

# ЛИХОРАДКА ЛАССА. ЧАСТЬ 2. ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА, ЛЕЧЕНИЕ, РАЗРАБОТКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ\*



Е.И. Казачинская<sup>1,2</sup>, В.С. Арипов<sup>2</sup>, А.В. Иванова<sup>2</sup>, А.М. Шестопапов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт вирусологии Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины Сибирского отделения Российской Академии наук, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup> Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, п. Кольцово, Новосибирская область, Россия

**Резюме.** Глобализация и скоростные средства передвижения способствуют распространению инфекций, опасных для человека. Патогены, передаваемые воздушно-капельным путем, обладают пандемическим потенциалом, как в настоящее время показано на примере нового коронавируса SARS-CoV-2. Природно-очаговая лихорадка Ласса (ЛЛ), распространенная в странах западной Африки, в 35 случаях была зарегистрирована на неэндемичных географических районах, так как человек, инфицированный вирусом Ласса (*Lassa virus*, LASV), является источником инфекции длительное время (до двух месяцев). На эндемичных территориях описаны случаи заражения при передаче вируса «от человека к человеку». В Германии зафиксированы факты вторичной передачи вируса от пациентов врачам при осмотре и взятии крови у внешне здорового человека, а также при вскрытии погибшего в результате тяжелого течения ЛЛ. Неспецифические симптомы недомогания при ЛЛ характерны и для других многочисленных заболеваний, распространенных на африканском континенте, например, при малярии и брюшном тифе или при вирусных инфекциях — это желтая лихорадка, лихорадки Чикунгунья, денге и Зика, оспа обезьян и болезнь, вызванная вирусом Эбола. При протекании этих болезней могут быть и схожие дерматологические проявления. Своевременное выявление заболевших и дифференциальная диагностика имеют решающее значение для обеспечения безопасного ухода за пациентами и применения доступной противовирусной терапии (при ЛЛ это препарат рибавирин). Методы научных исследований LASV включают: анализы на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР) по определению вирусной РНК, электронную микроскопию, выделение инфекционного вируса на культуре чувствительных клеток, реакцию непрямой иммунофлуоресценции (РНИФ), иммуноферментный (ИФА) и иммунохроматографический (ИХА) анализы по выявлению антител и/или антигена, а также иммуноблоттинг. Для диагностики ЛЛ в настоящее время, в основном, используют тест-системы на основе молекулярно-генетических методов. С 80-х гг. XX в. и до сих пор для лечения пациентов с ЛЛ используют рибавирин, но накопление этого препарата в плазме в больших количествах вызывает гемолиз, развитие анемии и нарушение функции почек. В связи с этим рассматриваются варианты лечения при уменьшении его концентрации за счет сочетанного использования с другими противовирусными препаратами. Идет поиск новых терапевтических средств, способных ингибировать вирусную репликацию на ранней стадии болезни, так как зарегистрированные вакцины отсутствуют.

**Ключевые слова:** лихорадка Ласса, вирус Ласса, особо опасные инфекции, этиология, эпидемиология, клиническая картина лихорадки Ласса.

\* Часть 1 опубликована в № 3 журнала «Инфекция и иммунитет» за 2022 г.

## Адрес для переписки:

Казачинская Елена Ивановна  
630559, Россия, Новосибирская область, р.п. Кольцово,  
ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора.  
Тел.: 8 909 530-74-41.  
E-mail: lena.kazachinskaia@mail.ru

## Contacts:

Elena I. Kazachinskaia  
630559, Russian Federation, Novosibirsk region, Koltsovo,  
State Research Centre of Virology and Biotechnology "Vector".  
Phone: +7 909 530-74-41.  
E-mail: lena.kazachinskaia@mail.ru

## Для цитирования:

Казачинская Е.И., Арипов В.С., Иванова А.В., Шестопапов А.М.  
Лихорадка Ласса. Часть 2. Лабораторная диагностика, лечение,  
разработки лекарственных препаратов // Инфекция и иммунитет. 2022.  
Т. 12, № 4. С. 609–623. doi: 10.15789/2220-7619-LFL-1815

## Citation:

Kazachinskaia E.I., Aripov V.S., Ivanova A.V., Shestopalov A.M. Lassa fever.  
Part 2. Laboratory diagnostics, treatment, development of medications //  
Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022,  
vol. 12, no. 4, pp. 609–623. doi: 10.15789/2220-7619-LFL-1815

## LASSA FEVER. PART 2. LABORATORY DIAGNOSTICS, TREATMENT, DEVELOPMENT OF MEDICATIONS

Kazachinskaia E.I.<sup>a,b</sup>, Aripov V.S.<sup>b</sup>, Ivanova A.V.<sup>b</sup>, Shestopalov A.M.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> *Research Institute of Virology, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation*

<sup>b</sup> *State Research Centre of Virology and Biotechnology "Vector", Federal Service for the Oversight of Consumer Protection and Welfare (Rosпотребнадзор), Kol'tsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation*

**Abstract.** Globalization and high-speed means of transportation contribute to the spread of infections dangerous to humans. Airborne pathogens have pandemic potential as currently shown in case of the novel coronavirus SARS-CoV-2. Natural focal Lassa fever (LF) common in West African countries, in 35 cases was registered in non-endemic geographical areas because any person infected with Lassa virus (LASV) is a long-term source of infection (up to two months). Cases of person-to-person infection in endemic territories are described. In Germany, the facts of secondary virus transmission from patients to doctors have been recorded during the examination and blood collection from an apparently healthy person as well as during the autopsy of a deceased subjects due to severe LF course. Nonspecific malaise symptoms in LF are also characteristic of numerous other diseases common on the African continent, e.g., malaria and typhoid fever or viral infections such as yellow fever, Chikungunya, dengue and Zika, monkey pox and Ebola virus disease. In this regard, there may be similar dermatological manifestations. Timely detection of cases and differential diagnosis are crucial to ensure safe patient care and use of affordable antiviral therapy for LL provided by the drug Ribavirin. Research methods for studying LASV use polymerase chain reaction (PCR) for detecting viral RNA, electron microscopy, isolation of infectious virus cultured sensitive cells, indirect immunofluorescence reaction, enzyme immunoassay (ELISA) and immunochromatographic assays for the detection of antibodies and/or antigen as well as immunoblotting. Currently, test kits based on molecular and genetic methods are mainly used for LF laboratory diagnostics. Since the 1980s, ribavirin has been used to treat patients with LF. The serum accumulation of the drug in large quantities causes hemolysis, development of anemia and impaired renal function. In this regard, treatment options are being considered with decline in its concentration due to combined use with other antiviral drugs. A search for new therapeutic agents capable of inhibiting viral replication at disease early stage has been in progress due to lack of any approved vaccines.

