. Comparative characteristics of the microbiome of the Intestines of the residents of the Republic of Guinea and Russia. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2017; 7 (4): 325–330.
10. Woodford N., Wareham D.W., Guerra B., Teale C. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and non-Enterobacteriaceae from animals and the environment: an emerging public health risk of our own making? *J. Antimicrob. Chemother.* 2014; 69: 287–291. doi: 10.1093/jac/dkt392

Вирусные гепатиты

Эпидемиология энтеральных гепатитов в странах Африканского континента

Е.В. Эсауленко, А.В. Семенов, А.А. Сухорук, М.В. Понятишина,
Ю.В. Останкова, И.В. Хамитова, Арег А. Тотолян

Вирусы гепатита А (ВГА) и гепатита Е (ВГЕ) различаются по таксонометрическим признакам, однако имеют единый механизм передачи возбудителя — фекально-оральный (энтеральный), что позволяет отнести заболевания к группе кишечных инфекций и объединить их в группу энтеральных гепатитов [7, 75, 77]. Инфицирование происходит при употреблении здоровым человеком пищевых продуктов или воды, загрязненных фекалиями инфицированного человека. Исследователями доказаны и другие пути передачи вирусов, но на их долю приходится меньшее число клинических случаев: переливание инфицированных продуктов крови, употребление сырых или не подвергшихся тепловой обработке моллюсков [35, 68, 76]. Для гепатита Е (ГЕ) характерна передача вируса при употреблении подвергшихся недостаточной термической обработке мяса или мясных продуктов (печени кабана, косули, сыровяленой колбасы), полученных от инфицированных животных [24, 38, 50]. Вертикальная передача ВГЕ в 25% случаев приводит к летальному исходу у беременной и плода [23, 45, 54, 57, 64]. Передача ВГЕ от человека к человеку была доказана в период большой вспышки ГЕ на территории северной Уганды (октябрь 2007 г. — конец июня 2008 г.) [72].

ВГА считается патогенным только для человека, тогда как ВГЕ — и для человека, и для животных [27]. Таким образом, принципиальным отличием является принадлежность ГА к классическим антропонозам, а ГЕ — к зооантропонозам [7, 27, 71].

Как правило, ГА и ГЕ самопроизвольно завершаются выздоровлением. К еще одному принципиальному различию этих двух энтеральных гепатитов можно отнести и возможное развитие хронизации патологического процесса в печени при ГЕ, что исключено при ГА. В настоящее время является полностью доказанным факт развития хронического ГЕ с быстро прогрессирующим циррозом печени у лиц с иммунодефицитами [26, 34, 58].

Показатель летальности при ГА зависит от возраста пациента и варьирует от 0,1% среди детей в возрасте до 15 лет, до 0,3% среди лиц в возрасте от 15 до 39 лет и до 2,1% взрослых в возрасте 40 лет и старше [37]. Частота развития летальных случаев при ГЕ составляет 0,1–4,0% [80]. В литературе описаны случаи развития фульминантного ГЕ, однако в большей степени летальность характерна для беременных, инфицированных в третьем триместре беременности.

ВГА относится к семейству Пикорнавирусов (*Picornaviridae*), роду энтеровирусов [82]. ВГЕ принадлежит к семейству *Hepeviridae* и является единственным представителем рода *Hepevirus* [9, 11, 29]. Оба вируса лишены оболочек. Геномы ВГА и ВГЕ представлены одноцепочечной РНК позитивной полярности. В РНК ВГА обнаружены нуклеотидные последовательности, общие с другими энтеровирусами, а геном ВГЕ имеет сходную структуру с вирусами семейств *Caliciviridae* и *Tombusviridae*.

У обоих вирусов существует лишь один серотип [30], что обеспечивает развитие перекрестного протективного иммунитета и эффективность вакцинации.

Однако и ВГА, и ВГЕ характеризуются генетической вариабельностью. Существует 4 генотипа (1–4) [48, 62] и 24 субгенотипа [60, 62, 73] ВГЕ. Генотипы 1 и 2 обнаружены только у людей и преобладают среди населения развивающихся стран. Вирусы генотипов 3 и 4 являются зоонозными и циркулируют среди многих животных (в том числе свиней, кабанов и оленей), не вызывая заболевания. Случаи заражения ими человека редки [73].

В настоящее время известно о семи (I–VII) генотипах ВГА, четыре из которых (I, II, III и VII) ассоциированы с заболеванием у людей [25, 61]. Внутри I и III генотипов выделяют субгенотипы, которые принято обозначать заглавными буквами латинского алфавита А и В (IA, IB, IIIA, IIIB).

Идентификация генотипов и субгенотипов вирусов существенно расширяет возможности в расследовании вспышек, используется для установления источника инфекции и определения путей передачи вируса.

ГА и ГЕ в настоящее время являются одними из наиболее распространенных заболеваний в мире и представляют проблему для общественного здравоохранения как в развитых, так и в развивающихся странах. По данным ВОЗ ежегодно в мире регистрируется около 1,4 млн случаев ГА [3] и 20 млн случаев ГЕ [4]. Считается, что в настоящее время треть населения Земного шара инфицировано ВГЕ [43].

По уровню распространения ГЕ выделяют зоны высокой (страны с субтропическим и тропическим климатом) и низкой (с умеренным и холодным климатом) эндемичности. Традиционно, эндемичность территории по ГА принято классифицировать на низкую, среднюю и высокую. Принцип такого подразделения основывается на показателях распространенности антител к ВГА иммуноглобулинов класса G (анти-ВГА IgG) в сыворотке крови человека и отражает серопозитивность < 15%, 15–50%, и > 50%, ретроспективно в исследовательских популяциях [2, 63].

В настоящее время существует два источника получения информации, которая может использоваться для оценки бремени заболеваний, ассоциируемых с ВГА и ВГЕ:

- выборочные серологические обследования, оценивающие распространенность инфекции (пораженность), приобретенной в прошлом;
- системы отчетности, которые позволяют оценить заболеваемость или смертность.

Несмотря на высокий потенциал диагностических лабораторных возможностей, в литературе практически отсутствуют сведения о современной эпидемиологической ситуации по ГА и ГЕ в странах с низким и средним уровнем доходов, прежде всего в странах Африканского континента [41].

Цель исследования: представить сложившуюся в настоящее время эпидемиологическую ситуацию в Африке по энтеральным гепатитам (ГА и ГЕ) и предложить перспективы дальнейших исследований.

■ Метод исследования

Проведен поиск публикаций, вошедших в базы данных Medline/PubMed, Google Scholar, AJOL (African Journals Online), а также электронную библиотеку eLibrary.ru.

Глубина поиска первоначально составила 10 лет, затем, в связи с ограниченным числом публикаций, расширена до 30 лет.

Термины, использованные для поисковых запросов в англоязычных базах — «hepatitis A», «hepatitis E», «seroprevalence» или «prevalence», в сочетании с названиями стран преимущественно Африканского региона на английском языке. Термины, использованные для поисковых запросов в русскоязычной библиотеке — «гепатит А», «гепатит Е», «вирус гепатита А», «вирус гепатита Е», «заболеваемость», «пораженность» в сочетании с названиями стран преимущественно Африканского региона на русском языке.

Из анализа были исключены публикации, ориентированные исключительно на группы высокого риска, такие как ВИЧ-инфицированные или пациенты с хроническими заболеваниями печени.

Списки ссылок всех соответствующих статей были дополнительно проанализированы. Для детального изучения резюме и полнотекстовых версий статей было отобрано 82 публикации, которые и вошли в настоящий обзор.

■ Результаты исследования

Начиная с 1990 г. Организация Объединенных Наций каждый год публикует доклад о качестве жизни человека в разных странах мира, рейтинг которых по качеству жизни разделен на четыре группы человеческого развития: к первой относятся страны с очень высоким уровнем развития, ко второй — страны с высоким уровнем развития, к третьей — страны со средним уровнем развития и к четвертой — страны с низким уровнем развития.

В группе с низким уровнем развития находятся в основном страны Африки, расположенные южнее Сахары, которые подразделяют на четыре региона — Центральный, Южный, Западный и Восточный. В настоящее время Африка относится к регионам, которые обладают ресурсами для борьбы с инфекционными заболеваниями. Однако наиболее активно они используются в основном в странах с наиболее высоким уровнем заболеваемости, преимущественно в периоды эпидемий и/или вспышек [21].

Глобальный анализ оценки состояния санитарии и питьевого водоснабжения, проведенный в рамках совместной программы ВОЗ/ЮНИСЕФ, показал, что в странах Африки к югу от Сахары уровень гигиены и санитарии до сих пор остается низким. Большинство населения, не имея достаточного доступа к улучшенным источникам питьевой воды, использует воду из наземных источников. Половина населения Африки не имеет возможности пользоваться улучшенными санитарно-техническими средствами и не обладает навыками адекватной гигиены [1].

В настоящее время не вызывает сомнения, что уровень заболеваемости энтеральными гепатитами связан именно с социально-экономическими факторами, влияющими на качество санитарного контроля и доступ к питьевой воде. Бытовые условия и низкий социальный статус населения, низкий уровень санитарии, неадекватные/небезопасные источники питьевой воды определяют высокий уровень распространенности ГА и ГЕ [80]. Это подтверждает картина серопораженности ГА и ГЕ, которая географически варьирует от низкого уровня в развитых странах до высокого — в развивающихся [78, 41].

Заболеваемость ГА в мировой практике принято ранжировать от низкой, как в Скандинавских странах (13%), до высокой (около 100%) в странах Азии, Африки и Южной Америки [77].

В большинстве регионов с низкими доходами населения, включая страны Африки, расположенные к югу от Сахары распространенность анти-ВГА IgG среди населения может превышать 90% к возрасту 10-ти лет.

В регионах с высокими доходами (Западная Европа, Австралия, Новая Зеландия, Канада, Соединенные Штаты Америки, Япония, Республика Корея и Сингапур) распространенность анти-ВГА IgG очень низкая (< 50% приобретают иммунитет к 30-летнему возрасту) [20, 46]. На вышеуказанных территориях высокая восприимчивость лиц среди взрослого населения теоретически может допускать передачу инфекции, но циркуляции вируса почти не наблюдается, и риск заболевания минимальный. Однако вспышки пищевого происхождения встречаются, например, при приеме в пищу моллюсков, обитающих в воде, загрязненной сточными водами, или зараженных овощей, употребляемых в салате. Также ГА может наблюдаться среди лиц или групп населения особо высокого риска, таких как непривитые лица, путешествующие в районы высокой эндемии; мужчины, занимающиеся сексом с мужчинами; лица, использующие инъекционные наркотики, и изредка среди специальных подгрупп населения (например, определенных религиозных общин, пациентов психоневрологических диспансеров и др.). В редких случаях, в основном до внедрения скрининга доноров и процедур по инаktivации вирусов, ВГА мог передаваться при переливании крови или использовании продуктов крови.

В большинстве регионов со средним уровнем доходов (Азия, Латинская Америка, Восточная Европа и Ближний Восток) выборочные обследования населения по выявлению

анти-ВГА IgG продемонстрировали сочетание среднего ($\geq 50\%$ иммунных к 15-летнему возрасту) и низкого ($\geq 50\%$ иммунных к 30-летнему возрасту) уровней пораженности. В этих регионах, где значительная пропорция подростков и взрослых восприимчива к инфекции, ВГА может циркулировать, часто проявляясь в виде вспышек на уровне общин.

В большинстве регионов с низкими доходами, включая страны Африки, расположенные к югу от Сахары, распространенность анти-ВГА IgG-антител среди населения может превышать 90% к возрасту 10 лет. Несмотря на небольшое число публикаций, в настоящее время очевидно, что распространенность ГА зависит от региона Африки — северный регион или регионы, расположенные южнее Сахары.

В регионе Северной Африки (Египет, Судан, Алжир, Ливия, Марокко, Мавритания, Тунис, Западная Сахара) ГА распространен повсеместно [32], тогда как ГЕ эндемичен не для всех стран данного региона. По уровню распространенности можно выделить страны с высокой эндемичностью ГА, к ним относятся Египет, Ливия, Алжир. В Египте среди населения сельских районов отмечается высокая распространенность ВГА, уровень которой достигает 100% [51]. Основным фактором риска в этих странах является потребление воды, загрязненной сточными водами. В Ливии, подобно Египту, большинство инфицируется в детстве. Антитела к ВГА были обнаружены у детей 3-х лет в 60–70% случаев и достигали 100% у детей 7 лет [42]. В Алжире отмечается высокий уровень распространенности антител к ВГА (96%) среди маленьких детей [67]. Марокко можно отнести к территориям с промежуточной заболеваемостью: антитела к ВГА варьируют между 45 и 70% у детей младше 6 лет и в возрасте 7–14 лет соответственно [17].

В среднем эпидемиологическая ситуация по ГА в данном регионе Африки значительно лучше, чем в остальных регионах, расположенных южнее Сахары. Сравнительная характеристика распространенности ВГА в странах Африки в зависимости от региона и возрастной группы приведена в табл.

В более ранних исследованиях по изучению распространенности антител к ВГА у населения стран Африки, расположенных южнее Сахары, как правило, сообщалось и сообщается о высоком уровне эндемичности, так как к 5-летнему возрасту более половины детей имеют серологическое подтверждение предшествующей инфекции. К настоящему времени число опубликованных работ по распространенности ГА в странах Западной Африки (Того, Нигерия, Сьерра-Леоне, Сенегал, Нигер, Мавритания, Мали, Либерия, Кот-д'Ивуар, Кабо-Верде, Гана, Гвинея-Бисау, Гвинея, Бенин, Буркина-Фасо, Гамбия, Сан-Томе и Принсипи, Остров Святой Елены) немного. В основном они относятся к концу 1970-х гг., когда были проведены первые исследования по определению распространенности антител к ВГА в странах Западной Африки, расположенных южнее Сахары.

Исследования, проведенные в Либерии в конце 1970-х гг., показали, что более 80% детей в возрасте 4–5 лет имели антитела к ВГА, причем в 45% случаев инфицирование произошло в возрасте от 1 до 4 лет [59, 79]. Исследования, проведенные примерно в тот же временной период в Сенегале, показывают, что почти 100% детей были инфицированы к 5 годам [15, 16]. Исследование, проведенное в Нигерии, показало, что более 90% взрослых имели антитела к ВГА [14].

Исследования, проведенные в 1980-х гг., выявили более низкие уровни распространенности ГА в Кабо-Верде [65] и Гвинейской Республике [39].

Исследования, проведенные в Камеруне в начале 1990-х гг., обнаружили распространенность анти-ВГА IgG среди взрослого населения более, чем в 90% случаев [55, 66, 70]. В 1998 г. были опубликованы результаты исследования, доказывающие высокий уровень распространенности (97%) ГА среди школьников в Сьерра-Леоне [36].

Не было найдено опубликованных исследований по изучению распространенности ГА в следующих странах: Бенин, Буркина-Фасо, Чад, Кот-д'Ивуар, Гамбия, Гана, Гвинея-Бисау, Мали, Мавритания, Нигер, остров Святой Елены, Сан-Томе и Принсипи, а также Того.

Таблица. Частота встречаемости анти-ВГА IgG среди населения Африки в зависимости от региона и возраста, %

Регион	Возрастные группы							
	1–4	5–9	10–14	15–19	20–24	25–34	35–44	45+
Центральная Африка южнее Сахары	40	90	98	99	100	100	100	100
Восточная Африка южнее Сахары	73	86	91	95	98	100	100	100
Южная Африка южнее Сахары	67	84	94	100	100	100	100	100
Западная Африка южнее Сахары	50	75	84	90	95	100	100	100
Северная Африка	37	58	70	77	83	89	96	100

Вероятно, что в Западной Африке по-прежнему высок уровень заболеваемости ГА и, соответственно, очень высок уровень серопозитивности, причем в основном среди детей, инфицировавшихся в раннем детстве, и очень мало взрослых, подверженных риску заражения. Однако, рост экономического развития во многих странах Африки за последние два десятилетия позволяет предположить, что уровень заболеваемости ГА для некоторых групп населения в указанном регионе начинает снижаться.

Гепатит Е — широко распространенное заболевание, но распространенность преобладает в странах с тропическим климатом, неадекватным уровнем санитарии и личной гигиены. Маркеры ВГЕ прежде всего определяются у популяции людей, проживающих в развивающихся экваториальных странах, как Восточного, так и Западного полушария. К регионам с распространенностью, уровень которой превышает более 25%, относят Центральную Америку, Средний Восток, большую часть Африки и Азии [22]. Вспышки, как правило, связаны с сезонами дождей, наводнениями и скученностью проживания населения.

Распространенность ВГЕ в развитых странах в среднем составляет < 5% [5, 18, 19], а случаи ГЕ относятся к спорадическим или являются «завозными» из эндемичных регионов [6, 8].

По мнению многих исследователей, в эндемичных регионах более 80% населения имеют антитела к ВГА, тогда как антитела к ВГЕ встречаются гораздо реже [18]. Однако в литературе описаны эпидемии ГЕ с вовлечением от сотен до тысяч человек в странах Азии, Африки, Среднего Востока и Южной Америки [28, 43, 47].

Первая крупная вспышка в Африке была описана именно в регионе Западной Африки южнее Сахары на территории Кот-д'Ивуара в 1986 г. [44]. У вовлеченных во вспышку лиц в 90% случаев были обнаружены антитела к ВГЕ [43].

В периоды вне эпидемических подъемов уровень распространенности ГЕ широко варьирует в зависимости от страны или групп, в которых проводится исследование. Опубликованные к настоящему времени данные свидетельствуют о широкой вариабельности уровня распространенности ВГЕ в Африке от 0 до 94% [10, 13, 33, 49, 52, 53, 56, 69, 74]. Среди беременных распространенность ГЕ составила 11,6% на территории Буркина-Фасо и 84,3% — на территории Египта.

В Замбии средний уровень серораспространенности ВГЕ среди 106 взрослых, которые участвовали в исследовании в 1999 г. составил 42%; среди детей, включенных в проспективное исследование в 2011 г.: 8% (1–4 года, n = 96), 16% (5–9 лет, n = 62) и 36% (10–14 лет, n = 36) [40].

Исследования, проведенные в период 2010–2012 гг. в северной части Уганды среди пациентов с острым гепатитом, клинически протекающим манифестно (n = 347) выявили, что доля ГЕ составила 42%, тогда как гепатита В — 14% и гепатита С — 5% [31]. В течение 2012 г. среди лиц, находившихся в лагере для беженцев, расположенном на востоке Кении, антитела к ВГЕ класса IgM и РНК ВГЕ выявлены в 77,1% из 170 образцов. Все пациенты переносили острый желтушный синдром (острый гепатит) [12].

■ Заключение

Население многих стран Африканского региона переносит энтеральные гепатиты в раннем детстве, что позволяет отнести эти государства к эндемичным странам. Однако появляются данные о том, что некоторые западноафриканские популяции, особенно в странах с относительно высоким валовым внутренним продуктом, начинают переходить от очень высокой эндемичности к высокой. Необходимо проведение дальнейших исследований показателей серопозитивности у детей в различных частях Африки (включая городские районы с более высоким уровнем дохода и сельские районы с низкими уровнем дохода) с целью уточнения уровня эндемичности.

В настоящее время нет доказательств того, что всеобщая вакцинация показана в любой западноафриканской стране. Вместе с тем туристам из районов с более низкой эндемичностью следует рекомендовать вакцинироваться перед поездкой. В случае, если более низкие показатели заболеваемости будут сохраняться в течение следующего десятилетия или дольше, часть подростков и молодых людей, особенно тех, кто живет в относительно благополучных городских районах, может оставаться уязвимой к энтеральным гепатитам.

■ Список литературы

1. ВОЗ. Вода, санитария и гигиена. мониторинг за водоснабжением и санитарией. Доклад ВОЗ/ЮНИСЕФ по доступу к воде и санитарии. 2017. URL: http://www.who.int/water_sanitation_health/monitoring/jmp-2015-key-facts/ru/ (12.10.17).
2. ВОЗ. Ежегодный эпидемиологический бюллетень от 13 июля 2012 г. 2012; 87 (28–29): 261–276. URL: http://www.who.int/wer/2012/wer8728_29.pdf?ua=1 (12.10.17).
3. ВОЗ. Информационный бюллетень: Гепатит А. 2015. URL: <http://who.int/immunization/diseases/hepatitisA/ru/> (12.10.17).
4. ВОЗ. Информационный бюллетень: Гепатит Е. Июль 2017 г. URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs280/ru/> (12.10.17).
5. Кюреган К.К., Малинникова Е.Ю., Дьяррассуба А., Мохаммед А., Землянский О.А., Поляков А.Д. Заболеваемость острым гепатитом Е в Российской Федерации. *Современные проблемы науки и образования*. 2014; 2: 509–510.
6. Михайлов М.И., Замятина Н.А., Полещук В.Ф. Вирусный гепатит Е. Проблемы изучения. *Вопросы вирусологии*. 2005; 50 (3): 20–22.
7. Михайлов М.И., Шахильдян И.В., Онищенко Г.Г. Энтеральные вирусные гепатиты (этиология, эпидемиология, диагностика, профилактика). М.: ВУНМЦ Росздрав. 2007: 349.
8. Эсауленко Е.В., Малинникова Е.Ю., Перадзе Х.Д., Яковлев А.А., Михайлов М.И. Спорадические и групповые завозные случаи гепатита Е в Санкт-Петербурге. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2013; 1: 38–41.
9. Aggarwal R. Diagnosis of hepatitis E. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2012; 10: 24–33.
10. Aggarwal R., Krawczynski K. Hepatitis E: an overview and recent advances in clinical and laboratory research. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2000; 15: 9–20.
11. Ahmad I., Holla R.P., Jameel S. Molecular virology of hepatitis E virus. *Virus Res.* 2011; 161: 47–58.
12. Ahmed J.A., Moturi E., Spiegel P., Schilperoord M., Burton W., Kassim N.H., Mohamed A., Ochieng M., Nderitu L., Navarro-Colorado C., Burke H., Cookson S., Handzel T., Teshale E. Hepatitis E outbreak, Dadaab refugee camp, Kenya, 2012. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19 (6): 1010–1012. doi: 10.3201/eid1906.130275
13. Aubry P., Niel L., Niyongabo T., Kerguelen S., Larouze B. Seroprevalence of hepatitis E virus in an adult urban population from Burundi. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1997; 57: 272–273.
14. Ayoola E.A. Antibody to hepatitis A virus in healthy Nigerians. *J. Natl. Med. Assoc.* 1982; 74: 465–468.
15. Barin F., Denis F., Chotard J., Paulin R., Diop-Mar I., Chiron J.P., Drucker J. Sero-epidemiological study of hepatitis A infection in Senegalese children. *Ann. Pediatr.* 1980; 27: 539–542.
16. Baylet R., Lemaire J.M., Ridet J. Sero-epidemiology of hepatitis A — results obtained in Senegal (Fleuve and Casamance regions). *Pathol. Biol.* 1981; 29: 217–221.
17. Bouskraoui M., Bourrous M., Amine M. Prevalence of anti-hepatitis A virus antibodies in children in Marrakech. *Arch. Pediatr.* 2009; 16: 132–136.
18. Boutrouille A., Bakkali-Kassimi L., Cruciere C., Pavio N. Prevalence of anti-hepatitis E virus antibodies in French blood donors. *J. Clin. Microbiol.* 2007; 45: 2009–2010. doi: 10.1128/JCM.00235-07

19. Bouwknegt M., Engel B., Herremans M.M., Widdowson M.A., Worm H.C., Koopmans M.P.G., Frankena K., De Roda Husman A.M., De Jong M.C.M., Van Der Poel W.H.M. Bayesian estimation of hepatitis E virus seroprevalence for populations with different exposure levels to swine in The Netherlands. *Epidemiol. Infect.* 2008; 136: 567–576.
20. Carrillo-Santisteve P., Tavoschi L., Severi E., Bonfigli S., Edelstein M., Byström E., Lopalco P. Seroprevalence and susceptibility to hepatitis A in the European Union and European Economic Area: a systematic review. *Lancet Infect. Dis.* 2017; 17 (10): 306–319.
21. Cause-specific mortality. WHO region. 2008. URL: <http://apps.who.int/gho/data/node.main.887?lang=en> (12.10.17).
22. CDC. Hepatitis E FAQs for health professionals. Centers for Disease Control and Prevention. URL: <http://www.cdc.gov/hepatitis/hev/hevfaq.htm>. (12.10.17).
23. Chandra V., Taneja S., Kalia M., Jameel S. Molecular biology and pathogenesis of hepatitis E virus. *J. Biosci.* 2008; 33 (4): 451–464.
24. Colson P., Borentain P., Queyriaux B., Kaba M., Moal V., Gallian P., Heyries L., Raoult D., Gerolami R. Pig liver sausage as a source of hepatitis E virus transmission to humans. *J. Infect. Dis.* 2010; 202 (6): 825–834.
25. Costa-Mattioli M., Cristina J., Romero H., Perez-Bercof R., Casane D., Colina R., Garcia L., Vega I., Glikman G., Romanowsky V., Castello A., Nicand E., Gassin M., Billaudel S., Ferré V. Molecular evolution of hepatitis A virus: a new classification based on the complete VP1 protein. *J. Virol.* 2002; 76 (18): 9516–9525.
26. Dalton H.R., Bendall R.P., Keane F.E., Tedder R.S., Ijaz S. Persistent carriage of hepatitis E virus in patients with HIV infection. *N. Engl. J. Med.* 2009; 361 (10): 1025–1027.
27. Dalton H.R., Fellows H.J., Stableforth W. Joseph M., Thuraiarah P.H., Warshow U., Hazeldine S., Remnarace R., Ijaz S., Hussaini S.H., Bendall R.P. The role of hepatitis E virus testing in drug-induced liver injury. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2007; 26 (10): 1429–1435.
28. Echevarria J.M., Gonzalez J.E., Lewis-Ximenez L.L., Dos Santos D.R., Munné M.S., Pinto M.A., Pujol F.H., Rodríguez-Lay L.A. Hepatitis E virus infection in Latin America: a review. *J. Med. Virol.* 2013; 85 (6): 1037–1045. doi: 10.1002/jmv.23526
29. Emerson S.U., Anderson D., Arankalle V.A., Meng X.J., Purdy M., Schlauder G.G., Tsarev S.A. Hepevirus // Virus taxonomy, VIIIth report of the ICTV. Eds. Fauquet C.M., Mayo M.A., Maniloff J., Desselberger U., Ball L.A. London: Elsevier Academic Press. 2004: 853.
30. Emerson S.U., Purcell R.H. Hepatitis E Virus // Fields Virology. 5th edition. Eds. Knipe D.M., Howley P.M. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins. 2007: 3047–3058.
31. Gerbi G.B., Williams R., Bakamutumaho B., Liu S., Downing R., Drobeniuc J., Kamili S., Xu F., Holmberg S.D., Teshale E.H. Hepatitis E as a cause of acute jaundice syndrome in northern Uganda, 2010–2012. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2015; 92 (2): 411–414. doi: 10.4269/ajtmh.14-0196
32. Ghasemian A. Prevalence of hepatitis A across various countries in the Middle East, African and Eastern European countries. *Caspian J. Intern. Med.* 2016; 7 (4): 150.
33. Grabow W.O., Favorov M.O., Khudyakova N.S., Taylor M.B., Fields H.A. Hepatitis E seroprevalence in selected individuals in South Africa. *J. Med. Virol.* 1994; 44: 384–388.
34. Halleux D., Kanaan N., Kabamba B., Thomas I., Hassoun Z. *Transpl. Infect. Dis.* 2012; 14 (1): 99–102.
35. Hewitt P.E., Ijaz S., Brailsford S.R., Brett R., Dicks S., Haywood B., Kennedy I.T., Kitchen A., Patel P., Poh J., Russell K., Tettmar K.I., Tossell J., Ushiro-Lumb I., Tedder R.S. Hepatitis E virus in blood components: a prevalence and transmission study in southeast England. *Lancet.* 2014; 384 (9956): 1766–1773. doi: 10.1016/S0140-6736(14)61034-5
36. Hodges M., Sanders E., Aitken C. Seroprevalence of hepatitis markers: HAV, HBV, HCB, and amongst primary school children in Freetown, Sierra Leone. *West Afr. J. Med.* 1998; 17: 36–37.
37. Hollinger F.B. Hepatitis A virus // Fields Virology. Eds. Fields B.N., Knipe D.M., Howley P.M. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1996: 735–782.
38. Huang F., Li Y., Yu W., Jing S., Wang J., Long F., He Z., Yang C., Bi Y., Cao W., Liu C., Hua X., Pan Q. Excretion of infectious hepatitis E virus into milk in cows imposes high risks of zoonosis. *Hepatology.* 2016; 64 (2): 350–359. doi: 10.1002/hep.28668
39. Ivanov A.P., Ivanova O.E., Pozdniakov S.V., Andzhaparidze A.G., Kusov Iu.Iu., Donets M.A. The results of serological research to determine hepatitis A and B markers in the blood sera of the population of the Republic of Guinea. *Vopr. Virusol.* 1990; 35: 382–384.
40. Jacobs C., Chiluba C., Phiri C., Lisulo M.M., Chomba M., Hill P.C., Ijaz S., Kelly P. Seroepidemiology of hepatitis E virus infection in an urban population in Zambia: strong association with HIV and environmental enteropathy. *J. Infect. Dis.* 2014; 209 (5): 652–657. doi: 10.1093/infdis/jit409
41. Jacobsen K.H., Wiersma S.T. Hepatitis A virus seroprevalence by age and world region, 1990 and 2005. *Vaccine.* 2010; 28 (41): 6653–6657.
42. Kamal S.M., Mahmoud S., Hafez T., El-Fouly R. Viral hepatitis A to E in South mediterranean countries. *Mediterr J. Hematol. Infect. Dis.* 2010; 2: e2010001. doi: 10.4084/MJHID.2010.001
43. Kim J.H., Nelson K.E., Panzner U., Kasture Y., Labrique A.B., Wierzbza T.F. A systematic review of the epidemiology of hepatitis E virus in Africa. *BMC Infect. Dis.* 2014; 14: 308.

44. Kmush B., Wierzbza T., Krain L., Nelson K., Labrique A.B. Epidemiology of hepatitis E in low-and middle-income countries of Asia and Africa. *Semin. Liver Dis.* 2013; 33 (1): 15–29. doi: 10.1055/s-0033-1338111
45. Kumar A., Beniwal M., Kbar P., Sharma J.B., Murthy N.S. Hepatitis E in pregnancy. *Int. J. Gynaecol. Obstet.* 2004; 85 (3): 240–244.
46. Kurkela S., Pebody R., Kafatos G., Andrews N., Barbara C., Bruzzone B., Butur D., Caplinskas S., Davidkin I., Hatzakis A., Hellenbrand W., Hesketh L.M., Nardone A., Nemecek V., Pistol A., Sobotová Z., Vranckx R., Anastassopoulou C.G. Comparative hepatitis A seroepidemiology in 10 European countries. *Epidemiol. Infect.* 2012; 140 (12): 2172–2181. doi: 10.1017/S0950268812000015
47. Livni G., Plotkin S., Yuhas Y., Chodik G., Aloni H., Lerman Y., Ashkenazi S. Seroepidemiology of hepatitis A antibodies among children's hospital staff. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2002; 21 (7): 618–622.
48. Lu L., Li C., Hagedorn C.H. Phylogenetic analysis of global hepatitis E virus sequences: genetic diversity, subtypes and zoonosis. *Rev. Med. Virol.* 2006; 16 (1): 5–36.
49. Martinson F.E., Marfo V.Y., Degraaf J. Hepatitis E virus seroprevalence in children living in rural Ghana. *West Afr. J. Med.* 1999; 18 (2): 76–79.
50. Matsuda H., Okada K., Takahashi K., Mishi S. Severe hepatitis E virus infection after ingestion of uncooked liver from a wild boar. *J. Infect. Dis.* 2003; 188 (6): 944. doi: 10.1086/378074
51. Meky F.A., Stoszek S.K., Abdel-Hamid M., Selim S., Abdel-Wahab A., Mikhail N., El-Kafrawy S., El-Daly M., Abdel-Aziz F., Sharaf S., Mohamed M.K., Engle R.E., Emerson S.U., Purcell R.H., Fix A.D., Strickland G.T. Active surveillance for acute viral hepatitis in rural villages in the Nile Delta. *Clin. Infect. Dis.* 2006; 42 (5): 628–633. doi: 10.1086/500133
52. Meldal B.H., Sarkodie F., Owusu-Ofori S., Allain J.P. Hepatitis E virus infection in Ghanaian blood donors — the importance of immunoassay selection and confirmation. *Vox Sang.* 2013; 104 (1): 30–36 doi: 10.1111/j.1423-0410.2012.01637.x
53. Menendez C., Sanchez-Tapias J.M., Kahigwa E., Mshinda H., Costa J., Vidal J., Acosta C., Lopez-Labrador X., Olmedo E., Navia M., Tanner M., Rodes J., Alonso P.L. Prevalence and mother-to-infant transmission of hepatitis viruses B, C, and E in Southern Tanzania. *J. Med. Virol.* 1999; 58 (3): 215–220.
54. Navaneethan U., Al Mohajer M., Shata M.T. Hepatitis E and pregnancy: understanding the pathogenesis. *Liver Int.* 2008; 28 (9): 1190–1199.
55. Ndumbe P.M., Njie T.K. Hepatitis A and B infections in Yaounde, Cameroon. *Res. Virol.* 1989; 140 (3): 253–261.
56. Ola S.O., Odaibo G.N., Olaleye O.D., Ayoola E.A. Hepatitis Band E viral infections among Nigerian healthcare workers. *Afr. J. Med. Med. Sci.* 2012; 41 (4): 387–391.
57. Patra S., Kumar A., Trivedi S.S., Puri M., Sarin S.K. Maternal and fetal outcomes in pregnant women with acute hepatitis E virus infection. *Ann. Intern. Med.* 2007; 147 (1): 28–33.
58. Pischke S., Suneetha P.V., Baechlein C., Barg-Hock H., Heim E., Kamar N., Schlue J., Strassburg C.P., Lehner F., Raupach R., Bremer B., Magerstedt P., Cornberg M., Seehusen F., Baumgaertner W., Klempnauer J., Izopet J., Manns M.P., Grummer B., Wedemeyer H. Hepatitis E virus infection as a cause of graft hepatitis in liver transplant recipients. *Liver Transpl.* 2010; 16 (1): 74–82. doi: 10.1002/lt.21958
59. Prince A.M., Brotman B., Richardson L., White T., Pollock N., Riddle J. Incidence of hepatitis A virus (HAV) infection in rural Liberia. *J. Med. Virol.* 1985; 15 (4): 421–428.
60. Purdy M.A., Khudyakov Y.E. The molecular epidemiology of hepatitis E virus infection. *Virus Res.* 2011; 161 (1): 31–39. doi: 10.1016/j.virusres.2011.04.030
61. Robertson B.H., Khanna B., Nainan O.V., Margolis H.S. Epidemiologic patterns of wild-type hepatitis A virus determined by genetic variation. *J. Infect. Dis.* 1991; 163: 286–292.
62. Schlauder G.G., Mushahwar I.K. Genetic heterogeneity of hepatitis E virus. *J. Med. Virol.* 2001; 65 (2): 282–292.
63. Shouval D. The immunological basis for immunization series. Module 18: Hepatitis A. URL: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44570/1/9789241501422_eng.pdf (12.10.17).
64. Shukla S., Mehta G., Jais M., Singh A. A prospective study on acute viral hepatitis in pregnancy; seroprevalence, and fetomaternal outcome of 100 cases. *J. Biosci. Tech.* 2011; 2: 279–286.
65. Sixl W., Sixl-Voigt B. Serological screenings of various infectious diseases on the Cape Verde Islands (West Africa). *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.* 1987; 31 (4): 469–471.
66. Skalsky J.A., Joller-Jemelka H.I., Bianchi L., Knoblauch M. Liver pathology in rural south-west Cameroon. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1995; 89 (4): 411–414.
67. Smahi M., Rahmoun L., Ghomari S., Benmansour S., Sendani H., Bendeddouche A.S., Gendrel D. Seroprevalence and risk factors of hepatitis A among children in Tlemcen (north-west Algeria). *Arch. Pediatr.* 2009; 16 (6): 844–846. doi: 10.1016/S0929-693X(09)74175-2
68. Stefanidis I., Zervou E.K., Rizos C., Syrganis C., Patsidis E., Kyriakopoulos G., Sdrakas L., Tsianias N., Rigopoulou E.I., Liakopoulos V., Dalekos G.N. Hepatitis E virus antibodies in hemodialysis patients: an epidemiological survey in central Greece. *Int. J. Artif. Organs.* 2004; 27 (10): 842–847.

69. Stoszek S.K., Engle R.E., Abdel-Hamid M., Mikhail N., Abdel-Aziz F., Medhat A., Fix A.D., Emerson S.U., Purcell R.H., Strickland G.T. Hepatitis E antibody seroconversion without disease in highly endemic rural Egyptian communities. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2006; 100 (2): 89–94.
70. Stroffolini T., Chiaramonte M., Ngatchu T., Rapicetta M., Sarrecchia B., Chionne P., Lantum D., Naccarato R. A high degree of exposure to hepatitis A virus infection in urban children in Cameroon. *Microbiologica.* 1991; 14 (3): 199–203.
71. Tei S., Kitajima N., Takahashi K., Mishiro S. Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. *Lancet.* 2003; 362 (9381): 371–373.
72. Teshale E.H., Grytdal S.P., Howard C., Barry V., Kamili S., Drobeniuc J., Hill V.R., Okware S., Hu D.J., Holmberg S.D., Evidence of person-to-person transmission of hepatitis e virus during a large outbreak in northern Uganda. *Clin. Infect. Dis.* 2010; 50 (7): 1006–1010. doi: 10.1086/651077
73. Teshale E.H., Hu D.J. Hepatitis E: epidemiology and prevention. *World J. Hepatol.* 2011; 3 (12): 285–291. doi: 10.4254/wjh.v3.i12.285
74. Traore K.A., Rouamba H., Nebie Y., Sanou M., Traoré A.S., Barro N., Roques P. Seroprevalence of fecal-oral transmitted hepatitis A and E virus antibodies in Burkina Faso. *PLoS One.* 2012; 7 (10): e48125. doi: 10.1371/journal.pone.0048125
75. Vancelik S., Guraksin A., Alp H. Hepatitis A seroepidemiology in Eastern Turkey. *East Afr. Med. J.* 2006; 83 (2): 86–90.
76. Vaughan G., Goncalves Rossi L.M., Forbi J.C., de Paula V.S., Purdy M.A., Xia G., Khudyakov Y.E. Hepatitis A virus: Host interactions, molecular epidemiology and evolution *Infect. Genet. Evol.* 2014; 21: 227–243. doi: 10.1016/j.meegid.2013.10.023
77. Vilibic-Cavlek T., Kucinar J., Ljubin-Sternak S., Kolaric B. Seroepidemiology of hepatitis A in the croatian population. *Hepat. Mon.* 2011; 11 (12): 997–999.
78. Wasley A., Fiore A., Bell B.P. Hepatitis A in the era of vaccination. *Epidemiol. Rev.* 2006; 28: 101–111.
79. Willcox M., Brohult J., Olsson I., Bengtsson E. Antibody to hepatitis A virus in Liberians. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1980; 74: 690.
80. World Health Organization. Hepatitis E Fact sheet (updated July 2016). URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs280/en> (12.10.17).
81. World Health Organization. The Global Prevalence of Hepatitis A Virus Infection and Susceptibility: A Systematic Review. URL: http://www.wheqlibdoc.who.int/hq/2010/WHO_IVB_10.01_eng.pdf (12.10.17).
82. Zell R.D.E, Goralenya A.E., Hovi T., King A.M.Q., Knowles N.J., Lindberg A.M., Pallansch M.A., Palmenberg A.C., Reuter G., Simmonds P., Skern T., Stanway G., Yamashita T. ICTV taxonomic proposal 2016. 009aS. A.v2. Hepatovirus_8sp. Create 8 species in the genus Hepatovirus, family icornaviridae, order Picornavirales. 2016. URL: https://talk.ictvonline.org/ICTV/proposals/2016.009aS.A.v2.Hepatovirus_8sp.pdf (12.10.17).