**Key words:** *Lassa fever (LF), Lassa virus (LASV), particularly dangerous infection, etiology, epidemiology, clinical manifestation of LF.*

## Введение

Глобализация и скоростные средства передвижения способствуют распространению инфекций, опасных для человека. Патогены, передаваемые воздушно-капельным путем, такие как поксвирусы, вирусы гриппа, Нипах и Ласса обладают пандемическим потенциалом. Ярким примером в настоящее время является коронавирус SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) [35], который вызвал пандемию коронавирусной болезни в 2019 г. (coronavirus disease, COVID-19) [54]. По данным ВОЗ на 14.12.2021 г., COVID-19 охватила уже 223 страны и территории, где зарегистрировано 269 млн подтвержденных случаев, погибли более 5,3 млн человек [68].

Эндемичность лихорадки Ласса (ЛЛ) ограничена ареалами обитания грызунов вида «африканская многососковая крыса» (*Mastomys natalensis*) в Западной Африке, где заражение человека происходит, в основном, при непосредственном контакте с выделениями инфицированных животных, оставленными на продуктах питания или попавшими в питьевую воду. Но передача вируса Ласса (Lassa virus, LASV) может происходить также и от человека к человеку через инфицированную кровь или другие жидкости организма [1, 13, 65], так как больной человек яв-

ляется источником инфекции довольно длительное время — в течение двух месяцев [13]. Описаны импортированные случаи ЛЛ, в результате чего из 35 заболевших человек (это путешественники или специалисты разных профессий, вернувшиеся на родину) погибло почти 20% [16, 49]. При этом в Германии зафиксированы факты вторичной передачи LASV врачам как от внешне здорового пациента, но оказавшегося инфицированным [40], так и при вскрытии тела 40-летней медсестры, погибшей в результате ЛЛ после эвакуации из Того в тяжелом состоянии [52].

Клиническая диагностика ЛЛ сложна, так как заболевание проявляется неспецифическими симптомами, характерными и для других эндемичных инфекций (желтая лихорадка и денге, малярия, брюшной тиф и др.) [15, 66]. К таким симптомам относятся повышение температуры тела, недомогание, боль в животе, рвота, головная боль и миалгия [19]. Кроме того, для большинства экономически слабо развитых стран Африки характерно неудовлетворительное состояние лабораторной сети, что так же усложняет выявление возбудителя. Дерматологические проявления в виде сыпи, связанные с отложением иммунных комплексов в кожных капиллярах, характерны как для ЛЛ, так и для желтой лихорадки, оспы обезьян, лихорадок Чикунгуны, денге, Зика и болезни, вызванной вирусом Эбола (БВВЭ).

Появление макулопапулезной и эритематозной сыпи описывается в настоящее время и у некоторых заболевших COVID-19, поэтому кожные проявления должны быть дифференцированы по тонким признакам для каждой болезни [20].

Из-за контагиозности и высокой летальности среди тяжело заболевших, LASV классифицирован ВОЗ как патоген категории А с потенциальной угрозой его использования для биотерроризма. Кроме того, в соответствии с «Планом исследований и разработок...» этой организации, LASV включен в список патогенов с эпидемическим потенциалом [79]. Дифференциальная диагностика ЛЛ важна, так как в качестве средства для лечения может быть экстренно применен противовирусный препарат рибовирин [67]. Известно, что рибавирин эффективен, если его прием начат в дебюте болезни [56]. Но важно отметить, что описаны побочные действия препарата — это развитие анемии и нарушение функции почек [38, 70]. Зарегистрированные вакцины для профилактики ЛЛ отсутствуют [46], поэтому актуальны подходящие методы лечения, снижающие токсичность рибовирина. Кроме того, необходимы разработки эффективных и безопасных терапевтических препаратов [42, 53, 57, 67]. Более подробно современные литературные данные по этиологии, эпидемиологии и клинической картине лихорадки Ласса представлены в первой части обзора [2].

## Иммунитет и выявляемые биологические маркеры при ЛЛ

Реакция организма человека на инфицирование LASV остается пока не очень понятной. При большинстве других вирусных инфекций первоначально вырабатываются антитела класса IgM, затем их количество резко уменьшается. Период реконвалесценции сопровождается увеличением концентрации антител класса IgG, которые сохраняются еще долгое время после того, как инфекция проходит. А в случае ЛЛ, по результатам некоторых ранних и современных наблюдений, показано, что инфекция может приводить к выработке IgM и IgG почти одновременно или IgG появляются в плазме крови даже раньше, чем IgM [36, 87]. Есть сообщение, что в сыворотках крови нормальных здоровых доноров, проживающих на эндемичных по ЛЛ регионах Сьерра-Леоне, у которых в последнее время не было лихорадочных заболеваний, выявлены высокие уровни IgM, специфичных к LASV, что позволяет предположить, что наличие IgM действительно может не коррелировать с острой инфекцией [41]. И вопреки иммунологической догме показано, что IgM, специфичные к LASV, могут сохраняться у переболевших в течение многих лет [23].

Виремия является основным показателем острой инфекции при заражении LASV [23]. Поэтому для раннего диагностирования ЛЛ предпочтительными методами являются ОТ-ПЦР по определению вирусных РНК [18, 28, 29, 64] или методы ИФА для выявления антигенов [18, 21, 41, 44, 76].

## Методы научных исследований LASV и лабораторной диагностики ЛЛ

Сбор, хранение и обращение с образцами, содержащими LASV, требуют соблюдения мер предосторожности по уровню биобезопасности, аналогичному при работе с вирусом Эбола (Ebola virus, EBOV) [77]. По Санитарным правилам РФ LASV относится к 1 группе патогенности [11]. В связи с этим верификация диагноза «лихорадка Ласса», а тем более научные исследования с возбудителем болезни, проводятся только в специализированных центрах с высоким уровнем биозащиты. По стандартам западных стран это наивысший, четвертый, уровень безопасности — BSL-4 (Biosafety level) [21]. В РФ такая работа возможна в учреждениях противочумной системы Роспотребнадзора [8] методами, не требующими накопления возбудителя. В полном объеме научные исследования проводятся в референс-центрах этого ведомства по мониторингу за экзотическими, редко встречающимися и новыми инфекционными болезнями, например, во ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» [9], а также в научных организациях Министерства обороны [14]. Наличие лабораторий уровня BSL-4 во всем мире ограничено, и это, возможно, привело к ограничению исследований по разработке и валидации тест-систем для диагностирования ЛЛ с использованием инфекционного материала [66]. По рекомендации ВОЗ, если отсутствует соответствующее обеспечение для соблюдения мер предосторожности, образцы с подозрением на содержание LASV могут быть инактивированы и подготовлены к анализу в боксе биологической безопасности класса II/III [66]. Инактивация вируса достигается при нагревании биологического образца до 60°C в течение 60 мин. Рекомендуется также использовать сочетанную термическую и химическую инактивацию. В зависимости от предполагаемого последующего тестирования биологического материала (например, молекулярно-генетического или иммунохимического обнаружения патогена, клинических лабораторных тестов и т. д.) выбирают различные методы химической инактивации с использованием растворов, содержащих соли гуанидина, например, тризол и тритон X-100 [66]. Гамма ( $\gamma$ )-облучение также эффективно для инактивации LASV в жидких

и высушенных образцах. Но поскольку доза радиации, поглощаемая вирусом, изменяется в зависимости от температуры нагревания [31], для подтверждения инактивации требуется обязательное эмпирическое тестирование био-безопасности образца [66].