Серозидемиологическое исследование энтеральных гепатитов в Гвинейской Республике

Е.В. Эсауленко, А.В. Семенов, А.А. Сухорук, М.В. Понятишина,
Ю.В. Останкова, И.В. Хамитова, Е.В. Найденова, А.А. Крицкий,
С. Бумбали, М.С. Барри, М.И. Буаро, С.А. Щербакова, Арег А. Тотолян

■ Введение

Гепатит А (ГА) является одним из наиболее часто встречающихся заболеваний, занимая в структуре острых вирусных гепатитов (ОВГ) более 60%. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) ежегодно в мире регистрируется около 1,4 млн случаев заболевания [3, 12]. Однако, по мнению специалистов, истинный уровень заболеваемости может превышать официальный в 10 раз [20].

Гепатит Е (ГЕ) распространен в странах с ограниченными ресурсами и затрудненным доступом к основным службам водоснабжения, санитарии, гигиены и охраны здоровья. Ежегодно в мире официально регистрируется 3,3 млн случаев заболевания, но истинная заболеваемость, также, как и заболеваемость ГА, может быть в несколько раз выше [4, 26].

Анализ случаев смерти от ОВГ в мире показал, что ГЕ в 4 раза чаще является причиной смерти, чем ГА (по данным 2015 г. 43 805 случаев смерти от ГЕ против 10 996 случаев смерти от ГА). В структуре причин смерти от ОВГ ГЕ занимает второе место (30,3% от всех случаев смерти от острых вирусных гепатитов) [14].

В странах Африканского региона ГА и ГЕ в 2015 г. привели к 2408 и 7592 случаям смерти соответственно, заняв 3 и 2 место в структуре причин смерти от ОВГ (10,2 и 32,2% соответственно). При ГА 53,7% умерших — дети до 6 лет, а при ГЕ — 41,9% лица в возрасте 15–29 лет [14].

ГА и ГЕ относятся к заболеваниям с фекально-оральным механизмом передачи возбудителя, при котором основными факторами риска являются контаминация воды и продуктов питания [1, 5, 6, 7, 21].

Для различных географических регионов характерны высокий, средний и низкий уровень распространенности ГА, что связано с социально-экономическими условиями в стране, санитарно-гигиеническим состоянием и доступом населения к чистой питьевой воде [19, 23]. В развивающихся странах с плохими санитарными условиями и гигиенической практикой 90% детей инфицируются вирусом гепатита А (ВГА) до достижения ими 10-летнего возраста [10, 21].

Согласно оценке ВОЗ, по уровню заболеваемости ГЕ все страны мира разделяются на высоко- и низкоэндемичные [30]. Подтверждением активности эпидемического процесса являются вспышечная заболеваемость и высокая частота обнаружения антител к вирусу ГЕ (ВГЕ) (23,8–28,7%) среди жителей эндемичных регионов [24, 25, 30]. В низкоэндемичных по ГЕ странах вспышечная заболеваемость не регистрируется, а частота обнаружения антител значительно ниже (5,2%) [2, 7, 22, 30].

Гвинейская Республика является африканской страной, расположенной в Западной Африке в регионе к югу от Сахары. Выделяют четыре природных района: прибрежную равнину, горный регион, саванну и лесной регион. Административно-территориальное деление Гвинейской Республики включает 7 провинций и 33 префектуры, столица Конакри приравнена к провинции (рис. 1) [27].

Численность населения Гвинейской Республики в 2016 г. составила 12 396 000 человек [33]. Ожидаемая продолжительность жизни при рождении: мужчины — 57 лет, жен-



Рисунок 1. Административно-территориальное деление Гвинейской Республики

щины — 59 лет [27]. В 2015 г. расходы на здравоохранение на душу населения составили 67 долларов США, а общие расходы на здравоохранение — 6,3% от валового внутреннего продукта [27].

Цель исследования — изучить распространенность ГА и ГЕ в Гвинейской Республике на основании анализа частоты выявления антител к ВГА и ВГЕ среди местного населения.

■ Материалы и методы

Исследованы образцы сыворотки крови, полученные от 510 условно здоровых лиц, проживающих на территории провинций Боке ($n = 62$) и Киндия ($n = 317$), а также г. Конакри ($n = 131$) в возрасте от 1 до 64 лет (средний возраст — $36,3 \pm 15,7$ лет) обоих полов (мужчины — 83,5%, женщины — 26,5%). Обследование проходило в рамках плановой диспансеризации сотрудников и членов их семей, рожденных и постоянно проживающих на территории Гвинейской Республики и работающих в ОК «РУСАЛ», а также детей при скрининге, проводимом перед вакцинацией в Центре вакцинации г. Киндия. Обследованные лица отрицали эпизод ГА и ГЕ в анамнезе и проведение вакцинации.

Антитела классов IgM и IgG к ВГА (анти-ВГА IgM и анти-ВГА IgG) определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-систем Вектоген A-IgM и Вектоген A-IgG (Вектор-Бест, Россия).

Для определения антител класса IgG к ВГЕ (анти-ВГЕ IgG) методом ИФА использовалась тест-система Вектоген E-IgG (Вектор-Бест, Россия).

Исследование проведено в лаборатории на базе Российско-Гвинейского научно-исследовательского центра эпидемиологии и профилактики инфекционных болезней Роспотребнадзора, расположенного в г. Киндия сотрудниками ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии института имени Пастера (Санкт-Петербург, Россия) с привлечением специалистов Гвинейской Республики в марте–августе 2017 г.

Для реализации поставленной цели нами была использована классификация, рекомендованная ВОЗ, в соответствии с которой уровень эндемичности территории по ГА

определяют на основе показателя серопораженности [16, 32]. Установление серопораженности по возрастам позволяет опосредованно оценить уровни повозрастной заболеваемости инфекцией, и это является наилучшим способом описать ситуацию по ГА в стране. Выделяют следующие уровни серопораженности с учетом доли выявленных анти-ВГА IgG в отдельных возрастных группах:

- высокий уровень ($\geq 90\%$ в возрастной группе 0–10 лет);
- средний уровень ($\geq 50\%$ в возрастной группе 0–15 лет с $< 90\%$ в возрастной группе 0–10 лет);
- низкий уровень ($\geq 50\%$ в возрастной группе 0–30 лет с $< 50\%$ в возрастной группе 0–15 лет);
- очень низкий уровень ($< 50\%$ в возрастной группе 0–30 лет).

Четких критериев для оценки уровня серопораженности с учетом доли выявленных анти-ВГА IgG в доступной литературе и рекомендациях ВОЗ не обнаружено [2, 4, 22, 24, 25, 30].

Статистическая обработка данных проводилась с использованием лицензионных пакетов программ MS EXCEL 2016 и SPSS Statistica 20.0. При оценке статистической погрешности использовали «точный» интервал Клоппера–Пирсона. Результаты представлены в виде медианы (Me) с указанием 95% доверительного интервала (95% ДИ). Для оценки достоверности различий численных данных, полученных при парных сравнениях, использовали, в зависимости от характеристик выборок, точный критерий Фишера или критерий χ^2 с поправкой Йетса. Статистически значимыми считали различия при достигнутом $p < 0,05$.

■ Результаты и обсуждение

Анти-ВГА IgM не были обнаружены ни в одном образце.

Анти-ВГА IgG обнаружены в 97,5% (95% ДИ: 95,44–98,49%) исследуемых образцов.

Анализ частоты встречаемости антител к ВГА, проведенный в группе из 461 человека, показал, что у детей анти-ВГА IgG встречаются реже, чем у лиц старше 18 лет — 84,7% (95% ДИ: 81,28–87,72%) и 99,5% (95% ДИ: 98,29–99,88%) соответственно ($p = 0,0015$).

Из 31 образца, полученного от детей в возрасте 0–5 лет, 23 были положительными (74,2%; 95% ДИ: 55,39–88,14%).

Доля серопозитивных лиц (рис. 2) в возрастной группе 0–10 лет составила 77,6% (95% ДИ: 63,38–88,23%), а в группе — 0–15 лет — 83% (95% ДИ: 71,73–91,24%), что в соответствии с классификацией ВОЗ позволяет отнести Гвинейскую Республику к странам со средним уровнем серопораженности.

В развивающихся странах, странах с переходной экономикой и регионах с изменяющимися санитарными условиями детям часто удается избежать инфекции в раннем детстве, и они достигают зрелого возраста без специфического иммунитета. Улучшение экономических и санитарных условий может привести к накоплению пула взрослых лиц, не имеющих иммунитета к ВГА. Повышенная восприимчивость к инфекции в группах старшего возраста может приводить к повышенным уровням заболеваемости и возникновению крупных вспышек, в чем и заключается феномен «парадокса ГА» [3, 16].

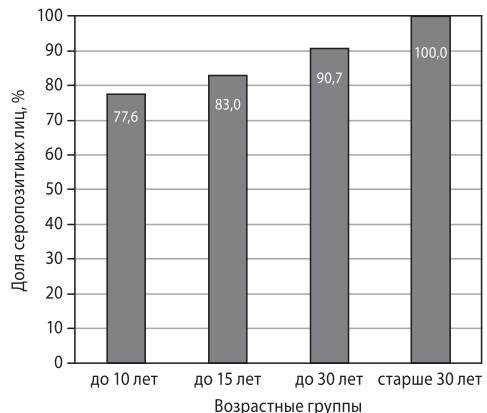


Рисунок 2. Уровень серопозитивности по анти-ВГА среди обследованных лиц

Таблица 1. Частота обнаружения анти-ВГА IgG среди населения отдельных возрастных групп в зависимости от места проживания

Возрастные группы	Число исследованных образцов	Число положительных результатов	Показатель серопозитивности, %
Провинция Боке			
0–10 лет	24	16	66,6 95% ДИ: 44,68–84,37%
0–15 лет	32	24	75,0 95% ДИ: 56,60–88,54%
0–30 лет	52	42	80,8 95% ДИ: 67,47–90,37%
Старше 30 лет	6	6	100,0
Провинция Киндия			
0–10 лет	24	21	87,5 95% ДИ: 67,64–97,34%
0–15 лет	30	27	90,0 95% ДИ: 73,47–97,89%
0–30 лет	52	49	94,2 95% ДИ: 84,05–98,79%
Старше 30 лет	235	235	100,0
г. Конакри			
0–10 лет	н/д*	н/д*	н/д*
0–15 лет	н/д*	н/д*	н/д*
0–30 лет	12	12	100,0
Старше 30 лет	97	97	100,0

Примечание. *н/д — нет данных.

Достоверные статистические данные о числе зарегистрированных случаев ГА среди населения Гвинейской Республики, а также о влиянии ГА на структуру причин смерти отсутствуют [14, 15].

Литературные данные о частоте встречаемости антител к ВГА среди населения Гвинейской Республики крайне ограничены. Исследование, проведенное в 1987–1988 гг. А.П. Ивановым и соавт. показало наличие анти-ВГА IgG у детей 0–10 лет в 82% случаев, 0–15 лет — в 74%, у детей и взрослых от 0 до 30 лет — в 74% [17]. Значительный уровень серопозитивности, особенно среди детей, свидетельствует и о значительной заболеваемости у местного населения. Лица, прибывшие из районов с низким уровнем заболеваемости в районы с высоким, имеют значительный риск инфицирования в случае отсутствия у них антител к ВГА [16].

По данным ВОЗ, по состоянию на июнь 2016 г. 16 стран использовали вакцину против ГА в рамках регулярной иммунизации детей на национальном уровне (включая 6 стран в Регионе стран Америки, 3 страны в Регионе Восточного Средиземноморья, 4 страны в Европейском регионе и 3 страны в Регионе Западной части Тихого океана) [33]. В национальные календари прививок стран Африканского региона вакцинация против ГА не входит [18, 33].

По мнению ряда авторов, учитывая самолимитируемость и легкое течение заболевания у пациентов детского возраста, затраты на вакцинацию могут быть необоснованными [11, 31]. Однако позиция ВОЗ кардинально отличается. Вакцинация против ГА должна быть составной частью всестороннего плана профилактики заболевания и борьбы с ним. Также при планировании крупномасштабных программ иммунизации необходимо проводить тщательный экономический анализ и предусматривать альтернативные или дополнительные методы профилактики, такие как улучшение санитарно-гигиенических ус-

ловий и санитарное просвещение. Страны со средней эндемичностью получают наибольшие преимущества от всеобщей иммунизации детей [3].

Анализ частоты встречаемости анти-ВГА IgG, проведенный в группе из 297 человек, выявил большую частоту серопозитивности среди лиц мужского пола, чем женского — 97,6% (95% ДИ: 95,93–98,78%) и 89,6% (95% ДИ: 86,63–92,12%) соответственно ($p = 0,0524$).

Вместе с тем не выявлено гендерных различий в частоте встречаемости антител к ВГА как среди детей 0–15 лет (мужской и женский пол — 82,1 и 85,7% соответственно; $p = 0,5110$), так и среди детей 0–10 лет (мужской и женский пол — 76,2 и 84,0% соответственно; $p = 0,2167$).

При анализе частоты встречаемости анти-ВГА IgG в различных провинциях установлено, что у населения провинции Боке она была наиболее низкой — 83,9% (95% ДИ: 72,33–91,98%), тогда как в провинции Киндия и г. Конакри она составила 99,1% (95% ДИ: 97,26–99,80%) и 100% соответственно.

Анализ распределения выявленных антител к ВГА среди лиц разных возрастов в зависимости от их места проживания выявил, что частота обнаружения анти-HAV IgG ниже во всех возрастных группах среди населения провинции Боке (табл. 1). Наиболее выражены эти различия среди детей 0–10 лет провинций Боке и Киндия (66,6 и 87,5% соответственно; $p = 0,0005$).

Таким образом, согласно классификации ВОЗ, провинции Боке и Киндия можно отнести к регионам со средним уровнем серопораженности.

Достоверные статистические данные о числе зарегистрированных случаев ГЕ среди населения Гвинейской Республики, о влиянии ГЕ на структуру причин смерти, а также о сероэпидемиологии ГЕ отсутствуют [30].

В нашем исследовании анти-ВГЕ IgG обнаружены в 3,9% (95% ДИ: 2,41–5,99%) исследуемых образцов.

Установленная низкая серопораженность наряду с отсутствием данных о регистрируемых водных вспышках ГЕ на территории Гвинейской Республики не характерны для водного пути передачи ВГЕ [8, 9]. Результаты исследования могут свидетельствовать о спорадической заболеваемости ГЕ на указанной территории, которая может быть обусловлена реализацией пищевого пути передачи, при котором источниками инфекции являются сельскохозяйственные животные, в частности свиньи [13, 28, 29]. Низкий уровень серопораженности может быть связан с пищевыми предпочтениями населения Гвинейской Республики, 85% которого являются мусульманами, не употребляющими в пищу свинину [27].

Доля серопозитивных лиц в отдельных возрастных группах представлена на рис. 3. Установлено, что у детей 0–15 лет антитела к ВГЕ отсутствовали. Среди лиц в возрасте 0–30 лет частота выявления анти-ВГЕ IgG составила 3,1%, а в возрасте старше 30 лет — 4,7%, но эта разница не являлась статистически достоверной ($p < 0,05$). Наибольшая доля позитивных результатов была в группе 40–49 лет — 8,8% (95% ДИ: 4,11–16,09%).

Серопозитивными оказались исключительно лица мужского пола. Полученный результат может быть обусловлен преобладанием мужчин в исследуемой выборке в сочетании с низкой частотой обнаружения антител.

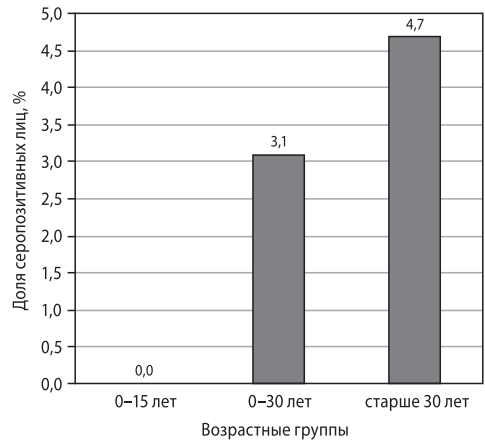


Рисунок 3. Уровень серопозитивности по анти-ВГЕ среди обследованных лиц

Таблица 2. Частота обнаружения анти-ВГЕ IgG среди населения различных территорий Гвинейской Республики

Регион проживания	Число исследованных образцов	Число положительных результатов	Показатель серопозитивности, %
Провинция Боке	62	2	3,2 95% ДИ: 0,39–11,17%
Провинция Киндия	317	12	3,8 95% ДИ: 1,97–6,52%
г. Конакри	131	6	4,6 95% ДИ: 1,70–9,70%

Анализ распределения антител к ВГЕ среди лиц, проживающих на различных территориях Гвинейской Республики не выявил статистически достоверных различий ($p < 0,05$), доля серопозитивных лиц варьировала от 3,2 до 4,6% (табл. 2).

Обращает на себя внимание тот факт, что у всех лиц, позитивных в отношении анти-ВГЕ IgG также обнаруживались и антитела к ВГА.

■ Заключение

В результате проведенного исследования выявлены кардинальные отличия в уровнях распространенности антител к ВГА и ВГЕ.

Полученные данные по серопораженности населения провинций Боке, Киндия и г. Конакри Гвинейской Республики, ранжированные в соответствии с критериями ВОЗ, позволили нам отнести указанные провинции к территориям со средним уровнем заболеваемости ГА. Однако следует отметить, что у лиц старше 30 лет частота выявления анти-ВГА IgG составила 100%. Доля лиц, серопозитивных в отношении ВГА, варьирует в зависимости от возраста, пола и места проживания. ВОЗ рекомендует интегрировать иммунизацию от ВГА в национальный календарь прививок для детей от 1 года или старше, если это обосновано рядом местных факторов, включающих уровень заболеваемости ГА, уровень эндемичности и экономическую эффективность.

В соответствии с результатами исследования, установлена низкая встречаемость анти-ВГЕ IgG (3,9%), что свидетельствует о низкой заболеваемости ГЕ на указанных территориях Гвинейской Республики.

Для получения более объективных данных о заболеваемости ГА и ГЕ в Гвинейской Республике в целом, целесообразно изучение распространенности антител к ВГА и ВГЕ среди населения других провинций.

■ Список литературы

1. Балаян М.С. Вирусный гепатит Е. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 1995; 5 (2): 32–37.
2. Быстрова Т.Н., Полянина А.В., Княгина О.Н. Характеристика гепатита Е — инфекции на территории с умеренным климатом. *Медицинский альманах*. 2010; 2: 236–239.
3. Гепатит А. Информационный бюллетень ВОЗ. Июль 2016 г. URL: <http://www.who.int/campaigns/hepatitis-day/2014/hepa-final.pdf?ua=1> (15.10.17).
4. Гепатит Е. Информационный бюллетень ВОЗ, 2017. URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs280/ru/> (15.10.17).
5. Михайлов М.И., Замятина Н.А., Полещук В.Ф. Вирусный гепатит Е. Проблемы изучения. *Вопросы вирусологии*. 2005; 3: 20–22.
6. Михайлов М.И., Шахильдян И.В., Онищенко Г.Г. Энтеральные вирусные гепатиты. М.: ВУНМЦ Росздрава, 2007: 349.
7. Эсауленко Е.В., Малинникова Е.Ю., Перадзе Х.Д., Яковлев А.А., Михайлов М.И. Спорадические и групповые завозные случаи гепатита Е в Санкт-Петербурге. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2013; 1: 38–41.
8. Aggarwal R., Jameel S. Hepatitis E. *Hepatology*. 2011; 54: 2218–2226.

9. Aggarwal R., Naik S. Epidemiology of hepatitis E: Current status. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2009; 24: 1484–1493.
10. Askling H.H., Rombo L., Andersson Y., Martin S., Ekdahl K. Hepatitis A risk in travelers. *J. Travel. Med.* 2009; 16: 233–238.
11. Centers for Disease Control and Prevention. CDC Yellow Book 2018: Health Information for International Travel. New York: Oxford University Press, 2017. URL: <https://wwwnc.cdc.gov/travel/page/yellowbook-home> (15.10.17).
12. Franco E., Meleleo C., Serino L., Sorbara D., Zaratti L. Hepatitis A: epidemiology and prevention in developing countries. *World J. Hepatol.* 2012; 4 (3): 68–73.
13. Garbuglia A.R., Scognamiglio P., Petrosillo N., Mastroianni C.M., Sordillo P., Gentile D., La Scala P. Girardi E., Capobianchi M.R. Hepatitis E virus genotype 4 outbreak, Italy, 2011. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19: 110–114.
14. Global Health Estimates 2015: Deaths by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000–2015. Geneva, World Health Organization; 2016. URL: http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/estimates/en/index1.html (15.10.17).
15. Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet.* 2017; 390: 1151–1210.
16. Hanafiah M.K., Kathryn H Jacobsen K.H., Wiersma S.T. Challenges to mapping the health risk of hepatitis A virus infection. *Int. J. Health. Geogr.* 2011; 10 (1): 57–64.
17. Ivanov A.P., Ivanova O.E., Pozdniakov S.V., Andzhaparidze A.G., Kusov Iu.Iu., Donets M.A. The results of serological research to determine hepatitis A and B markers in the blood sera of the population of the Republic of Guinea. *Vopr. Virusol.* 1990; 35: 382–384.
18. Jacobsen K.H. Hepatitis A virus in West Africa: Is an epidemiological transition beginning? *Niger. Med.* 2014; 55: 279–284.
19. Jacobsen K.H., Koopman J.S. The effects of socioeconomic development on worldwide hepatitis A virus seroprevalence patterns. *Int. J. Epidemiol.* 2005; 34: 600–609.
20. Jacobsen K.H. The global prevalence of hepatitis A virus infection and susceptibility: a systematic review. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2009. URL: <http://www.who.int/vaccines-documents> (15.10.17).
21. Jacobsen K.H., Wiersma S.T. Hepatitis A virus seroprevalence by age and world region, 1990 and 2005. *Vaccine.* 2010; 28: 6653–6657.
22. Meng X.J., Lindsay D.S., Sriranganathan N. Wild boars as sources for infectious diseases in livestock and humans. *Biological Sciences.* 2009; 364 (1530): 2697–2707.
23. Nelson N.P., Murphy T.V. Hepatitis A: the changing epidemiology of hepatitis A. *Clin. Liver Dis.* 2013; 2 (6): 227–230.
24. Okamoto H. Genetic variability and evolution of hepatitis E virus. *Virus Res.* 2007; 127: 216–228.
25. Purcell R.H., Emerson S.U. Hepatitis E: an emerging awareness of an old disease. *J. Hepatol.* 2008; 48: 494–503.
26. Rein D.B., Stevens G.A., Theaker J., Wittenborn J.S., Wiersma S.T. The global burden of hepatitis E virus genotypes 1 and 2 in 2005. *Hepatology.* 2012; 55 (4): 988–997.
27. République de Guinée. Annuaire Statistique 2015. URL: http://www.stat-guinee.org/images/Publications/INS/annuelles/INS_annuaire_2015.pdf (15.10.17).
28. Said B., Ijaz S., Kafatos G., Booth L., Thomas H.L., Walsh A., Ramsay M., Morgan D.; Hepatitis E Incident Investigation Team. Hepatitis E outbreak on cruise ship. *Emerg. Infect. Dis.* 2009; 15: 1738–1744.
29. Tei S., Kitajima N., Takahashi K., Mishiro S. Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. *Lancet.* 2003; 62: 371–373.
30. The global prevalence of hepatitis E virus infection and susceptibility: a systematic review. URL: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/70513/1/WHO_IVB_10.14_eng.pdf?ua=1 (15.10.17).
31. Wasley A., Fiore A., Bell B.P. Hepatitis A in the era of vaccination. *Epidemiol. Rev.* 2006; 28: 101–111.
32. WHO: Evidence based recommendations for use of hepatitis A vaccines in immunization services: background paper for SAGE discussions, WHO Strategic Advisory Group of Experts on Immunization, 2011. Geneva, World Health Organization, 2011. URL: http://www.who.int/immunization/sage/previous_november2011/en (15.10.17).
33. WHO vaccine-preventable diseases: monitoring system. 2017 global summary. Geneva, World Health Organization, 2017. URL: http://apps.who.int/immunization_monitoring/globalsummary/countries?countrycriteria%5Bcountry%5D%5B%5D=GIN&commit=OK (15.10.17).

Эпидемиология гепатита В в странах Африканского континента

А.В. Семенов, Ю.В. Останкова, Е.В. Эсауленко, М.В. Понятишина,
С. Бумбали, М.С. Барри, М.И. Буаро, Арег А. Тотолян

Вirus гепатита В (ВГВ) — один из наиболее распространенных гепатотропных вирусов, способных вызывать как острое, так и хроническое повреждение печени, относится к роду *Orthohepadnaviruses* семейства *Hepadnaviridae*, представители которого характеризуются выраженной гепатотропностью, инфицируя преимущественно клетки печени млекопитающих, в том числе человека [44]. Согласно ВОЗ, количество инфицированных вирусом гепатита В в мире составляет почти 2 млрд человек, у более чем 240 млн из них развивается хронический вирусный гепатит В (ХВГВ) — диффузно-воспалительное заболевание, связанное с персистенцией вируса гепатита В [70]. Ежегодно от вирусного гепатита В умирают 686 тыс. человек, в том числе от цирроза и рака печени в результате осложнения хронической инфекции [26].

ВГВ относится к заболеваниям с парентеральным механизмом передачи патогена, под которым понимают передачу вируса с кровью и/или другими жидкостями организма при обязательном повреждении кожных покровов или слизистых оболочек. К естественным путям передачи относятся половой (прямой сексуальный контакт), вертикальный (от матери плоду во время или после родов, а также герминативный путь инфицирования), бытовой контакты (прямой и непрямой, включающий пользование общими с инфицированным лицом предметами гигиены и т. п.), к искусственным — заражение при внутривенном введении психоактивных веществ, при медицинских манипуляциях с использованием инструментов, контаминированных зараженной кровью, переливании крови и ее компонентов и т. д. [70].

После заражения ВГВ и инкубационного периода, составляющего у взрослых больных в среднем 2–4 месяца, развивается острый гепатит В (ОГВ). ОГВ может протекать как в тяжелой форме, так и бессимптомно, более того — бессимптомно ОГВ переносят большинство больных (до 80%). Крайне редко при ОГВ может развиваться фульминантный гепатит В. Для острой инфекции гепатита В характерно присутствие HBsAg и антител иммуноглобулина М (IgM) к ядерному антигену, HBcAg. На начальной стадии инфекции пациенты также серопозитивны на е-антиген вируса гепатита В (HBeAg). HBeAg обычно является маркером высоких уровней репликации вируса [1]. В большинстве случаев ОГВ завершается полным выздоровлением и естественной иммунизацией после перенесенного заболевания. Хронизация ВГВ происходит у 90% детей, инфицированных при рождении, 25–50% детей, инфицированных в 1–5 лет, 1–5% людей, инфицированных в старшем детском и до 10% — в зрелом возрасте [9, 30, 58, 72]. Для хронической инфекции характерно устойчивое присутствие HBsAg в течение не менее 6 месяцев (при наличии или отсутствии сопутствующего HBeAg), за исключением оккультной формы течения заболевания.

Основным лабораторным маркером диагностики является поверхностный антиген ВГВ (HBsAg), встречаемость которого в популяции варьирует в зависимости от географического региона. Распространенность классифицируется как высокая ($\geq 8\%$ населения), средняя (2–7% населения) и низкая ($< 2\%$ населения) [46]. Низкая встречаемость характерна для таких стран, как США, Канада, Великобритания, Германия и страны Скандинавии, высокая встречаемость (до 20%) отмечена в Китае, странах Азии, Африки, Тихого Океана, в некоторых странах Южной Америки. Введение в клиническую практику эффективной вакцины против ВГВ значительно снизило циркуляцию вируса, однако наблюдаемая

в последние годы тенденция к смещению распространенности тех или иных генотипов ВГВ в различных географических ареалах за счет развития международных связей, потоков трудовой миграции, особенно из регионов с высокой частотой встречаемости гепатотропных вирусов, заставляет клиницистов и эпидемиологов обращать пристальное внимание на эпидемиологическую ситуацию по гепатиту В не только в своем регионе, но и в соседних [13].

Вирион ВГВ общим диаметром около 42 нм представляет собой внутренний электронно-плотный сферический нуклеокапсид диаметром 30–34 нм, содержащий ядерный антиген или коровый белок (НВсAg), а также вирусный геном и белок Р (ДНК-полимераза), и наружную липидосодержащую оболочку толщиной 7 нм, включающую три поверхностных гликопротеина [10]. Геном ВГВ представлен частично двухцепочечной кольцевой ДНК общей протяженностью около 3200 п.н., однако за счет инсерций и делеций размер генома может варьировать на ± 200 п.н. [49], и включает четыре перекрывающиеся открытые рамки считывания (ОРС), кодирующие семь белков: (Р) вирусную полимеразу; (С) коровый белок НВсAg и е-антиген НВеAg; (S) три поверхностных белка (малый, средний и большой); (Х) белок Х.

Генетическая эволюция ВГВ определяется двумя важными особенностями жизненного цикла вируса. Во-первых, высокая генетическая стабильность ВГВ достигается за счет чрезвычайно эффективного использования короткого генома. Наличие перекрывающихся рамок считывания, многочисленных регуляторных, репликативных и морфогенетических элементов, а также отсутствие некодирующих областей ограничивает формирование жизнеспособных мутаций ВГВ. Во-вторых, использование обратной транскриптазы без 3'→5'-корректирующей функции при репликации ВГВ определяет высокую частоту мутаций (более 2×10^{-5} замен оснований/сайт в год) [16, 45]. Контроль достигается за счет того, что только успешно транскрибируемые и обработанные геномы, то есть частично двуниевые ДНК упаковываются в секретируемый вирусный капсид.

Таким образом, ВГВ характеризуется высокой степенью генетической гетерогенности и в настоящее время подразделяется на десять генотипов, обозначенных как А–J-генотипы, и отличающихся друг от друга по составу нуклеотидных последовательностей более чем на 8%, и на 35 субгенотипов (в пределах генотипов А, В, С, D, F, H), для которых показано расхождение полных нуклеотидных последовательностей в 4–7,5% [8, 31, 42, 50, 51, 74]. Впрочем, следует отметить, что генотип J на данный момент характеризуют как «мнимый генотип», так как обнаруженный и описанный изолят филогенетически позиционируется между вирусами гепатита В человека и обезьян [67]. В последние годы все чаще регистрируются рекомбинантные формы ВГВ, что представляет значительный интерес для исследователей. Анализ опубликованных данных и полных последовательностей ВГВ показал, что большинство рекомбинантных форм (60%) представляют собой рекомбинанты генотипов В/С и С/D, однако были выявлены также варианты А/В/С, А/С, А/С/С, А/D, А/Е, А/С, В/С/С (U = неизвестный генотип), С/F, С/С, D/E, D/F, F/G. При этом достоверно показано существование рекомбинантных точек, например, в рамках 1700–2000 нт и 2100–2300 нт регионов [7].

Наряду с определением генотипов, ВГВ подразделяется на серотипы, характеризующие их антигенные свойства. Было определено существование общей «а»-детерминанты НВсAg, являющейся консервативным регионом для всех серотипов ВГВ и, по крайней мере, двух взаимно исключающих субдетерминант — d/y и w/r [14], что позволило установить четыре основных серотипа ВГВ: adw, ayw, adr и ayr. С учетом данных о ряде аминокислотных замен, приводящих к образованию дополнительных субдетерминант, НВсAg подразделяют на девять серотипов: ayw1, ayw2, ayw3, ayw4, ayr, adw2, adw4q-, adrq+ и adrq-. Детерминанта «а» — часть большого гидрофильного региона (major hydrophilic region — MHR) НВсAg и ее третичная структура определяет его антигенные свойства [47].

Исследования распространенности геновариантов ВГВ в разных регионах мира активно ведутся с момента открытия генотипов и по настоящее время. Все генотипы и серотипы имеют разное географическое распределение, которое очень медленно изменяется с течением времени, отражая пути распространения вируса в связи с миграцией людей, а также возможное различное географическое происхождение разных генотипов, что позволяет использовать их в качестве эпидемиологических маркеров [57]. При этом в большинстве регионов, за редким исключением, циркулируют 1–2 преобладающих генотипа и несколько минорных, в том числе привнесенных с других территорий [64]. ВГВ разных генотипов имеют различную мощность репликации как *in vitro*, так и *in vivo* [42]. Так, внутриклеточная экспрессия ДНК выше у ВГВ генотипов В и С, по сравнению с генотипами А и D. Внутриклеточное накопление ДНК вируса может вызвать повреждение гепатоцитов. Большая емкость репликации ВГВ генотипа С может быть причиной, по которой этот генотип ассоциирован с более тяжелыми заболеваниями печени, чем остальные [16, 42]. Во многих исследованиях можно проследить зависимость между частотой ВГВ-носительства, частотой хронизации ВГВ, путями передачи вируса и географическим распространением генотипов [50].

Клинические проявления заболевания разнообразны и могут зависеть, кроме всего прочего, от генетических особенностей вируса, в том числе из-за возникающих мутаций. Недавние исследования показали влияние генотипа ВГВ на терапевтический ответ [38]. Клинически значимые особенности генотипов ВГВ включают в себя: скорость и длительность HBeAg-сероконверсии (А и D > В и С), риск развития агрессивного HBeAg-негативного ХВГВ (С и D > А), спонтанная потеря HBeAg (В > С), развитие цирроза печени (С), развитие гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК) (С — в азиатских популяциях, F — у уроженцев Аляски), ответ на противовирусную терапию (А и В > С и D) [24]. Иммунный ответ макроорганизма влияет на течение заболевания, и имеет свои особенности, обусловленные, в том числе, иммуногенетикой популяции/этноса/расы. Генетические различия между человеческими популяциями накладывают определенные ограничения на сравнение данных, полученных в регионах с разным этническим составом.

В настоящее время при диагностике вирусных гепатитов рекомендуется выполнение комплекса лабораторных анализов, позволяющих оценить как функциональное состояние печени, так и идентифицировать патоген и его состояние [3, 4, 60].

Согласно классификации Европейской Ассоциации Изучения Печени (European Association Study of Liver — EASL), естественное течение ХВГВ проходит 5 стадий [17, 20, 25], две из которых протекают с наличием HBeAg, две при отсутствии HBeAg и одна может быть как с наличием, так и с отсутствием HBeAg. Наличие или отсутствие HBeAg не является индикатором активной вирусной репликации, но позволяет определить уровень репликации ВГВ.

Диагностику вируса гепатита В можно условно разделить на 2 группы специфических маркеров: это прямое обнаружение возбудителя (выявление антигенов и ДНК ВГВ) и косвенное (определение антител), а по методу выявления вируса — на серологические и молекулярно-биологические. При этом значимость и информативность этих методов и маркеров различна.

HBsAg является истинным и преимущественно используемым маркером для выявления ВГВ, его обнаружение в крови рассматривается как признак активности вируса. В периферической крови HBsAg может быть обнаружен за 2–4 недели до появления клинических признаков заболевания, при ОГВ достигает максимальных значений, а затем, в среднем в течение 4–6 месяцев, снижается до неопределяемого коммерческими тест-системами уровня. Однако необходимо иметь в виду, что отсутствие определяемого уровня HBsAg в периферической крови не означает полного выздоровления, так как может свидетельствовать также о развитии ложного или истинного оккультного ГВ [2, 48].

Антитела к HBsAg (AbHBs IgG) и их количественное определение в крови используют как косвенный маркер перенесенного ВГВ, а также как свидетельство вакцинации против вируса. HBcorAg локализуется внутри гепатоцитов и при определении в ткани печени является прямым маркером репликации вируса в клетках, однако не обнаруживается в периферической крови. Антитела к HBcAg классов М (AbHBcor IgM) и G (AbHBcor IgG) являются косвенными маркерами, используемыми для разделения ОГВ и ХВГВ. HBeAg — прямой маркер репликативной активности вируса, не обнаруживаемый в составе полноразмерных вирусных частиц, но выявляемый в крови на ранних стадиях ОГВ. Сероконверсия HBeAg/AbHBe является основой классификации стадий течения ХВГВ [61].

Современная серологическая диагностика ВГВ заключается в выявлении и количественной оценке основных антигенов вируса и вырабатываемых иммунной системой хозяина антител к ним (HBsAg, HBeAg, HBcAg, AbHBs, AbHBe, AbHBcorIgM, AbHBcorIgG) с помощью многочисленных коммерческих наборов реагентов [18]. Практически все эти наборы имеют те или иные ограничения.

К молекулярно-биологическим маркерам, применяемым для диагностики вирусных гепатитов, прежде всего относится метод полимеразной цепной реакции (ПЦР). В клинической лабораторной практике при работе с ВГВ применяется несколько разновидностей ПЦР. Ведущая роль принадлежит методу ПЦР в режиме реального времени, используемому как для качественной (самый диагностически ранний способ обнаружения вируса), так и для количественной (позволяет определить целесообразность проведения противовирусной терапии) идентификации ДНК ВГВ, а также для генотипирования и выявления наиболее распространенных мутаций ВГВ.

Целью данного обзора является анализ данных литературы по выявлению маркеров ВГВ в лабораторной практике и их распространенность в странах Африки.

■ Метод исследования

Проведен поиск публикаций, вошедших в базы данных Medline/PubMed, AJOL (African Journals Online), а также электронную библиотеку elibrary.ru. Так как литературные данные о распространенности и характеристике ВГВ в странах Африки сравнительно немногочисленны, глубина поиска составила 30 лет.

Термины, использованные для поисковых запросов в англоязычных базах — «hepatitis B», «HBV», «seroprevalence» или «prevalence», в сочетании с названиями стран Африки на английском языке. Термины, использованные для поиска в электронной библиотеке elibrary.ru — «гепатит В», «ВГВ», «вирус гепатита В», «заболеваемость», «пораженность», «распространенность» в сочетании с названиями стран Африки на русском языке.

Также были проанализированы списки литературы найденных статей. Для детального изучения резюме и полнотекстовых версий статей было отобрано 75 публикаций, вошедших в настоящий обзор.

■ Результаты исследования

Инфекция ВГВ широко распространена на африканском континенте, количество жителей Африки с ХВГВ более 75 млн человек, 25% из которых предположительно умрут из-за заболеваний печени. Встречаемость поверхностного антигена ВГВ в странах африканского региона превышает 8% и может достигать 25% [57]. Отмечается широкий разброс в оценках распространенности HBsAg между странами. Наибольшее распространение вируса показано к югу от Сахары, в таких странах Западной Африки, как Либерия (17,55%), Мали (15,5%), Буркина-Фасо (14,5%), Гана (13,8%), Сенегал (13,8%), Нигерия (13,6%), Мавритания (10,9%) [41, 64, 75]. В Восточной и Южной Африке зарегистрирована сравнительно более низкая распространенность HBsAg, соответствующая среднему уровню [57], а в таких странах Северной Африки, как Тунис, Алжир, Египет, Марокко, уровень ниже 2% [37]. Ча-

стично это может объясняться изменением факторов риска и маршрутов передачи в разных странах. В целом оценки распространенности на страновом уровне свидетельствуют о высоком бремени инфекции в странах Африки к югу от Сахары [57].

Помимо отличий уровня распространенности HBsAg между странами, описано варьирование частоты встречаемости поверхностного антигена ВГВ между разными группами в пределах одного региона или страны. Однако стоит отметить, что данные о серологическом распространении ВГВ в популяции ограничены, поскольку серологический скрининг часто проводят только в отдельных группах населения — группах риска (ВИЧ-инфицированные лица, заключенные, ПИН и т. д.) и группах, распространенность инфекции в которых оказывает существенное влияние на здоровье населения (доноры крови, беременные женщины). Например, известно, что очень высока распространенность HBsAg+ у заключенных в Западной и Центральной Африке (23,5%). [64]. В Сьерра-Леоне распространенность HBsAg+ в 1998 г. среди детей составила 18,18%, антитела HBcorIgG были обнаружены у 71% детей, а спустя всего 7 лет при оценке распространенности ВГВ в группе беременных женщин среднего и высокого социально-экономического класса встречаемость HBsAg+ составила 6,2%, что, по всей видимости, свидетельствует о значимости статуса/уровня жизни для распространения ВГВ [28, 71]. Оценка распространенности вируса среди населения в зависимости от пола и возраста также может варьировать, что свидетельствует о необходимости тщательного анализа и подбора обследуемых выборок. Так, в сельских районах на юго-западе Чада общая распространенность HBsAg+ составила 22,9%, при этом самая молодая возрастная группа (6–15 лет) и мальчики/мужчины показали значительно более высокую распространенность HBsAg по сравнению со старшими группами и девочками/женщинами соответственно ($P < 0,01$) [65].

Столь существенные различия в результатах исследований разных групп могут быть следствием развития и внедрения в регионе новых методов выявления маркеров ВГВ, хотя по мнению некоторых авторов гетерогенность результатов, полученных разными исследователями в одной стране, связана прежде всего с географическими регионами, социализацией и внедрением универсальной иммунизации, а не с полом больных, инструментами скрининга ВГВ и методологическим качеством исследований [12].

Разумеется, различия в распространенности HBsAg в разных группах наблюдаются и в Европейских странах. Например, в странах Европы, РФ, США и др. встречаемость HBsAg+ повышена по сравнению с популяционной в группах риска (ВИЧ-инфицированные лица, ПИН, заключенные, гомосексуалисты, работники секс-индустрии и т. д.) и понижена среди доноров крови, беременных женщин. В африканских странах наоборот — распространенность HBsAg+ среди младенцев (16,3%) и доноров крови (23,4%) может значительно превышать популяционную (13,6%), как это описано в Нигерии [56]. Таким образом, инфицирование ВГВ при переливании крови и ее продуктов может играть в странах Африки ведущую роль [69].

При этом ВГВ в Африке передается в основном в раннем возрасте. Горизонтальная передача происходит в возрасте 2–10 лет, вполне вероятно, что дети с высоким уровнем вирусемии передают вирус через порезы и ссадины восприимчивым братьям, сестрам, друзьям по играм [11]. Хотя горизонтальная передача представляет собой основной путь передачи вируса, считается, что перинатальным путем инфицирования обусловлено формирование около 10% случаев хронической инфекции, а низкий уровень встречаемости HBeAg у HBsAg-положительных беременных женщин в большинстве африканских стран коррелирует с низкой частотой перинатальной передачи. При этом 20–30% пациентов, инфицированных в раннем детстве, становятся хроническими носителями, и только 10% из них остаются HBeAg-положительными в подростковом возрасте [62].

Говоря о высокой частоте встречаемости ВГВ в странах Африки, необходимо упомянуть также о широкой распространенности в регионе ГЦК, которая, как известно,

составляет почти 85% всех первичных опухолей печени и является 5-м наиболее часто диагностируемым онкологическим заболеванием во всем мире [59]. В странах Африки к югу от Сахары ГЦК вносит существенный вклад в структуру смертности от болезней печени из-за высокой распространенности факторов риска заболевания на континенте [32]. Страны Западной Африки незначительно отстают: смертность от ГЦК в Западной Африке достигает 200 тыс. человек в год [55]. При этом из-за запоздалого обращения к врачам большинство страдающих ГЦК умирают в течение нескольких недель после постановки диагноза. Фактически в этом регионе мира смертность от ГЦК почти такая же, как и заболеваемость. Самой пострадавшей страной является Гамбия, за ней следуют Гвинейская Республика, Либерия и Сьерра-Леоне [40]. Одной из существенных причин высокой встречаемости ГЦК в странах Африки является раннее заражение ВГВ, позднее обнаружение вируса и неправильное лечение, что связано в том числе с недостаточностью применяемых в регионе диагностических методов. Следует отметить, что в развитых странах мира ГЦК связана преимущественно с вирусом гепатита С (ВГС), в то время как в странах Африки причиной ГЦК значительно чаще становится ВГВ [21, 22, 68].

Существенная часть случаев ГЦК в странах Африки связана с оккультным ВГВ: более чем у 75% HBsAg-негативных больных ГЦК обнаруживают окГВ [33].

Столь высокую распространенность ВГВ связывают в том числе с частотой встречаемости окГВ в регионе, при этом доноры крови не становятся исключением. Так, например, в Судане при обследовании группы HBsAg-негативных доноров антитела HBs+ выявили у 42% доноров, среди которых 90,5% оказались положительными по ДНК ВГВ [5].

Несмотря на значительные проблемы общественного здравоохранения, связанные с ВГВ, в Африке к югу от Сахары, во многих странах этого региона нет систематического наблюдения за вирусом, отсутствует информация о генетической характеристике распространенного в том или ином регионе вируса. Следует отметить, что методы выявления ВГВ и диагностика заболеваний печени, связанных с ВГВ, в странах с низким и средним уровнем дохода существенно отличаются от тех, которые применяются в странах, имеющих доступ к дорогостоящим технологиям, требующим специализированного персонала. Большинство исследований на эту тему в странах Африки ограничивается измерением поверхностного антигена гепатита В, в то время как молекулярно-генетические методы, позволяющие более точно оценить распространенность ВГВ, генотипировать вирус, дать количественную оценку ДНК ВГВ, выявить инфекцию при низкой вирусной нагрузке в случае оккультной формы течения ХВГВ доступны только в центральных лабораториях крупных городов [6].

Несмотря на низкую распространенность молекулярно-генетических методов в регионе, известны некоторые генетические варианты вируса, характерные для регионов Африки. Например, хотя генотип А широко распространен по всему миру, на африканском континенте он преобладает в странах Южной и Восточной Африки. ВГВ субгенотипа А1 наиболее часто встречается к югу от Сахары, а его распространенность в странах Южной Азии свидетельствует о завозе этого субгенотипа в Азию посредством торговли с Восточной Африкой [27]. ВГВ субгенотипа А2, сходный с некоторыми характерными для Европы изолятами, также свидетельствует о завозе вируса. Субгенотип А3 широко представлен в Западной Африке [39, 66].

Как известно генотип D широко распространен во всем мире, при этом его субгенотипы имеют характерное географическое распределение. В странах Северной Африки обнаруживают субгенотип D1, в то время как в странах Южной Африки представлен субгенотип D3 [19, 29, 50]. Описаны редкие субгенотипы ВГВ генотипа D: D4 выявляли в Кении, Марокко и Руанде, D6 также обнаружен в Кении, D7 является основным генотипом в Марокко и Тунисе, D8 недавно выявили в Нигере [34, 54].

Генотип Е в высокой степени эндемичен в большинстве стран Центральной и Западной Африки к югу от Сахары, где составляет более 90% от общего числа ВГВ [43]. Низкое генетическое разнообразие этого генотипа, несмотря на широкий географический ареал, по всей видимости свидетельствует о короткой эволюционной истории ВГВ генотипа Е.

В целом генотип Е преобладает в Западной и Центральной Африке, генотип А в основном наблюдается в Южной, Центральной и Восточной Африке. Генотип D, который предположительно ассоциируется с более тяжелыми заболеваниями печени, идентифицирован главным образом в Северной и некоторых странах Восточной Африки [73]. Однако преобладание упомянутых генотипов может существенно варьировать даже в пределах одной страны. Так, исследования в Демократической Республике Конго (ДРК), выполненные в западной части страны, свидетельствуют о подавляющем преобладании генотипа Е, в то время как среди штаммов из Южной Киву, восточной провинции ДРК, 97,6% составил ВГВ генотипа А и только 2,4% генотипа Е, причем почти все штаммы ВГВ генотипа А тесно связаны со штаммами А1, обнаруженными в Руанде, Гаити и Мартинике, и только два штамма кластеризовались с субгенотипом А2 [63]. Филогенетический анализ последовательностей S-региона 772 штаммов ВГВ в Танзании показал преобладание генотипа А (86,9%) по сравнению с генотипом D (12,3%) и Е (0,8%). Все последовательности ВГВ генотипа А были классифицированы как субгенотип А1, тогда как последовательности ВГВ генотипа D предположительно относятся к новому кластеру [23]. В группе пациентов из Гамбии 83 и 17% пациентов были инфицированы ВГВ генотипа Е и А соответственно [41].

Как уже упоминалось выше, в регионах, где циркулирует ряд генотипов ВГВ, может происходить рекомбинация между генотипами. Новые варианты, являющиеся следствием рекомбинации, описаны во всем мире и представляют собой важный элемент генетической изменчивости с возможными клиническими последствиями [36]. Рекомбинантные формы вируса были представлены почти во всех географических регионах с тем же режимом циркуляции, как и их первоначальные генотипы, что указывает на возможность широкого распространения рекомбинантных форм в популяции [7]. Рекомбинанты ВГВ генотипа А и D были описаны в Африке более 15 лет назад [53]. Рекомбинанты А и Е обнаружены в Камеруне и Западной Африке [39, 52]. Сравнительно недавно в Гане обнаружен вариант ВГВ рекомбинантного генотипа D/E [15].

■ Заключение

Анализируя распространенность маркеров ВГВ в странах Африки, мы вынуждены повторить, что исследования в регионе ограничены как небольшим их количеством, так и качеством применяемых методов диагностики. В то время как для одних стран в литературе представлены несколько десятков исследований, что позволяет обобщить имеющиеся данные и получить достоверную информацию о ВГВ на их территории, для других удастся найти единичные публикации, нередко не только ограниченные применяемой методологией, но и противоречащие друг другу. Поскольку на распространенность различных генотипов ВГВ в разных странах существенно влияет миграция населения и происхождение иммигрантов, то есть как пути распространения вируса в связи с миграцией населения, так и его происхождение, скудные данные ограничивают возможность проследить пути передачи вируса и распределения генотипов в различных регионах африканского континента.

■ Список литературы

1. Аммосов А.Д. Гепатит В. *Новосибирск: Вектор-Бест, 2006: 132.*
2. Останкова Ю.В., Семенов А.В., Файзуллаев Х.Н., Казакова Е.И., Козлов А.В., Мусабаев Э.И., Тотолян Арег А. Молекулярно-биологические маркеры гепатита В у пациентов с фиброзом/циррозом печени в Узбекистане. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2016; 5: 34–43.*

3. Шахгильдян И.В., Михайлов М.И., Онищенко Г.Г. Парентеральные вирусные гепатиты (эпидемиология, диагностика, профилактика) М.: ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ, 2003. 383.
4. Ющук Н.Д., Климова Е.А., Знойко О.О., Кареткина Г.Н., Максимов С.Л., Маев И.В. Вирусные гепатиты: клиника, диагностика, лечение. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012: 160.
5. Abd El Kader M.O., Abd El Rahim G.A., El Sayed M.D., Elnour A.M., Yousif G.E. Detection of occult hepatitis B virus infection among blood donors in Sudan. *J. Egypt Public Health Assoc.* 2013; 88 (1): 14–18. doi: 10.1097/01.EPX.0000427065.73965.c8
6. Allain J.P., Opere-Sem O. Screening and diagnosis of HBV in low-income and middle-income countries. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2016; 13 (11): 643–653. doi: 10.1038/nrgastro.2016.138
7. Araujo N.M. Hepatitis B virus intergenotypic recombinants worldwide: An overview. *Infect Genet Evol.* 2015; 36: 500–510. doi: 10.1016/j.meegid.2015.08.024
8. Arauz-Ruiz P., Norder H., Robertson B.H., Magnus L.O. Genotype H: a new Amerindian genotype of hepatitis B virus revealed in Central America. *J. Gen. Virol.* 2002; 83 (8): 2059–2073. doi: 10.1099/0022-1317-83-8-2059
9. Beasley R.P., Hwang L.Y., Lee G.C., Lan C.C., Roan C.H., Huang F.Y., Chen C.L. Prevention of perinatally transmitted hepatitis B virus infections with hepatitis B virus infections with hepatitis B immune globulin and hepatitis B vaccine. *Lancet* 1983; 2: 1099–1102. doi: http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(83)90624-4
10. Beck J., Nassal M. Hepatitis B virus replication. *World J. Gastroenterol.* 2007; 13 (1): 48–64.
11. Bernier R.H., Sampliner R., Gerety R., Tabor E., Hamilton F., Nathanson N. Hepatitis B infection in households of chronic carriers of hepatitis B surface antigen: factors associated with prevalence of infection. *Am. J. Epidemiol.* 1982; 116: 199–211.
12. Bigna J.J., Amougou M.A., Asangbeh S.L., Kenne A.M., Noumegni S.R.N., Ngo-Malabo E.T., Noubiap J.J. Seroprevalence of hepatitis B virus infection in Cameroon: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open* 2017; 7: e015298. doi: 10.1136/bmjopen-2016-015298
13. Bissinger A.L., Fehrle C., Werner C.R., Lauer U.M., Malek N.P., Berg C.P. Epidemiology and Genotyping of Patients with Chronic Hepatitis B: Genotype Shifting Observed in Patients from Central Europe. *Pol. J. Microbiol.* 2015; 64 (1): 15–21.
14. Bouvier G.L., Williams A. Serotypes of hepatitis B antigen (HBs Ag): the problem of “new” determinants, as exemplified by “t”. *Am. J. Med. Sci.* 1975; 270 (1): 165–171.
15. Boyce C.L., Ganova-Raeva L., Archampong T.N.A., Lartey M., Sagoe K.W., Obo-Akwa A., Kenu E., Kwara A., Blackard J.T. Identification and comparative analysis of hepatitis B virus genotype D/E recombinants in Africa. *Virus Genes.* 2017; 53 (4): 538–547. doi: 10.1007/s11262-017-1469-4
16. Buti M., Rodriguez-Frias F., Jardi R., Esteban R. Hepatitis B virus genome variability and disease progression: the impact of pre-core mutants and HBV genotypes. *J. Clin. Virol.* 2005; 34 (1): 579–582. doi: 10.1016/S1386-6532(05)80015-0
17. Chen C.J., Yang H.I. Natural history of chronic hepatitis B REVEALed. *Journal of gastroenterology and hepatology.* 2011; 26 (4): 628–638. doi: 10.1111/j.1440-1746.2011.06695.x
18. Chevaliez S., Rodriguez C., Pawlotsky J.-M. New virologic tools for management of chronic hepatitis B and C. *Gastroenterology.* 2012; 142 (6): 1303–1313. doi: 10.1053/j.gastro.2012.02.027
19. Cox L.E., Arslan O., Allain J.P. Characterization of hepatitis B virus in Turkish blood donors, and the prevalence of the SP1 splice variant. *J. Med. Virol.* 2011; 83: 1321–1325. doi: 10.1002/jmv.22118
20. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. *J. Hepatol.* 2012; 57 (1): 157–185.
21. Fattovich G., Stroffolini T., Zagni I., Donato F. Hepatocellular carcinoma in cirrhosis: incidence and risk factors. *Gastroenterology.* 2004; 127: S35–S50. doi: 10.1053/j.gastro.2004.09.014
22. Flores A., Marrero J.A. Emerging trends in hepatocellular carcinoma: focus on diagnosis and therapeutics. *Clin. Med. Insights Oncol.* 2014; 8: 71–76. doi: 10.4137/CMO.S9926
23. Forbi J.C., Dillon M., Purdy M.A., Drammeh B.S., Tejada-Strop A., McGovern D., Xia Guo-liang, Lin Y., Ganova-Raeva L.M., Campo D.S., Thai H., Vaughan G., Haule D., Kutaga R.P., Basavaraju S.V., Kamili S., Khudyakov Y.E. Molecular epidemiology of hepatitis B virus infection in Tanzania. *J. Gen. Virol.* 2017; 98: 1048–1057. doi: 10.1099/jgv.0.000776
24. Gao S., Duan Z.-P., Coffin C.S. Clinical relevance of hepatitis B virus variants. *World J. Hepatol.* 2015; 7 (8): 1086–1096. doi: 10.4254/wjh.v7.i8.1086
25. Gish R.G., Given B.D., Lai C.L., Locarnini S.A., Lau J.Y., Lewis D.L., Schlupe T. Chronic hepatitis B: virology, natural history, current management and a glimpse at future opportunities. *Antiviral Res.* 2015; 121: 47–58. doi: 10.1016/j.antiviral.2015.06.008
26. Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013 GBD 2013 Mortality and Causes of Death Collaborators. *Lancet.* 2015; 385 (9963): 117–171.

27. Hannoun C., Söderström A., Norkrans G., Lindh M. Phylogeny of African complete genomes reveals a West African genotype A subtype of hepatitis B virus and relatedness between Somali and Asian A1 sequences. *J. Gen. Virol.* 2005; 86: 2163–2167. doi: 10.1099/vir.0.80972-0
28. Hodges M., Sanders E., Aitken C. Seroprevalence of hepatitis markers; HAV, HBV, HCV and HEV amongst primary school children in Freetown, Sierra Leone. *West Afr. J. Med.* 1998; 17 (1): 36–37.
29. Hundie G.B., Stalin Raj V., Gebre M.D., Pas S.D., Koopmans M.P., Osterhaus A.D., Smits S.L., Haagmans B.L. A novel hepatitis B virus subgenotype D10 circulating in Ethiopia. *J. Viral Hepat.* 2017; 24 (2): 163–173. doi: 10.1111/jvh.12631
30. Hyams K.C. Risks of chronicity following acute hepatitis B virus infection: a review. *Clinical Infectious Diseases.* 1995; 20 (4): 992–1000.
31. Kao J.-H. Molecular epidemiology of hepatitis B virus. *Korean J. Intern. Med.* 2011; 26 (3): 255–261.
32. Kew M.C. Hepatocellular carcinoma in developing countries: Prevention, diagnosis and treatment. *World J. Hepatol.* 2012; 4: 99–104. doi: 10.4254/wjh.v4.i3.99
33. Kew M.C., Welschinger R., Viana R. Occult hepatitis B virus infection in Southern African blacks with hepatocellular carcinoma. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2008; 23 (9): 1426–1430. doi: 10.1111/j.1440-1746.2008.05481.x
34. Kitab B., El Feydi A.E., Afifi R., Derdabi O., Cherradi Y., Benazzouz M., Rebbani K., Brahim I., Salih Alj H., Zoulim F., Trepo C., Chemin I., Ezzikouri S., Benjelloun S. Hepatitis B genotypes/subgenotypes and MHR variants among Moroccan chronic carriers. *J. Infect.* 2011; 63: 66–75. doi: 10.1016/j.jinf.2011.05.007
35. Kramvis A., Arakawa K., Yu M.C., Nogueira R., Stram D.O., Kew M.C. Relationship of serological subtype, basic core promoter and precore mutations to genotypes/subgenotypes of hepatitis B virus. *J. Med. Virol.* 2008; 80: 27–46. doi: 10.1002/jmv.21049
36. Kramvis A., Kew M., Francois G. Hepatitis B virus genotypes. *Vaccine.* 2005; 23: 2409–2423. doi: 10.1016/j.vaccine.2004.10.045 S0264-410X(04)00849-7
37. Kramvis A., Kew M.C. Epidemiology of hepatitis B virus in Africa, its genotypes and clinical associations of genotypes. *Hepatol. Res.* 2007; 37: S9–S19. doi: 10.1111/j.1872-034X.2007.00098.x
38. Kuo A., Gish R. Chronic hepatitis B infection. *Clin. Liver Dis.* 2012; 16 (2): 347–369. doi: 10.1016/j.cld.2012.03.003
39. Kurbanov F., Tanaka Y., Fujiwara K., Sugauchi F., Mbanya D., Zekeng L., Ndembu N., Ngansop C., Kaptue L., Miura T., Ido E., Hayami M., Ichimura H., Mizokami M. A new subtype subgenotype) Ac (A3) of hepatitis B virus and recombination between genotypes A and E in Cameroon. *J. Gen. Virol.* 2005; 86 (7): 2047–2056. doi: 10.1099/vir.0.80922-0
40. Ladep N.G., Lesi O.A., Mark P., Lemoine M., Onyekwere C., Afihene M., Crossey M.M., Taylor-Robinson S.D. Problem of hepatocellular carcinoma in West Africa. *World J. Hepatol.* 2014; 6 (11): 783–792. doi: 10.4254/wjh.v6.i11.783
41. Lemoine M., Shimakawa Y., Njie R., Taal M., Ndow G., Chemin I., Ghosh S., Njai H.F., Jeng A., Sow A., Toure-Kane C., Mboup S., Suso P., Tamba S., Jatta A., Sarr L., Kambi A., Stanger W., Nayagam S., Howell J., Mpabanzi L., Nyan O., Corrah T., Whittle H., Taylor-Robinson S.D., D'Alessandro U., Mendy M., Thursz M.R.; PROLIFICA investigators. Acceptability and feasibility of a screen-and-treat programme for hepatitis B virus infection in the Gambia: the prevention of liver fibrosis and cancer in Africa (PROLIFICA) study. *Lancet Glob. Health.* 2016; 4: e559–e567. doi: 10.1016/S2214-109X(16)30130-9
42. Lin C.-L., Kao J.-H. Hepatitis B virus genotypes and variants. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2015; 5 (5): a021436–a021436. doi: 10.1101/cshperspect.a021436
43. Lo Presti A., Andriamandimby S.F., Lai A., Angeletti S., Cella E., Mottini G., Guarino M.P., Balotta C., Galli M., Heraud J.M., Zehender G., Ciccozzi M. Origin and evolutionary dynamics of Hepatitis B virus (HBV) genotype E in Madagascar. *Pathog. Glob. Health.* 2017; 111 (1): 23–30. doi: 10.1080/20477724.2016.1278103
44. Locarnini S., Zoulim F. Molecular genetics of HBV infection. *Antivir. Ther.* 2010; 15 (suppl. 3): 3–14. doi: 10.3851/IMP1619
45. Margolis H.S., Alter M.J., Hadler S.C. Hepatitis B: evolving epidemiology and implications for control. *Seminars in Liver Disease.* 1991; 11: 84–92. doi: 10.1055/s-2008-1040427
46. McMahon B.J., Alward W.L., Hall D.B., Heyward W.L., Bender T.R., Francis D.P., Maynard J.E. Acute hepatitis B virus infection: relation of age to the clinical expression of disease and subsequent development of the carrier state. *J. Infect. Dis.* 1985; 151: 599–603.
47. Moradi A., Zhand S., Ghaemi A., Javid N., Tabarraei A. Mutations in the S gene region of hepatitis B virus genotype D in Golestan Province-Iran. *Virus Genes.* 2012; 44 (3): 382–387. doi: 10.1007/s11262-012-0715-z
48. Morales-Romero J., Vargas G., García-Román R. Occult HBV infection: a faceless enemy in liver cancer development. *Viruses.* 2014; 6 (4): 1590–1611. doi: 10.3390/v6041590
49. Nassal M. Hepatitis B viruses: reverse transcription a different way. *Virus Res.* 2008; 134 (1-2): 235–249. doi: 10.1016/j.virusres.2007.12.024
50. Norder H., Couroucé A.-M., Coursaget P., Echevarria J.M., Lee S.-D., Mushahwar I.K., Robertson B.H., Locarnini S., Magnius L.O. Genetic diversity of hepatitis B virus strains derived worldwide: genotypes, subgenotypes, and HBsAg subtypes. *Intervirology.* 2004; 47 (6): 289–309. doi: 10.1159/000080872

51. Okamoto H., Tsuda F., Sakugawa H., Sastrosoewignjo R.I., Imai M., Miyakawa Y., Mayumi M. Typing hepatitis B virus by homology in nucleotide sequence: comparison of surface antigen subtypes. *J. Gen. Virol.* 1988; 69: 2575–2583.
52. Olinger C.M., Venard V., Njayou M., Oyefolu A.O., Maiga I., Kemp A.J., Omilabu S.A., Le Faou A., Muller C.P. Phylogenetic analysis of the precore/core gene of hepatitis B virus genotypes E and A in West Africa: new subtypes, mixed infections and recombinations. *J. Gen. Virol.* 2006; 87: 1163–1173. doi: 10.1099/vir.0.81614-0
53. Owiredo W.K., Kramvis A., Kew M.C. Hepatitis B virus DNA in serum of healthy black African adults positive for hepatitis B surface antibody alone: possible association with recombination between genotypes A and D. *J. Med. Virol.* 2001; 64: 441–454.
54. Ozaras R., Inanc Balkan I., Yemisen M., Tabak F. Epidemiology of HBV subgenotypes D. *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.* 2015; 39 (1): 28–37. doi: 10.1016/j.clinre.2014.06.005
55. Parkin D.M. The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. *Int J. Cancer.* 2006; 118: 3030–3044. doi: 10.1002/ijc.21731
56. Sadoh A.E., Sadoh W.E. Serological markers of hepatitis B infection in infants presenting for their first immunization. *Niger J. Paediatr.* 2013; 40: 248–253.
57. Schweitzer A., Horn J., Mikolajczyk R.T., Krause G., Ott J.J. Estimations of worldwide prevalence of chronic hepatitis B virus infection: a systematic review of data published between 1965 and 2013. *Lancet.* 2017; 386 (10003): 1546–1555. doi: 10.1016/S0140-6736(15)61412-X
58. Shapiro C.N. Epidemiology of hepatitis B. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1993; 12 (5): 433–437.
59. Shariff M.I., Cox I.J., Goma A.I., Khan S.A., Gedroyc W., Taylor-Robinson S.D. Hepatocellular carcinoma: current trends in worldwide epidemiology, risk factors, diagnosis and therapeutics. *Expert Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2009; 3: 353–367. doi: 10.1586/egh.09.35
60. Sherman M., Shafraan S., Burak K., Doucette K., Wong W., Girgrah N., Yoshida E., Renner E., Wong P., Deschênes M. Management of chronic hepatitis B: consensus guidelines. *Can. J. Gastroenterol.* 2007; 21: 5C–24C.
61. Shi Y.H., Shi C.H. Molecular characteristics and stages of chronic hepatitis B virus infection. *World J. Gastroenterol.* 2009; 15: 3099–3105. doi: 10.3748/wjg.15.30991
62. Shimakawa Y., Bottomley C., Njie R., Mendy M. The association between maternal hepatitis B e antigen status, as a proxy for perinatal transmission, and the risk of hepatitis B e antigenaemia in Gambian children. *BMC Public Health.* 2014; 14: 532. doi: 10.1186/1471-2458-14-532
63. Shindano T.A., Horsmans Y., Kabamba B.M. Genetic and phylogenetic characterisation of hepatitis B virus in the Eastern part of the Democratic Republic Of Congo. *J. Med. Virol.* 2017. doi: 10.1002/jmv.24837
64. Stasi C., Silvestri C., Voller F. Emerging trends in epidemiology of hepatitis B virus infection. *J. Clin. Transl. Hepatol.* 2017; 5 (3): 272–276. doi: 10.14218/JCTH.2017.00010
65. Suesstrunk J., Djongali F.B. Hepatitis B virus prevalence in rural areas in south-west Chad. *Tropical Doctor.* 2017; 47 (4): 374–377. doi: 10.1177/0049475517699718.
66. Sugauchi F., Kumada H., Acharya S.A., Shrestha S.M., Gamutan M.T., Khan M., Gish R.G., Tanaka Y., Kato T., Orito E., Ueda R., Miyakawa Y., Mizokami M. Epidemiological and sequence differences between two subtypes (Ae and Aa) of hepatitis B virus genotype A. *J. Gen. Virol.* 2004; 85 (4): 811–820. doi: 10.1099/vir.0.79811-0
67. Tatematsu K., Tanaka Y., Kurbanov F., Sugauchi F., Mano S., Maeshiro T., Nakayoshi T., Wakuta M., Miyakawa Y., Mizokami M. A genetic variant of hepatitis B virus divergent from known human and ape genotypes isolated from a Japanese patient and provisionally assigned to new genotype J. *J. Virol.* 2009; 83 (20): 10538–10547. doi: 10.1128/JVI.00462-09
68. Umoh N.J., Lesi O.A., Mendy M., Bah E., Akano A., Whittle H., Hainaut P., Kirk G.D. Aetiological differences in demographical, clinical and pathological characteristics of hepatocellular carcinoma in The Gambia. *Liver Int.* 2011; 31: 215–221. doi: 10.1111/j.1478-3231.2010.02418.x
69. WHO. Haemoglobin concentrations for the diagnosis of anaemia and assessment of severity. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2011. Available from: <http://www.who.int/vmnis/indicators/haemoglobin.pdf>
70. WHO. Prevention and control of viral hepatitis infection: frame work for global action 2012. Geneva: WHO, 2012.
71. Wurie I.M., Wurie A.T., Geva S.M. Sero-prevalence of hepatitis B virus among middle to high socio-economic antenatal population in Sierra Leone. *West Afr. J. Med.* 2005; 24 (1): 18–20.
72. Yim H.J., Lok A.S. Natural history of chronic hepatitis B virus infection: what we knew in 1981 and what we know in 2005. *Hepatology.* 2006; 43 (2 Suppl 1): S173–S181. doi: 10.1002/hep.20956
73. Yousif M., Mudawi H., Hussein W., Mukhtar M., Nemer O., Glebe D., Kramvis A. Genotyping and virological characteristics of hepatitis B virus in HIV-infected individuals in Sudan. *Int J. Infect Dis.* 2014; 29: 125–132. doi: 10.1016/j.ijid.2014.07.002
74. Yuen M.F., Lai C.L. Hepatitis B virus genotypes: natural history and implications for treatment. *Expert. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2007; 1: 321–328. doi: 10.1586/17474124.1.2.321
75. Zampino R., Boemio A., Sagnelli C., Alessio L., Adinolfi L.E., Sagnelli E., Coppola N. Hepatitis B virus burden in developing countries. *World J. Gastroenterol.* 2015; 21 (42): 11941–11953. doi: 10.3748/wjg.v21.i42.11941

Распределение генотипов вируса гепатита В среди пациентов Российско-Гвинейского госпиталя г. Киндия Гвинейской Республики

А.Ю. Попова, А.В. Семенов, Ю.В. Останкова, Е.В. Найденова,
С.А. Щербакова, С. Бумбали, М.С. Барри, М.И. Буаро, Арег А. Тотолян

■ Введение

Гепатотропные вирусы, вызывающие у людей хронические заболевания печени, остаются одной из самых значимых проблем здравоохранения в мире. Наиболее распространенным из них является вирус гепатита В (ВГВ). Во всем мире почти 2 млрд человек инфицированы данным возбудителем. Наиболее широко вирус распространен в странах Азии, Африки, Южной Европы и Латинской Америки. При этом более чем у 240 млн больных диагностирован хронический вирусный гепатит В (ХВГВ) [7]. Хронизация ГВ происходит у 90% детей, инфицированных при рождении, в 25-50% случаев при инфицировании детей до 6 лет и 1-5% людей, заболевших в старшем детском и зрелом возрасте. У больных зрелого возраста более чем в 20% случаев развиваются такие тяжелые заболевания печени как рак или цирроз. Согласно данным литературы, гепатоцеллюлярная карцинома почти в 80% случаев обусловлена ХВГВ [25].

Основным маркером в оценке риска развития заболевания и прогноза ХВГВ, а также в целом для диагностики ВГВ является наличие поверхностного вирусного антигена (HBsAg) и его уровень в сыворотке крови. Однако одной из форм естественного течения ХВГВ является оккультный гепатит В, для которого характерны сохранение ДНК ВГВ в тканях печени и крайне низкая концентрация ДНК ВГВ при неопределяемом уровне HBsAg в периферической крови [13]. Несмотря на отсутствие в периферической крови HBsAg, большинство пациентов с оккультным гепатитом В являются серопозитивными по одному или нескольким серологическим маркерам — в зависимости от фазы течения заболевания анти-HBs IgG, HBeAg, анти-HBe IgG, анти-HBcIgG, но более 20% больных серонегативны по всем маркерам ВГВ [28]. Обнаружение и количественный анализ кольцевой ковалентно-замкнутой ДНК ВГВ в гепатоцитах представляет важным лабораторным маркером диагностики заболевания [4]. При этом в большинстве случаев репликация вируса и экспрессия генов могут быть подавлены настолько, что вирусная нагрузка в периферической крови больного крайне низка, вплоть до невозможности выявить ДНК ВГВ стандартными методами, но элиминации вируса при подавлении репликации не происходит. По всей видимости, это является главной причиной, по которой почти 30% хронических вирусных гепатитов в мире остаются невыявленными, несмотря на то, что значимая доля среди них представлена пациентами с поражениями печени, этиологию которых не удастся определить [12, 22]. У пациентов с тяжелыми заболеваниями печени при HBsAg-негативном варианте течения оккультный ХВГВ встречается с частотой 59%, а у больных гепатоцеллюлярной карциномой — 85% [19]. Распространенность оккультного вирусного гепатита В в мире варьирует, однако в целом коррелирует с распространенностью манифестной формы данного заболевания, а генотипы и субтипы оккультного ХВГВ — с распределением генотипов ВГВ в том или ином регионе, но при этом для оккультного ХВГВ показана более тяжелая клиническая картина, чем при HBsAg-позитивном течении ХВГВ [15]. Таким образом, наибольшая частота встречаемости оккультной формы ХВГВ показана в странах с высоким уровнем распространения данного возбудителя. Это представляется особенно значимым в связи с давно продемонстрированной возможностью заражения от «оккультных» носителей ВГВ и активными миграционными процессами из тех регионов, где гепатотропные вирусы широко распространены.

Несмотря на характерное географическое распределение генотипов и субтипов ВГВ, обращает на себя внимание все более частое обнаружение «чуждых» для тех или иных территорий субтипов ВГВ появляющихся, в том числе, за счет множественных взаимных завозов вируса населением соседних стран [6], зависящих от миграционных волн, «трудо-вой миграции» и иных форм активных международных отношений,

Таким образом, ХВГВ остается значительной проблемой во многих странах мира и, в первую очередь, на африканском континенте, особенно в странах Западной Африки, где ХВГВ выявлен у 10-25% от общего населения, а контактировали с вирусом более 75%, что подтверждается обнаружением анти-HBcor IgG и анти-HBs IgG антител [18]. Гвинейская Республика является регионом с высокой распространенностью многих вирусных инфекционных заболеваний, в том числе и вызываемых гепатотропными вирусами, что обуславливает значимость оценки эпидемиологической ситуации по распространенности ВГВ на данной территории. При этом необходимо использовать методы, позволяющие не только выявлять манифестную и оккультную форму ХВГВ, но и секвенировать обнаруженные изоляты, так как вакцинация защищает от широкого спектра штаммов, но не способна нейтрализовать так называемые вакциноизбегающие штаммы, которые могут вызывать серонегативную оккультную форму ХВГВ с последующей реактивацией [9].

Целью нашей работы было изучить распределение генотипов вируса гепатита В среди пациентов Российско-Гвинейского госпиталя г. Киндия Гвинейской Республики.

■ Материалы и методы

Материалом исследования служили 264 образца сыворотки крови, из которых 130 были получены с апреля по декабрь 2015 г. от людей без подозрения на болезнь, вызванную вирусом Эбола (БВБЭ), и 134 образца сыворотки крови, полученные с февраля по апрель 2016 г. Кровь получали по общепринятой методике из локтевой вены натошак в количестве 5 мл с использованием вакуумной системы для взятия крови. Все исследуемые образцы были протестированы методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) при помощи набора реагентов «АмплиСенс EBOV Zaire-FL» (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия) с целью исключения вероятности выявления РНК вируса Эбола и обеспечения биологической безопасности при работе с данным материалом. Во всех случаях был получен отрицательный результат.

Для первичного выявления ВГВ из плазмы крови выделяли нуклеиновые кислоты (НК) с использованием коммерческого набора «АмплиПрайм РИБО-преп» (ФБУН ЦНИИЭ, Москва). Анализ присутствия вируса проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» с помощью коммерческого набора «АмплиСенс® HBV-FL» (ФБУН ЦНИИЭ, Москва), чувствительность которого составляет 100 МЕ/мл.

В дальнейшем использовали разработанную во ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Роспотребнадзора методику на основе ПЦР, позволяющую выявлять низкие концентрации ДНК ВГВ в различном клиническом материале и использовать полученные продукты амплификации для секвенирования, чувствительность составляет 5 МЕ/мл [3]. При этом применялась двухэтапная амплификация, в процессе которой продукт асимметричной ПЦР с протяженными олигонуклеотидными праймерами с первого этапа использовался на втором этапе с внутренними праймерами, некоторые из которых были рекомендованы Таорминским консенсусом по оккультному вирусному гепатиту В [20]. Перекрывающиеся пары праймеров совместно фланкируют фрагмент протяженностью 1475 нуклеотидов (нт), включающий рекомендованный для генотипирования ВГВ регион Pre-S1/Pre-S2/S протяженностью 1169 нт область 2848–3182 ... 1–835 нт, согласно представленному в международной базе данных GenBank изоляту Mart-B47 (HE974377.1) [8].