С 1970 г. клинический диагноз ЛЛ стали подтверждать иммунохимическими анализами с использованием антигена LASV, впервые выделенного в 1969 г. [24], и методом фиксации комплекта антителами сывороток крови реконвалесцентов [83]. Методы научных исследований LASV включают: анализы на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР) по обнаружению вирусной РНК, электронную микроскопию, выделение инфекционного вируса на культуре чувствительных клеток, реакцию непрямой иммунофлуоресценции (РНИФ), иммуноферментный (ИФА) и иммунохроматографический (ИХА) анализы по выявлению антител и/или антигена, а также иммуноблоттинг [7, 10, 27, 77]. Для диагностики ЛЛ в настоящее время используют, в основном, тест-системы на основе молекулярно-генетических методов [27, 66].

### Электронная микроскопия

Морфологические характеристики LASV, относящегося к семейству *Arenaviridae*, позволяют с помощью электронной микроскопии проводить общую идентификацию этиологического агента аренавирусной инфекции — вириона сферической формы с диаметром от 70 до 150 нм, двойной липидной оболочкой и гладкой поверхностью с Т-образными шипами, состоящими из трех молекул гликопротеина (glycoprotein, GP) [65]. Вирионы содержат включения — крупные однородные гранулы размером 20–25 нм [58], представляющие собой нефункциональные клеточные рибосомы, что и послужило основой для наименования семейства — «агено» (песок) [65].

### Выделение вируса на культуре чувствительных клеток и реакция непрямой иммунофлуоресценции

Для исследований используют образцы крови, мочи, рвотных масс, смывов из зева, спинномозговой и плевральной жидкостей заболевших или секционный материал органов (печени, селезенки, легких, почек, сердца и плаценты), полученный при вскрытии в случаях инфекции с летальным исходом. Наиболее ранний срок для выделения LASV из сыворотки крови и смывов из зева — третьи сутки, из мочи — девятые. Из сыворотки крови и смывов из зева вирус можно выделить вплоть до 19-х суток болезни, из мочи — до 32-х [47, 66]. Эндемичность ЛЛ в Сьерре-Леоне, Либерии и Гвинее в 1980 г. подтверждали с использованием метода РНИФ,

используя меченые специфические антитела для выявления антигена в тканях погибших пациентов. Результаты гистопатологических исследований продемонстрировали тропизм LASV к клеткам тканей различных внутренних органов [48].

Для выявления инфекционного LASV, вне зависимости от его генотипа [47], используют культуру клеток Vero (клетки почки африканской зеленой мартышки), при инфицировании которой в течение 3-х суток после инокуляции появляются «бляшки» (очаги погибших клеток), и обычно к пятым суткам от заражения они четко определены, дискретны, имеют размер от 1,5 до 2,0 мм [81]. Цитопатическое действие (ЦПД) на чувствительные клетки биологического образца в виде бляшкообразующих единиц (БОЕ), может указывать на присутствие инфекционного LASV, однако для подтверждения идентичности этого вируса необходимо использовать дополнительные методы, такие как детекция отдельных вирусных антигенов или цельных вирионов методами РНИФ и электронной микроскопии, а также выявление генетического материала с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени (ПЦР-РВ) [30].

Титрованием инфекционного материала на культуре клеток Vero в 50%-ных тканевых цитопатических дозах в миллилитре (ТЦПД<sub>50</sub>/мл) количественно определяют виремию, и такой показатель может обеспечить дополнительную информацию о характеристике патогена, поскольку его концентрация в крови, в титре равном или выше 10<sup>3</sup> ТЦПД<sub>50</sub>/мл, как правило, приводит к летальному исходу при ЛЛ [47]. Но для получения результатов этот метод требует времени, по крайней мере, нескольких суток (в зависимости от концентрации инфекционных частиц в образце) и не доступен широко из-за необходимости принятия мер предосторожности BSL-4, что ограничивает его полезность для ранней диагностики ЛЛ [66].

Методом РНИФ вирусный антиген может быть обнаружен до развития его явного ЦПД на клетки [33]. Например, при использовании мышинных моноклональных антител (МКА) этим методом показано, что при инфицировании клеток Vero в дозе одна БОЕ/мл, максимальное накопление вирусных частиц происходит на третьи сутки [5]. При исследовании сывороток крови пациентов с подозрением на ЛЛ с октября 1996 г. по февраль 1998 г. в государственном госпитале г. Кенема в Сьерра-Леоне и четырех наблюдательных больницах в Гвинее было обнаружено, что методом РНИФ антитела выявлялись значительно раньше у впоследствии погибших пациентов, чем у выживших (на 9,3 и 14,1 день соответственно,  $p < 0,05$ ). Интересно, что такой связи между выживаемостью пациентов и их антитела-

ми, выявленными в ИФА, отмечено не было [18]. На основе метода РНИФ в 2016 г. описано получение надежного набора по выявлению антител, специфичных к LASV и EBOV, для своевременной и дифференциальной диагностики особо опасных инфекций и организации противоэпидемических мероприятий в случае их завоза на территорию Республики Беларусь. В качестве положительного контроля при выявлении специфических человеческих антител на антигене LASV, фиксированном ацетоном в лизате инфицированных клеток Vero, использовали поликлональные антитела морских свинок, иммунизированных последовательно инактивированным и инфекционным вирусным препаратом в дозе 1000 БОЕ/животное [10].

### Молекулярно-генетические методы исследования

В 2000 г. Bowen с соавт. опубликовали результаты молекулярно-генетических исследований по географической картине распространения ЛЛ на основании данных секвенирования последовательностей нуклеотидных оснований (н.о.) гена нуклеопротеина (nucleoprotein, NP) 54-х изолятов LASV. Оказалось, что нуклеотидная и, соответственно, белковая (по аминокислотным остаткам, а.о.) дивергенция среди вирусных изолятов достигает 27 и 15%, соответственно. Авторы также отметили, что, судя по полученной информации о последовательностях н.о. S-сегмента, LASV является вирусом с высокой генетической изменчивостью [22]. Известные в настоящее время вирусные изоляты генотипически разделены на семь линий (I–VII) [51]. Такое разнообразие генотипов LASV, связанных с географическими ареалами, усложняет эффективный дизайн молекулярно-генетических методов диагностики ЛЛ. Использование праймеров, специфичных к определенной последовательности н.о. конкретного генотипа, идеально подходит для исследований его циркуляции в определенных странах/регионах. В контексте же экспортируемых случаев ЛЛ из нескольких стран, где она является эндемичной, для точной диагностики ЛЛ необходимо использовать несколько ПЦР-тест-систем [66] с набором праймеров, специфичных к наиболее консервативным участкам генома разных известных генотипов.

Геном LASV, как и гены других представителей семейства *Arenaviridae*, представляет собой молекулу РНК и состоит из двух сегментов — большого L (large) и малого S (small) размером 7 и 3,4 kb, соединенных консервативными комплементарными последовательностями на 3'- и 5'-концах. L-сегмент обладает амбисентной стратегией кодирования (т. е. имеет участки как негативно-, так и позитивно-нитевой РНК),

кодирует РНК-зависимую РНК-полимеразу (белок L) и матриксный цинк-связывающий Z-белок. S-сегмент генома кодирует NP, а также предшественник гликопротеина (glycoprotein precursor, GPC), состоящий из стабильного сигнального пептида (stable signal peptide, SSP) и двух доменов — GP1 и GP2 [65].

Начиная с 1990-х гг., первые разработанные анализы на основе ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) для обнаружения генетического материала LASV, в основном, были нацелены на S-сегмент вирусной РНК [28, 29, 55, 64]. Протокол ОТ-ПЦР, описанный Demby с соавт. в 1994 г., длительное время считался надежным и использовался многими лабораториями для рутинной диагностики ЛЛ. Выбор праймеров, нацеленных на консервативные районы S-сегмента РНК, кодирующие гены GPC и NP, был основан на фрагментах геномов нескольких изолятов, выделенных в Сьерра-Леоне, Либерии и Нигерии. Это участки 554–578, 602–634, 676–652 н.о. для гена GPC и 2625–2649, 2654–2688, 2770–2746 н.о. для гена NP, соответственно. Такой подход позволил обнаруживать от 1 до 10 копий плазмиды или транскрипта РНК LASV, содержащих целевую последовательность [28]. В 2003 г. при оценке *in silico* было обнаружено, что опубликованные для диагностического использования последовательности некоторых олигонуклеотидных праймеров комплементарны далеко не всем штаммам и изолятам LASV [30]. Когда были подтверждены ложноотрицательные результаты для некоторых вирусных изолятов из Либерии и Нигерии из-за несоответствия последовательности на 3'-конце обратного праймера, протокол ОТ-ПЦР Demby с соавт. от 1994 г. был переработан в 2010 г. Olschlager с соавт. В результате для амплификации была выбрана 5'-область S-сегмента РНК (позиции гена GPC от 20 до 1000 н.о.). При разработке нового набора праймеров (GPC RT-PCR/2007 assay) учитывались 62 последовательности н.о. S-сегмента РНК изолятов LASV, выделенных в эндемичных странах, включая 40 последовательностей, полученных лично авторами. Аналитические и клинические характеристики нового анализа были тщательно валидированы с использованием 11-ти вирусных изолятов из Сьерра-Леоне, Либерии, Кот-д'Ивуара и Нигерии. При этом аналитическая чувствительность метода составляла от 4 до 30 копий геномной РНК/мл [64].

Стандартные ОТ-ПЦР-анализы с набором только амплифицирующих праймеров обычно применяются из-за меньшей сложности в процедуре их выполнения [60, 64]. ПЦР-РВ с использованием таких праймеров и меченого зонда, который гибридизирует ампликон, позволяет повысить специфичность анализа [73, 82]. Будучи более технологически сложным,

прибор для ПЦР-РВ контролирует температуру, обрабатывает данные, анализирует результаты и, следовательно, обладает большей производительностью и более быстрой сквозной обработкой, чем стандартная ОТ-ПЦР с электрофоретической детекцией результатов. Тем не менее, специфичность праймерных и зондовых анализов в сочетании с генетическим разнообразием LASV неизбежно увеличивает вероятность получения ложноотрицательных результатов [66].

С появлением в базе данных GenBank [<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>] дополнительной информации о генетических последовательностях LASV начались исследования по разработке анализов ОТ-ПЦР, нацеленных на L-сегмент РНК, кодирующий полимеразу и белок Z [27, 41]. За последние годы большое количество геномов LASV были полностью секвенированы и оказалось, что последовательности L-генов также демонстрируют высокую генетическую изменчивость, как и последовательности генов GPC и NP, даже в пределах одной генетической линии. Таким образом, генетическое разнообразие LASV является естественной особенностью, которая, скорее всего, будет ограничением в использовании ПЦР-РВ для точной диагностики ЛЛ [27]. На данный момент времени (12.11.2021 г.) в GenBank депонированы результаты секвенирования некоторых частей генома LASV: по S-сегменту — 482 последовательности NP, более 200 последовательностей гена GPC или с включением части гена NP; по L-сегменту — 7 последовательностей гена L и более 100 — гена L с включением части гена Z. Самые свежие данные представлены в 2021 г., и по аффелиции авторов понятно, что исследования LASV проводятся только в экономически развитых странах — это США, Германия, Великобритания, Япония и ЮАР [2].

Одним из простых и надежных методов молекулярно-генетических исследований особо опасных вирусов в настоящее время в литературе описывается метод петлевой изотермической амплификации (loop-mediated isothermal amplification, LAMP). Анализ характеризуется высокой специфичностью, так как при его постановке используют две или три пары праймеров, комплементарных шести или восьми регионам искомой ДНК соответственно. По аналогии с ПЦР учет накопления продуктов реакции может быть проведен как методом электрофореза в агарозном геле, так и визуальным/приборным определением протекания реакции — при измерении оптической плотности реакционной смеси или изменения ее окраски при добавлении специальных интеркалирующих красителей. При этом следует тщательно подбирать концентрацию таких красителей, так как они могут ингибировать процесс амплификации [3].

Внедрение в рутинную диагностику метода быстрого метагеномного секвенирования в реальном времени на платформе WGS (whole genome sequencing analysis) для обнаружения в клиническом образце особо опасных патогенов, таких как *Bacillus anthracis*, *Francisella tularensis*, *Yersinia pestis*, EBOV, LASV и др., также приобретают все большее значение. Существует возможность внедрения WGS для быстрой и точной диагностики в реальном времени на основе портативного секвенатора MinION производства компании Oxford Nanopore Technologies [86]. Механизм секвенирования MinION основан на транслокации одной нити нуклеиновой кислоты через специальный нанопоровый белок, расположенный в электрически устойчивой полимерной мембране [34]. Сила тока изменяется по мере того, как н.о. проходят через пору в различных комбинациях, и в результате последовательность ДНК может быть выровнена простым считыванием [86].

Молекулярно-генетические методы являются чувствительными и специфичными анализами для обнаружения генетического материала LASV [60], но они не всегда доступны в эндемичных районах [50] и технологически сложны, по сравнению с иммуноферментными анализами [41]. В связи с этим необходимы тест-системы, которые можно использовать в «полевых условиях» — в госпиталях и на дому заболевших. К этому классу диагностических инструментов можно отнести серологические тесты на основе иммунохроматографического анализа (ИХА) [21, 77].