Продукты амплификации и секвенирующей реакции очищали по методике, рекомендованной для Qiaquick PCR Purification kit (Qiagen, Германия). Очищенный фрагмент использовали для постановки секвенирующих реакций с прямого и обратного праймеров с использованием набора Genome Lab DTCs-Quick Start Kit (Beckman Coulter Inc., США). Для анализа продукта секвенирующей реакции очищенный осадок растворяли в SLS-буфере и загружали в генетический анализатор GenomeLab GeXP (Beckman Coulter Inc., США).

Первичный анализ полученного фрагмента проводили с помощью алгоритма BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>) в сравнении с нуклеотидными последовательностями, представленными в международной базе данных GenBank. Выравнивание полученных последовательностей проводили в программе MEGA, версия 5, используя алгоритм ClustalW [14]. Поскольку у всех выбранных регионов вирусных гепатитов показана высокая скорость эволюции, для построения филогенетических деревьев и последующего филогенетического анализа рассматривали расстояния между последовательностями методом присоединения соседей, позволяющим оптимизацию дерева в соответствии с критерием «сбалансированной минимальной эволюции» (Neighbor-joining), с целью оценки достоверности построенных деревьев проведен бутстреп (bootstrap) анализ для 500 повторов [27]. Для оценки того насколько достоверно топология дерева отображает предпорядоченность исходных объектов берут повторные выборки, для каждой повторности строится дерево и вычисляется частота встречаемости каждого фрагмента в сформированной последовательности. Бутстреп представляет собой метод исследования распределения статистик вероятностных распределений, основанный на многократной генерации выборок методом Монте-Карло, основанным на получении большого числа реализаций стохастического процесса, который формируется таким образом, чтобы его вероятностные характеристики совпадали с аналогичными величинами решаемой задачи, на базе имеющейся выборки. Бутстреп-поддержка (BP) узлов считается достоверной, если с ветвями дендрограммы связывается вероятность, превышающая 70–80%, величина BP является приближенной оценкой вероятности появления узла в дереве [3, 23]. При оценке статистической погрешности использовали «точный» интервал Клоппера–Пирсона. Результаты представлены в виде медианы (Me) с указанием 95% доверительного интервала (ДИ 95%).

■ Результаты и обсуждение

Среди 264 клинических образцов сыворотки крови ДНК ВГВ была выявлена в 39 образцах, что составило 14,7% (ДИ 95%: 10,72–19,64%), окултный ВГВ (ДНК ВГВ+, HBsAg–) был выявлен в 16 образцах (6%; ДИ 95%: 3,21–9,2%). Для всех выявленных образцов была получена нуклеотидная последовательность Pre-S1/Pre-S2/S-региона удовлетворительного качества, пригодная для дальнейшего анализа. Для всех образцов были определены генотип и субтип вируса.

В настоящее время ВГВ подразделяют на десять генотипов и 34 субтипа, отличающихся друг от друга по составу нуклеотидных последовательностей [29]. Определение генотипов и субтипов ВГВ важно для лучшего понимания эпидемиологических и вирусологических особенностей заболевания, характеристики возбудителя, а также предоставляет дополнительную информацию для принятия решения о выборе тактики противовирусной терапии.

На основании филогенетического анализа 39 изолятов показано, что частота встречаемости в группе ВГВ генотипа D составила 46,15% ($x = 18$, ДИ 95%: 30,09–62,82%), генотипа E — 43,6% ($x = 17$, ДИ 95%: 27,81–60,38%), генотипа A — 10,25% ($x = 4$, ДИ 95%: 2,87–24,22%). С учетом результатов глубокого типирования частота встречаемости генотипа E — 43,6%, генотипа A субтипа A2 — 10,25%, генотипа D субтипа D1 — 17,95%, субтипа D2 — 12,8%, субтипа D3 — 15,4%. Филогенетические отношения между исследованными изолятами

ВГВ, полученными от пациентов Российско-Гвинейского госпиталя г. Киндия Гвинейской Республики, и референсными последовательностями из международной базы данных GenBank представлены на рисунке.

Выявленные нами генотипы и субтипы ВГВ в целом характерны для Западной Африки, однако показанное соотношение существенно отличается от более ранних сведений, согласно которым частота распространенности ВГВ генотипа Е в данном регионе доходит до 95,1% [11]. В то время как в нашем исследовании частота встречаемости генотипа Е была

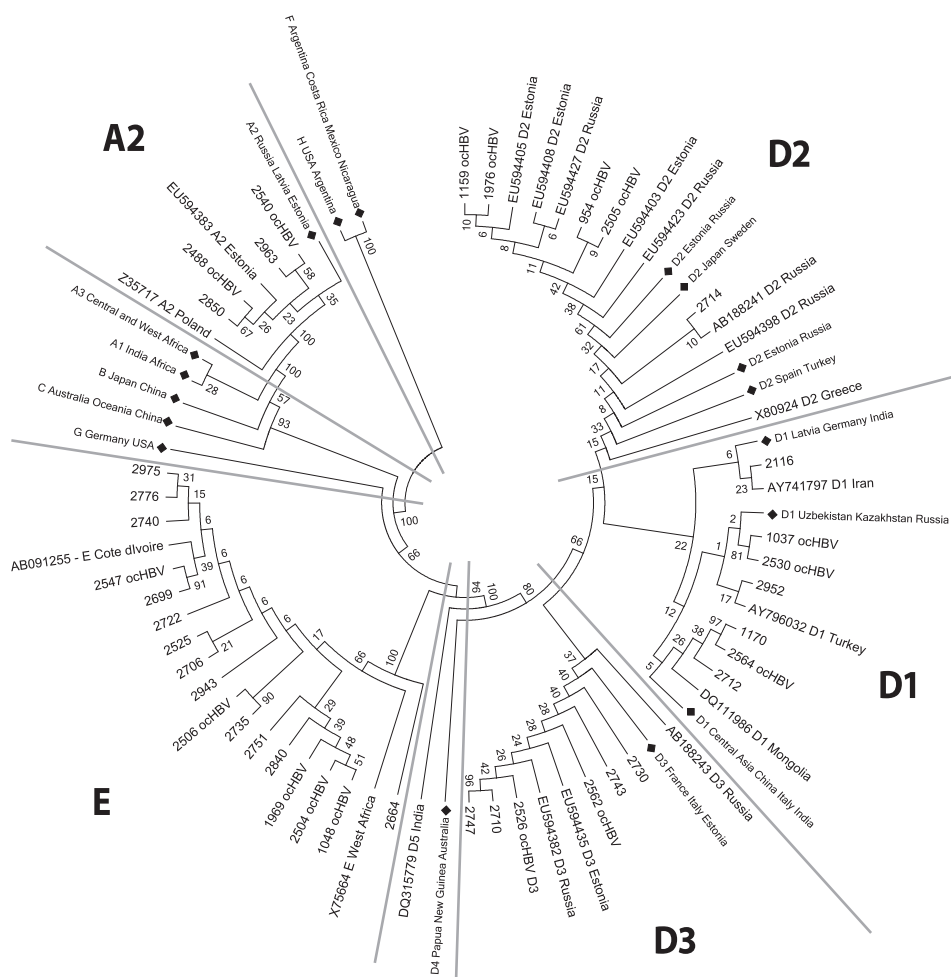


Рисунок. Дендрограмма, характеризующая филогенетические отношения изолятов ВГВ, полученных от пациентов Российско-Гвинейского госпиталя г. Киндия Гвинейской Республики, в сравнении с представленными в международной базе данных GenBank референсными последовательностями

Референсные последовательности обозначены согласно их идентификационным кодам в международной базе данных, а также добавлены субгенотипы ВГВ каждой последовательности и страны их происхождения; полученные нами последовательности обозначены номерами, соответствующими сквозной нумерации клинических образцов при отборе в Гвинейской Республике, для HBsAg-негативных образцов добавлен идентификатор ocHBV. Статистическая достоверность топологии дендрограммы оценивалась с использованием бутстреп-анализа, в узлах указан индекс поддержки бутстреп, демонстрирующий уровень надежности ветвления в значении процента числа псевдореплик из 500 повторов. Для упрощения восприятия дендрограммы ветви референсных последовательностей, не имеющих высокого индекса поддержки узлов, а также не имеющие сходства с анализируемыми последовательностями, объединяли, обозначая общий субгенотип и страны, в которых выявлены данные изоляты.

значительно меньше (43,6%), а генотипов А (10,25%) и D (46,15%) больше ранее описанной в литературе для данного региона распространенности [24]. Известно, что генотипы D и А являются преобладающими генотипами ВГВ, выявленными на территории Российской Федерации и бывшего СССР [1, 26]. Примечательно, что среди ВГВ генотипа А у гвинейских пациентов не было выявлено ни одного варианта вируса субтипа А1, преобладающего во многих странах Африканского континента, а выявлен субтип А2, как и на территории России. При анализе распределения субтипов генотипа D можно отметить одинаковую представленность субтипов D1, D2 и D3 среди пациентов российско-гвинейского госпиталя в г. Киндия, в то время как среди Россиян, инфицированных ВГВ генотипа D, преобладает субтип D2 [1, 26]. Мы сочли необходимым провести сравнительный анализ региона Pre-S1/Pre-S2/S ВГВ генотипа D субтипов D1 и D2, полученных в Гвинейской Республике и на территориях РФ и стран Средней Азии, где данные субтипы широко распространены. Нуклеотидные последовательности изолятов из Гвинейской Республики незначительно отличались от описанных нами ранее изолятов ВГВ генотипа D из Российской Федерации и Республики Казахстан [2, 5], равно как и с представленными в международной базе данных GenBank последовательностями ВГВ субтипов D1 и D2 из других стран мира. Однако отметим, что изолят 2116 субтипа D1 практически идентичен описанному изоляту ВГВ из Казахстана. Ранее была показана возможность подобного сходства и даже идентичности нуклеотидных последовательностей для фрагмента Pre-S1/Pre-S2/S между изолятами, выделенными в разные годы в географически отдаленных регионах [21]. Секвенирование полного генома таких изолятов вируса, в большинстве случаев, позволяло разделить их друг от друга. Тем не менее, выявление почти идентичных изолятов в пределах субтипа у больных из разных географических регионов может свидетельствовать о поздних эпидемиологических связях [25]. С другой стороны, показанное нами распределение субтипов ВГВ и сходство некоторых из них с изолятами из РФ, стран Европы и Азии свидетельствует о высокой неоднородности их распространенности в странах Западной Африки и пангеографичности распределения этих субтипов в мире. Уточнение частоты встречаемости генотипов/субтипов в зависимости от географического региона имеет важное значение.

В связи с вышесказанным, а также для анализа годичной изменчивости, мы сочли необходимым проанализировать распределение генотипов ВГВ внутри полученной выборки в двух группах — материал 2015 г. (n = 130) и материал 2016 г. (n = 134).

Среди 130 образцов, полученных из сыворотки крови первой группы, при использовании предложенного нами метода выявления ДНК ВГВ при низкой вирусной нагрузке ВГВ был обнаружен в 19 образцах, что составило 14,6% (ДИ 95%: 9,03–21,88%) (см. табл.). Отметим, что при использовании коммерческого набора «АмплиСенс® HBV-FL» не удалось обнаружить ВГВ ни в одном из 16 ДНК ВГВ+ HBsAg(–) образцов.

Перекрытие доверительных интервалов при выявлении ДНК ВГВ у HBsAg-позитивных пациентов отражает наличие двух независимых стадий естественного течения хронического вирусного гепатита В, сопровождающейся и не сопровождающейся репликацией вируса при активной трансляции субгеномных РНК с персистенцией в ядрах гепатоцитов

Таблица. Результаты определения ДНК ВГВ методом выявления низких концентраций в образцах сыворотки крови, негативных по данным стандартного анализа

Наличие ДНК ВГВ методом выявления низких концентраций	Общее число образцов n = 130 (100%)	HBsAg в сыворотке крови	
		HBsAg (+) n = 9 6,9% от n = 130 (ДИ 95%: 3,21–12,74%)	HBsAg (–) n = 121 93,1% от n = 130 (ДИ 95%: 87,26–96,79%)
ДНК ВГВ+	19 (14,6%) (ДИ 95%: 9,03–21,88%)	3 (33%) (ДИ 95%: 7,49–70,07%)	16 (13,22%) (ДИ 95%: 7,75–20,58%)
ДНК ВГВ–	111 (85,4%) (ДИ 95%: 78,12–90,97%)	6 (67%) (ДИ 95%: 29,93–92,51%)	105 (86,78%) (ДИ 95%: 79,42–92,25%)

ккзДНК ВГВ, но при подавлении транскрипции полногеномной РНК, что не свидетельствует, тем не менее, об элиминации вируса. На основании филогенетического анализа 19 изолятов показано, что частота встречаемости в группе генотипа D (57,9%, $n = 11$, ДИ 95%: 33,5–79,75%) преобладает по сравнению с генотипом E (31,6%, $n = 6$, ДИ 95%: 12,58–56,55%) и генотипом A (10,5%, $n = 2$, ДИ 95%: 1,3–33,14%). При этом среди образцов генотипа A обнаружен только субтип A2, а генотип D подразделяется на субтипы D1, D2 и D3.

Среди 134 образцов, полученных из сыворотки крови второй группы, при использовании предложенного нами метода выявления ДНК ВГВ при низкой вирусной нагрузке ВГВ был обнаружен в 20 образцах, что составило 14,9% (ДИ 95%: 9,36–22,11%), HBsAg-негативных среди них не было.

На основании филогенетического анализа 20 изолятов показано, что частота встречаемости в группе генотипа E (55%, $x = 11$, ДИ 95%: 31,53–76,94%) достоверно выше, чем генотипа A (10%, $x = 2$, ДИ 95%: 1,23–31,32%), выявлена тенденция к преобладанию генотипа D (35%, $x = 7$, ДИ 95%: 15,39–59,22%). При этом, как и в первой группе, среди образцов генотипа A обнаружен только субтип A2, а генотип D подразделяется на субтипы D1, D2 и D3.

Таким образом, распределение генотипов год от года варьирует, но в целом ВГВ генотипа A меньше всего, а отличия между ВГВ генотипов D и E недостоверны. При сравнительном анализе частоты встречаемости ВГВ и распределения генотипов ВГВ в группах достоверных отличий выявлено не было ($p = 0,3111$), но можно отметить тенденцию к большей распространенности ВГВ генотипа D в 2015 г. по сравнению с 2016 г.

Распространенность ВГВ среди HBsAg-негативных пациентов может быть связана с ранее выявленным в г. Конакри, находящимся в 130 км от г. Киндия, высоким (1/121) риском инфицирования при переливании крови [17]. Возможно, что этот же фактор может являться одной из причин отличного от ранее показанного распределения субтипов ВГВ. Так, например, высокая распространенность ВГВ генотипа D показана для стран Северной Африки [16]. Необходимо подчеркнуть высокий процент встречаемости оккультной формы ХВГВ, что является характерным для регионов, где вирус гепатита В широко распространен. При оценке картины разнообразия ВГВ на материале всей обследованной группы становится очевидным близкое генетическое родство изолятов манифестного ХВГВ и оКГВ, что также свидетельствует о распространенности оКГВ в регионе.

■ Заключение

ДНК ВГВ выявлена в 14,7% ($x = 39$, ДИ 95%: 10,72–19,64%) клинических образцов, полученных из Гвинейской Республики. Распространенность молекулярно-генетических маркеров оккультного ХВГВ в сыворотках крови составила 6% ($x = 16$, ДИ 95%: 3,21–9,2%). В сыворотке крови преобладал ВГВ генотипа E (43,6%) по сравнению с ВГВ генотипа A субтипа A2 — 10,25%, генотипа D субтипа D1 — 17,95%, субтипа D2 — 12,8%, субтипа D3 — 15,4%, что отличается от литературных данных и может свидетельствовать о неоднородности распространенности генотипов ВГВ в различных странах Западной Африки. Косвенным подтверждением этой неоднородности может служить некоторое преобладание ВГВ генотипа D в биологическом материале 2015 г. по сравнению с материалом 2016 г. в обследованной группе.

Высокий процент встречаемости и генотипическое разнообразие оккультного ХВГВ свидетельствует о недостаточности общепринятых алгоритмов лабораторного обследования для выявления всех форм ХВГВ. В связи с этим, а также в связи с высокой распространенностью оккультного ХВГВ в регионах, с которыми имеются тесные экономические, культурные и иные связи у граждан РФ, необходимо совершенствование методов обнаружения вируса. Понимание молекулярной эпидемиологии инфекционного процесса значимо для разработки программ по профилактике и лечению инфекции. Систематическое применение современных методов молекулярной биологии может быть использовано для повышения качества традиционных методов эпидемиологического надзора.

Список литературы

1. Вирусные гепатиты в Российской Федерации. Аналитический обзор. 9 выпуск. Под ред. Покровского В.И., Жебруна А.Б. СПб.: ФБУН НИИЭМ им. Пастера, 2013: 168.
2. Останкова Ю.В., Семенов А.В., Буркитбаев Ж.К., Савчук Т.Н., Тотолян Арег А. Генетические варианты вируса гепатита В у первичных доноров в г. Астана, Казахстан. *Инфекция и иммунитет*. 2016; 6 (4): 359–365.
3. Останкова Ю.В., Семенов А.В., Тотолян Арег А. Способ выявления в биологическом материале ДНК вируса гепатита В при низкой вирусной нагрузке на основе двухэтапной ПЦР. Пат. 2633755 РФ. Патентообладатель ФБУН «Санкт-Петербургский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера». № 2016144898; заявл. 15.11.2016; опубл. 17.10.2017, Бюл. изобр. № 29: 11.
4. Семенов А.В., Власова И.А., Останкова Ю.В., Тотолян Арег А. Количественное определение HBsAg в сыворотке крови и кольцевой ковалентно замкнутой ДНК вируса гепатита В в ткани печени как маркеры активности хронического вирусного гепатита В. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2014; 1: 55–61.
5. Семенов А.В., Останкова Ю.В., Герасимова В.В., Бичурина М.А., Мукомолов С.Л., Козлов А.В., Тотолян А.А. К вопросу о молекулярной эпидемиологии гепатита В в Республике Саха (Якутия). *Журнал инфектологии*. 2016; 8 (1): 57–65.
6. Семенов А.В., Останкова Ю.В., Ногойбаева К.А., Касымбекова К.Т., Лаврентьева И.Н., Тобокалова С.Т., Тотолян Арег А. Особенности молекулярной эпидемиологии сочетанной инфекции ВГВ/ВГД в Кыргызстане. *Инфекция и иммунитет*. 2016; 6 (2): 141–150.
7. Allain J. P., Candotti D., Soldan K., Sarkodie F., Phelps B., Giachetti C., Shyamala V., Yeboah F., Anokwa M. The risk of hepatitis B virus infection by transfusion in Kumasi, Ghana. *Blood*. 2003; 101: 2419–2425.
8. Brichler S., Lagathu G., Chekaraou M. A., Le Gal F., Edouard A., Dény P., Césaire R., Gordien E. African, Amerindian and European hepatitis B virus strains circulate on the Caribbean Island of Martinique. *J. Gen. Virol.* 2013; 94 (10): 2318–2329.
9. Feeney S.A., McCaughey C., Watt A.P., Agnaf M.R., McDougall N., Wend U.C., Gerlich W.H., Coyle P.V. Reactivation of occult hepatitis B virus infection following cytotoxic lymphoma therapy in an anti-HBc negative patient. *J. Med. Virol.* 2013; 85 (4): 597–601. doi: 10.1002/jmv.23513
10. Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*. 1985; 39: 783–791.
11. Garmiri P., Loua A., Haba N., Candotti D., Allain J.P. Deletions and recombinations in the core region of hepatitis B virus genotype E strains from asymptomatic blood donors in Guinea, west Africa. *J. Gen. Virol.* 2009; 90 (10): 2442–2451. doi: 10.1099/vir.0.012013-0
12. Georgiadou S.P., Zachou K., Rigopoulou E., Liaskos C., Mina P., Gerovasilis F., Makri E., Dalekos G.N. Occult hepatitis B virus infection in Greek patients with chronic hepatitis C and in patients with diverse nonviral hepatic diseases. *J. Viral. Hepat.* 2004; 11 (4): 358–365.
13. Guo J.T., Guo H. Metabolism and function of hepatitis B virus cccDNA: Implications for the development of cccDNA-targeting antiviral therapeutics. *Antivir. Res.* 2015; 122: 91–100.
14. Higgins D.G., Bleasby A.J., Fuchs R. CLUSTAL V: improved software for multiple sequence alignment. *Comput. Appl. Biosci.* 1992; 8: 189–191.
15. Kishk R., Atta H.A., Ragheb M., Kamel M., Metwally L., Nemr N. Genotype characterization of occult hepatitis B virus strains among Egyptian chronic hepatitis C patients. *East. Mediterr. Health. J.* 2014; 20 (2): 130–138.
16. Kramvis A., Kew M.C. Epidemiology of hepatitis B virus in Africa, its genotypes and clinical associations of genotypes. *Hepatol. Res.* 2007; 37 (1): S9–S19.
17. Loua A., Sow E.M., Magassouba F.B., Camara M., Baldé M.A. Evaluation of residual infectious risk among blood donors in National Center of Blood Transfusion in Conakry. *Transfus. Clin. Biol.* 2004; 11 (2): 98–100.
18. Nkrumah B., Owusu M., Frempong H.O., Averi P. Hepatitis B and C viral infections among blood donors. A retrospective study from a rural community of Ghana. *BMC Res. Notes*. 2011; 4: 529–532.
19. Pollicino T., Saitta C. Occult hepatitis B virus and hepatocellular carcinoma. *World J. Gastroenterol.* 2014; 20: 5951–5961.
20. Raimondo G., Allain J.P., Brunetto M.R., Buendia M.A., Chen D.S., Colombo M., Craxi A., Donato F., Ferrari C., Gaeta G.B., Gerlich W.H., Levrero M., Locarnini S., Michalak T., Mondelli M.U., Pawlotsky J.M., Pollicino T., Prati D., Puoti M., Samuel D., Shouval D., Smedile A., Squadrito G., Trépo C., Villa E., Will H., Zanetti A.R., Zoulim F. Statements from the Taormina expert meeting on occult hepatitis B virus infection. *J. Hepatol.* 2008; 49 (4): 652–657.
21. Ramachandran S., Purdy M.A., Xia G., Campo D.S., Dimitrova Z.E., Teshale E.H., Ch.Teo G., Khudyakov Y.E. Recent Population Expansions of Hepatitis B Virus in the United States. *Virology*. 2014; 88 (24): 13971–13980.
22. Rizvi M., Azam M., Sultan A., Shukla I., Malik A., Ajmal M.R., Khan F., Sami H. Prevalence of genotype D in chronic liver disease patients with occult HBV infection in northern region of India. *Indian J. Pathol. Microbiol.* 2014; 57 (4): 537–541.
23. Shimodaira H. An approximately unbiased test of phylogenetic tree selection. *Syst. Biol.* 2002; 51: 492–508.

24. Suzuki S., Sugauchi F., Orito E., Kato H., Usuda S., Siransy L., Arita I., Sakamoto Y., Yoshihara N. Distribution of hepatitis B virus (HBV) genotypes among HBV carriers in the Cote d'Ivoire: complete genome sequence and phylogenetic relatedness of HBV genotype E. *J. Med. Virol.* 2003; 69: 459–465.
25. Tallo T., Norder H., Tefanova V., Krispin T., Priimagi L., Mukomolov S., Mikhailov M., Magnius L.O. Hepatitis B virus genotype D strains from Estonia share sequence similarity with strains from Siberia and may specify ayw4. *J. Med. Virol.* 2004; 74: 221–227.
26. Tallo T., Tefanova V., Priimagi L., Schmidt J., Katargina O., Michailov M., Mukomolov S., Magnius L., Norder H. D2: major subgenotype of hepatitis B virus in Russia and the Baltic region. *J. Gen. Virol.* 2008; 89: 1829–1839.
27. Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol.* 2011; 28: 2731–2739.
28. Torbenson M., Thomas D.L. Occult hepatitis B. *Lancet Infect. Dis.* 2002; 2: 479–486.
29. Yuen M.F., Lai C.L. Hepatitis B virus genotypes: natural history and implications for treatment. *Expert. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2007; 1: 321–328.

Встречаемость маркеров вируса гепатита С у практически здоровых жителей Гвинейской Республики: пилотное исследование

О.В. Калинина, Е.В. Личная, М.И. Буаро, Арег А. Тотолян

■ Введение

По оценкам Всемирной организации здравоохранения, в мире более 150 млн человек, инфицировано вирусом гепатита С (ВГС), ежегодно около 700 тыс. человек умирает от болезней печени, ассоциированных с гепатитом С (ГС) [17]. Вирус гепатита С является одним из наиболее динамично эволюционирующих патогенов, что затрудняет разработку эффективных профилактических вакцин и позволяет вирусу успешно адаптироваться к действию факторов иммунной защиты организма человека, способствуя значительной частоте хронизации заболевания.

Несмотря на значительную генетическую вариабельность ВГС, эпидемическими вариантами признаны только 6 субтипов (1a, 1b, 2a, 2b, 2c, 3a), которые и обеспечили на протяжении XX в. убиквитарное распространение возбудителя [1]. Остальные субтипы ВГС характеризуются локальными географическими ареалами, в основном на территории Африки и Юго-Восточной Азии, где, как правило, не наблюдается доминирования ни одного из шести эпидемических вариантов вируса.

На Африканском континенте общая инфицированность населения ВГС является одной из наиболее высоких в мире [17]. Кроме того, в Африке обнаружено огромное разнообразие вариантов ВГС: в странах Центральной Африки — генотипов 1 и 4, в Северной Африке — генотипов 2 и 4, в странах Западной Африки и Камеруне — генотипа 2 [1, 2, 8, 9, 12, 14]. Изучение эволюции вируса ГС указывает на то, что большинство его субтипов произошло более 300 лет назад именно на Африканском континенте, который рассматривают сейчас как потенциальный пул «будущих» эпидемических вариантов ВГС. При этом до сих пор в силу экономических и социальных причин распространенность и генетическое разнообразие ВГС, пути передачи возбудителя, клиническое течение инфекции во многих странах Африки южнее Сахары, в том числе в Гвинейской Республике, остаются малоизученными.

Цель исследования — оценить встречаемость серологических и молекулярных маркеров гепатита С на случайной малой выборке образцов крови, полученных от практически здоровых жителей Гвинейской Республики.

■ Материалы и методы

В работе изучены образцы сыворотки и плазмы крови, полученные в 2015–2016 гг. от 31 практически здоровых жителей Гвинейской Республики в возрасте от 24 до 71 года. Все образцы сыворотки и плазмы крови были получены для научного исследования под кодовыми наименованиями согласно Хельсинской декларации на основании протокола Этического комитета ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера. После взятия биоматериала все образцы аликвотировались и хранились при температуре -70°C до проведения исследования.

Наличие суммарных антител к вирусу гепатита С (анти-НСV IgG+IgM) определяли с использованием тест-систем «ДС-ИФА-АНТИ-НСV» российского производства ООО «Диагностические системы», имеющей международные сертификаты продукции CE. Образцы, показавшие реактивность на наличие суммарных анти-НСV, были тестированы повтор-

но в дублях тем же методом. Наличие специфических антител (IgG+IgM) к структурному (core) и неструктурным (NS3, NS4, NS5) белкам вируса гепатита С (ВГС) подтверждали с использованием тест-системы «ДС-ИФА-АНТИ-НСV-СПЕКТР-GM» (ООО «Диагностические системы», Россия). Наличие свободного core-антигена (Ag core) ВГС оценивали методом ИФА с использованием тест-системы «ДС-ИФА-НСV-АГ» (ООО «Диагностические системы», Россия), которая предназначена для выявления core антигена ВГС при отсутствии анти-НСV в образцах плазмы и сыворотки крови.

Тотальную РНК выделяли из 100 мкл образца плазмы/сыворотки крови с использованием коммерческого набора «АмплиПрайм РИБО-сорб» и «АмплиПрайм РИБО-преп» (ФБУН ЦНИИЭ, Россия) согласно инструкции производителя. Тотальную РНК хранили при -70°C . Реакцию обратной транскрипции проводили с использованием коммерческого набора «Реверта L» (ФБУН ЦНИИЭ, Россия) согласно инструкции производителя, а также с использованием 100 ед. фермента обратной транскриптазы MMLV (Евроген, Россия) и 20 мкМ случайных праймеров в 20 мкл реакционной смеси, содержащей 10 мМ каждого из нуклеотидтрифосфатов (dNTP), 10 мМ DTT, 10 ед. Rnazin. Реакцию обратной транскрипции проводили в течение 1 ч при 42°C .

Исследование биологического материала на наличие РНК ВГС проводили двумя методами: методом ПЦР в режиме реального времени с использованием коммерческой тест-системы «АмплиСенс НCV-FL» (ФБУН ЦНИИЭ, Москва) согласно инструкции, в амплификаторе Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия), и методом гнездной ПЦР с типоспецифическими праймерами из наиболее консервативной области генома 5'-UTR как описано ранее [7]. Продукты гнездной ПЦР визуализировали в 2% агарозном геле с добавлением бромистого этидия в ультрафиолетовом свете. Размер фрагмента после второго этапа ПЦР со внутренними праймерами из 5'-UTR области составлял 235 пар оснований (п.о.).

Генотипы изолятов ВГС определяли методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени с использованием коммерческой тест-системы «АмплиСенс НCV-генотип-FL» вариант 1–6, определяющей генотипы 1a, 1b, 2, 3a, 4, 5a, 6 (ФБУН ЦНИИЭ, Россия), а также с использованием филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей из 5'-UTR области генома. В последнем случае полученные в результате гнездной ПЦР продукты очищали с использованием коммерческого набора реагентов AxyPrep PCR Clean-up Kit (Axygen Biosciences). Реакцию лимитированного секвенирования проводили с использованием BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Kits (PE Biosystems, version 3.1) и 4 пмоль соответствующего праймера. Капиллярный электрофорез выполняли на автоматическом секвенаторе ABI PRISM 3500 (Applied Biosystems, США). Анализ нуклеотидных последовательностей осуществляли с помощью программы Mega, версия 6.0. Филогенетический анализ выполняли методом Maximum-Likelihood в программе Mega, версия 6.0. Для генотипирования изолятов, полученных от жителей Гвинейской Республики, с помощью on-line программы BLAST была сформирована выборка референсных нуклеотидных последовательностей изолятов ВГС, включавшая, в том числе, все опубликованные в GenBank сиквенсы из 5'-UTR области генома изолятов, полученных от жителей Гвинейской Республики.

Полученные данные обрабатывали стандартными методами статистической обработки цифрового материала: границы доверительного интервала (95% CI) рассчитывали по методу Уилсона (Wilson).

■ Результаты и обсуждение

Из 31 обследованных у 6 в образцах сыворотки крови были получены положительные результаты на наличие анти-НСV с использованием тест-системы «ДС-ИФА-АНТИ-НСV», остальные 25 обследованных были анти-НСV-отрицательными. Ни в одном образце сыворотки крови не был выявлен свободный core-антиген при использовании тест-системы «ДС-ИФА-НСV-АГ».

В подтверждающем тесте «ДС-ИФА-АНТИ-HCV-СПЕКТР-GM» в 5 анти-HCV-положительных образцах из 6 было обнаружено наличие специфических антител к нескольким белкам ВГС (табл.). При этом только в двух образцах (№ 5 и 6) определялись антитела к core-белку с высоким коэффициентом позитивности (КП) — более 8; а в одном образце (№ 4) выявлялись антитела одновременно к четырем белкам ВГС: core, NS3, NS4 и NS5, однако антитела к core-белку в этом образце были с КП менее 2,0. В то же время, в образце № 3 детектировались антитела к белку NS3 с КП более 10, а к белку NS4 уже менее 2,0; в образце № 1 определялись антитела к белкам NS3 и NS5 с невысокими КП. В образце № 2 детектировались антитела только к NS3-белку. На наш взгляд, присутствие в образцах № 1, 2 и 3 в основном антител к NS3-белку и отсутствие антител к core-белку может указывать на наличие ложноположительных результатов серодиагностики.

Наличие большого количества ложноположительных результатов серодиагностики ВГС является актуальной проблемой на Африканском континенте, что отмечено в ряде исследований [11, 16]. Например, при изучении 1000 образцов сыворотки крови, полученных от жителей г. Ракайя (Уганда), наличие анти-HCV было выявлено у 7,6% с использованием коммерческой тест-системы Ortho version 3.0 (Ortho Clinical Diagnostics, Дания). В то же время ни в одном из анти-HCV положительных образцов РНК ВГС не была обнаружена с использованием коммерческой тест-системы Abbott RealTime HCV Assay (Abbott Molecular Inc.) [11]. В работе сделано предположение о вероятности ложноположительных результатов, обусловленных возможной кросс-реакцией, ассоциированной с инфекцией *Schistosoma mansoni*, которая широко распространена на Африканском континенте. В пользу большого количества ложноположительных результатов в этом исследовании также говорило отсутствие признаков фиброза печени у всех анти-HCV-положительных пациентов [11]. В исследовании Tagny et al. (2014) среди 1998 образцов крови, полученных от доноров крови в Камеруне, 86 (4,3%) было анти-HCV положительными при использовании HCV rapid test (Human Diagnostics, Германия) и/или Monolisa HCV Ag/Ab Ultra (Bio-Rad, Франция). Из 86 анти-HCV положительных образцов в подтверждающих тестах HCV immunoblot RIBA3 (Ortho Clinical Diagnostics, Франция) и/или TaqMan HCV (Roche Molecular Diagnostics, Франция, limit 25 copies/ml) только 37 были подтверждены как положительные, 29 — как отрицательные и 20 образцов остались сомнительными [16].

В нашем исследовании методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени с использованием коммерческой тест-системы «АплиСенс HCV-FL» из 31 обследованного у одного была выявлена РНК ВГС, но на основе использования тест-системы «АмплиСенс HCV-генотип-FL» генотип установить не удалось. В то же время из 31 обследованного методом гнездной ПЦР с типоспецифическими праймерами из 5'UTR области РНК ВГС была детектирована у двух (№ 5 и 6). Для обоих изолятов ВГС была определена нуклеотидная последовательность. На основе филогенетического анализа 5'UTR области генома изолят, полученный от пациента № 5, принадлежал к генотипу 1, а изолят, полученный от пациента № 6, — к генотипу 2 (рис.).

Таблица. Результаты обнаружения маркеров ВГС в образцах сыворотки/плазмы крови, полученных от практически здоровых жителей Гвинейской Республики

№ пациента	anti-HCV (КП*)	anti-core (КП)	anti-NS3 (КП)	anti-NS4 (КП)	anti-NS5 (КП)	РНК ВГС
1	+ (5,0)	—	+ (5,69)	—	+ (2,94)	—
2	+ (4,03)	—	+ (6,33)	—	—	—
3	+ (12,68)	—	+ (10,73)	± (1,46)	—	—
4	+ (5,42)	± (1,21)	+ (5,27)	+ (4,83)	+ (2,53)	—
5	+ (9,87)	+ (8,0)	± (1,13)	—	—	+
6	+ (16,4)	+ (8,83)	± (1,18)	+ (3,06)	—	+

* КП (коэффициент позитивности) = ОП пробы/ОП крит.; «±» — результат сомнительный, «+» — результат положительный, «—» — результат отрицательный.

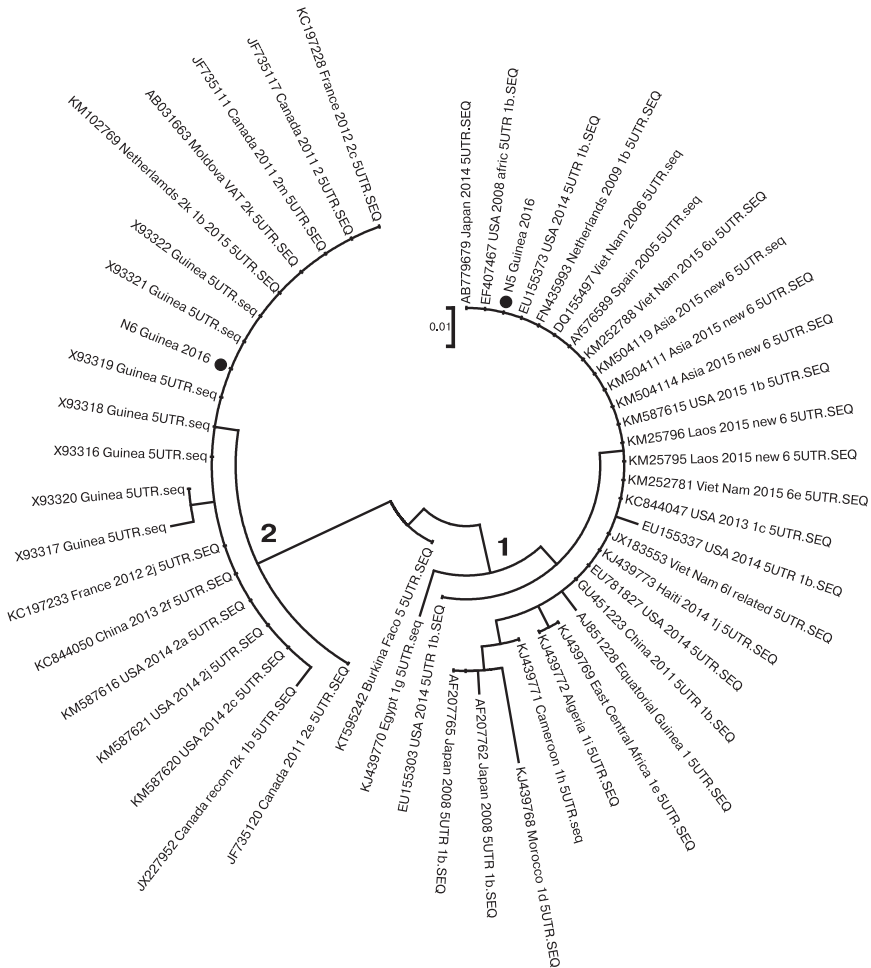


Рисунок. Филогенетическое дерево, построенное на основе 165 н.о. из 5'UTR области генома ВГС с использованием метода maximum-likelihood в программе Mega 6.0

Гвинейские изоляты 2016 г. обозначены черным кружком. Цифрами указаны ветви, сформированные изолятами ВГС 1 и 2 генотипов.

Таким образом, по совокупности данных в нашем исследовании наличие маркеров ВГС подтверждено у 3 (9,68%, 95% CI 3,35–24,90) из 31 обследованного; у трех получены результаты, требующие дальнейшего наблюдения и уточнения.

Согласно ранее выполненным исследованиям, серопревалирование ВГС в Гвинейской Республике колеблется от 2,6% у беременных женщин до 15% среди лиц из группы риска — пациентов с хроническими заболеваниями почек. Так, при обследовании в 1996 г. 1421 пациента в возрасте от 16 до 45 лет (доноры крови, беременные женщины, пациенты поликлиник и клиник) г. Конакри наличие анти-HCV было выявлено у 6,7% [15]. Среди пациентов поликлиник и клиник г. Конакри, инфицированность достигала 8,6%, среди доноров крови — 4,4%, наименьший показатель наблюдался среди беременных женщин — 2,6% [15]. Среди 579 пациентов с хроническими заболеваниями почек, находившихся под наблюдением в период 2009–2013 гг. в единственном нефрологическом центре Гвинейской Республики, у 15% были выявлены анти-HCV [3].

Имеющиеся данные о серопревалировании ВГС в странах Африки указывают на достаточно выраженные территориальные различия интенсивности эпидемического процесса в разных регионах как всего африканского континента, так и внутри отдельных стран, связанных, в том числе, с национальными традициями, характерными для определенных этнических групп. Например, частота превалирования маркеров ВГС-инфекции в разных регионах Нигерии варьирует от 1,9% среди беременных в г. Бенин до 15% в изолированных сельских коммунах [5, 13]. Согласно результатам метаанализа, выполненного Gower et al. (2014), серопревалирование ВГС в странах Западной Африки в среднем составляет 5,3% (95% CI 2,9–9,1), в Центральной Африке — 4,2% (95% CI 2,4 — 9,2), в странах Восточной Африки — 1,0% (95% CI 0,6–3,1), в Южной Африке — 1,3% (95% CI 0,8–2,5) [2]. В исследовании Mora et al. (2016), основанного на анализе опубликованных данных за 2000–2013 гг, серопревалирование ВГС в странах Западной Африки в среднем составляет 4,14% (95% CI 3,25–5,20), в странах Центральной Африки — 7,82% (95% CI 5,29–11,43); в странах Восточной Африки — 3% (95% CI 2,23–4,02), в странах Южной Африки — 0,72% (95% CI 0,33–1,54) [16]. В целом, в развивающихся странах в отсутствие массового скрининга и регистрации случаев вирусного гепатита С судить о динамике развития эпидемического процесса затруднительно, и фактического распространение ВГС в странах Африки южнее Сахары в современных условиях активной миграции населения может быть выше среднего расчетного. В пользу этого говорят цифры, полученные при обследовании 14 205 африканских иммигрантов в возрасте от 15 до 58 лет, находившихся в официальных национальных лагерях в период 2013–2015 гг., организованных на территории Ливии [4]. Серопревалирование ВГС среди 4993 иммигрантов из Западной Африки составило 8,1%, среди 2557 из Центральной Африки — 5,7%, среди 3524 из Восточной Африки — 8,4%, среди 3131 из Северной Африки — 10% [4].

■ Заключение

Несмотря на малую выборку, полученные результаты в совокупности с проанализированными литературными данными свидетельствуют о существенном бремени гепатита С в Гвинейской Республике, а также указывают на необходимость разработки как алгоритма диагностических критериев, так и совершенствования диагностических тест-систем для проведения массового скрининга африканского населения с целью установления доли вовлеченных лиц в эпидемический процесс. Безусловно, оценить фактическую распространенность ВГС среди различных групп населения Гвинейской Республики позволит широкомасштабное комплексное скрининговое исследование.

■ Список литературы

1. Жебрун А.Б., Калинина О.В. Вирусный гепатит С: эволюция эпидемического процесса, эволюция вируса. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2016; 1: 102–112.
2. Калинина О.В. Вирус гепатита С: механизмы изменчивости, классификация, эволюция. *Вопросы вирусологии*. 2015; 60 (5): 5–10.
3. Bah A.O., Lamine C., Balde M.C., Bah M.L., Rostaing L. Epidemiology of chronic kidney diseases in the Republic of Guinea; future dialysis needs. *J. Nephrothol*. 2015; 4 (4): 127–133. doi: 10.12860/jnp.2015.24
4. Daw M.A., El-Bouzedi A., Ahmed M.O., Dau A.A., Agnan M.M. In association with the Libyan Study Group of Hepatitis & HIV. Epidemiology of hepatitis C virus and genotype distribution in immigrants crossing to Europe from North and sub-Saharan Africa. *Travel Med. Infect. Dis.* 2016; 14 (5): 517–526. doi: 10.1016/j.tmaid.2016.05.020
5. Forbi J.C., Purdy M.A., Campo D.S., Vaughan G., Dimitrova Z.E., Ganova-Raeva L.M., Xia G.L., Khudyakov Y.E. Epidemic history of hepatitis C virus infection in two remote communities in Nigeria, West Africa. *J. Gen. Virol.* 2012; 93 (7): 1410–1421. doi: 10.1099/vir.0.042184-0
6. Gower E., Estes C., Blach S., Razavi-Shearer K., Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J. Hepatol*. 2014; 1 (suppl. 1): S45–S57. doi: 10.1016/j.jhep.2014.07.027
7. Kalinina O., Norder H., Vetrov T., Zhdanov K., Barzunova M., Plotnikova V., Mukomolov S., Magnus L. Shift in predominating subtype of HCV from 1b to 3a in St. Petersburg mediated by increase in injecting drug use. *J. Med. Virol.* 2001; 65: 517–524. doi: 10.1002/jmv.2066
8. Markov P.V., Pepin J., Frost E., Deslandes S., Labbe A.-C., Pybus O.G. Phylogeography and molecular epidemiology of hepatitis C virus genotype 2 in Africa. *J. Gen. Virol.* 2009; 90 (9): 2086–2096. doi: 10.1099/vir.0.011569-0

9. Messina J.P., Humphreys I., Flaxman A., Brown A., Cooke G.S., Pybus O.G., Barnes E. Global distribution and prevalence of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology*. 2015; 61 (1): 77–87. doi: 10.1002/hep.27259
10. Mora N., Adams W.H., Kliethermes S., Dugas L., Balasubramanian N., Sandhu J., Nde H., Small C., Jose J., Scaglione S., Layden J.E. A Synthesis of Hepatitis C prevalence estimates in Sub-Saharan Africa: 2000–2013. *BMC Infect. Dis.*, 2016, vol. 16, pp. 283. doi: 10.1186/s12879-016-1584-1
11. Mullis C.E., Laeyendecker O., Reynolds S.J., Ocamo P., Quinn J., Boaz I., Gray R.H., Kirk G.D., Thomas D.L., Quinn T.C., Stabinski L. High frequency of false-positive hepatitis C virus enzyme-linked immunosorbent assay in Rakai, Uganda. *Clin. Infect. Dis.* 2013; 57 (12): 1747–1750. doi: 10.1093/cid/cit602
12. Njouom R., Frost E., Deslandes S., Mamadou-Yaya F., Labbé A.C., Pouillot R., Mbélesso P., Mbadingai S., Rousset D., Pépin J. Predominance of hepatitis C virus genotype 4 infection and rapid transmission between 1935 and 1965 in the Central African Republic. *J. Gen. Virol.* 2009; 90 (10): 2452–2456. doi: 10.1099/vir.0.011981-0
13. Onakewhor J.U., Okonofua F.E. Seroprevalence of Hepatitis C viral antibodies in pregnancy in a tertiary health facility in Nigeria. *Niger. J. Clin. Pract.* 2009; 12 (1): 65–73.
14. Purdy M.A., Forbi J.C., Sue A., Layden J.E., Switzer W.M., Opare-Sem O.K., Phillips R.O., Khudyakov Y.E. A re-evaluation of the origin of hepatitis C virus genotype 2 in West Africa. *J. Gen. Virol.* 2015; 96 (8): 2157–2164. doi: 10.1099/vir.0.000153
15. Ruggieri A., Argentini C., Kouruma F., Chionne P., D'Ugo E., Spada E., Dettori S., Sabbatani S., Rapicetta M. Heterogeneity of hepatitis C virus genotype 2 variants in West Central Africa (Guinea Conakry). *J. Gen. Virol.* 1996; 77: 2073–2076. doi: 10.1099/0022-1317-77-9-2073
16. Tagny C.T., Mbanya D., Murphy E.L., Lefrère J.J., Laperche S. Screening for hepatitis C virus infection in a high prevalence country by an antigen/antibody combination assay versus a rapid test. *J. Virol. Meth.* 2014; 199: 119–123. doi: 10.1016/j.jviromet.2014.01.002
17. World Health Organization. Hepatitis C. *WHO. Fact Sheet*, April 2017.

Распространенность маркеров вируса гепатита В среди пациентов Российско-Гвинейского госпиталя г. Киндия Гвинейской Республики

Ю.В. Останкова, А.В. Семенов, Е.В. Эсауленко, М.В. Понятишина, И.В. Хамитова, В.А. Сафронов, А.А. Крицкий, С. Бумбали, М.С. Барри, М.Й. Буаро, Арег А. Тотолян

■ Введение

Вирус гепатита В (ВГВ) — один из наиболее распространенных гепатотропных вирусов, количество инфицированных вирусом гепатита В в мире составляет почти 2 млрд человек [24]. ВГВ способен вызывать как острое течение заболевания, так и хронический вирусный гепатит В (ХВГВ), который развивается более чем у 240 млн инфицированных лиц, однако хронизация ВГВ происходит у 90% детей, инфицированных при рождении, 25–50% детей, инфицированных в 1–5 лет, 1–5% людей, инфицированных в старшем детстве и до 10% в зрелом возрасте [4, 8, 12, 18, 26].

ВГВ относится к заболеваниям с парентеральным механизмом передачи патогена, под которым понимают передачу вируса с кровью и/или другими жидкостями организма при обязательном повреждении кожных покровов или слизистых оболочек. К естественным путям передачи относятся половой (прямой сексуальный контакт), вертикальный (от матери плоду во время или после родов, а также герминативный путь инфицирования), бытовой контакты (прямой и непрямой, включающий пользование общими с инфицированным лицом предметов гигиены и т. п.), к искусственным — заражение потребителей инъекционных наркотиков (ПИН) при использовании инфицированных материалов, при медицинских манипуляциях с использованием инструментов, контаминированных вирусом ГВ, переливании крови и ее компонентов и т. д. [24].

Основным лабораторным маркером диагностики является поверхностный антиген ВГВ (HBsAg), встречаемость которого в популяции варьирует в зависимости от географического региона и классифицируется как высокая ($\geq 8\%$ населения), средняя (2–7% населения) и низкая ($< 2\%$ населения) [11]. Встречаемость HBsAg+ в африканском регионе составляет от 8,8 до 22,3%, а количество людей, живущих с ХВГВ — более 75 млн человек [17]. Отмечается широкий разброс в оценках распространенности HBsAg между африканскими странами. Наибольшее распространение вируса показано в некоторых частях Африки к югу от Сахары, таких как Западная Африка, в частности Буркина-Фасо, Кот-д'Ивуар, Гамбия, Гана, Гвинейская Республика, Либерия, Мали, Мавритания, Нигер, Нигерия, Сенегал, Сьерра-Леоне, Того, Южный Судан, Ангола, Уганда и Сомали [20].

При этом ВГВ в странах Африки передается преимущественно в возрасте 2–10 лет, что существенно отличает основной путь передачи от наиболее распространенного в странах Западной и Восточной Европы полового пути [17]. Вполне вероятно, что дети с высоким уровнем вирусемии передают вирус через порезы и ссадины восприимчивым братьям, сестрам, друзьям по играм [5] и, хотя горизонтальная передача представляет собой основной режим передачи вируса, считается, что перинатальная передача составляет около 10% хронической инфекции [19], что становится причиной высокой встречаемости ХВГВ.

Несмотря на значительные проблемы общественного здравоохранения, связанные с ВГВ в Африке к югу от Сахары, во многих странах этого региона нет систематического наблюдения за ГВ, в том числе отсутствует информация о генетической характеристике распространенного в том или ином регионе вируса, наличии или отсутствии лекарствен-

ной устойчивости вируса. Следует отметить, что методы выявления ВГВ и диагностика заболеваний печени, связанных с ВГВ, в странах с низким и средним уровнем дохода существенно отличаются от тех, которые применяются в странах, имеющих доступ к более современным технологиям и обеспеченных персоналом с высокой квалификацией. Большинство исследований на эту тему в странах Африки ограничивается измерением поверхностного антигена гепатита В, в то время как молекулярно-генетические методы, позволяющие более точно оценить распространенность ВГВ, генотипировать вирус и дать количественную оценку ДНК ВГВ доступны только в центральных лабораториях крупных городов [3]. Кроме того, даже данные о распространении серологических маркеров ВГВ в популяции практически отсутствуют, поскольку серологический скрининг часто проводят только в отдельных группах населения — группах риска (ВИЧ-инфицированные лица, заключенные, ПИН и т. д.) и группах, распространенность инфекции в которых оказывает существенное влияние на здоровье населения (доноры крови, беременные женщины).

Гвинейская Республика является регионом, с высокой встречаемостью гепатотропных вирусов, однако литературных данных об эпидемиологической ситуации по распространенности ВГВ на данной территории крайне мало, что определило актуальность данного исследования.

Целью нашей работы было оценить встречаемость серологических маркеров вируса гепатита В среди пациентов Российско-Гвинейского госпиталя г. Киндия Гвинейской Республики.

■ Материалы и методы

Материалом исследования служили 510 образцов сыворотки крови, полученных в период с апреля по август 2017 г. от практически здоровых людей, без подозрения на болезнь, вызванную вирусом Эбола (БВБЭ), в рамках плановой диспансеризации сотрудников ОК «РУСАЛ» и членов их семей, а также детей при скрининге, проводимом перед вакцинацией в Центре вакцинации г. Киндия. Обследованные лица отрицали инфицирование ВГВ в анамнезе. Кровь получали по общепринятой методике из локтевой вены натошак в количестве 5 мл с использованием вакуумной системы для взятия крови. Все исследуемые образцы были протестированы методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) при помощи набора реагентов «АмплиСенс EBOV Zaire-FL» (ИнтерЛабСервис, Россия) с целью исключения вероятности выявления РНК вируса Эбола и обеспечения биологической безопасности при работе с данным материалом. Во всех случаях был получен отрицательный результат.

Обследование проводили в лаборатории на базе Российско-Гвинейского научного исследовательского центра эпидемиологии и профилактики инфекционных болезней Роспотребнадзора, расположенного в префектуре Киндия.

Обследование пациентов на наличие маркеров ВГВ методом ИФА заключалось в качественном определении HBsAg, HBsIgG, HBcorIgG (тест-системы ЗАО «Вектор-Бест», НПО «Диагностические системы»), согласно инструкциям производителя.

Для 440 образцов проводили анализ на наличие ДНК ВГВ. Для этого из сыворотки крови выделяли ДНК с использованием коммерческого набора «АмплиПрайм РИБО-преп» (ФБУН ЦНИИЭ, Москва). Анализ присутствия вируса проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» с помощью коммерческого набора «АмплиСенс® HBV-FL» (ФБУН ЦНИИЭ, Москва), согласно инструкции к набору с модификациями, позволяющими идентифицировать ВГВ при вирусной нагрузке от 50 МЕ/мл.

При оценке статистической погрешности использовали «точный» интервал Клоппера–Пирсона. Результаты представлены в виде медианы (Me) с указанием 95% доверительного интервала (95% ДИ). Для оценки достоверности различий численных данных, полу-

ченных при парных сравнениях, использовали, в зависимости от характеристик выборок, точный критерий Фишера или критерий χ^2 -квадрат с поправкой Йетса. В качестве порога достоверности отличий было определено значение вероятности $p < 0,05$.

■ Результаты и обсуждение

При исследовании 510 клинических образцов сыворотки крови серологические маркеры ВГВ были выявлены в 394 образцах, что составило 77,25% (95% ДИ: 73,42–80,69%). Среди 510 пациентов с указанием пола были представлены 297 человек, с указанием возраста — 461 человек. При оценке общей распространенности серологических маркеров среди пациентов, для которых был известен пол, встречаемость маркеров ВГВ составила 78,78% (95% ДИ: 73,77–83,079%). Наблюдалась тенденция к большей распространенности серологических маркеров среди мужчин 80,55% (95% ДИ: 75,20–84,99%) по сравнению с женщинами 68,88% (95% ДИ: 54,26–80,55%), однако достоверных отличий не обнаружено, $p = 0,1112$. Ранее было показано, что распространенность HBsAg у мужчин превышает таковую у женщин, особенно в сельских районах, что связывали с различиями в племенном и сексуальном поведении между мужчинами и женщинами [9, 14]. Возможно отсутствие достоверных различий между полами в частоте встречаемости серологических маркеров в нашей работе связано с тем, что обследуемый контингент нельзя уверенно отнести к проживающим в сельской местности и с более высоким уровнем образования, а также сравнительной универсализацией поведения людей, работающих в горнодобывающей индустрии.

Среди пациентов, для которых был известен возраст, встречаемость маркеров ВГВ составила 78,3% (95% ДИ: 74,31–81,84%). При оценке распространенности серологических маркеров по возрастным группам показано, что среди серопозитивных пациентов 13,8% составили дети до 18 лет, 1,38% — молодые люди в возрасте 18–22 лет, по 42,38% — пациенты в возрасте 23–40 лет и старше 41 года. Таким образом, в группе детей до 18 лет частота встречаемости серопозитивных маркеров ВГВ составила 70,4% (95% ДИ: 58,93–79,82%), среди пациентов в возрасте 18–22 лет — 55,55% (95% ДИ: 26,63–81,16%), среди пациентов в возрасте 23–40 лет — 79,68% (95% ДИ: 73,41–84,80%), в возрастной группе старше 41 года — 80,95% (95% ДИ: 74,73–85,95%) (рис. 1).

Полученные нами результаты согласуются с вышеупомянутыми литературными данными, согласно которым дети в странах Африки подвергаются высокому риску инфицирования ВГВ за счет парентеральной горизонтальной передачи, особенно в возрасте 2–10 лет, от родителей, братьев, сестер, друзей по играм через порезы и ссадины [5, 22]. В нашем исследовании встречаемость HBsAg+ среди лиц до 18 лет составила 19,7% и незначительно превышала таковую у детей из Южной Африки (15,7%), показатель которых считается наибольшим из описанных в литературе [27].

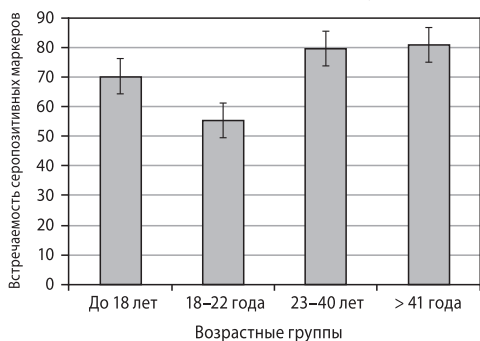


Рисунок 1. Встречаемость серопозитивных маркеров ВГВ в различных возрастных группах

Среди пациентов, для которых известен пол и возраст, встречаемость серологических маркеров ВГВ составила 77,85% (95% ДИ: 72,62–82,34%).

Результат анализа распределения исследованных маркеров ВГВ в обследованной группе представлен в табл. 1.

Таким образом, согласно серологическим маркерам ВГВ, ХВГВ (HBsAg+) выявлен у 17,5% (95% ДИ: 14,58–21,20%) лиц обследованной группы, то есть у 22,59% (95% ДИ: 18,73–26,98%) серопозитивных лиц, а реконвалесцентные после острого ГВ (HBsAg–, HBcorlgG+) 52,16% (95% ДИ: 47,82–

56,46%) обследованных, то есть 67,51% (95% ДИ: 62,74–71,95%) серопозитивных лиц, что подтверждается обнаружением антител. Среди пациентов обследованной группы контактировали с ВГВ 69,61% (95% ДИ: 65,48–73,44%).

Полученные данные совпадают с описанной в странах Западной Африки ситуацией, согласно которой ХВГВ обнаруживали у 10–25% от общего населения, в то время как контактировали с вирусом более 75% [13], а также с ранними исследованиями, согласно которым распространенность HBsAg+ в разных регионах Гвинейской Республики в среднем составляла 16,7% [21]. Таким образом, за последние два десятилетия уровень встречаемости поверхностного антигена ВГВ в регионе оставался стабильно высоким.

При исследовании 440 клинических образцов сыворотки крови на наличие ДНК ВГВ с использованием коммерческого набора «АмплиСенс® HBV-FL», вирус был выявлен в 52 образцах, что составило 11,8% (95% ДИ: 9,11–15,19%). Следует отметить, что среди ДНК-позитивных образцов серологические маркеры были представлены у 90,3%. При этом, хотя у большинства (75%) был выявлен HBsAg+ в сочетаниях с другими маркерами, есть также HBsAg-негативные образцы (15,3%) и образцы, в которых при наличии ДНК ВГВ отсутствовали все три анализируемых серологических маркера (9,6%). Почти в половине случаев (48,07%) вирусная нагрузка была менее 100 МЕ/мл, в некоторых случаях (15,38%) — немногим более 50 МЕ/мл, однако среди 5 ДНК-позитивных серонегативных образцов только в 1 образце вирусная нагрузка составила около 50 МЕ/мл.

Пациенты обследованной группы происходили из 3 регионов Гвинейской Республики — Киндии, Конакри и Боке. Анализ распределения маркеров ВГВ среди пациентов, у которых проводили исследование на наличие ДНК ВГВ, по регионам представлен в табл. 2.

Несмотря на отсутствие достоверных отличий между группами, обращает на себя внимание тенденция к уменьшению частоты встречаемости серологических маркеров в целом и увеличению HBsAg+ в регионе Боке. Известно, что при снижении возраста первичного инфицирования увеличивается вероятность хронизации заболевания с длительной персистенцией HBsAg. В случае африканских стран это, возможно, связано с особенностью передачи вируса у детей в раннем возрасте в сельских районах, к которым

Таблица 1. Распределение серологических маркеров ВГВ (HBsAg, HBcorIgG, HBsIgG) в обследованной группе и среди серопозитивных лиц (%)

Выявленные серологические маркеры в сыворотке крови	Обследованная группа (n = 510)	Серопозитивные пациенты (n = 394)
HBsAg+, HBcorIgG+, HBsIgG+	3,33	4,34
HBsAg+, HBcorIgG+	11,70	15,20
HBsAg+, HBsIgG+	1,30	1,77
HBsAg+	1,17	1,52
HBcorIgG+, HBsIgG+	15,29	19,79
HBcorIgG+	36,86	47,71
HBsIgG+	7,45	9,64

можно отнести регион Боке, где уровень индустриализации невысок.

Отдельного упоминания заслуживают случаи необычной серологической картины ХВГВ, когда при наличии HBsAg и ДНК ВГВ у больных (n = 3) не обнаруживается HBcorIgG, в норме представляющий собой надежный серологический маркер для прошедшей экспозиции инфекции ВГВ. У двух пациентов был выявлен следующий профиль маркеров ВГВ: ДНК+ HBsAg+

Таблица 2. Распространенность маркеров ВГВ в трех регионах Гвинейской Республики (%)

Маркеры ВГВ	Киндия (n = 247)	Конакри (n = 131)	Боке (n = 62)
Серологические маркеры (HBsAg, HBcorIgG, HBsIgG)	81,53	75,57	61,29
HBsAg+	16,94	16,79	20,96
ДНК ВГВ+	10,60	17,55	16,12

HBsIgG+ HBcorIgG–, а в одном случае выявлены маркеры ДНК+ HBsAg+ HBsIgG– HBcorIgG–. Причиной такой картины может быть вертикальная передача инфекции до/во время родов от женщины позитивной по HBsAg и HBeAg, так как это может приводить к феномену иммунной толерантности к HBcAg и подавлению продукции антител против HBc [6, 15]. Еще одной причиной могут быть какие-либо значимые мутации в core-регионе генома ВГВ, что может приводить к образованию модифицированных антител, которые невозможно выявить с помощью стандартных коммерческих наборов [2]. Для подтверждения или опровержения этого предположения необходимо в дальнейшем провести анализ нуклеотидной последовательности изолятов в указанном регионе.

Также обращают на себя внимание 2 случая выявления ДНК ВГВ у пациентов с единственным позитивным маркером — HBsIgG, наличие которого в периферической крови без иных серологических маркеров обычно трактуется как показатель иммунного ответа, вызванного вакцинацией против гепатита В, и случай выявления ДНК ВГВ у пациента с HBsIgG+, HBcorIgG+, сочетание которых должно свидетельствовать о естественном иммунитете против ВГВ.

Как известно, для хронической инфекции характерно устойчивое присутствие HBsAg в течение не менее 6 месяцев (при наличии или отсутствии сопутствующего HBeAg) за исключением оккультной формы течения заболевания, которая характеризуется отсутствием HBsAg в периферической крови и низким (не диагностируемым общепринятыми методами) уровнем ДНК ВГВ в крови при наличии ДНК ВГВ в тканях печени. Ранее мы описывали выявление высокой частоты встречаемости оккультного ХВГВ с помощью методики, позволяющей идентифицировать ДНК ВГВ при низкой вирусной нагрузке [1]. Поскольку в данном исследовании даже с применением некоторой модификации коммерческого набора удастся обнаружить ДНК ВГВ у HBsAg-негативных и серонегативных пациентов, вышеуказанный метод позволит выявить большее число больных окГВ, идентифицировать и генотипировать изоляты, что будет способствовать поиску путей передачи вируса. Вероятно, именно широкая распространенность ВГВ в регионе является одной из значимых причин высокого риска инфицирования ВГВ при переливании крови в Национальном Центре Трансфузиологии в г. Конакри. Впрочем, встречаемость HBsAg у доноров крови в этом исследовании составила 15% [10], что не противоречит полученным нами результатам о частоте встречаемости HBsAg+ (17,5%), но свидетельствует о недостаточном скринировании доноров крови.

Отметим, что в странах-соседях Гвинейской Республики также высока распространенность ВГВ. Однако, как и в случае с Гвинеей, в литературе представлено крайне мало данных о ситуации с ВГВ в этих странах. Тем не менее, для Сенегала распространенность HBsAg+ в среднем составляет 11,06%, варьируя от 7 до 17% [16, 23]. Встречаемость HBsAg+ в Мали составляет около 13,07%, в Республике Кот-д'Ивуар — 9,4%, в Либерии — 17,55%, в Сьерра-Леоне — 8,42% [17]. Интересно, что в Сьерра-Леоне распространенность HBsAg+ в 1998 г. среди детей составила 18,18%, антитела HBcorIgG обнаруживали у 71% детей, а спустя всего семь лет при оценке распространенности ВГВ в группе беременных женщин из социальных групп с уровнем подушевого дохода выше среднего встречаемость HBsAg+ составила 6,2%, что, по всей видимости, свидетельствует о значимости социального статуса/уровня жизни для распространения ВГВ [7, 25].

Очевидно, что распространенность ВГВ наиболее высока среди малообеспеченных групп населения, в том числе сельских жителей, в то время как в нашем исследовании были представлены преимущественно лица с социально и экономически благоприятным статусом для данного региона. Мы предполагаем, что при проведении диагностики в менее обеспеченных группах данного географического региона, распространенность HBsAg, других серологических, а также молекулярных маркеров ВГВ может быть значительно выше.

■ Заключение

Полученные в настоящей работе результаты свидетельствуют о высокой распространенности поверхностного антигена ВГВ в Гвинейской Республике. Эта распространенность остается постоянной на протяжении многих лет, что подтверждается ранее полученными данными других исследователей. Однако для выявления всех людей, больных ХВГВ или контактировавших с вирусом, недостаточно только анализа на HBsAg. В странах с высокой встречаемостью гепатотропных вирусов необходимо совершенствование методов обнаружения ВГВ. Введение в алгоритм лабораторной диагностики анализа на дополнительные серологические и молекулярно-генетические маркеры ВГВ целесообразно, особенно в связи с высокой распространенностью оккультной формы ХВГВ, для которой, как было неоднократно показано, недостаточно общепринятого лабораторного скрининга ВГВ. Внедрение молекулярно-биологических методов позволит получить дополнительные данные, что будет способствовать пониманию молекулярной эпидемиологии инфекционного процесса и разработке программ по профилактике и лечению инфекции.

■ Список литературы

1. Останкова Ю.В., Семенов А.В., Файзуллаев Х.Н., Казакова Е.И., Козлов А.В., Мусабаев Э.И., Тотолян Арег А. Молекулярно-биологические маркеры гепатита В у пациентов с фиброзом/циррозом печени в Узбекистане. *Журнал микробиологии эпидемиологии и иммунобиологии*. 2016; 5: 34-43.
2. Alexopoulou A. Mutants in the precore, core promoter, and core region of Hepatitis B virus, and their clinical relevance. *Ann. Gastroenterol.* 2009; 22: 13-23.
3. Allain J.P., Opare-Sem O. Screening and diagnosis of HBV in low-income and middle-income countries. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2016; 13 (11): 643-653. doi: 10.1038/nrgastro.2016.138
4. Beasley R.P., Hwang L.Y., Lee G.C., Lan C.C., Roan C.H., Huang F.Y., Chen C.L. Prevention of perinatally transmitted hepatitis B virus infections with hepatitis B immune globulin and hepatitis B vaccine. *Lancet*. 1983; 2: 1099-1102. doi: 10.1016/S0140-6736(83)90624-4
5. Bernier R.H., Sampliner R., Gerety R., Tabor E., Hamilton F., Nathanson N. Hepatitis B infection in households of chronic carriers of hepatitis B surface antigen: factors associated with prevalence of infection. *Am. J. Epidemiol.* 1982; 116: 199-211.
6. Chen M., Sällberg M., Hughe J., Jones J., Guidotti L.G., Chisari F.V., Billaud J.N., Milich D.R. Immune tolerance split between Hepatitis B virus precore and core proteins. *J. Virol.* 2005; 79 (5): 3016-3027. doi: 10.1128/JVI.79.5.3016-3027.2005
7. Hodges M., Sanders E., Aitken C. Seroprevalence of hepatitis markers; HAV, HBV, HCV and HEV amongst primary school children in Freetown, Sierra Leone. *West Afr. J. Med.* 1998; 17 (1): 36-37.
8. Hyams K.C. Risks of chronicity following acute hepatitis B virus infection: a review. *Clin. Infect. Dis.* 1995; 20 (4): 992-1000.
9. Komaz N.P., Vickos U., Hübschen J.M., Béré A., Manirakiza A., Muller C.P., Le Faou A. Cross-sectional study of hepatitis B virus infection in rural communities, Central African Republic. *BMC Infect Dis.* 2013; 13: 286. doi: 10.1186/1471-2334-13-286
10. Loua A., Sow E.M., Magassouba F.B., Camara M., Baldé M.A. Evaluation of residual infectious risk among blood donors in National Center of Blood Transfusion in Conakry. *Transfus. Clin. Biol.* 2004; 11 (2): 98-100. doi: 10.1016/j.tracbi.2004.01.004
11. Margolis H.S., Alter M.J., Hadler S.C. Hepatitis B: evolving epidemiology and implications for control. *Seminars in Liver Disease*. 1991; 11: 84-92. doi: 10.1055/s-2008-1040427
12. McMahon B.J., Alward W.L., Hall D.B., Heyward W.L., Bender T.R., Francis D.P., Maynard J.E. Acute hepatitis B virus infection: relation of age to the clinical expression of disease and subsequent development of the carrier state. *J. Infect. Dis.* 1985; 151: 599-603.
13. Nkrumah B., Owusu M., Aweru P. Hepatitis B and C viral infections among blood donors. A retrospective study from a rural community of Ghana. *BMC Res. Notes*. 2011; 4: 529-532. doi: 10.1186/1756-0500-4-529
14. Peto T.J., Mendy M.E., Lowe Y., Webb E.L., Whittle H.C., Hall A.J. Efficacy and effectiveness of infant vaccination against chronic hepatitis B in the Gambia Hepatitis Intervention Study (1986-90) and in the nationwide immunisation program. *BMC Infect. Dis.* 2014; 14: 7. doi: 10.1186/1471-2334-14-7
15. Pondé R.A. Atypical serological profiles in hepatitis B virus infection. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2013; 32 (4): 461-476. doi: 10.1007/s10096-012-1781-9
16. Roingeard P., Diouf A., Sankale J.L., Boye C., Mboup S., Diadhou F., Essex M. Perinatal transmission of hepatitis B virus in Senegal, west Africa. *Viral Immunol.* 1993; 6: 65-73. doi: 10.1089/vim.1993.6.65

17. Schweitzer A., Horn J., Mikolajczyk R.T., Krause G., Ott J.J. Estimations of worldwide prevalence of chronic hepatitis B virus infection: a systematic review of data published between 1965 and 2013. *Lancet*. 2017; 386 (10003): 1546–1555. doi: 10.1016/S0140-6736(15)61412-X
18. Shapiro C.N. Epidemiology of hepatitis B. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1993; 12 (5): 433–437.
19. Shimakawa Y., Bottomley C., Njie R., Mendy M. The association between maternal hepatitis B e antigen status, as a proxy for perinatal transmission, and the risk of hepatitis B e antigenaemia in Gambian children. *BMC Public Health*. 2014; 14: 532. doi: 10.1186/1471-2458-14-532
20. Stasi C., Silvestri C., Voller F. Emerging Trends in Epidemiology of Hepatitis B Virus Infection. *J. Clin. Transl. Hepatol.* 2017; 5 (3): 272–276. doi: 10.14218/JCTH.2017.00010
21. Sylla A., Diallo M.S., Castegnaro J., Wild C.P. Interactions between hepatitis B virus infection and exposure to aflatoxins in the development of hepatocellular carcinoma: a molecular epidemiological approach. *Mutat. Res.* 1999; 428 (1-2): 187–196.
22. Ugwuja E.I., Ugwu N.C. Seroprevalence of hepatitis B surface antigen and liver function tests among adolescents in Abakaliki, South Eastern Nigeria. *Internet J. Tropical Med.* 2010; 6: 2.
23. Vray M., Debonne J.M., Sire J.M., Tran N., Chevalier B., Plantier J.C., Fall F., Vernet G., Simon F., Mb P.S. Molecular epidemiology of hepatitis B virus in Dakar, Senegal. *J. Med. Virol.* 2006; 78: 329–334. doi: 10.1002/jmv.20544
24. WHO Prevention and control of viral hepatitis infection: frame work for global action 2012. Geneva: WHO, 2012.
25. Wurie I.M., Wurie A.T., Gevaio S.M. Sero-prevalence of hepatitis B virus among middle to high socio-economic antenatal population in Sierra Leone. *West Afr. J. Med.* 2005; 24 (1): 18–20.
26. Yim H.J., Lok A.S. Natural history of chronic hepatitis B virus infection: what we knew in 1981 and what we know in 2005. *Hepatology*. 2006; 43 (S1): S173–S181. doi: 10.1002/hep.20956
27. Zampino R., Boemio A., Sagnelli C., Alessio L., Adinolfi L.E., Sagnelli E., Coppola N. Hepatitis B virus burden in developing countries. *World J. Gastroenterol.* 2015; 21 (42): 11941–11953. doi: 10.3748/wjg.v21.i42.11941

Корь и другие экзантемные инфекции

Корь в странах Африканского региона ВОЗ на этапе элиминации инфекции

А.Ю. Антипова, М.А. Бичурина, И.Н. Лаврентьева, Арег А. Тотолян

■ Стратегия Всемирной организации здравоохранения по совершенствованию национальных систем эпидемиологического надзора и иммунизации против кори

До начала вакцинации корь называли «детской чумой», индекс контагиозности которой достигает 96–98%. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), до введения вакцин ежегодно в мире заболевало корью от 135 до 140 млн человек и умирало от 5 до 7 млн детей [2].

Всемирная Ассамблея здравоохранения в 1989 г. и Совещание Глав Государств по детскому здравоохранению в 1990 г. поставили задачу снижения заболеваемости корью и смертности от нее на 90 и 95% соответственно. Консультативная группа ВОЗ в 1996 г. пришла к заключению, что наличие единственного хозяина (человека), типичной клинической картины, стойкого иммунитета после заболевания, единого антигенного варианта вируса кори и отсутствие вирусоносительства делает возможным не только элиминацию кори в отдельных регионах, но и ее ликвидацию [2]. Элиминация — это прекращение циркуляции вируса на значительной географической территории (страна, несколько стран), вследствие высокого уровня популяционного иммунитета. Могут регистрироваться импортированные случаи и ограниченные вспышки [16]. Способ достижения элиминации — вакцинация. Ликвидация — это глобальное прекращение циркуляции вируса кори (ликвидация резервуара), которая повлечет за собой прекращение вакцинации. В дальнейшем была поставлена цель только элиминации кори.

Первоначально стратегия ВОЗ по борьбе с корью включала проведение одной прививки при высоком охвате (не менее 90%) индикаторных групп населения. Одна прививка оказалась недостаточна: при вакцинации в 9-месячном возрасте уровень сероконверсий составлял всего 85%, то есть 15% детей оставались незащищенными от кори. Ревакцинация дает возможность повысить уровень сероконверсий (не менее 90%) даже у детей, которые не отвечали выработкой иммунитета на первую прививку. Двухдозовая схема иммунизации (вакцинация и ревакцинация) позволяет обеспечить элиминацию кори на национальном уровне [2]. Показано, что минимальный допустимый возраст плановой вакцинации составляет 9 месяцев [46]. Иммунизация 9–11-месячных детей — это стратегия снижения детской смертности, в том числе и от сопутствующих кори состояний: диарейных болезней, заболеваний респираторного тракта и других [10]. Увеличение возраста прививаемых с 9 до 12 мес. повышает эффективность вакцинации и обеспечивает снижение заболеваемости. Члены Панамериканской санитарной конференции в 1994 г. рекомендовали странам — членам Панамериканской организации здравоохранения проводить плановую иммунизацию с 12 месяцев, учитывая, что риск заражения корью в возрасте до 12 мес. после кампаний массовой иммунизации с охватом не менее 90% существенно снижается [47].

Целью Департамента ВОЗ по иммунизации, вакцинам и биологическим препаратам является достижение «мира, в котором все подвергаемые риску люди защищены от болезней, предотвратимых с помощью вакцин». В мае 2012 г. 194 государствами — членами Всемирной ассамблеи здравоохранения был утвержден Глобальный план действий в отношении вакцин (ГПДВ), задачей которого являлось улучшение здоровья благодаря распространению всесторонних преимуществ от иммунизации на всех людей, независимо от этнических, социальных и религиозных и других различий [4].

Стратегический план по элиминации кори к 2020 г., утвержденный ВОЗ в 2012 г., предусматривал снижение смертности от кори на 95% по сравнению с показателем 2000 г. и достижение элиминации, по крайней мере, в пяти регионах ВОЗ, кроме Региона Юго-Восточной Азии [63]. Согласно плану, реализация Программы элиминации кори в мире должна выполняться в два этапа.

В качестве итогов реализации первого этапа (к концу 2015 г.) декларировались:

- снижение годовой заболеваемости корью (менее пяти случаев на миллион) и сохранение этого уровня;
- достижение не менее 90% охвата первой плановой дозой коревой вакцины на национальном уровне и более чем 80%-й охват вакцинацией в каждом районе или эквивалентной административной территории;
- достижение не менее 95% охвата корь-содержащими вакцинами в ходе выполнения программ дополнительной иммунизации (ПДИ) в каждом районе;
- достижение целей элиминации краснухи/СВК по крайней мере в трех регионах ВОЗ;
- определение целевой даты для глобальной элиминации кори.