#### **Имуноферментный анализ по выявлению антигена**

Учитывая большое генетическое разнообразие LASV, диагноз, основанный на иммуноферментном обнаружении в сыворотке крови вирусного NP (относительно консервативного антигена), может уменьшить варибельность результатов [66]. Обнаружение вирусных антигенов полезно для ранней диагностики в качестве дополнительного теста к молекулярно-генетической диагностике болезни. Причем оба эти подхода являются прогностическими, так как уровень вируса в крови, как правило, обратно пропорционален выживаемости при ЛЛ [18]. Вирусные антигены могут быть обнаружены методом ИФА при их взаимодействии со специфическими антивирусными антителами. В начале 1980-х гг. был разработан тест с использованием двух видов антител класса IgG в качестве компонентов, «захватывающих» и «детектирующих» вирусный антиген. Препараты IgG были получены из сывороток крови инфицированных обезьян вида Макака-резус (как модель ЛЛ) и морских свинок, соответственно.

Этот тест позволял выявлять вирус в титре до  $10^2$  БОЕ/мл у экспериментально инфицированных животных. Инактивация вируса  $\beta$ -пропиолактоном и  $\gamma$ -облучением не снижала его иммунохимической активности, что важно для безопасной лабораторной работы [61]. Далее этими же авторами было обнаружено, что с использованием данного метода можно выявить антиген и в сыворотках крови пациентов с явными симптомами ЛЛ [44]. Пять видов мышинных моноклональных антител (МКА), специфичных к белку NP, а также поликлональные антитела кролика, иммунизированного инактивированным антигеном, использовали в качестве «захватывающих» и «детектирующих» вирусный антиген, присутствующий в сыворотках крови пациентов [18]. Наряду с методом ИФА появляются и новые высокочувствительные технологии для выявления антигенов LASV. Например, платформа Lumindex MagPix с использованием микросфер xMAP, с которыми посредством ковалентных связей соединены «захватывающие» мышинные МКА, специфичные к белкам NP или GPC LASV. При этом «детектирующие» МКА мечены эфиром биотина. Необходимо отметить, что, несмотря на высокую чувствительность данной платформы по сравнению с ИФА, в литературе нет данных о ее применении на практике, возможно из-за высокой стоимости. В лабораторных условиях была показана возможность дифференциальной диагностики БВБЭ и ЛЛ на примере инфицированных *Macaca mulatta*. При этом образцы сывороток крови животных, инфицированных LASV и EBOV, предварительно были инактивированы  $\gamma$ -облучением и проверены на безопасность [76]. Разработан экспресс-тест на основе иммунохроматографического анализа (ИХА) и пары МКА, специфичных к белку NP, с чувствительностью и специфичностью 90 и 100% соответственно. При его использовании показано, что антигенемия белка NP LASV (антиген в крови) может появляться у пациентов раньше, чем вирусная РНК [21].

#### **Имуноферментный анализ по выявлению антител**

Первые иммуноферментные тесты по выявлению антител классов IgM и IgG разработаны на основе антигена LASV, инактивированного  $\beta$ -пропиолактоном и  $\gamma$ -облучением. В первом случае в качестве иммуносорбента для IgM тестируемой сыворотки крови человека использовали антивидовые (козьи) анти-IgM-антитела, во втором — IgG, полученные из сывороток крови инфицированных морских свинок. Экспериментальной моделью были обезьяны вида Макак-резус. В результате показано, что IgM, специфичные к LASV, обнаружи-

ваются с 10-х суток от инфицирования с максимальным титром специфических антител на 36-е сутки и сохраняются в течение 1,5 лет. Антитела класса IgG появлялись в сыворотке крови позже, чем IgM, и их титр достигал пика на 73-е сутки [61]. Применение вышеописанных тестов позволило обнаружить, что сыворотки крови пациентов в острой фазе ЛЛ содержат как вирусный антиген, так и антитела класса IgM. Отмечено также, что повышение титра антител совпадает со снижением антигенемии [44]. Вирусные препараты, инактивированные 0,3%-ным раствором  $\beta$ -пропиолактона и обработанные  $\gamma$ -облучением (в дозе  $3 \times 10^6$  Рад), использованы в мультиплексном ИФА по одновременному выявлению антител класса IgG, специфичных к LASV, а также к вирусам Эбола, Марбург, лихорадка долины Рифт и Крым-Конго [63]. Показано, что рекомбинантный белок NP LASV, полученный в рекомбинантной бакуловирусной системе экспрессии гена NP в культуре клеток HeLa (клетки раковой опухоли шейки матки), эффективно выявляет антитела класса IgG, присутствующие в сыворотках крови пациентов с ЛЛ и экспериментально инфицированных *Macaca fascicularis* [74]. Рекомбинантные белки NP и GPC LASV, а также белки VP40 и GP EBOV, полученные в эукариотической системе экспрессии соответствующих генов (на культуре клеток почки эмбриона человека, 293Т), оказались подходящими антигенами — аналогами вирусных белков для разработки теста по дифференциальной серологической диагностики ЛЛ и БВБЭ на платформе Lumindex MagPix [76].

#### **Имуноблоттинг по выявлению антител**

Рекомбинантный N-терминально усеченный белок NP LASV (штамм Josiah), синтезированный в *E. coli*, аффинно очищенный и полностью денатурированный при концентрации один микрограмм (мкг), использовали для выявления IgG, специфичных к LASV, в сыворотках крови людей при проведении простого иммуноблот-анализа на нитроцеллюлозной мембране. Отмечено, что для обнаружения специфических IgM количество рекомбинантного белка необходимо было увеличить до 5 мкг. Для оценки чувствительности и специфичности разработанного метода было собрано 913 образцов сывороток крови из эндемичных регионов и из районов, в которых LASV не был эндемичным. Показано, что, по сравнению с анализом непрямой иммунофлуоресценции, иммуноблоттинг имел специфичность от 90,0 до 99,3%, в зависимости от географического происхождения образцов. Установлено, что чувствительность анализа была самой высокой для гвинейских образцов (90,7%) и ниже — для либерийских образцов (75%) [80].