На следующем этапе выполнения стратегического плана (к концу 2020 г.) были предусмотрены:

- поддержание результатов, достигнутых в 2015 г.;
- достижение не менее 95% охвата первой и второй дозами коревой (или корь-содержащей) вакцины при плановой иммунизации в каждом районе и в национальном масштабе;
- установление целевой даты для глобального искоренения краснухи и СВК к концу 2020 г.

Для осуществления надзора за корью и доказательства элиминации кори была создана Глобальная лабораторная сеть по кори и краснухе. В 2013 г. функционировали 696 лабораторий в 164 странах [65]. Задачами лабораторной сети по надзору за корью являлись верификация случая кори, определение популяционного иммунитета, определение путей распространения вируса, доказательство прекращения циркуляции эндемичных вирусов кори. Были разработаны лабораторные рекомендации [11]. Согласно этим нормативным документам, направления развития лабораторной сети включали интеграцию детекции IgM-антител и молекулярного тестирования для лабораторного подтверждения случаев инфекции; обеспечение точности лабораторных данных; обеспечение сбора клинических образцов для исследований; внедрение новых методов, в том числе повышающих возможности молекулярной эпидемиологии; развитие баз данных; обеспечение бесперебойной работы лабораторий; поддержание качества лабораторных исследований с помощью проведения ежегодной аккредитации и выполнения программ контроля качества, как в серологических, так и в молекулярно-генетических исследованиях; разработка протоколов для быстрого реагирования на меняющуюся эпидемическую ситуацию.

В 2015 г. около 85% всех детей в мире получили одну дозу противокоревой вакцины в течение первого года жизни, по сравнению с 73% в 2000 г. В результате внедрения стратегического плана элиминации кори, количество умерших от кори в мире сократилось с 535 300 (по другим данным 651 600) человек в 2000 г. до 134 200 человек в 2015 г., смертность снизилась на 79% [5, 63].

■ Становление системы надзора за корью в Африканском регионе ВОЗ

Численность населения Африки составляет около 1 млрд человек. Естественный прирост населения на континенте в 2004 г. был 2,3% [1]; во многих странах он превышает 30 человек на 1000 жителей в год. Сохраняется высокая доля детского населения (50%) и небольшая доля людей старшего возраста (около 5%). За последние 50 лет возросла средняя продолжительность жизни — с 39 до 54 лет. Согласно прогнозу банка HSBC (Бан-

ковская корпорация Гонконга и Шанхая) население стран Африки к 2050 г. удвоится [6]. Система здравоохранения построена по региональному принципу: медицинские центры обслуживают определенные территории.

Африканский регион (АР) ВОЗ объединяет 47 стран.

Первой большой попыткой надзора за корью в африканском регионе ВОЗ была программа с участием 20 африканских стран в 1966 г. Расширенная программа иммунизации (РПИ), инициированная ВОЗ в 1978 г. включала оперативные исследования, техническую помощь, сотрудничество с другими группами и развитие постоянных национальных программ. Было показано, что мобильные группы являются более эффективными для достижения 100% охвата вакцинацией против кори, чем центры здоровья [46]. В 1986 г. вместе с РПИ ВОЗ был введен вирусологический надзор за корью. Целью РПИ для АР к 1990 г. было сделать иммунизацию против кори доступной для всех детей и обеспечить, по крайней мере, 75% охват вакцинацией. Однако в 1991 г. охват вакцинацией против кори детей в возрасте от 12 до 23 месяцев в Африке составлял только 54% [21].

В 2000 г. Африканский региональный офис ВОЗ предложил план снижения смертности от кори более чем на 50% к 2005 г. [38]. План включал:

1. увеличение уровня вакцинации против кори путем усиления повседневного медицинского обслуживания;
2. обеспечение возможности дополнительной иммунизации против кори для всех детей, в первую очередь с помощью мероприятий дополнительной иммунизации с широким возрастным диапазоном прививаемых (ДПИ);
3. усиление надзора за корью;
4. совершенствование ведения каждого случая кори.

Была принята следующая стратегия для реализации программы элиминации кори в АР ВОЗ:

1. кампания массовой иммунизации детей от 1 до 14 лет;
2. плановая иммунизация не менее 90% детей в возрасте 9–15 мес.;
3. последующие кампании массовой иммунизации всех детей в возрасте 9 мес. — 4 года, повторяющиеся каждые 3–5 лет, для охвата детей, не привитых в календарные сроки или не давших иммунного ответа на плановую прививку.

Кампании массовой иммунизации должны были включать большие популяции населения (всю страну или большой регион) и охватывать более 90% восприимчивых контингентов [2].

В семи странах Южной Африки и трех странах Западной Африки использование этой стратегии позволило снизить количество случаев кори на 83–97% в течение первого года после начала выполнения РПИ. В остальных странах использование программ дополнительной иммунизации, проводимых вместе с рутинной вакцинацией, также доказало их эффективность [38].

В 1998 г. система надзора за корью на основе расследования каждого подозрительно-го на корь случая с лабораторным подтверждением диагноза [60] была внедрена в странах Южной Африки, а в 2002 г. — во всех странах АР ВОЗ. В надзор за корью была включена работа по сбору данных о двух или более случаях экзантемных заболеваний с лихорадкой на 100 тыс. населения, исследованию образцов крови в одном или более подозрительно на корь случае на $\geq 80\%$ территорий, и 100% заполнение отчетности на всех территориях [62, 73]. Согласно региональным руководствам, любой случай клинически диагностированной кори или заболевания с сыпью, лихорадкой, кашлем, насморком или конъюнктивитом является подозрительным на корь. Подозрительные случаи подтверждаются на основании лабораторных исследований, эпидемиологической связи и клинических критериев. Во время вспышек образцы назофарингеальных смывов используются для определения генотипа вируса кори. На территориях в фазе контроля за заболеваемо-

стью корью и снижения смертности было рекомендовано исследовать репрезентативные образцы из каждой вспышки; а в странах со спорадической заболеваемостью — образцы из каждой цепочки передачи. Например, в Сенегале Национальный Референс-центр по кори в Институте Пастера (Дакар) обеспечивает надзор за корью с лабораторным подтверждением всех подозрительных на корь случаев путем обнаружения IgM-антител с рекомендованными ВОЗ наборами [19]. Лабораторное подтверждение диагноза кори при всех спорадических случаях и, по меньшей мере, одного случая в эпидемической цепочке является обязательным условием элиминации кори [72].

В 2008 г. 46 государств — членов Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) АР утвердили цель преэлиминации кори к концу 2012 г. Были определены следующие задачи:

1. снижение оценочных региональных показателей смертности (расчетной смертности) от кори более чем на 98% по сравнению с 2000 г. в регионе;
2. снижение ежегодной заболеваемости корью до показателей не более 5 случаев на миллион населения на национальном уровне;
3. более чем 90% охват первой дозой корь-содержащей вакцины на национальном уровне и более чем 80% охват на всех территориях страны;
4. достижение показателя охвата прививкой более 95% на всех территориях путем проведения дополнительных кампаний иммунизации [36, 61].

Региональный комитет для стран Африки в 2009 г. поставил и в 2011 г. утвердил цель элиминации кори к 2020 г. [62, 67]. К плану присоединились все 47 стран АР ВОЗ [57, 63]. В 2012 г. Глобальная лабораторная сеть по надзору за корью и краснухой ВОЗ поддержала стандартизованные методы и средства обеспечения качества в 44 лабораториях 42 государств — членов АР ВОЗ; 43 государства-члена сообщали данные по надзору за корью на основании расследования каждого случая, и все страны представляли ежегодные отчеты через Единую форму отчетности о количестве случаев кори. В 2012 г. 19 государств проводили расследование 2 или более случаев экзантемного заболевания с лихорадкой на 100 тыс. населения и исследование образцов крови от 1 или более подозрительных на корь случаев на $\geq 80\%$ территорий [37].

В 2013 г. программа вакцинопрофилактики кори в ряде стран АР ВОЗ была нарушена в результате эпидемии лихорадки Эбола. В контексте надзора за болезнями, предупреждаемыми вакцинацией, все клинические образцы должны были быть исследованы на наличие инфекции Эбола до всех прочих исследований и до отправки в референс-лабораторию в рамках надзора. Были разработаны рекомендации по проведению иммунизации в странах с распространением вируса Эбола, которые включали тщательный осмотр и опрос вакцинируемых до введения прививки, выполнение требований гигиены, использование перчаток, использование одноразовых шприцов, проведение разъяснительной работы с населением. В странах, где закончилась эпидемия Эбола, рекомендовано возобновить плановую вакцинацию, при этом особое внимание уделить детям старшего возраста, которые могли пропустить иммунизацию. В случае необходимости, рекомендовано использовать стратегию периодического усиления плановой иммунизации или мини-кампании вакцинации для того, чтобы быстро повысить охват вакцинацией в районах высокого риска [75].

На основании социальных, экономических и политических данных были определены страны риска по лихорадке Эбола — Кот-д'Ивуар, Гвинея-Бисау, Мали, Сенегал, Бенин, Камерун, Центральная Африканская Республика (ЦАР), Демократическая Республика Конго (ДРК), Гамбия, Гана, Мавритания, Нигерия, Южный Судан и Того. Согласно рекомендациям ВОЗ, в рамках подготовки к возможной вспышке лихорадки Эбола в этих странах должны быть выявлены районы с низким уровнем охвата иммунизацией против кори и должны быть спланированы и реализованы мероприятия по вакцинации в этих областях. Сбор, отправка и обработка клинических образцов осуществляется по стандартной схеме [75].

В 2016 г. вакцинация против кори введена в национальный календарь прививок во всех странах AP ВОЗ. В таких странах, как Ангола, Бенин, Буркина-Фасо, Чад, ДРК, Кот-д'Ивуар, Экваториальная Гвинея, Эритрея, Эфиопия, Гвинея, Либерия, Малави, Мали, Мавритания, Нигер, Нигерия, Сьерра-Леоне, Южный Судан, Танзания, Того, Уганда, Зимбабве и других вакцинация осуществляется также путем проведения кампаний дополнительной иммунизации [48]. Для ряда стран программа дополнительной иммунизации (ПДИ) — это единственный способ вакцинации населения [34, 46]. Финансовая и техническая поддержка выполнения ПДИ осуществляется за счет национальных бюджетов, а также коалиции партнеров: Американского Красного Креста, Фонда Объединенных Наций, ЮНИСЕФ, ВОЗ и CDC [38].

■ Вакцинопрофилактика кори в странах Африканского региона ВОЗ

Обобщенные данные по срокам вакцинации против кори в странах AP ВОЗ представлены в табл. 1 [55, 74]. Одна из первых кампаний вакцинации против кори была выполнена в Сенегале в 1965 г. В Южно-Африканской Республике (ЮАР) рутинная вакцинация от кори проводится с 1975 г., а в 1995 г. была принята и введена в национальный календарь двухдозовая стратегия вакцинации (в 9 и 18 месяцев) [60]. К концу 2012 г. 12 из 47 государств AP ВОЗ ввели вторую дозу корь-содержащей вакцины в список обязательной (рутинной) вакцинации [37]. В 2013 г. еще 11 стран ввели ревакцинацию второй дозой в национальный календарь прививок, в том числе Бурунди, Кения, Сан-Томе и Принсипи и Замбия [58]. Охват ревакцинацией в AP ВОЗ составил 7%. В 2015 г. ревакцинация осуществлялась в 23 странах AP ВОЗ. Охват второй дозой коревой вакцины в AP ВОЗ составил 18% (рис. 1, 2) [35]. В 2016 г. 24 страны AP ВОЗ использовали вторую дозу корь-содержащей вакцины в рамках надзора за корью. В 2017 г. запланировано введение второй дозы корь-содержащей вакцины в Камеруне, Уганде, на Коморских островах; рассматривается возможность введения второй дозы в 2018 г. в Мали и Мавритании [34].

До введения рутинной вакцинации против кори в 1982 г. охват иммунизацией детей в возрасте 12–23 месяцев в AP составлял около 18% [21]. Было подсчитано, что в ЮАР при 4-летнем интервале между ПДИ смертность от кори приблизится к нулю, если охват рутинной вакцинацией будет превышать 80% и охват вакцинацией по ПДИ достигнет более чем 90% [14, 47]. В 2001 г., до использования ПДИ, уровень охвата вакцинацией оставался низким: в Мали, Буркина-Фасо и Того составлял 37, 69 и 33% соответственно. В течение декабря 2001 г. – января 2002 г. были проведены ПДИ с охватом детей в возрасте 9 месяцев – 14 лет. Всего было вакцинировано 12,7 млн детей указанного возраста в трех странах. Охват ПДИ населения в этих странах составил 95–99% [38]. В странах Центральной Африки большие кампании иммунизации были проведены между 2002 и 2004 гг., затем в 2006–2007 гг. [43]. В 2005 г. 93% детей были вакцинированы однократно, но только 60% получили вторую дозу коревой вакцины [17]. В течение кампаний ПДИ в целом были привиты 30,2 млн детей, однако охват прививкой был ниже 95%. В 2008 г. в общей сложности 7,7 млн детей грудного возраста (27% детей, родившихся в этом году) не получили первой дозы вакцины против кори [34].

В целом охват вакцинацией одной дозой коревой вакцины в AP увеличился с 50% в 2000 г. до 73% в 2008 г. и до 75% в 2010 г. В 2015 г. уровень охвата первой дозой в регионе составил 74% (рис. 1). Высокие показатели охвата вакцинацией в 2015 г. были отмечены в Мавритании (99%), Танзании (99%) и на Сейшельских островах (98%); низкие — в Южном Судане (20%), Экваториальной Гвинее (27%) и ЦАР (49%) [35].

По данным ВОЗ/ЮНИСЕФ, в 2010 г. охват вакцинацией не менее 90% на национальном уровне был достигнут в 18 странах AP ВОЗ.

В течение 2011–2012 гг. приблизительно 133 млн детей были вакцинированы при выполнении 35 дополнительных кампаний вакцинации по кори. В 2013–2016 гг. было проведено 52 ПДИ в 42 странах AP ВОЗ, в ходе которых были привиты около 300 млн детей.

Охват прививкой во время 41 кампании дополнительной иммунизации составил не менее 95% [35]. В 2017–2018 гг. запланированы ПДИ в 28 странах АР ВОЗ, в том числе в Кот-д'Ивуаре, Гвинее, Нигерии и Сьерра-Леоне в 2017 г., в Чаде, Экваториальной Гвинее, Гвинее-Бисау и Южном Судане в 2018 г. [34].

■ Клинические проявления кори в странах Африки

Корь в Африке характеризуется тяжелым течением с высоким риском смерти, чему способствуют недоедание, недостаток витамина А, а также сочетанное коинфицирование, в том числе малярией и вирусными инфекциями [31].

Наиболее частой причиной госпитализации больных корью детей в ЮАР является пневмония (68%) и/или диарея (48%). Так, в одной из больниц Кэйптауна корь диагностировали у 1861 ребенка, из них 552 были госпитализированы. Возраст госпитализированных составил в среднем 7,4 месяцев. Пребывание в госпитале составило в среднем 4 дня. Умерли 18 детей (3% от числа госпитализированных), из них 15 (83%) были младше одного года [31]. В Уганде среди 171 обследованных заболевших корью детей у 136 диагностирована бронхопневмония. Летальность составила 23% для девочек и 20% — для мальчиков;

Таблица 1. Сроки проведения вакцинации и ревакцинации в странах Африканского региона ВОЗ

Одна доза вакцины			Две дозы вакцины		
№ п/п	Страна	Возраст	№ п/п	Страна	Возраст
					первая доза вторая доза
1	Бенин	9 месяцев	1	Алжир	9 месяцев 6 лет
2	Центральная Африканская Республика	9 месяцев	2	Ангола	9 месяцев 15 месяцев
3	Чад	9 месяцев	3	Ботсвана	9 месяцев 18 месяцев
4	Коморские о-ва	9 месяцев	4	Буркина-Фасо	9 месяцев 15 месяцев
5	Конго	36 недель	5	Бурундия	9 месяцев 18 месяцев
6	Кот-д'Ивуар	9 месяцев	6	Кабо-Верде	9 месяцев 15 месяцев
7	Демократическая Республика Конго	9 месяцев	7	Камерун	9 месяцев 15 месяцев
8	Экваториальная Гвинея	9 месяцев	8	Эритрея	9 месяцев 18 месяцев
9	Эфиопия	9 месяцев	9	Гамбия	9 месяцев 18 месяцев
10	Габон	9 месяцев	10	Гана	9 месяцев 18 месяцев
11	Гвинея	9 месяцев	11	Кения	9 месяцев 18 месяцев
12	Гвинея-Бисау	9 месяцев	12	Лесотто	9 месяцев 18 месяцев
13	Либерия	9 месяцев	13	Малави	9 месяцев 15 месяцев
14	Мадагаскар	9 месяцев	14	Маврикий	12 месяцев 5 лет
15	Мали	9 месяцев	15	Мозамбик	9 месяцев 18 месяцев
16	Мавритания	9 месяцев	16	Нигер	9 месяцев 16 месяцев
17	Намибия	9 месяцев	17	Руанда	9 месяцев 15 месяцев
18	Нигерия	9 месяцев	18	Сан-Томе и Принсипи	9 месяцев 18 месяцев
19	Сьерра-Леоне	9 месяцев	19	Сенегал	9 месяцев 15 месяцев
20	Южный Судан	9 месяцев	20	Сейшельские о-ва	15 месяцев 6 лет
21	Того	9 месяцев	21	Южно-Африканская Республика	9 месяцев 12 месяцев
22	Уганда	9 месяцев	22	Свазиленд	9 месяцев 18 месяцев
			23	Танзания	9 месяцев 18 месяцев
			24	Замбия	9 месяцев 18 месяцев
			25	Зимбабве	9 месяцев 18 месяцев

55% умерших детей были в возрасте от 6 до 18 месяцев. Проведенная аутопсия подтвердила наличие бронхопневмонии. Причиной смерти большинства детей было поражение легких вирусом кори, а не вторичная инфекция [18]. У 1–4% африканских детей, заболевших корью, развивалось изъязвление роговицы [23, 31].

Корь — одна из главных причин детской смертности в странах Африки. В 1963–1965 гг. в Сенегале смертельные исходы от кори составляли 26% от всех случаев смерти детей в возрасте от 1 до 4 лет и 19% среди детей старше 5 лет [15]. В эпидемические годы на корь приходилось до 50% смертей детей в возрасте 1–4 лет [42]. По оценкам ВОЗ, в течение 2000 г. в Африке корь стала причиной смерти в 452 тыс. случаев (777 тыс. случаев в мире), в 2004 г. в мире от кори умерло 454 тыс. человек, и половина из них — в зоне суб-Сахары

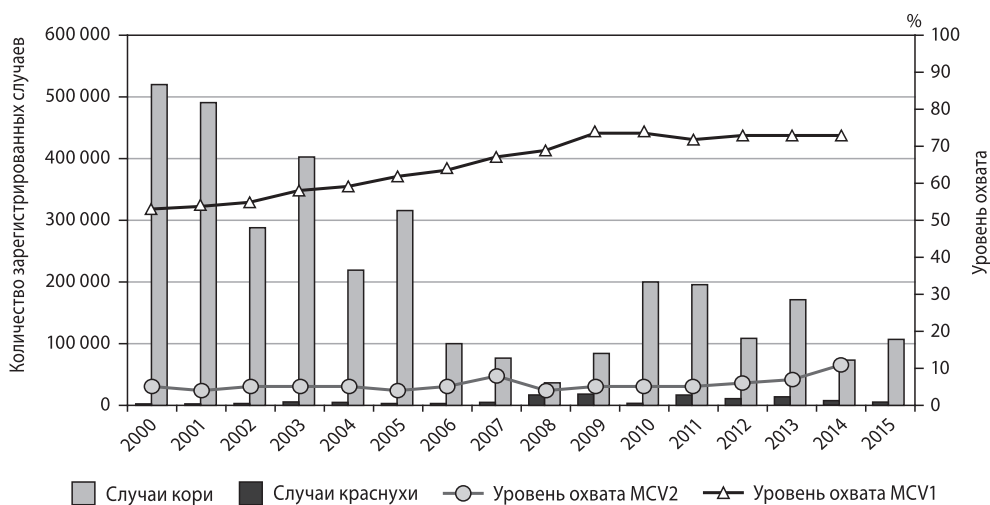


Рисунок 1. Зарегистрированные случаи кори и краснухи и региональный охват вакцинацией против кори первой (MCV1) и второй (MCV2) дозами коревой вакцины в Африканском регионе ВОЗ, 2000–2015 гг.

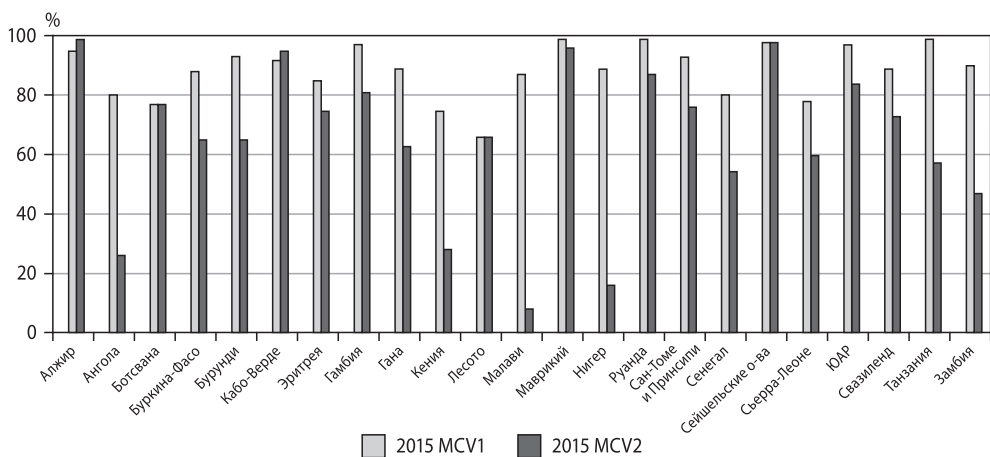


Рисунок 2. Заявленный охват вакцинацией первой и второй дозами (MCV1 и MCV2) корь-содержащей вакцины на административном уровне в Африканском регионе ВОЗ в 2015 г.

Африки [54]. Подсчитано, что летальность при острой инфекции среди людей всех возрастов в Африке составляет около 3–4%. По другим данным, в сельских местностях Африки летальность может достигать 34% [4, 5, 11, 47, 63], а среди городского населения колебаться от 6 до 21% [16, 65]. Для Западной и Центральной Африки смертность от кори может быть в 2 или 3 раза выше, чем расчетный показатель, равный 3% [9]. В настоящее время корь может быть причиной смерти среди детей Африки в 10% случаев [46], а по данным медицинской организации «Медицина без границ» летальность от кори достигает 20% в развивающихся странах.

■ Заболеваемость корью в странах Африканского региона ВОЗ

До введения вакцинации от кори в Африке заболевали преимущественно дети младшего возраста (до 5 лет) [23]. В течение 2002–2009 гг. средний возраст заболевших корью составил 36 месяцев. В странах с охватом одной прививкой не менее чем 50%, было больше заболевших детей старшего возраста и молодых взрослых, чем в странах с низким охватом вакцинацией [53]. По данным Goodson J.L. (2011), средний возраст заболевших составил 6,5 лет [26]. В ЮАР заболеваемость корью в 2009–2011 гг. составила 37 на 100 тыс. населения; из всех 18 431 пациентов с лабораторно подтвержденной корью наибольшая заболеваемость была у детей в возрасте до года (603), 47% больных были ≥ 5 лет (54 на 100 тыс.). Заболеваемость снижалась с возрастом и составила 2 на 100 тыс. у лиц ≥ 40 лет [45]. В течение 2013–2016 гг., в АР ВОЗ зарегистрировано 103 161 случаев кори среди детей в возрасте от 9 месяцев до 6 лет, 79% из которых были не вакцинированы или с неизвестным вакцинным статусом [35]. Пик заболеваемости обычно отмечается во время «сухого» сезона [19].

До введения рутинной вакцинопрофилактики большая вспышка кори в ЮАР была отмечена в 1992 г. [31]. Также вспышки кори отмечались в 1996, 1998 и 2000 гг. В 1996 г. страны Ботсвана, Лесото, Малави, Намибия, ЮАР, Свазиленд и Зимбабве сообщали о 60 тыс. случаев кори и 166 случаях смерти от кори [22, 76]. В результате вакцинопрофилактики, число регистрируемых случаев кори значительно сократилось: с более чем 500 тыс. случаев в 2000 г. до 37 012 случаев в 2008 г. (исторический минимум) [12]. Африканский регион достиг цели сокращения на 90% смертности от кори по сравнению с оценками 2000 г. к концу 2006 г. — на 3 года раньше, чем планируемый для этого региона 2009 год [3]. Например, в 7 странах южной Африки (Ботсвана, Лесото, Малави, Намибия, ЮАР, Свазиленд и Зимбабве), количество ежегодно сообщаемых случаев кори было менее 1 на 1 млн населения в течение 2006–2008 гг. [53]. Тем не менее, уровень охвата вакцинацией был недостаточно высок, и это не смогло предотвратить возникновения крупных вспышек кори в последующие годы. В ноябре 2009 – июле 2010 гг. было подтверждено более чем 18 тыс. случаев кори в одной только ЮАР [31, 44, 53]. В 2010 г. в АР было отмечено около 200 тыс. случаев кори (рис. 1), из них 64% случаев зарегистрированы во время эпидемии в Малави [34]. В 2011–2012 гг. число случаев кори составило 194 364 и 106 052 соответственно, при показателе заболеваемости 223,6 и 118,8 на 1 млн населения. В эти годы большие вспышки кори были также отмечены в Анголе, Буркина-Фасо, ДРК, Замбии, Нигерии, Чаде и Эфиопии [34, 37]. Наибольшее количество случаев кори, по данным Африканского регионального офиса ВОЗ, было зарегистрировано на территории ДРК: в 2011 г. — 133 802, в 2012 г. — 72 029 случаев кори, что составило 68% от всех случаев в регионе [28, 32, 33, 71].

Несмотря на вспышки, количество подтвержденных (лабораторно, эпидемиологически и/или клинически) случаев кори в регионе продолжало снижаться с 43 800 в 2011 г. до 25 905 в 2012 г. Заболеваемость с учетом подтвержденных случаев снизилась с 50,4 до 29,0 на 1 млн населения. В 2013 г. было зарегистрировано 71 529 подтвержденных случаев кори, 30% которых составила вспышка в Нигерии. В 2015 г. в АР ВОЗ зарегистрировано 105 256 подтвержденных случаев кори. Показатель заболеваемости на основании

подтвержденных случаев кори снизился с 76,3 на 1 млн населения в 2013 г. до 27,9 в 2016 г. В 15 странах (32%) число случаев кори было меньше чем 1 на млн населения [35].

К 2016 г. в 19 странах АР ВОЗ проводится исследование не менее 2 случаев экзантемного заболевания с лихорадкой на 100 тыс. населения и исследование образца крови от 1 и более подозрительных на корь случаев не менее чем на 80% территорий ежегодно [35].

В настоящее время в 12 странах региона имеет место низкая заболеваемость корью, что приближает данные страны к конечной цели Стратегического плана 2012–2020 гг. — элиминации инфекции. К числу этих стран относятся: Алжир, Буркина-Фасо, Кабо-Верде, Руанда, Эритрея, Гамбия, Гана, Маврикий, Сенегал, Сейшельские острова, Сан-Томе и Принсипи, Зимбабве. Цель надзора за корью в этих странах — увеличение охвата второй дозой вакцины, надзор за корью по стандартам элиминации, широкий охват ПДИ. Четырнадцать стран АР ВОЗ близки к выполнению поставленных к 2020 г. целей. Одиннадцать стран имеют различные проблемы, связанные с отсутствием безопасности, высокой заболеваемостью корью, частыми большими вспышками кори, проблемами в руководстве. К ним относятся Ангола, Габон, Гвинея-Бисау, ДРК, Камерун, Нигер, Нигерия, Чад, Экваториальная Гвинея, Эфиопия, Южный Судан. Требуется решение существующих проблем, в том числе юридических, политических, укрепления системы здравоохранения и др. [55].

■ Факторы, затрудняющие надзор за корью, на примере некоторых стран Африканского региона ВОЗ

Неудачи в борьбе с корью обусловлены социально-экономическими причинами.

Одна из самых бедных стран мира, Демократическая Республика Конго, является и одной из самых неблагополучных по кори стран в АР ВОЗ [29]. Программа рутинной вакцинации против кори в ДРК включает одну дозу вакцины детям 9–11 месяцев [24, 63]. Дополнительные кампании иммунизации детей 6–59 месяцев планировалось проводить регулярно с интервалом 3 года [64].

В период 2000–2010 гг. в ДРК наблюдалось повышение охвата одной дозой вакцины детей в возрасте 9–11 месяцев с 46 до 70%. В 2007 г. медицинская гуманитарная организация «Врачи без границ», которая работает в ДРК с 1981 г. и является партнером Министерства Здравоохранения в отношении борьбы с эпидемиями кори в последнее десятилетие, провела кампанию вакцинации 100 тыс. детей в возрасте от 6 месяцев до 15 лет [73]. В 2010 г. ВОЗ и ЮНИСЕФ установили, что в ДРК охват прививками среди детей первого года жизни был только 68% [61].

В 2010–2013 гг. в ДРК отмечалась политическая нестабильность. С 1 недели 2010 г. по 45 недель 2013 г. сообщалось о 294 455 случаях кори и 5045 случаях смерти от кори. Коэффициент летальности составил 1,7% среди случаев, зарегистрированных в структурах здравоохранения в рамках национального надзора. Среди больных 63% были дети младше 5 лет. В июле 2011 г. в провинции Моба состоялась четырехдневная кампания вакцинации против кори: было привито 2,1 млн детей в возрасте от 6 месяцев до 15 лет с охватом прививками на административном уровне 95% [41]. В провинции Танганьяка было привито около 1 млн детей в возрасте от 6 месяцев до 15 лет [39]. Несмотря на вакцинацию, продолжались вспышки кори. Только на территориях провинции Моба с февраля по ноябрь 2013 г. сообщалось о 1500 случаях кори с 2 и 5% смертей в Моба и Кансимба соответственно. Приблизительно 80% заболевших были дети младше 5 лет. В эпидемию кори, помимо провинций Моба, были вовлечены и другие территории, в том числе Катанга, Южная Кива и Мулунга. Всего в 2013 г. на этих территориях было зарегистрировано 2470 случаев кори (заболеваемость 34,0 на 1 млн населения). В ответ на вспышку кори в провинции Моба и Кансимба с сентября по декабрь 2013 г. было дополнительно вакцинировано 193 360 детей в возрасте от 6 месяцев до 15 лет [59]. Уровень охвата прививкой в 2013 г. составил 76% и увеличился до 79% в 2015 г. [24, 35, 40]. Однако эпидемия кори не закончилась. В период с 2011 по 2014 гг. доля заболевших во время эпидемии

кори в ДРК составляла от 45 до 69% от всех зарегистрированных случаев кори в АР ВОЗ [28, 32, 33, 71]. В 2014 г. сообщалось о 1595 случаях кори. С 2014 по 2016 гг. заболеваемость корью в АР ВОЗ выросла с 21,3 до 60,1 на 1 млн населения [35].

Распространение кори продолжается в Нигерии [13, 27, 50, 51]. Нигерия является крупнейшим по численности населения государством Африки (194 млн человек в 2015 г.), по меньшей мере шесть городов имеют население более 1 млн человек. На территории этой страны регулярно вспыхивают этнические и межкультурные конфликты. С 2002 г. и по настоящее время действует террористическая исламистская группировка «Боко Харам». В 2013 г. власти Нигерии в трех северных штатах объявили военное положение в связи с деятельностью этой организации. Наиболее вовлеченными в конфликт оказались штаты Борно, Кадуна, Плато, Насарава и Бенуэ. Из-за гуманитарного кризиса в результате конфликта множество людей переселилось как в другие штаты Нигерии, так и в соседние страны. В 2013 г. более 1,4 млн внутренних переселенцев проживали более чем в 100 лагерях, при наличии 4,3 млн постоянных жителей. В этих условиях в 2013 г. зарегистрировано 50 585 случаев кори (292,7 на 1 млн населения). В 2014 г. заболеваемость снизилась до 25,2 на 1 млн населения, однако в 2015 г. было зарегистрировано 11 494 случая кори (63,1 на 1 млн населения) [35]. Уровень охвата первой дозой вакцины был ниже 55% в течение длительного периода времени: 47% — в 2013 г., 54% — в 2015 г. В штате Борно при поддержке ВОЗ, ЮНИСЕФ, CDC и других партнеров была проведена вакцинация более чем 83 тыс. детей в возрасте от 6 месяцев до 15 лет, живущих в лагерях для переселенцев. С начала сентября до 18 декабря 2016 г. через систему раннего оповещения, предупреждения и реагирования ВОЗ сообщалось о более чем 1500 подозрительных на корь случаях в области Борно. Более чем 77% детей младше 5 лет не были вакцинированы, и в этой группе наблюдалось наибольшее число заболевших. В течение двух недель вакцинации подлежали все дети в возрасте от 6 месяцев до 10 лет в трех штатах Нигерии. Была запланирована массовая кампания вакцинации для защиты от вспышек кори более чем 4 млн детей, проживающих в штатах, вовлеченных в вооруженный конфликт [69]. В 2016 г. показатель заболеваемости составил 61,5 на 1 млн населения, зарегистрировано 11 499 подтвержденных случаев кори.

Существенно возрос риск эпидемии кори в результате гуманитарного кризиса, вызванного эпидемией лихорадки Эбола. Системы здравоохранения стран, вовлеченных в эпидемию Эбола, оказались дезорганизованы. Наиболее пострадавшими были страны Западной Африки — Гвинея, Либерия и Сьерра-Леоне. При помощи математического моделирования, Takahashi et al. рассчитали, что до эпидемии Эболы в регионе проживало около 778 тыс. детей в возрасте от 9 месяцев до 5 лет, которые не получили вакцину от кори. Спустя 18 месяцев с начала эпидемии Эбола количество не вакцинированных детей в регионе, согласно расчетам, могло превысить 1,1 млн человек; в случае эпидемии кори могли заболеть более 200 тыс. человек, со смертельным исходом в 2000–16 000 случаев [56]. Ближайшими соседями Либерии, Сьерра-Леоне и Гвинейской Республики являются Сенегал, Мали, Кот-д'Ивуар, Гвинея-Бисау, с которыми, в свою очередь, граничат Бенин, Буркина-Фасо, Гана, Нигер, Нигерия, Того.

В Гвинейской Республике вакцинация против кори проводится однократно детям в возрасте 9 месяцев. До эпидемии Эбола в 2012 г. была проведена кампания дополнительной иммунизации. По результатам проверки путем опроса населения было показано, что только 64,2% обследованных детей имели карты вакцинации. Охват прививкой на основе истории вакцинации и наличия вакцинных карт составил 90,5%. Рассчитанный охват прививкой составил от 72,7 до 81,9%. Причиной пропуска вакцинации наиболее часто были указаны отсутствие информации о вакцинации, занятость родителей, болезнь родителей или детей и другие [20]. В 2013 г. охват прививкой составил 62%, в 2014 г. и 2015 г. — только 52% [35]. По нашим данным, при исследовании 130 сывороток крови на наличие IgG-антител к вирусу кори, выявлены 12,3% серонегативных к кори лиц. Все обследованные в воз-

расте 23 года и старше были серопозитивны к вирусу кори, причем 60% из них имели высокие титры антител. Антитела к вирусу кори отсутствовали или определялись в низких титрах у 76,2% лиц в возрасте до 22 лет, что может быть следствием нарушения плановой вакцинации [7, 8]. В 2016 г. было зарегистрировано 289 подтвержденных случаев кори [74]. В январе–мае 2017 г. общее количество подозрительных на корь случаев составило 6364, лабораторно подтвержденных и эпидемиологически связанных — 3991 случай. Число летальных исходов у больных с диагнозом корь составило 20 человек.

Похожая ситуация складывается в других странах, вовлеченных в эпидемию лихорадки Эбола. В Либерии охват прививкой составил 74% в 2013 г., 58% в 2014 г. и 64% в 2015 г. В период эпидемии Эбола не было зарегистрировано ни одного случая кори; но в 2015 г. отмечено 433 случая, в 2016 г. — 400 подтвержденных случаев. Правительство Либерии заявило, что 10 из 15 округов страны были вовлечены во вспышку кори. Министерство здравоохранения страны официально признало, что эпидемия кори явилась следствием отсутствия вакцинации против кори в результате эпидемии Эбола [12]. В Сьерра-Леоне в 2013 г. охват вакцинацией составлял 83%, было зарегистрировано 13 случаев кори. В 2015 г. уровень охвата одной дозой снизился до 76%, уровень охвата двумя дозами составил 60%, при этом были отмечены 139 случаев кори [35]. В 2016 г. было зарегистрировано 186 подтвержденных случаев кори [74].

Таким образом, в настоящее время требуется усилить работу по вакцинопрофилактике и совершенствованию надзора за корью в странах Западной Африки и в AP ВОЗ в целом.

■ Эндемичная трансмиссия вируса кори в Африканском регионе ВОЗ

Молекулярные исследования, основанные на сравнительной характеристике 450 нуклеотидов вариабельной части гена нуклеопротеина вируса кори по единому протоколу, принятому в 1998 г. по инициативе ВОЗ, являются обязательной частью надзора за корью (124). Принципы номенклатуры и наименования выделенных вирусов кори были введены ВОЗ в 2003 и 2005 гг. [70].

Существуют 22 определенных генотипа и 1 возможный новый (g3). Генетически родственные генотипы объединяются в генетические линии (обозначены A, B, C, D, E, F, G, H) [49].

Для AP ВОЗ эндемичными являются вирусы кори генетической линии B. Линия B подразделяется на 3 генотипа (B1, B2, B3). Вирусы этой группы выделяются практически во всех странах AP, начиная с 2000-х гг.

Генотип B2 был обнаружен в начале 1980-х гг. в Габоне и длительное время не выявлялся. Это позволило предположить, что генотип B2 исчез из циркуляции, однако он был выделен в последующем у пациентов с корью в Анголе и ДРК, а также из материала от импортированных случаев в ЮАР в 2000–2002 гг. Вирусы этого генотипа продолжали выявляться в последующие годы в Анголе, ЦАР, ДРК, Кении, Руанде, ЮАР и Судане. Генотип B2 постоянно циркулирует в Западной Африке.

Генотип B3 включает три субгенотипа — B3.1, B3.2 и B3.3. В Сенегале циркулировали вирусы кори трех субгенотипов B3 в разные годы. Генотип B3 широко распространен в странах AP ВОЗ и был выявлен в разные годы в Алжире, Анголе, Бенине, Ботсване, Буркина-Фасо, Гане, ДРК, Замбии, Зимбабве, Камеруне, Кот-д'Ивуаре, Кении, Лесото, Мали, Малави, Намибии, Нигерии, Уганде, Свазиленде, Судане и ЮАР [19, 25, 45, 52, 53].

Также в странах Африки циркулируют вирусы кори генетической линии D. В 2001 г. в Эфиопии обнаружен генотип D8. В Уганде в 2000–2002 гг. определена циркуляция генотипа D10 вируса кори. Позже изоляты генотипа D10 были выделены в ДРК. В Кении, ДРК и Судане в 2000-х гг. выделялись вирусы кори генотипа D4, а в 2006 г. изоляты генотипа D4 были выявлены в Ботсване, Эфиопии, Кении, Мозамбик, ЮАР, Замбии, Зимбабве и на Коморских Островах. В этом же году в Ботсване, Лесото, Малави, Мозамбик, Намибии, ЮАР и Зимбабве обнаружены вирусы кори генотипа D2.

В 2011–2012 гг. изоляты вируса кори были генотипированы в 20 государствах AP ВОЗ: во всех странах доминировал В3 генотип; в Анголе, ДРК и Намибии выявлен В2; в Уганде — D4 [47, 66, 68].

В 2013–2016 гг. по данным ВОЗ все выделенные 249 изолятов вируса кори из 14 стран AP ВОЗ относились к генотипу В3 [35]. Вирусы генетической линии В по-прежнему являются эндемичными для AP.

■ Заключение

В странах AP ВОЗ существуют общие проблемы обеспечения программы элиминации кори.

Одна из важнейших проблем — организация медицинского обслуживания для купирования вспышек кори. Поддержанию высокой смертности от кори в странах Африки способствуют недостаточная оснащенность медицинских центров и лабораторий, недоедание и наличие других заболеваний, таких как малярия [39]. Существует нехватка медицинских кадров. Так, в Нигерии для выполнения ПДИ потребовалось создание более чем 4000 команд по вакцинации населения [69].

Слабое развитие транспортной системы, в том числе отсутствие автомобильных дорог в сельской местности, является одной из главных проблем в борьбе со вспышками кори. Помимо трудностей, связанных с рельефом, препятствием к проведению кампаний по вакцинации являются вооруженные конфликты [30, 40]. Климатические условия затрудняют соблюдение холодовой цепи при транспортировке вакцин [47].

Недостаточный уровень эпидемиологического надзора за корью в некоторых медицинских учреждениях, представление неполных списков во время вспышек и нехватка персонала для ввода сведений в базы данных может привести к искажению истинного уровня заболеваемости [37]. Не все больные корью получают медицинскую помощь и учитываются в системе надзора, и не обо всех случаях оказания медицинской помощи сообщается [40]. ВОЗ отмечает, что возможны ошибки классификации, сложность учета случаев кори при больших вспышках, а также ошибки при обобщении сводной отчетности, подлежащих обязательной регистрации заболеваний с помощью комплексной системы эпидемиологического надзора и реагирования.

Препятствием для достижения высокого уровня охвата вакцинацией является неполная информированность населения о преимуществах иммунизации.

Необходимо обеспечить высокий уровень охвата двумя дозами коревой вакцины. Рекомендуемый ВОЗ возраст для введения первой дозы коревой вакцины в развивающихся странах — от 7 до 9 месяцев. Увеличение возраста детей, получивших первую дозу вакцины, может привести к росту детской смертности в странах Африки, так как дети, рожденные от женщин, которые не были вакцинированы и не болели ранее, не получают защитных антител с грудным молоком [10].

Для достижения элиминации кори в AP ВОЗ к 2020 г. требуется интенсифицировать усилия по вакцинации населения, улучшить качество эпидемиологического надзора и контроля проводимых мероприятий, мобилизовать экономические ресурсы в дополнение к финансированию от международных организаций [37].

■ Список литературы

1. Африка. Википедия. URL: <https://ru.wikipedia.org/wiki/Африка> (03.10.2017).
2. Бектимиров Т.А. Стратегия ВОЗ по глобальной ликвидации кори. Проблема ликвидации кори. 2002; 4 (22). URL: <http://www.adventus.info/doc/15b2301.php> (03.10.2017).
3. ВОЗ. Глобальная ликвидация кори. Доклад Секретариата. Пункт 11.15 предварительной повестки дня. Шестидесят третья сессия Всемирной Ассамблеи Здравоохранения, А63/18, 25 марта 2010 г. URL: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/4854/1/A63_18-ru.pdf?ua=1 (03.10.2017).
4. ВОЗ. Десятилетие вакцин — Глобальный план действий в отношении вакцин на 2011–2020 гг. URL: http://www.who.int/immunization/global_vaccine_action_plan/DoV_GVAP_2012_2020/ru/ (03.10.2017).

5. ВОЗ. Корь. Информационный бюллетень № 286. Март 2016 г. URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs286/ru/> (03.10.2017).
6. Мир в 2050 году. Количественная оценка сдвигов в глобальной экономике (доклад банка HSBC). URL: http://demographia.ru/articles_N/index.html?idArt=2019 (03.10.2017).
7. Попова А.Ю., Бичурина М.А., Лаврентьева И.Н., Железнова Н.В., Антипова А.Ю., Щербакова С.А., Буаро М.Й., Тотоян Арег А. Изучение уровня иммунитета к вирусу кори в отдельных группах населения Гвинейской Республики в рамках глобальной программы элиминации кори. Сообщение 1. *Инфекция и иммунитет*. 2016; 6 (4): 353–358. doi: 10.15789/2220-7619-2016-4-353-358
8. Попова А.Ю., Бичурина М.А., Лаврентьева И.Н., Железнова Н.В., Антипова А.Ю., Щербакова С.А., Буаро М.Й., Тотоян Арег А. Изучение уровня иммунитета к вирусу кори в отдельных группах населения Гвинейской Республики в рамках глобальной программы элиминации кори. Сообщение 2. *Инфекция и иммунитет*. 2017; 7 (1): 79–84. doi: 10.15789/2220-7619-2016-4-353-358
9. Aaby P., Clements C.J. Measles immunization research: a review. *Bull. World Health Organ.* 1989; 67 (4): 443–448
10. Aaby P., Martins C.L., Garly M.-L., Rodrigues A., Benn C. S., Whittle H. The optimal age of measles immunisation in low-income countries: a secondary analysis of the assumptions underlying the current policy. *BMJ Open*. 2012; 2: e000761. doi: 10.1136/bmjopen-2011-000761
11. Accelerating Progress towards Measles/Rubella Control and Elimination Goals. The 14th Global Measles and Rubella Laboratory Network Meeting, Geneva, 21–23 June 2016. Laboratory Recommendations. URL: http://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/burden/laboratory/MR_labnet_Recommendations_2016.pdf?ua=1 (03.10.2017).
12. Andrews N.M. Liberia, Chad Top Measles Deaths. AllAfrica. URL: <http://allafrica.com/stories/201603290762.html> (03.10.2017).
13. Bassey B.E., Gasasira A., Weldegabriel G., Sylvester M.T., Richard K.I., Thompson I., Benjamin A., Agwai S., Akpan G.U. Impact of a Nationwide Measles Immunization Campaign and Routine Immunization in Nigeria, 2006–2010: A Critical Review of South-South, Nigeria. *Sci. J. Public Health*. 2015; 3 (5): 693–698. doi: 10.11648/j.sjph.20150305.25
14. Biellik R., Madema S., Taole A., Kutsulukuta A., Allies E., Eggers R., Ngcobo N., Nxumalo M., Shearley A., Mabuzane E., Kufa E., Okwo-Bele J.-M. First five years of measles elimination in Southern Africa: 1996–2000. *Lancet*. 2002; 359 (9137): 1564–1568.
15. CANTRELLE. Hortalite par rougeole dans la region du Sine-Saloum (Sénégal) 1963–1965. Conditions de vie de l'enfance en milieu rural en Afrique. Paris: Centre International de l'Enfance. 1968; 156–158.
16. Center for Disease Control and Prevention. Measles eradication: Recommendations from a meeting cosponsored by the WHO, the PAHO and CDC. *MMWR*. 1997; 46 (RR–II): 1–20. URL: <https://www.cdc.gov/mmWR/preview/mmwrhtml/00047959.htm> (03.10.2017).
17. Corrigan J., Coetzee D., Cameron N. Is the Western Cape at risk of an outbreak of preventable childhood diseases? Lessons from an evaluation of routine immunisation coverage. *S. Afr. Med. J.* 2008; 98: 41–45.
18. Debusse P.J., Lewis M.G., Mugerwa J.W. Pulmonary complications of measles in Uganda. *J. Trop. Pediatr.* 1970; 16 (4): 197–203.
19. Dia N., Fall A., Ka R., Fall A., Kiori D.E., Goudiaby D.G., Fall A.D., Faye E.H.A., Dosseh A., Ndiaye K., Diop O.M., Niang M.N. Epidemiology and genetic characterization of measles strains in Senegal, 2004–2013. *PLoS ONE*. 2015; 10 (5): e0121704. doi: 10.1371/journal.pone.0121704
20. Doumptsop J.G.T., Malano E.R., Diallo I.T., Sirimah C. An evaluation of the 2012 measles mass vaccination campaign in Guinea. *Pan. Afr. Med. J.* 2014; 17: 4. doi: 10.11604/pamj.2014.17.4.2475
21. Effects of health programs on child mortality in Sub-Saharan Africa. Ed. Ewbank D.C., Gribble J.N. Washington, DC: The National Academies Press. 1993: 208. doi: 10.17226/2208
22. Eliminating Measles in Southern Africa. Case 17. URL: https://www.cgdev.org/sites/default/files/archive/doc/millions/MS_case_17.pdf (03.10.2017).
23. Foster A., Johnson G.J. Measles corneal ulceration and childhood blindness: Prevention and treatment. *Trop. Doct.*, 1988; 18 (2): 74–78.
24. Gil Cuesta J., Mukembe N., Valentiner-Branth P., Stefanoff P., Lenglet A. Measles Vaccination Coverage Survey in Moba, Katanga, Democratic Republic of Congo, 2013: Need to Adapt Routine and Mass Vaccination Campaigns to Reach the Unreached. *PLoS Currents Outbreaks*. 2015; 1. doi: 10.1371/currents.outbreaks.8a1b00760dfd81481eb42234bd18ced3
25. Global distribution of measles and rubella genotypes – update. *Wkly Epidemiol. Rec.* 2006; 81 (51/52): 474–480.
26. Goodson J.L., Masresha B.G., Wannemuehler K., Uzicanin A., Cochi S. Changing epidemiology of measles in Africa. *J. Infect. Dis.* 2011; 204 (1): 205–214. doi: 10.1093/infdis/jir129
27. Grigsby M.E., Adetosoye J.I. Measles epidemiology and control in Western Nigeria. *J. Nat. Med. Assoc.* 1973; 65 (5): 378–385.

28. Grout M., Minetti A., Hurtado N., Francois G., Fermon F., Chatelain A. Harczi G., Ngoie J.D.I., N'Goran A., Luquero F.J., Grais R.F., Porten K. Measles in Democratic republic of Congo: an outbreak description from Katanga, 2010–2011. *BMC Infect. Dis.* 2013; 13: 232. doi: 10.1186/1471-2334-13-232
29. International Monetary Fund. World Economic and Financial Surveys. World Economic Outlook Database. URL: <http://www.imf.org/external/pubs/ft/weo/2017/01/weodata/index.aspx> (03.10.2017).
30. Kalia R. Congo measles outbreak death toll rises. University Herald Reporter. 2015. URL: <http://www.universityherald.com/articles/22244/20150813/congo-measles-outbreak-death-toll-rises-the.htm> (03.10.2017).
31. Le Roux D.M., Le Roux S.M., Nuttall J.J., Eley B.S. South African measles outbreak 2009–2010 as experienced by a paediatric hospital. *S. Afr. Med. J.*, 2012; 102 (9): 760–764. doi: 10.7196/SAMJ.5984
32. Mancini S., Coldiron M.E., Ronse A., Kebela B., Porten K., Grais R.B. Description of a large measles epidemic in Democratic Republic of Congo, 2010–2013. *Conf. Health.* 2014; 8: 9. doi: 10.1186/1752-1505-8-9
33. Masresha B.G. 12th Annual Meeting of the Measles and Rubella Initiative. 2013. URL: <http://www.measlesrubellainitiative.org/resources/reports/meeting-presentations/#2012-annual-meeting> Accessed on March 2014 (03.10.2017).
34. Masresha B.G. Measles pre-elimination and resurgence in the African region. Global Measles Management Meeting Geneva 15–17 March 2011. Outline. Regional goal Routine immunization Second opportunity immunization through SIAs Measles case-based surveillance. URL: <http://www.slideserve.com/magar/measles-pre-elimination-and-resurgence-in-the-african-region> (03.10.2017).
35. Masresha B.G., Dixon M.G., Kriss J.L., Katsande R., Shibeshi M.E., Luce R., Fall A., Dosseh A.R.G.A., Byabamazima C.R., Dabbagh A.J., Goodson J.L., Mihigo R. Progress Toward Measles Elimination — African Region, 2013–2016. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2017; 66 (17): 436–443. doi: 10.15585/mmwr.mm6617a2
36. Masresha B.G., Fall A., Eshetu M., Sosler S., Alleman M., Goodson J.L., Katsande R., Nshimirimana D. Measles Mortality Reduction and Preelimination in the African Region, 2001–2009. *J. Infect. Dis.* 2011; 204: 198–204.
37. Masresha B.G., Kaiser R., Eshetu M., Katsande R., Luce R., Fall A., Dosseh A.R.G.A., Naouri B., Byabamazima Ch.R., Perry R., Dabbagh A.J., Strebel P., Kretsinger K., Goodson J.L., Nshimirimana D. Progress toward measles preelimination – African region, 2011–2012. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2014; 63 (13): 285–291.
38. Measles Mortality Reduction – West Africa, 1996–2002. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2004; 53 (2): 28–30.
39. Médecins Sans Frontières. Children who survived measles are now suffering from malnutrition and malaria. 24 Februar 2016. URL: http://www.ecoi.net/local_link/320406/459656_de.html (03.10.2017).
40. Médecins Sans Frontières. Democratic Republic of Congo: Fighting measles in South Kivu. 8 February 2017. URL: <http://www.msf.org/en/article/democratic-republic-congo-fighting-measles-south-kivu> (03.10.2017).
41. Médecins Sans Frontières. Measles: mass vaccination in Katanga, DR Congo. 2008. URL: <http://www.msf.org.uk/article/measles-mass-vaccination-katanga-dr-congo> (03.10.2017).
42. Mogensen S.W., Aaby P., Smedman L., Martins C.L., Rodrigues A., Benn C.S., Ravn H. Introduction of standard measles vaccination in an urban African community in 1979 and overall child survival: a reanalysis of data from a cohort study. *BMJ Open.* 2016; 6: e011317. doi: 10.1136/bmjopen-2016-011317
43. Moodley S. Immunisation coverage: Western Cape: Review of the data January 2001–2004. *Cape Town: Provincial Government of the Western Cape.* 2004.
44. NICD NHLS. *Communicable Diseases Surveillance Bulletin.* 2009; 7: 15.
45. Ntshoe G.M., McAnerney J.M., Archer B.N., Smit Sh. B., Harris B. N., Tempia S., Mashele M., Singh B., Thomas J., Cengimbo A., Blumberg L. H., Puren A., Moyes J., Cohen C. Measles Outbreak in South Africa: Epidemiology of Laboratory-Confirmed Measles Cases and Assessment of Intervention, 2009–2011. *PLoS ONE.* 2013; 8 (2): e55682. doi: 10.1371/journal.pone.0055682
46. Ofosu-Amaah S. The Control of Measles in Tropical Africa: A Review of Past and Present Efforts. *Rev. Infect. Dis.* 1983; 5 (3): 546–553.
47. Pan American Health Organization. Global Measles Eradication: Target 2010? *EPI Newsletter.* 1996; 18 (4): 1–3.
48. Patel M.K., Gacic-Dobo M., Strebel P.M., Dabbagh A., Mulders M.N., Okwo-Bele J.-M., Dumolard L., Rota P.A., Kretsinger K., Goodson J.L. Progress towards regional measles elimination – worldwide, 2000–2015. *Wkly Epidemiol. Rec.* 2016; 45: 525–536.
49. Rota P.A., Featherstone D.A., Bellini W.J. Molecular epidemiology of measles virus. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2009; 330: 129–150.
50. Salako A.A., Sholeye O.O. Control of measles in Nigeria: a critical review of the literature. *British Journal of Medicine & Medical Research.* 2015, 5 (2): 160–168.
51. Saleh J.E.A. Trends of measles in Nigeria: a systematic review. *Sahel Med. J.* 2016; 19 (1): 5–11. doi: 10.4103/1118-8561.181887
52. Scobie H.M., Ilunga B.K., Mulumba A., Shidi C., Coulibaly T., Obama R., Tamfum J.J.M., Simbu E.P., Smit Sh.B., Masresha B., Perry R.T., Alleman M.M., Kretsinger K., Goodson J. Antecedent causes of a measles resurgence in the Democratic Republic of the Congo. *Pan Afr. Med. J.* 2015; 21: 30. doi: 10.11604/pamj.2015.21.30.6335

53. Shibeshi M.E., Masresha B.G., Smit S.B., Biellik R.J., Nicholson J.L., Muitherero C., Shivute N., Walker O., Reggis K., Goodson J.L. Measles resurgence in southern Africa: challenges to measles elimination. *Vaccine*. 2014; 32 (16): 1798–1807. doi: 10.1016/j.vaccine.2014.01.089
54. Stein C., Birmingham M., Kurian M., Duclos P., Strebel P. The global burden of measles in the year 2000 a model using country-specific indicators. *J. Infect. Dis.* 2000; 187 (1): S8–S14.
55. Strebel P., WHO, IVB/EPI. Status of Measles and Rubella Elimination — Regions and Global. Closing immunity gaps in older children and adults towards measles and rubella elimination: lessons learned and challenges. 10 May 2016. URL: http://www.sabin.org/sites/sabin.org/files/status_of_measles_and_rubella_elimination_strebel.pdf (03.0.2017).
56. Takahashi S., Metcalf S.J.E., Ferrari M.J., Moss W.J., Truelove Sh.A., Tatem A.J., Grenfell B.T., Lessler J. Reduced vaccination and the risk of measles and other childhood infections post-Ebola. *Science*. 2015; 347 (6227): 1240–1242. doi: 10.1126/science.aaa3438
57. The 14th Annual Measles and Rubella Initiative Partners Meeting. 15–16 September. 2015. Washington, DC. URL: <http://measlesrubellainitiative.org/the-14th-annual-measles-rubella-initiative-partners-meeting/> (03.10.2017).
58. The Measles and Rubella Initiative. Annual Report. 2013; 49. URL: http://www.who.int/immunization/diseases/measles/mri_annual-report_2013.pdf (03.10.2017).
59. Turner W., Boggini J., Ruiz J., Criado-Perez A., Canonico L., Poggi L., Gil V. Emergency measles intervention: Moba, Katanga DRC. Unpublished results. Médecins Sans Frontières, Amsterdam.
60. Uzacinan A., Eggers R., Webb E., Harris B., Durrheim D., Hawkrigde A., Biellik R. Impact of the 1996–1997 supplementary measles vaccination campaigns in South Africa. *Int. J. Epidemiol.* 2002; 31(5): 968–976.
61. WHO. African Region. Measles outbreaks and progress towards meeting measles pre-elimination goals. *Wkly Epidemiol. Rec.* 2011; 13 (14): 129–136.
62. WHO. African regional guidelines for measles surveillance. Brazzaville, Congo: World Health Organization. 2011. URL: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/4854/1/A63_18-ru.pdf?ua=1 (03.10.2017).
63. WHO. Global measles and rubella strategic plan: 2012–2020. Geneva, Switzerland: World Health Organ. 2012. URL: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44855/1/9789241503396_eng.pdf (03.10.2017).
64. WHO. Immunizations, vaccines and biologicals. Data, statistics and graphs. URL: http://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/data/en (03.10.2017).
65. WHO. Immunization, vaccines and biologicals. Measles and rubella laboratory network. URL: http://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/burden/laboratory/measles/en (03.10.2017).
66. WHO. Immunizations, vaccines and biologicals. Measles and rubella surveillance data. URL: http://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/burden/vpd/surveillance_type/active/measles_monthlydata/en (03.10.2017).
67. WHO. Measles elimination by 2020 — a strategy for the African region. Geneva, Switzerland: World Health Organization, Regional Office for Africa. 2011. URL: <http://afro.who.int/sites/default/files/sessions/resolutions/AFR-RC61-R1-Measles-elimination-by-2020---A-strategy-for-the-African-Region.pdf> (03.10.2017).
68. WHO. Measles virus nomenclature update: 2012. *Wkly Epidemiol. Rec.* 2012; 87 (9): 73–80.
69. WHO. Millions of children to receive measles vaccine in north-eastern Nigeria. URL: <http://www.who.int/features/2017/measles-vaccination-nigeria/en> (03.10.2017).
70. WHO. New genotype of measles virus and update on global distribution of measles genotypes. *Wkly Epidemiol. Rec.* 2005; 80 (40): 341–352.
71. WHO. Progress towards measles pre-elimination, African Region, 2011–2012. *Wkly Epidemiol. Rec.* 2014; 13 (89): 141–152.
72. WHO. Recommended Surveillance Standards. WHO/CDS/CSR/ISR/99.2. Second edition. URL: <http://www.who.int/csr/resources/publications/surveillance/whocdscsr992.pdf> (03.10.2017).
73. WHO. Report of the second meeting of the African regional measles technical advisory group (TAG), recommendations. Addis Ababa, Ethiopia: World Health Organization, Regional Office for Africa. 2008. URL: http://www.afro.who.int/index.php?option=com_docman&task=doc_download&gid=3616 (03.10.2017).
74. WHO. Reported measles cases and incidence rates by WHO Member States 2016, 2017 as of 11 April 2017. URL: http://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/burden/vpd/surveillance_type/active/measles_monthlydata/en/index1.html (03.10.2017).
75. WHO information note. Guidance for Immunization Programmes in the African Region in the Context of Ebola. 18 March 2015. URL: <http://www.who.int/csr/resources/publications/ebola/immunization.pdf> (03.10.2017).
76. Yishay A.B., Kranker K. All-Cause Mortality Reductions from Measles Catchup Campaigns in Africa. *J. Hum. Res.* 2015; 50 (2): 516–547.

Изучение уровня иммунитета к вирусу кори в отдельных группах населения Гвинейской Республики в рамках глобальной программы элиминации кори

А.Ю. Попова, М.А. Бичурина, И.Н. Лаврентьева, Н.В. Железнова,
А.Ю. Антипова, С.А. Щербакова, М.И. Буаро, Арег А. Тотолян

■ Введение

Несмотря на наличие доступных высокоиммуногенных вакцин, корь остается одной из основных причин детской смертности в развивающихся странах и периодически приводит к возникновению крупных вспышек в индустриально развитых [17]. Эта проблема приобрела особую актуальность после принятия ВОЗ стратегического плана по борьбе с корью, в соответствии с которым поставлена цель снижения заболеваемости корью в глобальном масштабе и элиминации инфекции в отдельных регионах мира к 2010 г. [7]. Элиминация кори достигнута в Американском регионе, сертифицированном ВОЗ, как регион, свободный от эндемичной кори, в 2002 г. [14].

Успех в борьбе с корью в глобальном масштабе достигается благодаря выполнению основных задач стратегического плана ВОЗ: поддержанию высокого уровня охвата прививками двумя дозами вакцины против кори ($\geq 95\%$); проведению дополнительной иммунизации восприимчивого населения; усилению системы эпидемиологического надзора за счет тщательного расследования и лабораторного подтверждения каждого подозрительного случая; улучшению доступа населения к высококачественной и достоверной информации о преимуществах и рисках, связанных с вакцинацией.

В 2000–2010 гг. число зарегистрированных случаев кори в мире сократилось на 65%, а расчетное число смертей — на 70%. Эти показатели — результат постоянного повышения глобального уровня охвата детей первичной вакцинацией против кори, который за этот период увеличился на 13%. Кроме того, постоянно растет количество привитых двумя дозами вакцины. В целом, за период с 2000 по 2010 гг. против кори привито около 1 млрд детей.

Однако, несмотря на успехи в борьбе с корью, в мире по-прежнему возникают эпидемические вспышки этого заболевания [1, 12]. В период 2010–2016 гг. регистрировалась вспышечная заболеваемость корью, в том числе в США и ряде Европейских стран с высоким уровнем охвата вакцинацией [8, 10, 13, 14, 16]. Были зарегистрированы крупные вспышки кори и на Африканском континенте: в Демократической Республике Конго (более 121 тыс. случаев), на юге Африки (176 тыс. случаев), в Нигерии (около 30 тыс. случаев) и в ряде других африканских стран [5, 9, 11].

В связи с подъемом заболеваемости, в мире был принят новый стратегический план, который предусматривал другие сроки элиминации кори в отдельных регионах ВОЗ. Элиминация кори в Западно-Тихоокеанском регионе ВОЗ предусматривалась к 2012 г.; в Европейском и Восточно-Средиземноморском регионах — к 2015 г.; в Африканском — к 2020 г. В регионе Юго-Восточной Азии ставилась задача снижения смертности от кори к 2015 г. В настоящее время сроки реализации глобальной программы элиминации кори и краснухи вновь перенесены.

В Гвинейской Республике проживает более 12 млн человек, из них детей в возрасте до 5 лет — около 2 млн, детей до 15 лет — около 5 млн. Вакцинация против кори проводится однократно детям в возрасте девять месяцев. По данным ВОЗ, в период с 1980

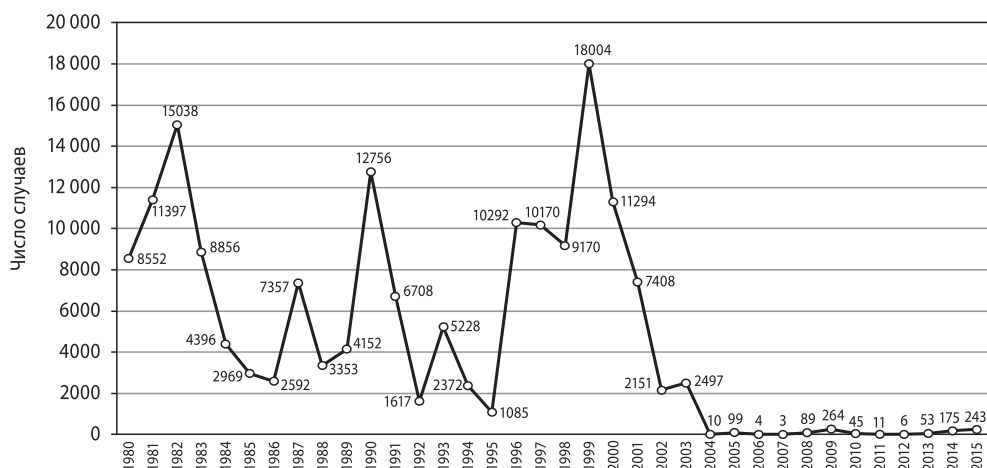


Рисунок 1. Число случаев кори в Гвинейской Республике в период 1980–2015 гг. (WHO/IVB, 2016)

по 2001 г. заболеваемость корью в Гвинее была высокой, в отдельные годы регистрировали до 15–18 тыс. больных в год (рис. 1). В 2002 г. число случаев кори снизилось в 3,4 раза по сравнению с 2001 г. и в 8,4 раза по сравнению с 1999 г. В последующие годы регистрировали единичные случаи кори. Однако в 2014–2015 гг. отмечен рост заболеваемости корью в Гвинейской Республике: по данным ВОЗ за 11 месяцев 2016 г. число подозрительных на корь случаев равнялось 616, а лабораторно подтвержденных — 290. Показатель заболеваемости составил 2,68 на 100 тыс. населения. Очевидно, подъем заболеваемости связан со снижением уровня охвата вакцинацией против кори с 90–99% в 2010–2013 гг. до 60–62% в 2014–2015 гг. из-за эпидемии лихорадки Эбола, распространившейся в стране в эти годы.

Для снижения риска возникновения и распространения крупных эпидемических вспышек кори на Африканском континенте ВОЗ рекомендует проводить кампании дополнительной иммунизации против кори после прекращения передачи вируса Эбола. Очевидно, что повышение эффективности таких кампаний связано с выявлением эпидемически значимых возрастных групп населения, подлежащих дополнительной вакцинации [17].

Цель данного исследования — определение уровня иммунитета к кори в разных возрастных группах населения Гвинейской Республики.

■ Материалы и методы

Исследовано:

- 25 сывороток крови здоровых взрослых гвинейцев в возрасте от 28 до 66 лет;
- 257 сывороток крови, полученных от детей и взрослых, находившихся на стационарном лечении в госпитале г. Кинди (Гвинейская Республика). Клинические образцы были получены в 2015–2016 гг.

Сыворотки крови исследовали в ИФА на наличие IgM-антител к вирусу кори с тест-системой «Anti-Measles Virus ELISA (IgM)»; на наличие IgG-антител к вирусу кори с тест-системой «Anti-Measles Virus ELISA (IgG)»; авидность IgG-антител определяли с тест-системой «Avidity: Anti-Measles Virus ELISA (IgG)». Перечисленные тест-системы производства Euroimmun Medizinische Labordiagnostika AG (Германия) использовали в соответствии с инструкцией по применению. Часть сывороток исследована на наличие IgM-антител к вирусу кори в ИФА с тест-системой «Вектор-Бест IgM-корь» (Россия).

Статистическая обработка данных проводилась методом параметрической статистики с использованием t-критерия Стьюдента для определения значимости различий между явлениями. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

■ Результаты и обсуждение

При исследовании сывороток крови, полученных в 2016 г. от 25 взрослых (3 женщины и 22 мужчин) на наличие IgM-антител к вирусу кори с использованием тест-системы «Anti-Measles Virus ELISA (IgM)», производства Euroimmun Medizinische Labordiagnostika AG (Германия), IgM-корь-антитела были выявлены в четырех образцах. При исследовании этих же образцов с тест-системой «Вектор-Бест IgM-корь» (Россия), результаты были отрицательными. В этих же четырех сыворотках крови выявлены высокие титры IgG-корь-антител (более 2000 IU/L) с высокой авидностью (более 83,5%). В трех из четырех образцов выявлены также IgM-антитела к цитомегаловирусу и вирусу Эпштейна–Барр.

Вероятно, выявление IgM-антител к вирусу кори в четырех образцах при использовании тест-системы «Anti-Measles Virus ELISA (IgM)», следует расценивать как ложно положительные результаты, обусловленные неспецифическими факторами, допустимая частота которых, как указано фирмой Euroimmun Medizinische Labordiagnostika AG, может достигать 29% при наличии в сыворотках IgM-антител к вирусу Эпштейна–Барр [15].

Сравнительная количественная оценка IgG-антител к вирусу кори у здоровых взрослых гвинейцев была проведена в 2015 и 2016 гг. Суммированные данные о титре IgG-антител к вирусу кори, полученные с интервалом в один год, представлены в табл. 1. При оценке титров IgG-антител в динамике, колебания значений не превышавшие 275,0 IU/l считали не существенными.

Только у одного обследованного в возрасте 30 лет не были обнаружены IgG-антитела к вирусу кори, как в 2015 г., так и в 2016 г. В 2016 г. в большинстве (68%) из 25 исследованных сывороток IgG-антитела были выявлены в высоких титрах, равных или превышающих

Таблица 1. Определение IgG-антител к вирусу кори у клинически здоровых гвинейцев в динамике (2015 и 2016 гг.)

№ п/п	№ образца	Титр IgG, IU/L		снижение (↓) количества IgG-АТ
		2015 г.	2016 г.	
1	1	380,0	380,0	—
2	2	125,0	147,0	—
3	5	1630,0	1360,0	—
4	6	2790,0	2380,0	↓
5	10	3500,0	2500,0	↓
6	11	2100,0	2100,0	—
7	12	≥ 5000,0	≥ 5000,0	—
8	13	≥ 5000,0	≥ 5000,0	—
9	14	3000,0	2090,0	↓
10	15	750,0	790,0	—
11	16	≥ 5000,0	4860,0	—
12	17	≥ 5000,0	3790,0	↓
13	18	940,0	940,0	—
14	21	отр	отр	—
15	23	1410,0	1620,0	—
16	24	4000,0	3500,0	↓
17	25	4090,0	2940,0	↓

Примечание. Количественное определение IgG-антител (в IU/L): < 200 IU/L — отрицательный результат; ≥ 200 < 275 IU/L — сомнительный результат; ≥ 275 IU/L — положительный результат.

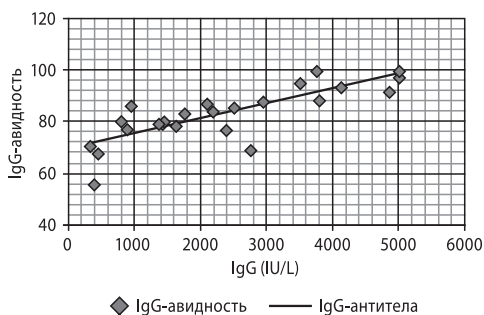


Рисунок 2. Зависимость содержания противокоревых IgG-антител и их авидности

При исследовании сывороток крови, полученных от пациентов госпиталя г. Кинди в 2015 г., с помощью тест-системы «Вектор-Бест IgM-корь» ретроспективно были выявлены IgM-корь антитела в клиническом образце одного больного (оптическая плотность 0,685 при положительном контроле 0,321 и более). При этом IgG антитела у пациента отсутствовали, следовательно, он не был привит. В стационаре диагноз «корь» не был установлен. Полученные данные свидетельствуют о не выявленном случае кори.

При исследовании 210 сывороток крови больных известного возраста, находившихся на стационарном лечении в госпитале г. Кинди в 2015–2016 гг, на наличие IgG-антител к вирусу кори, были выявлены 36 (17,1%) серонегативных к кори лиц. Возраст еще 25 серонегативных к кори пациентов не установлен. Общее количество серонегативных к кори лиц равнялось 61, что составило 23,7% от числа обследованных.

Распределение сывороток крови пациентов по возрасту и титру IgG-корь антител представлены в табл. 2.

В возрастной группе до 17 лет выявлено семеро детей и подростков, не имеющих IgG-антител к вирусу кори. У 16 лиц этой возрастной группы преобладали не высокие значения титров IgG, а именно, в диапазоне 201–1000 IU/L. Вероятно, это поствакцинальные антитела. У 8 детей и подростков регистрировали высокие титры антител (более 1001 IU/L), что свидетельствует о недавно перенесенной кори. Высокие титры IgG-антител против кори выявлены, в том числе, у двух детей в возрасте 2 года 7 месяцев (1600 и 3200 IU/L), что также свидетельствует о недавно перенесенном заболевании. Очевидно, все эти дети не были привиты.

Высокие титры IgG-антител (1001 — > 3000 IU/L) регистрировали у 10 человек из 44 обследованных в возрасте 18–22 года ($22,7 \pm 6,4\%$). В то же время, в группе лиц 23 года и старше аналогичные показатели определяли у достоверно большего числа пациентов, а именно у 53 человек ($39,2 \pm 6,2\%$) ($p < 0,05$). Установленные значения титров антител являются, очевидно, показателем перенесенной в прошлом кори.

Таблица 2. Распределение сывороток пациентов по возрасту и титру IgG-корь антител

Оптическая плотность, IU/L	Возраст (лет)					
	До 17	18–22	23–40	41 и старше	Всего	
Менее 200,0	7	14	14	1	36	82,9%
201,0–1000,0	16	20	35	32	103	
1001,0–3000,0	3	4	14	13	34	
> 3000,0	5	6	8	18	37	
Всего	31	44	71	64	210	100%

В возрастной группе 18–22 года выявлено 14 серонегативных к кори из 44 обследованных (31,8%); среди пациентов 23–40 лет обнаружено 14 серонегативных к кори из 71 обследованного (19,7%). В целом, среди пациентов 18–40 лет доля серонегативных составила $24,3 \pm 5,1\%$, что достоверно выше ($p < 0,05$), чем среди лиц старше 41 года, где из 64 обследованных был выявлен лишь один серонегативный к кори человек ($1,6 \pm 3,6\%$).

Учитывая, что в Гвинейской Республике крупные вспышки кори были зафиксированы в 1981–1982 гг. и в 1996–2000 гг., когда заболеваемость достигала 15 000–18 000 на 100 тыс. населения [5], можно предположить, что выявленное в настоящем исследовании существенное превалирование серопозитивных к кори среди обследованных нами пациентов госпиталя г. Киндия в возрасте 23 лет и старше, связано с коревой инфекцией, которую данные лица перенесли в годы эпидемических вспышек в 80–90-е гг. прошлого столетия.

Как упоминалось, после интенсивного течения эпидемического процесса в последнее десятилетие XX в., начиная с 2002 г. в Гвинейской Республике в течение ряда лет регистрировали единичные случаи заболевания [5]. Так, показатель заболеваемости корью в 2012 г. составил 0,05 на 100 тыс. населения. Однако в 2015–2017 гг. отмечен новый подъем заболеваемости корью в Гвинейской Республике с возникновением эпидемических вспышек в отдельных провинциях.

Можно предположить, что 37 из 210 обследованных нами человек, имеющих титры IgG-корь выше 3000 IU/L, перенесли корь в последнее время.

Важно отметить, что антитела к вирусу кори отсутствовали или определялись в низких титрах у 76% лиц в возрасте до 22 лет, что может свидетельствовать о нарушениях плановой вакцинации детей.

■ Заключение

Многолетний международный опыт глобальной борьбы с корью убедительно доказывает эпидемиологическую эффективность вакцинопрофилактики кори при достижении и поддержании высокого (95% и более) уровня охвата прививками подлежащих вакцинации контингентов.

Так, на территории Российской Федерации реализация программы элиминации кори к 2010 г. [3, 4], разработанная в соответствии с резолюцией ВОЗ, способствовала существенному снижению заболеваемости корью, укреплению национальной системы иммунизации против этой инфекции, совершенствованию эпидемиологического надзора за корью и другими экзантемными заболеваниями. В России более 95% детей привито двумя дозами живой коревой вакцины [2, 6].

Изучение напряженности иммунитета к вирусу кори в Гвинейской Республике показало, что среди лабораторно обследованных детей и взрослых, IgG-антитела к вирусу кори обнаружены в большинстве случаев. Вместе с тем в каждой возрастной группе выявлены серонегативные лица, а также лица с низким уровнем противокоревых антител. В целом нами выявлено 23,7% серонегативных к кори лиц от числа обследованных пациентов госпиталя г. Киндия. Среди пациентов 18–40 лет доля серонегативных составила $28,5 \pm 5,1\%$ от числа обследованных. Эти когорты восприимчивы к заражению вирусом кори и могут способствовать поддержанию и активизации эпидемического процесса при возникновении вспышек коревой инфекции в Гвинейской Республике.