## Лечение

Еще в 1986 г. в Сьерре-Леоне было обнаружено, что внутривенное введение рибавирина (1- $\beta$ -D-рибофуранозил-1,2,4-триазол-3-карбоксамид) снижало летальность с 55 до 5% среди пациентов с тяжелой ЛЛ, у которых при госпитализации в крови был выявлен повышенный уровень аспаратаминотрансферазы, что могло свидетельствовать о начале процесса некроза тканей. Но лечение оказывалось успешным только при условии, если оно проводилось в течение первых шести суток после начала лихорадочного состояния [56]. До сих пор лечение пациентов с ЛЛ основано на применении этого препарата, который является аналогом гуанозина и проявляет широкую противовирусную активность в отношении нескольких видов вирусов, содержащих РНК или ДНК [25], например гепатита С [70], гепатитов А и В [12], гриппа и простого герпеса 1 типа [89], возбудителей лихорадок Крым-Конго, Батаи, боливийской, долины Рифт и лихорадки с почечным синдромом [12]. Кроме того, было замечено, что рибавирин действует в качестве иммуномодулирующего агента, повышая регуляцию специфических генов, стимулированных интерфероном, а также усиливая адаптивный противовирусный иммунный ответ. Но основным механизмом действия рибавирина, скорее всего, является защита инфицированных клеток от гибели и, возможно, снижение воспалительной реакции [25]. Также показано, что этот препарат эффективно подавляет репликацию LASV *in vitro*, но не влияет на снижение виремии *in vivo* при инфицировании химерных мышей линии Ifnar<sup>-/-</sup>B6 C57BL/6 [25]. Есть данные, что накопление препарата в эритроцитах вызывает гемолиз [38], что приводит к развитию анемии и нарушению функции почек [70]. Описан необычный дерматологический побочный эффект рибавирина — угревидные высыпания [39]. Для снижения тяжелых побочных эффектов у пациентов необходимо полное прекращение лечения или индивидуальное снижение дозы препарата, что, в свою очередь, может снизить его противовирусное действие [26]. Рибавирин (торговые марки: Coregus, Rebetol, Ribasphere, Vilona, Virazole) выпускается в виде капсул и аэрозолей. На сегодняшний день существуют сомнения в эффективности рибавирина и в отсутствии у него серьезных побочных эффектов для здоровья, поэтому необходимы более тщательные исследования этого препарата [75].

При лечении пациентов с ЛЛ рекомендуется проводить комплексное воздействие на организм с применением химиопрепаратов и средств интенсивной терапии — аскорутин, викасола, кортикостероидов, сердечно-сосудистых препаратов, переливание плазмы и цельной крови.

Лечение должно быть направлено на устранение жидкостного, электролитического и осмотического дисбаланса. При развитии шока необходимо сократить потребление соли и воды, а внутрисосудистый объем жидкости увеличивать с помощью коллоидных растворов. В зависимости от степени кровопотери показано немедленное переливание крови (до 1–1,5 л в сутки) и введение сосудосуживающих препаратов, например, гепарина внутривенно в дозе 10 000–50 000 ЕД/сут под контролем свертываемости крови [1, 13].

Иммунную плазму в объеме 250–500 мл рекомендуется вводить на максимально ранних сроках заболевания — в первые 7–10 суток от появления симптомов ЛЛ [6]. Ранее было описано, что введение реконвалесцентной плазмы пациентам с повышенным уровнем аспаратаминотрансферазы при тяжелом течении ЛЛ не предотвращало их гибели [56]. Но есть сообщения об эффективной терапии экспериментально инфицированных животных (морских свинок и приматов вида *Macaca fascicularis*) при введении им антител, выделенных из сывороток крови людей, выживших после ЛЛ. Факт отсутствия развития заболевания и предотвращения гибели животного от летальных доз LASV при введении специфических антител указывает на протективную роль гуморального иммунного ответа [43, 44]. Тем не менее при использовании такого подхода для лечения пациентов с ЛЛ необходим предварительный контроль сывороток крови реконвалесцентов *in vitro* в отношении их нейтрализующей активности для прогнозирования защитной эффективности [43], так как у переболевших людей наблюдается очень слабая гуморальная реакция. Обычно титры нейтрализующих антител низкие и выявляются только через несколько месяцев после выздоровления [44]. Географическое происхождение плазмы также является важным фактором, так как на экспериментальных животных показано, что антитела, специфичные к гомологичным генотипам LASV, нейтрализуют вирус эффективнее [45].

Фавипиравир (Т-705, пиразиновое соединение, ингибитор РНК-полимеразы) — новое противовирусное средство с широким спектром действия против РНК-вирусов, лицензированное в Японии для лечения гриппа [67] и снижающее летальность у тяжело заболевших при других РНК-вирусных инфекциях, включая БВВЭ [59], и, возможно, COVID-19 [37]. Но следует учитывать последние данные по токсичности и тератогенности этого препарата [37]. Впервые фавипиравир был применен в сочетании с рибавирином для лечения пациентов с ЛЛ в Германии, когда два сотрудника госпиталя в г. Кельн заразились при выхаживании медицинского миссионера, эвакуированного из Того в тяжелом состоянии и погибшего, несмотря

на интенсивную терапию. У заболевших врачей был выявлен повышенный уровень трансаминаз печени. В этом же сообщении отмечается, что после выздоровления у них в крови и сперме длительное время (до 52-х суток) определялась вирусная РНК, что позволило предположить потенциальную возможность передачи LASV половым путем [67].

## Разработки лекарственных препаратов

Поиск эффективных терапевтических препаратов против ЛЛ идет не быстрыми темпами, так как эта инфекция эндемична только для слабо развитых стран, где фундаментальные исследования противовирусных препаратов невозможны в силу отсутствия специализированных лабораторий типа BSL4 [78]. Использование для лечения рибавирина рекомендуется в случаях, когда угроза жизни превышает риск побочного действия. Снижение токсичности рибавирина, и, соответственно, уменьшение противовирусного эффекта, можно компенсировать при его использовании в меньшей концентрации с другими лекарственными препаратами. Например, синергическое взаимодействие рибавирина и фавипиравира было выявлено при изучении их сочетанного терапевтического потенциала на мышах линии *Ifnar-/-B6 C57BL/6*, инфицированных летальной дозой LASV [62]. Такой подход в лечении был опробован и на людях [67]. Возможно, что новые изостерические аналоги рибавирина, сохраняющие свою биологическую активность в отношении вирусов [89], окажутся менее токсичными и их можно будет использовать в терапевтических целях у людей.

Российскими учеными в конце 1990-х гг. был получен гетерологичный препарат IgG (с титром вируснейтрализующих антител не менее 1:512) из сыворотки крови лошадей, иммунизированных инфекционным LASV. При доклиническом изучении показана безвредность препарата для лабораторных животных (белых мышей, морских свинок, обезьян) и высокая специфическая активность. Экспериментально обоснована тактика введения препарата — как в виде монотерапии, так и в комбинации с вирусологом [4].

Использование иммунной плазмы реконвалесценто́в для лечения оказалось успешным, как было сказано выше, в случае присутствия в крови нейтрализующих антител, которые кроме того были специфичны к гомологичному инфицирующему генотипу LASV [45]. Было обнаружено, что такие антитела обычно специфичны к вирусному гликопротеину (GP), который состоит из двух субъединиц — GP1 и GP2, имеющих эпитопы для связывания с клеточными рецепторами (например, с  $\alpha$ -дистрогликаном) и слияния с мембраной клетки-хозяина. Эти данные позво-