Всемирная организация здравоохранения отмечает, что «любые перебои в области оказания услуг по иммунизации, даже кратковременные, приводят к росту числа людей, восприимчивых к инфекции, и повышают вероятность возникновения вспышек болезней, предотвратимых с помощью вакцин» [17]. Для снижения риска возникновения крупных вспышек кори в районах, свободных от передачи вируса Эбола, ВОЗ рекомендует проводить кампании массовой противокоревой вакцинации.

Список литературы

1. Бичурина М.А., Железнова Н.В., Лялина Л.В., Антипова А.Ю., Тимофеева Е.В. Успехи и проблемы на этапе сертификации территорий Северо-Западного федерального округа на отсутствие эндемичной кори. *Инфекция и иммунитет*. 2012; 2 (1–2): 503–504.
2. Бичурина М.А., Тимофеева Е.В., Железнова Н.В., Игнатъева Н.А., Шульга С.В., Лялина Л.В., Дегтярев О.В. Вспышка кори в детской больнице Санкт-Петербурга в 2012 г. *Журнал инфектологии*. 2013; 5 (2): 96–102.
3. Национальная программа элиминации кори к 2010 году. Приказ МЗ РФ № 270 от 19.08.2002.
4. Онищенко Г.Г., Ежлова Е.Б., Лазикова Г.Ф., Мельникова А.А., Ватолина А.А., Тихонова Н.Т., Герасимова А.Г. Реализация программы ликвидации кори в Российской Федерации. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2011; 4: 51–56.
5. Попова А.Ю., Бичурина М.А., Лаврентьева И.Н., Железнова Н.В., Антипова А.Ю., Щербакова С.А., Буаро М.Й., Тотолян А.А. Изучение уровня иммунитета к вирусу кори в отдельных группах населения Гвинейской Республики в рамках глобальной программы элиминации кори. Сообщение 1. *Инфекция и иммунитет*. 2016; 6 (4): 353–358.
6. Тихонова Н.Т., Ежова Е.Б., Герасимова А.Г., Цвиркун О.В., Мамаева Т.А., Наумова М.А. Проблемы элиминации кори в Российской Федерации. *Инфекция и иммунитет*. 2012; 2 (1–2): 522–523.
7. Элиминация кори и краснухи и предупреждение врожденной краснушной инфекции. Стратегический план Европейского региона ВОЗ 2005–2010 гг. *ВОЗ*, 2005: 31.
8. Batzing-Feigenbaum J., Pruckner U., Beyer A., Sinn G., Dinter A., Mankertz A., Siedler A., Schubert A., Suckau M. Spotlight on measles 2010: preliminary report of an ongoing measles outbreak in a subpopulation with low vaccination coverage in Berlin, Germany, January–March 2010. *Euro Surveill*. 2010; 15 (13): 19527.
9. CDC. Measles outbreak. Hennepin County, Minnesota. *MMWR Weekly*. 2011; 60 (13): 421.
10. Eaton L. Measles cases in England and Wales rise sharply in 2008. *BMJ*. 2009; 338: b533. doi: 10.1136/bmj.b533
11. Getahun M., Beyene B., Ademe A., Teshome B., Tefera M., Asha A., Afework A., Hailemariam Y., Assefa E., Gallagher K. Epidemiology of laboratory confirmed measles virus cases in Amhara Regional State of Ethiopia, 2004–2014. *BMC Infect. Dis.*, 2016; 16: 133. doi: 10.1186/s12879-016-1457-7
12. Global distribution of the measles and rubella genotypes — update. *Wkly Epidemiol. Rec*. 2006; 81: 469–480.
13. Kasper S., Holzmann H., Aberle S.W., Wassermann-Neuhold M., Gshiel H., Finstra O., Allerberger F., Schmid D. Measles outbreak in Styria, Austria, March–May 2009. *Euro Surveill*, 2009; 14 (40): 19347.
14. Kutty P., Rota J., Bellini W., Redd S.B., Barskey A., Wallace G. CDC. Manual for the surveillance of vaccine-preventable diseases. May 20, 2011. URL: <https://www.cdc.gov/vaccines/pubs/surv-manual/chpt07-measles.html> (20.02.2017).
15. Ratnam S., Tipples G., Head C., Fauvel H., Fearon M., Ward B.J., Performance of indirect immunoglobulin M (IgM) serology tests and IgM capture assays for laboratory diagnosis of measles. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 38 (1): 99–104.
16. Sugerman D.E., Barskey A.E., Delea M.G., Ortega-Sanchez I.R., Bi D., Ralston K.G., Rota P.A., Waters-Montijo K., Le Baron C.W. Measles outbreak in a highly vaccinated population, San Diego, 2008: role internationally undervaccinated. *Pediatrics*, 2010; 125: 747–755. doi: 10.1542/peds.2009-1653
17. WHO vaccine-preventable diseases: monitoring system. 2016 global summary. URL: http://apps.who.int/immunization_monitoring/globalsummary/countries?countrycriteria%5Bcountry%5D%5B%5D=GIN&commit=OK (20.02.2017).

Влияние инфицирования парвовирусом B19 на течение малярии в Гвинейской Республике

И.Н. Лаврентьева, И.В. Хамитова, А.Е. Левковский, Ю.В. Останкова, А.П. Агафонов, Е.В. Чуб, Арег А. Тотолян

■ Введение

Парвовирусная инфекция (ПВИ) широко распространена в мире; более 80% взрослого населения имеют антитела класса G к парвовирусу B19 [5]. Возбудителем ПВИ является ДНК-содержащий парвовирус B19 (PVB19). PVB19 обладает тропностью к быстроделющимся клеткам, несущим Р-антиген (рецептор Gb4). Это клетки-предшественницы эритроидного ростка костного мозга, ткани печени, селезенки, сердца и кишечника, зрелые эритроциты, гранулоциты, эндотелиальные гладкомышечные клетки сосудов. В зависимости от гематологического и иммунологического статуса проявления ПВИ варьируют от асимптомного течения или легкого экзантемного заболевания (инфекционная эритема) до тяжелых форм (апластический криз, панцитопения, острый гепатит, фульминантная печеночная недостаточность, энцефалит, кардиомиопатия и миокардит), осложняя течение заболеваний, сопровождающихся иммунодефицитами (онкологические, гематологические и др.) [2, 4, 8, 16]. По сведениям ряда авторов, инфицирование PVB19 может спровоцировать более тяжелое течение малярии [1, 7, 11, 13].

Малярия — трансмиссивное паразитарное заболевание, вызываемое простейшим рода *Plasmodium*, широко распространенное в странах Экваториальной Африки, Юго-Восточной Азии, Океании, Центральной и Южной Америки.

По данным ВОЗ, в 2015 г. в мире зарегистрировано около 212 млн случаев малярии и, предположительно, 429 000 случаев летальных исходов; 91 страна мира эндемична по малярии. Проблема особенно актуальна для Африканского континента к югу от Сахары. На эту территорию приходится 90% случаев заболевания и 92% случаев смерти от малярии в мире. В Гвинейской Республике (ГР) в 2015 г. было выявлено 811 тыс. случаев лабораторно подтвержденной малярии [17].

Заболевание протекает циклически, с лихорадочными пароксизмами, гепатолиенальным и анемическим синдромами. Тяжелыми осложнениями малярии, приводящими к летальным исходам, могут быть церебральная (малярийная) кома, малярийный алгид, разрыв селезенки, отек мозга, острая почечная недостаточность, ДВС-синдром, острый массивный гемолиз, гемоглобинурия, геморрагический синдром.

Цель исследования: изучение влияния инфицирования парвовирусом B19 больных малярией на клиническое течение и исход основного заболевания.

■ Материалы и методы

В период 2016–2017 гг. на наличие ДНК PVB19 исследованы образцы плазмы крови 173 больных госпиталя префектуры Фрия Гвинейской Республики с лабораторно подтвержденным диагнозом «Малярия».

ДНК PVB19 выявляли методом ПЦР с помощью наборов реагентов Амплипрайм «РИБО-преп» и «АмплиСенс®Parvovirus B19-FL» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) в соответствии с инструкцией.

Статистическую обработку результатов проводили по анализу частотных распределений и таблицам сопряженности, с использованием статистической программы GraphPadInStat 3. Достоверность различий и доверительный интервал определяли по t-критерию Стьюдента. Различия считали достоверными при $p < 0,01$.

■ Результаты

Клиническое течение малярии у 173 обследованных пациентов оценивали как «простое» и «осложненное».

Простое, не требующее стационарного лечения, течение малярии выявлено у 102 (59,0±1,8%) пациентов. Эта форма заболевания характеризовалась лихорадкой, не превышающей 38–39°C, общей слабостью, умеренной анемией (концентрация гемоглобина более 70 г/л). Количество трофозоитов не превышало 100 в 1 мкл крови.

У 71 (41,0±1,8%) человека течение малярии было осложненным и сопровождалось подъемом температуры до 38–40°C, тошнотой, рвотой, тяжелой анемией (концентрация гемоглобина менее 70 г/л), высокими уровнями трансаминаз, креатинина, снижением общего белка в крови. Количество трофозоитов при этой форме заболевания превышало 100 в 1 мкл крови. В 7 (4,05±1,1%) случаях тяжелое течение болезни привело к летальному исходу.

Плазма крови больных простой и осложненной формами малярии была исследована на наличие ДНК PVB19. Полученные результаты представлены в табл. 1.

В целом, ДНК PVB19 была обнаружена в 39 (22,6±3,2%) образцах крови.

Как в первой (ДНК PVB19+), так и во второй (ДНК PVB19–) группе больных отмечались случаи простого и осложненного течения малярии и случаи смерти. Однако в группе с ко-инфекцией PVB19 и *P. falciparum* показатели осложнений и смертности оказались существенно выше и наблюдались у 28 (71,8±7,2%) пациентов, причем в 5 (12,8±5,3%) случаях заболевание закончилось смертью. В группе больных малярией без ПВИ осложнения имели место в 43 (32,1±4,0%) случаях и умерло 2 (1,5±1,04%) человека.

Таким образом, вероятность развития осложненного течения малярии при сочетанной инфекции достоверно выше, чем при отсутствии ПВИ ($p < 0,0001$; $RR = 3,657$; 95% CI: 1,951–6,855).

При изучении возрастного распределения 172 больных с указанием возраста (табл. 2), установлено, что группа детей до 5 лет (медиана 3 года) наиболее многочисленна в структуре больных малярией — 64 (37,2±3,7%) человека. Наименьшее число заражений малярией приходится на возрастную группу 46–65 лет (медиана 50 лет) — это 8 случаев, что составляет 4,6±1,6%. Примечательно, что ДНК PVB19 в плазме крови больных этой группы не обнаружено.

В других группах пациентов, больных малярией, наличие в плазме крови ДНК PVB19 характеризуется следующей динамикой: среди детей до 5 лет выявляется с частотой 21,9±5,2% (медиана 3); в группе 6–10 лет (медиана 8) частота выявления возрастает до 32,3±8,4%, в группе 11–15 лет (медиана 12,5) доходит до максимального показателя — 40,0±10,9%. Эти результаты свидетельствуют о широкой распространенности ПВИ среди пациентов детского и подросткового возраста и соответствуют имеющимся в литературе данным [3, 13, 15]. Затем показатель снижается до 17,2±7,0% в группе 16–25 лет (медиана 20) и до 10,0±6,7% в группе 26–45 лет (медиана 35).

Таблица 1. Влияние инфицирования PVB19 на течение малярии у больных префектуры Фрия Гвинейской Республики

Течение малярии	Число больных	Обнаружение ДНК PVB19	
		ДНК PVB19+ абс./%	ДНК PVB19– абс./%
Простое	102	11/28,2 ±7,2	91/67,9 ±4,0
Осложненное	71	28/71,8 ±7,2	43/32,1 ±4,0
Летальный исход	7	5/12,8 ±5,3	2/1,5 ±1,04
Всего	173	39/22,6 ±3,2	134/77,5 ±3,2

Максимальное число случаев осложненного течения малярии при ПВИ ($n = 13$) приходится на больных до 5 лет, что составляет $92,9 \pm 6,9\%$ данной группы. Важно отметить, что на эту же группу приходится 5 из 7 случаев летального исхода, то есть достоверно выше, чем при отсутствии ПВИ ($p = 0,0069$; $RR = 3,487$; $95\% \text{ CI: } 1,999-6,083$).

С возрастом частота осложненной малярии на фоне ПВИ снижается: среди пациентов 6–15 лет до $62,5-60,0\%$ случаев, 16–25 лет — до 40% случаев. Различия в тяжести течения основного заболевания среди пациентов 26–45 лет с выявленным или отсутствующим маркером ПВИ (ДНК PV B19) не существенны.

■ Обсуждение

Известно, что у серонегативных лиц при первичном инфицировании парвовирус в острой фазе может вызывать нарушение образования эритроцитов вплоть до 5–7 дней, что приводит к значительному снижению гемоглобина [14, 15]. Эритроциты являются также основной мишенью малярийного плазмодия, который размножаясь, разрушает их, и вызывает анемию различной степени тяжести. По мнению ряда авторов, инфицирование ПВИ происходит на фоне снижения клеточного иммунитета, вызванного *P. falciparum* [3, 6]. Имеются данные, что в эндемичных для малярии регионах тяжелые формы анемии являются главной причиной детской смертности. Так, тяжелая анемия считается причиной детской смерти при малярии в 17–54% случаев [10, 12].

Полученные результаты коррелируют с данными других исследователей по изучению сочетанной ПВИ-малярийной инфекции у детей в эндемичных по малярии регионах: среди детей до 5 лет абсолютное большинство случаев ПВИ сопровождалось осложненным течением малярии [3, 9, 15].

Если учесть, что в африканских странах, согласно исследованиям, от 50 до 90% населения к 6 годам имеют IgG-антитела к PVB19 [14] и, исходя из полученных результатов, можно предполагать, что вероятность осложненного течения малярии при ПВИ зависит возраста больного. Чем старше пациент, тем выше вероятность наличия у него иммунитета к парвовирусу, и, следовательно, тем меньшее влияние оказывает ПВИ в случае сочетанной инфекции.

Первичное заражение, которое, как правило, приходится на ранний детский возраст, наоборот, протекает остро и может усугублять течение малярии, особенно на фоне других неблагоприятных условий (дефицит железа, недоедание, гельминтные инвазии, коинфекции и пр.). При этом инфицирование PVB19 становится критическим фактором, который может провоцировать злокачественное течение анемии с угрозой для жизни, а также вызывать другие осложнения.

В целом, результаты данного исследования свидетельствуют о высокой медико-социальной значимости парвовирусной инфекции для стран, эндемичных по малярии.

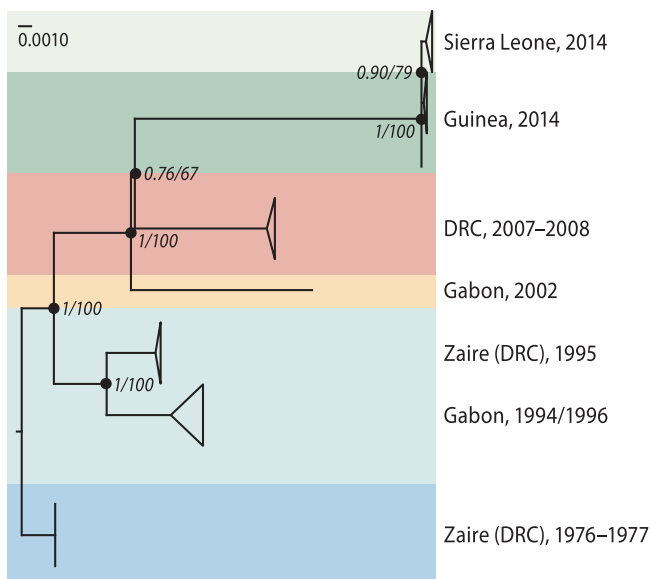
Таблица 2. Распределение больных малярией с сочетанной парвовирусной инфекцией по возрастным группам

Возрастные группы	Количество пациентов абс./%	из них ДНК PVB19+		
		Всего абс./%	Простое абс./%	Осложненное абс./%
0–5 лет	64/37,2 $\pm$ 3,7	14/21,9 $\pm$ 5,2	1/0,58 $\pm$ 0,58	13/7,56 $\pm$ 2,02
6–10 лет	31/18,0 $\pm$ 2,9	10/32,3 $\pm$ 8,4	4/2,33 $\pm$ 1,15	6/3,49 $\pm$ 1,40
11–15 лет	20/11,6 $\pm$ 2,4	8/40,0 $\pm$ 10,9	3/1,74 $\pm$ 1,0	5/2,91 $\pm$ 1,28
16–25 лет	29/16,9 $\pm$ 2,9	5/17,2 $\pm$ 7,0	3/1,74 $\pm$ 1,0	2/1,16 $\pm$ 0,82
26–45 лет	20/11,6 $\pm$ 2,4	2/10,0 $\pm$ 6,7	0/0,0	2/1,16 $\pm$ 0,82
46–65 лет	8/4,6 $\pm$ 1,6	0/0,0	0/0,0	0/0,0
Всего	172/100	39/22,6 $\pm$ 3,2	11/6,4 $\pm$ 1,9	28/16,3 $\pm$ 2,8

Список литературы

1. Agarwal R., Baid R., Datta R., Saha M., Sarkar N. Falciparum malaria and parvovirus B19 coinfection: a rare entity. *Trop. Parasitol.* 2017; 7 (1): 47–48.
2. Caforio A.L.P., Bottaro S., Iliceto S. Dilated cardiomyopathy (DCM) and myocarditis: classification, clinical and autoimmune features. *Applied Cardiopulmonary Pathophysiology.* 2012; 16: 82–95.
3. Duedu K.O., Sagoe K.W., Ayeh-Kumi P.F., Affrim R.B., Adiku T., Huat L.B. The effects of co-infection with human parvovirus B19 and Plasmodium falciparum on type and degree of anaemia in Ghanaian children. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 2013; 3 (2): 129–139.
4. Florea A.V., Ionescu D.N., Melhem M.F. Parvovirus B19 Infection in the immunocompromised host. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2007; 131: 799–804.
5. Heegaard E.D., Brown K.E. Human parvovirus B19. *Clin. Microbiol. Rev.* 2002; 15: 485–505.
6. Ho M., Webster H.K., Looareesuwan S., Supanaranond W., Phillips R.E., Chanthavanich P., Warrell D.A. Antigen-specific immunosuppression in human malaria due to Plasmodium falciparum. *J. Infect. Dis.* 1986; 153: 763–771.
7. Ingrassia F., Gadaleta A., Maggi P., Pastore G. Plasmodium falciparum malaria and Parvovirus B19; a case of acute co-infection. *BMC Infect. Dis.* 2010; 10: 87.
8. Jitschin R., Peters O., Plentz A., Turowski P., Segerer H., Modrow S. Impact of parvovirus B19 infection on paediatric patients with haematological and/or oncological disorders. *Clin. Microbiol. Infect.* 2011; 17 (9): 1336–1342.
9. Manning L., Laman M., Rosanas-Urgell A., Michon P., Aipit S., Bona C., Siba P., Mueller I., Davis T.M. Severe anemia in Papua New Guinean children from a malaria-endemic area: a case-control etiologic study. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2012; 6 (12): 1972.
10. Newton C.R., Warn P.A., Winstanley P.A., Peshu N., Snow R.W., Pasvol G., Marsh K. Severe anaemia in children living in a malaria endemic area of Kenya. *Trop. Med. Int. Health.* 1997; 2 (2): 165–178.
11. Scarlata F., Gianelli E., Miceli S., Galimberti L., Antinori S. Acute Parvovirus B19 Infection and Anemia during Plasmodium falciparum malaria. *Clin. Infectious Dis.*, 2002; 35 (11): 1449–1451.
12. Slutsker L., Taylor T.E., Wirima J.J., Steketee R.W. In-hospital morbidity and mortality due to malaria-associated severe anaemia in two areas of Malawi with different patterns of malaria infection. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1994; 88: 548–551.
13. Toan N.L., Sy B.T., Song le H., Luong H.V., Binh N.T., Binh V.Q., Kandolf R., Velavan T.P., Kremsner P.G., Bock C.T. Co-infection of human parvovirus B19 with Plasmodium falciparum contributes to malaria disease severity in Gabonese patients. *BMC Infect Dis.* 2013; 13: 375.
14. Wildig J., Cossart Y., Peshu N., Gicheru N., Tuju J., Williams T.N., Newton C.R. Parvovirus B19 infection and severe anaemia in Kenyan children: a retrospective case control study. *BMC Infect. Dis.* 2010; 10: 88.
15. Wildig J., Michon P., Siba P., Mellombo M., Ura A., Mueller I., Cossart Y. Parvovirus B19 infection contributes to severe anemia in young children in Papua New Guinea. *J. Infect. Dis.* 2006; 194 (2): 146–153.
16. Wong S., Young N.S., Brown K.E. Prevalence of parvovirus B19 in liver tissue: no association with fulminant hepatitis or hepatitis-associated aplastic anemia. *J. Infect. Dis.* 2003; 187: 1581–1586.
17. World Malaria Report 2016. URL: <http://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2016/report>

Иллюстрация к статье «Организация и проведение диагностических исследований на базе мобильного комплекса специализированной противоэпидемической бригады в Республике Гвинея в период эпидемии лихорадки Эбола в 2014 г.» (с. 19–22)



Иллюстрации к статье «Причины развития эпидемии лихорадки Эбола в Западной Африке» (с. 65–73)

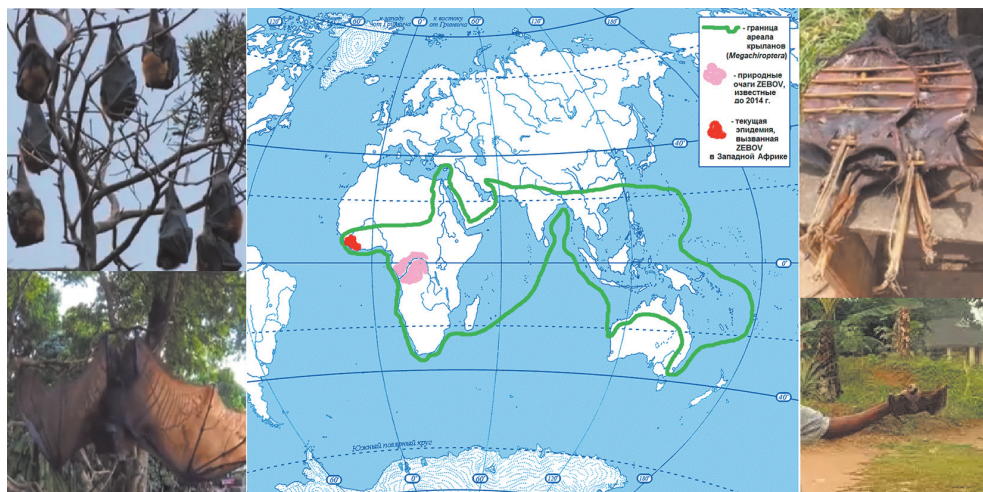


Рисунок 1. Слева сверху: крыланы (*Megachiroptera*, *Pteropodidae*) на дневке. Слева внизу: вспугнутый крылан. Карта в центре: ареал крыланов (по [7, 16]), природные очаги эболавруса Заир (ZEBOV — *Zaire ebolavirus*), известные до 2014 г., и современная региональная эпидемия, вызванная ZEBOV, в Западной Африке. Справа сверху: завяленные крыланы. Справа внизу: пойманный молотоголовый крылан

Иллюстрации к статье «Причины развития эпидемии лихорадки Эбола в Западной Африке» (с. 65–73)

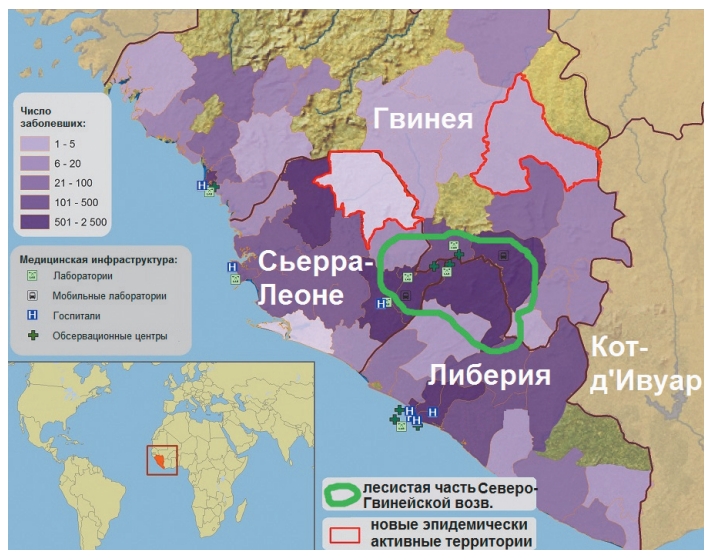


Рисунок 2. Масштабы эпидемии лихорадки Эбола в Западной Африке (данные ВОЗ по состоянию на 22.10.2014)



Рисунок 3. Академик РАН, д.м.н. В.В. Малеев и д.б.н. М.Ю. Щелканов в обсервационном Центре госпиталя «Донка» (г. Конакри, Гвинейская Республика)



Рисунок 4. Российская экспертно-рекогносцировочная группа среди сотрудников медицинского пункта КБК «РУСАЛ» (г. Дебелё, Гвинейская Республика)

В первом ряду справа — начальник медицинской службы в Гвинейской Республике КБК «РУСАЛ» Г.А. Ковалев.

Иллюстрации к статье «Пять мифов о лихорадке Эбола: где кончается вымысел?» (с. 74–85)

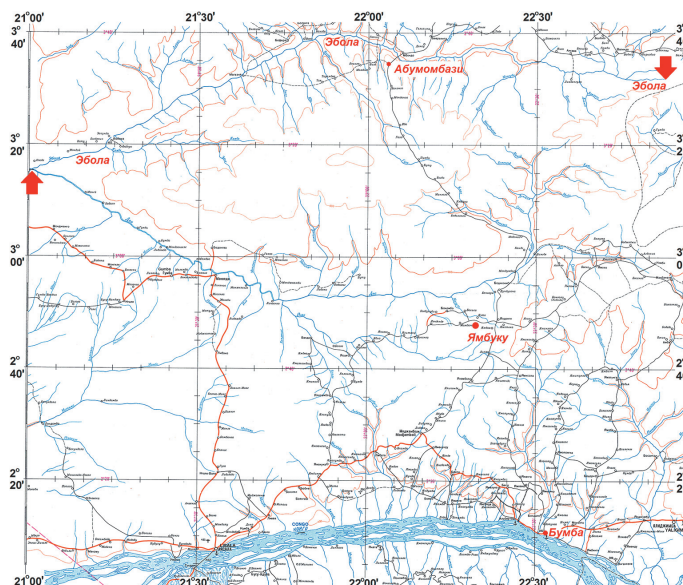


Рисунок 2. Фрагмент топографического листа А34-2 (Демократическая Республика Конго)

Красным цветом выделены обсуждаемые в тексте географические объекты: р. Эбола, д. Ямбуку (2° 49' 23" с.ш., 22° 18' 28" в.д.); г. Бумба (2° 11' 07" с.ш., 22° 31' 12" в.д.); г. Абуомбази (3° 34' 23" с.ш., 22° 04' 29" в.д.). Стрелками отмечены исток (3° 32' 42" с.ш., 22° 52' 45" в.д.) и устье (3° 15' 46" с.ш., 21° 00' 42" в.д.) р. Эбола, которая является притоком р. Конго, а именно: р. Эбола → р. Два → р. Монгала → р. Конго.

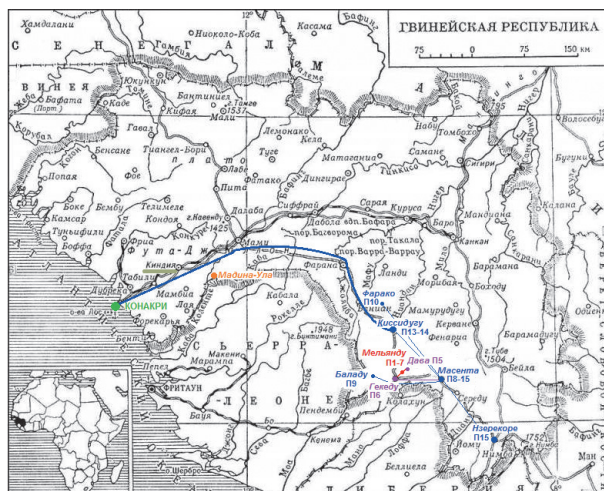


Рисунок 3. Динамика развития эпидемии лихорадки Эбола в Западной Африке

Красным цветом выделена д. Мельянду, где произошло заражение П1-7 (декабрь 2013 г. — январь 2014 г.); сиреневым цветом обозначены населенные пункты, куда инфекция была занесена в конце января 2014 г.; синим — в феврале-марте 2014 г. В столице Гвинеи г. Конакри (выделен зеленым цветом) первые случаи заболевания были выявлены 27.03.2014. Оранжевым цветом выделен центр округа (супрефектура) Мадина-Ула, среди населения которого была зарегистрирована эпидемическая вспышка геморрагической лихорадки неясной этиологии в марте-августе 1982 г. Подчеркиванием выделен г. Киндия, где в период 14–18.12.2014 силами российских военно-медицинских специалистов был развернут и передан Министерству здравоохранения Гвинеи мобильный госпиталь.

Иллюстрации к статье «Пять мифов о лихорадке Эбола: где кончается вымысел?» (с. 74–85)

Рисунок 4. Спутниковый снимок деревни Мельянду (провинция Нзерекоре, префектура Гекеду Гвинейской Республики), откуда началось распространение современной эпидемии лихорадки Эбола, этиологически связанной с эболовирусом Заир, в декабре 2013 г.

Красной стрелкой показано расположение дома семьи Уамунó, первой столкнувшейся с заболеванием; коричневой стрелкой — квадраты рисовых чеков; желтой стрелкой — банановой плантации.



Рисунок 5. Экспертно-рекогносцировочная группа российских специалистов в типичном ландшафте на плато Фута-Джаллон (август 2014 г.): академик РАН, д.м.н. В.В. Малеев (Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва) и д.б.н. М.Ю. Щелканов (Тихоокеанский государственный медицинский университет, г. Владивосток)



Рисунок 6. Участники рабочего совещания под председательством Главного государственного санитарного врача Российской Федерации д.м.н. А.Ю. Поповой (пятая слева) в ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», г. Саратов (директор — д.м.н., академик РАН В.В. Кутырев [четвертый слева]) по организации деятельности специализированной противоэпидемической бригады в Гвинейской Республике

Иллюстрации к статье «Пять мифов о лихорадке Эбола: где кончается вымысел?» (с. 74–85)



Рисунок 7. Мобильный лабораторный модуль российской специализированной противоэпидемической бригады на территории Национального госпиталя «Донка» Министерства здравоохранения Гвинейской Республики



Рисунок 8. Освящение, согласно местным обычаям, места закладки российско-гвинейского Центра микробиологических исследований в г. Киндия (12.11.2014) (см. рис. 9)



Рисунок 9. Открытие российско-гвинейского Центра микробиологических исследований в г. Киндия (17.01.2015)



Рисунок 10. Президент Гвинейской Республики Альфа Конде (на переднем плане) беседует с начальником специализированной противоэпидемической бригады Роспотребнадзора к.м.н. В.А. Сафроновым (первый справа) на открытии российско-гвинейского Центра микробиологических исследований в г. Киндия (17.01.2015)

Иллюстрация к статье «Сравнительный анализ секвенированных образцов вируса *Zaire ebolavirus* из Гвинейской Республики» (с. 93–101)

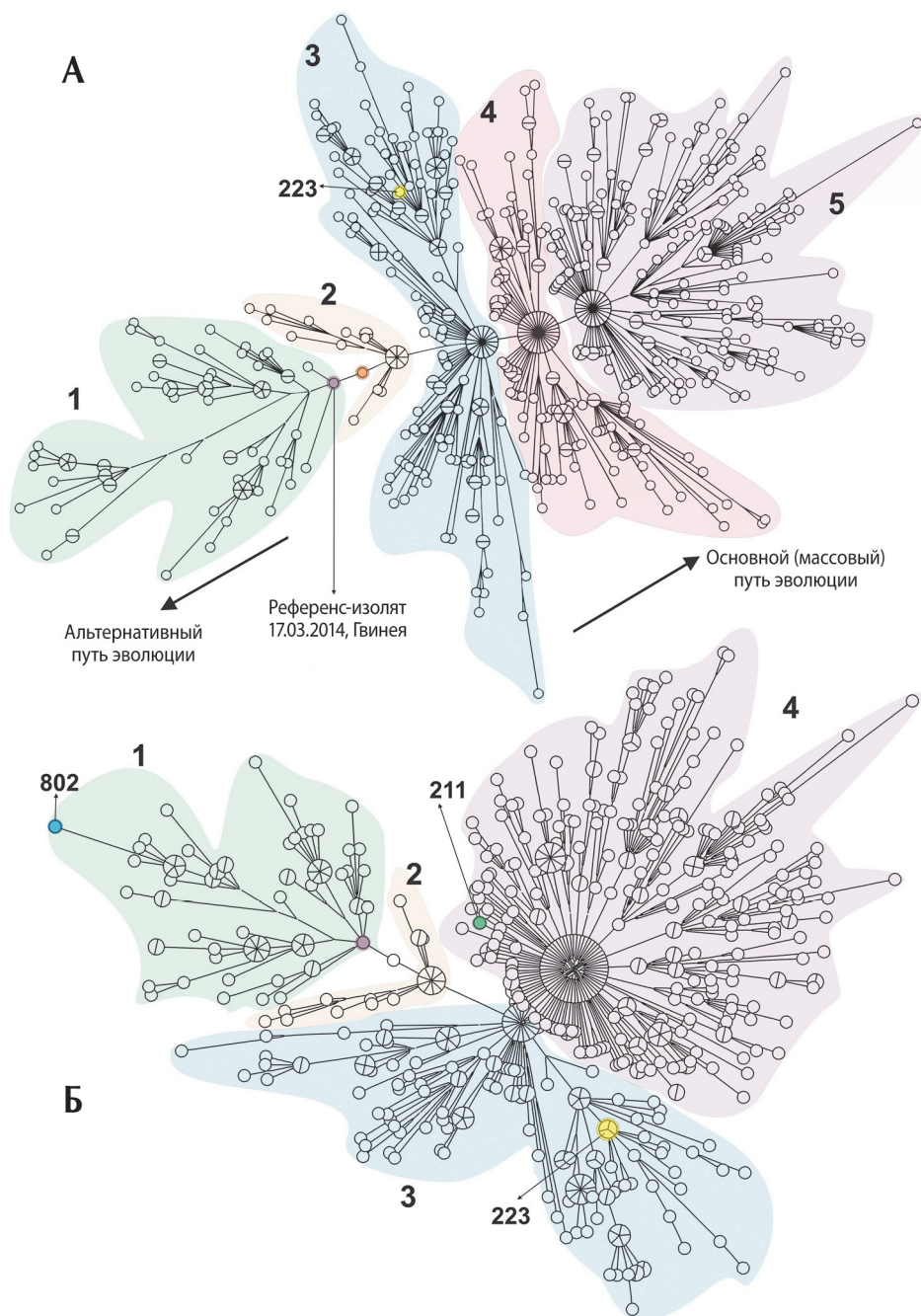


Рисунок. Неукорененное филогенетическое дерево, построенное по алгоритму Maximum parsimony на основании профиля из 931 SNP (А) и 825 SNP (Б) от группы из 646 и 648 геномов ZE соответственно

Иллюстрации к статье «Выявление РНК возбудителей лептоспироза в материале от мелких млекопитающих, отловленных в провинции Киндия Гвинейской Республики» (с. 163–166)

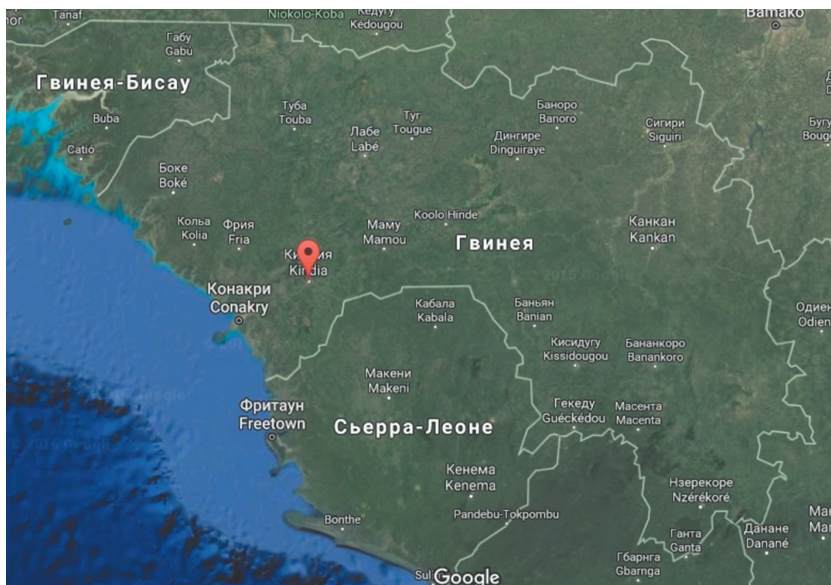


Рисунок 1. Гвинейская Республика, меткой обозначен г. Киндия

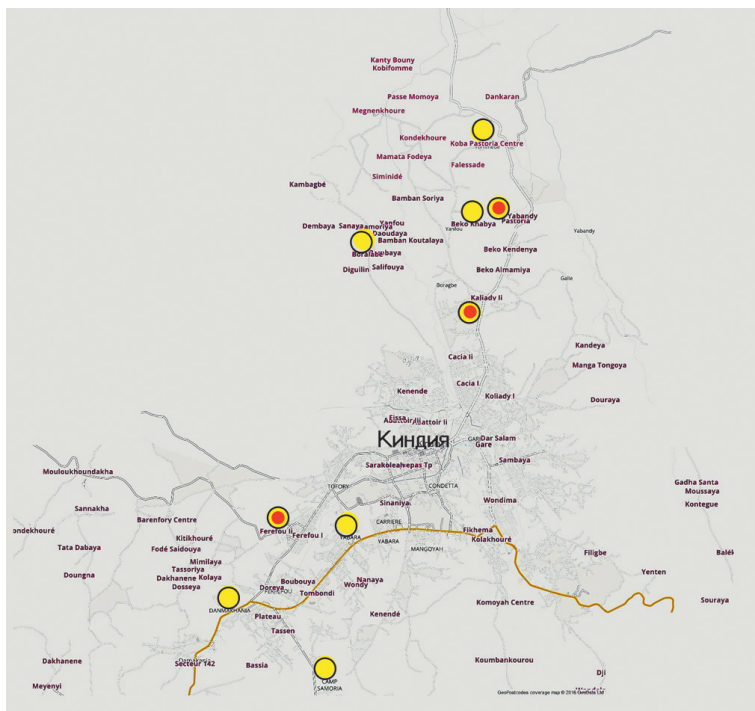


Рисунок 2. Точки отлова мелких млекопитающих (желтые кружки) и положительных проб (красные кружки)