лили предположить, что препараты МКА, нацеленных на эпитопы комплекса GP, могут иметь терапевтическую пользу для людей [57]. Первые мышинные МКА для исследования антигенной структуры LASV были получены к вирусному препарату, инактивированному  $\gamma$ -излучением, и описаны довольно давно (в 1991 г.). По результатам конкурентного ИФА было обнаружено, что наиболее консервативные эпитопы разных вирусных изолятов локализуются на субъединице GP2 [71]. Эпитопы комплекса GP LASV, распознаваемые антителами естественно инфицированных людей, картированы совсем недавно (в 2016 г.) с использованием делеционных вариантов рекомбинантного белка GP. Рекомбинантные человеческие МКА (113 видов) были получены клонированием генов, кодирующих цепи соответствующих IgG. Для этого были использованы мРНК В-клеток выживших после тяжело перенесенной ЛЛ (пятнадцать человек из Сьерра-Леоне и двое из Нигерии). При выборе доноров В-клеток учитывался нейтрализующий титр специфических поликлональных антител, присутствующих в сыворотках крови. В результате были получены данные о том, что 50% видов МКА специфичны к субъединице GP2 в районе эпитопа слияния с клеткой. Остальные виды МКА, по 25% от общего количества, специфичны к GP1 и общим эпитопам комплекса GP1+GP2 соответственно. Методом иммунопреципитации авторы определили, что вирусные эпитопы для нейтрализующих МКА, в основном, имеют сложные конформационные четвертичные структуры. Из 16-ти видов МКА, нейтрализующих LASV (штамм Josiah, линия IV) *in vitro*, доминирующее количество — 13 видов — специфичны к эпитопам, сформированным комплексом GP1+GP2, а три вида — только к эпитопам субъединицы GP1 [69]. Препарат из 5-ти видов вышеописанных человеческих МКА, перекрестно нейтрализующих *in vitro* вирусные изоляты, отнесенные к линиям I–IV LASV, использовали для лечения приматов вида *Macaca fascicularis*. Животные были инфицированы летальной дозой (3500 БОЕ/мл) вирусного препарата, и их лечение начинали на поздних стадиях болезни. В результате было показано, что МКА на 100% защищали приматов от гибели. Таким образом, эти исследования представляют собой новую стратегию разработки специфических препаратов для лечения людей от ЛЛ [57].

Есть мнение, что исследование антивирусной активности медикаментов, уже одобренных в США Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food and Drug Administration, FDA) для лечения при других заболеваниях, сократит время разработки препаратов и для терапии при ЛЛ, так как они уже прошли проверку на безопасность, фармакокинетику и вирусные мишени.

Препараты, препятствующие проникновению вируса в клетку, могут блокировать его репликацию и распространение на ранней стадии болезни [85]. Мишенью для противовирусных препаратов может быть стабильный сигнальный пептид (SSP), входящий в состав гликопротеинового комплекса и способствующий слиянию вируса с мембраной инфицируемой клетки. Этот пептид содержит 58 а.о., цепь которых пронизывает двойную липидную вирусную мембрану, в том числе с 8-ю а.о. в эктодомене GP LASV [31]. Например, лосмапимод — экспериментальный антидепрессант (разработанный фирмой GlaxoSmithKline), который действует на макрофаги и эндотелиальные клетки как селективный ингибитор медиаторов воспаления — ферментов, известных как P38 митоген-активированные протеинкиназы [17], был использован при скрининге *in vitro* в числе 102-х видов препаратов, исследуемых для возможного клинического применения при ЛЛ. Было показано, что лосмапимод ингибирует рН-зависимое слияние LASV с клеткой как раз воздействуя на пептид SSP. Интересно, что на другие аренавирусы лосмапимод не оказывал влияния [88]. Для высокопроизводительного скрининга более тысячи препаратов на антивирусную активность были использованы вирусоподобные частицы (ВПЧ) на основе рекомбинантного вируса везикулярного стоматита, содержащего ген GP LASV и репортерный ген люциферазы. После трех раундов скрининга было установлено, что фенотрин (противопаразитарное средство) и лацидипин (антагонист кальциевых каналов клетки) являются высокоэффективными веществами, ингибирующими проникновение LASV в клетку через кальциевые каналы [85]. Известно, что кальциевые каналы клеток оказались мишенью и для других оболочечных вирусов, например для вируса японского энцефалита [84] и EBOV [72].

При вспышках опасных инфекций, таких как БВВЭ и ЛЛ, географические ареалы этиологических агентов которых могут пересекаться в Африке, а симптомы болезней на ранних стадиях почти неотличимы, интересен подход в использовании лекарственных препаратов, с выявленной *in vitro* антивирусной активностью против EBOV и LASV. Оба эти патогена используют похожие пути проникновения в клетку: контакт с поверхностными рецепторами, макропиноцитоз, прикрепление к эндосомальным рецепторам и рН-зависимое переключение конформации вирусных гликопротеинов для запуска слияния с поздними эндосомами. С использованием ВПЧ, экспонирующих на своей поверхности гликопротеины LASV и EBOV, были протестированы восемь препаратов: амодиахин (противомалярийный), апилимод (противоопухольный), арбидол (противогриппозный),

никлозамин (антигельминтный), зонипорид (кардиопротектор), кломифен (индуктор овуляции у женщин и секреции тестостерона у мужчин), сертралин (антидепрессант) и торимифен (противоопухольный). В результате обнаружено, что пять препаратов (амодиахин, апилимод, арбидол, никлозамин, зонипорид) оказали примерно эквивалентные степени ингибирования проникновения ВПЧ EBOV и LASV в клетки. Три препарата (кломифен, сертралин и торимифен) были более активными против EBOV. Авторы рассматривают использование этих препаратов в виде различных комбинаций для лечения людей [42]. Скрининг натуральных продуктов также может способствовать поиску лекарственных препаратов и исследованию механизмов, лежащих в основе патогенеза LASV. Например, из библиотеки 1058 готовых чистых соединений (производство Weikeqi Biotech, Sichuan, China), выделенных из растительных экстрактов, ингибирующая активность против ВПЧ LASV *in vitro* была обнаружена для бергамотина кожуры грейпфрукта и кастицина семян древовидного кустарника *Vitex agnus-castus* семейства Яснотковые. Авторы считают, что механизм действия этих растительных препаратов, скорее всего, направлен на прямое антивирусное действие через блокирование слияния мембран вируса и клетки [53].

## Заключение

Как показал анализ литературы, основными иммуногенами LASV являются белки NP и GPC (GP1/GP2), поэтому при разработке ИФА-тест-систем по выявлению специфических антител используют рекомбинантные аналоги этих белков. При этом, вопреки иммунологической догме, инфекция может приводить к выработке антител классов IgM и IgG почти одновременно, а IgG появляются в плазме крови заболевших даже раньше, чем IgM, что является препятствием при определении фазы болезни — острой, первичной или повторной ЛЛ. Кроме того, IgM, специфичные к LASV, могут сохраняться у переболевших в течение многих лет.

Время является основным показателем острой инфекции при заражении LASV. Показано, что антигенемия белка NP LASV может появляться у пациентов раньше, чем вирусная РНК. В связи с этим методы выявления вирусных РНК и антигенов в сыворотке крови пациентов с ЛЛ имеют решающее значение для подтверждения диагноза, применения мер предосторожности при уходе за пациентами и доступной противовирусной терапии, например препарата рибавирин.

Известные в настоящее время изоляты LASV генотипически разделены на семь линий (I—

VII). Такое разнообразие его генотипов, связанных с географическими ареалами, усложняет эффективный дизайн молекулярно-генетических методов диагностики ЛЛ. Использование праймеров, специфичных к конкретному генотипу, идеально подходит для исследований его циркуляции в определенных странах/регионах. В контексте же экспортируемых случаев ЛЛ из нескольких стран, где она является эндемичной, для точной диагностики ЛЛ необходимо использовать несколько ПЦР-тест-систем с набором праймеров, специфичных к консервативным участкам генома разных известных вирусных генотипов. Ранее при разработке молекулярно-генетических методов диагностики исследователи, в основном, использовали последовательности генов GPC и NP S-сегмента генома LASV, но с появлением в базе данных GenBank дополнительной информации о новых генетических последовательностях, начались разработки анализов на основе ОТ-ПЦР с праймерами, нацеленными на L-сегмент РНК, кодирующий полимеразу и белок Z.

Тест-системы на основе молекулярно-генетических методов являются чувствительными и специфичными для обнаружения РНК LASV, но не всегда доступны в эндемичных районах и технологически сложны по сравнению с иммуноферментными анализами. В связи с этим необходимы тесты, которые можно использовать в «полевых условиях» — в госпиталях и в домашних условиях. Например, на основе иммунохроматографического анализа (ИХА). Учитывая большое генетическое разнообразие LASV, диагноз, основанный на иммуноферментном обнаружении в сыворотке крови вирусного нуклеопротеина (относительно консервативного антигена), может оказаться более достоверным. Причем оба эти подхода лабораторной диагностики являются прогностическими, так как уровень вируса в крови, как правило, обратно пропорционален выживаемости при ЛЛ.

На протяжении длительного времени единственным средством для лечения пациентов с ЛЛ является рибавирин, но из-за токсичности его применение рекомендовано только тогда когда угроза жизни превышает риск развития тяжелых побочных эффектов в виде анемии и нарушения функции почек. Использование иммунной плазмы реконвалесцентов для лечения может быть успешным в случае присутствия в крови нейтрализующих антител, специфичных к вирусному гликопротеину, которые, кроме того, специфичны именно к гомологичному инфицирующему генотипу LASV. Альтернативой использованию иммунной плазмы реконвалесцентов является получение рекомбинантных человеческих МКА клонированием генов, кодирующих цепи IgG В-клеток пациентов, выживших после тяжелой ЛЛ. Кроме того, в настоящее время ведутся исследования по поиску безопасных препаратов, обладающих широкой антивирусной активностью. Показано, что химически синтезированные или природные молекулы (например, экстрагированные из растений), нацеленные на проникновение LASV (а именно на SSP, который способствует слиянию вируса с мембраной инфицируемой клетки), могут блокировать *in vitro* вирусную репликацию. Для безопасности скрининга потенциальных анти-LASV препаратов *in vitro* используют ВПЧ, экспонирующие на своей поверхности вирусные гликопротеины. Интересен подход в исследовании лекарственных препаратов на ингибирующую активность против двух этиологических агентов — EBOV и LASV, так как географические ареалы этих вирусов могут пересекаться в Африке, и симптомы вызываемых ими болезней на ранних стадиях почти неотличимы.

## Конфликт интересов

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

## Список литературы/References

1. Андаев Е.И., Мельникова О.В., Титенко А.М. Санитарная охрана территории от завоза и распространения особо опасных вирусных инфекций. Сообщение 5. Лихорадка Ласса // Проблемы особо опасных инфекций. 2008. № 1 (95). С. 17–22. [Andaev E.I., Mel'nikova O.V., Titenko A.M. Sanitary protection of the territories from delivery and distribution of especially dangerous viral infections. Message 5. Lassa Fever. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2008, no. 1 (95), pp. 17–22. (In Russ.)] doi: 10.21055/0370-1069-2008-1(95)-17-22
2. Казачинская Е.И., Арипов В.С., Иванова А.В., Шестопалов А.М. Лихорадка Ласса. Часть 1. Этиология, эпидемиология, клиническая картина // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 3. С. 427–438. [Kazachinskaya E.I., Arifov V.S., Ivanova A.V., Shestopalov A.M. Lassa fever. Part 1. Etiology, epidemiology and clinical manifestations. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2022, vol. 12, no. 3, pp. 427–438. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-EEA-1814
3. Карташов М.Ю., Чуб Е.В., Микрюкова Т.П., Найденова Е.В., Терновой В.А. Перспективы применения петлевой изотермической амплификации в диагностике опасных инфекционных болезней, вызванных вирусами I группы патогенности // Проблемы особо опасных инфекций. 2020. № 2. С. 22–30. [Kartashov M.Yu., Chub E.V., Mikryukova T.P., Naidenova E.V., Ternovoy V.A. Prospects for the use of loop isothermal amplification in the diagnosis of particularly dangerous infectious diseases caused by the viruses of the pathogenicity group I. *Problemy osobo opasnykh infektsii = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2020, no. 2, pp. 22–30. (In Russ.)] doi: 10.21055/0370-1069-2020-2-22-30

4. Краснянский В.П., Градобоев В.Н., Борисевич И.В., Потрываева Н.В., Лебединская Е.В., Черникова Н.К., Тиманькова Г.Д. Разработка и изучение свойств иммуноглобулина против лихорадки Ласса // Вопросы вирусологии. 1997. Т. 42, № 4. С. 71–73. [Krasnyansky V.P., Gradoboev V.N., Borisevich I.V., Petryaeva N.I., Chernikova N.T., Timenkov G.D. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 1997, vol. 42, no. 4, pp. 168–171. (In Russ.)]
5. Куницкая Л.Я., Быстрова С.И., Чередниченко И.А., Зайцева В.Н., Владыко А.С. Получение антителпродуцирующих гибридом к вирусу Ласса // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 1991. № 3. С. 67–70. [Kunitskaya L.Ya., Bystrova S.I., Cherednichenko I.A., Zaitseva V.N., Vladyko A.S. Obtaining antibody-producing hybrids to Lassa virus. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunology*, 1991, no. 3, pp. 67–70. (In Russ.)]
6. Маркин В.А., Марков В.И. Вирусные геморрагические лихорадки – эволюция эпидемиологического потенциала // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2002. № 1. С. 91–98. [Markin V.A., Markov V.I. Viral hemorrhagic fevers-evolution epidemiological potential. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunology*, 2002, no. 1, pp. 91–98. (In Russ.)]
7. Осипова Н.И. Разработка иммуноферментных тест-систем для диагностики особо опасных геморрагических лихорадок (вирус Эбола, вирус Марбург, вирус Мачупо, вирус Ласса) // Ветеринария. Реферативный журнал. 2010. № 1. С. 209. [Osipova N.I. Development of enzyme immunoassay systems for the diagnosis of particularly dangerous hemorrhagic fevers (Ebola virus, Marburg virus, Machupo virus, Lassa virus). *Veterinariya. Referativnyi zhurnal = Veterinary Medicine. Abstract Journal*, 2010, no. 1, p. 209. (In Russ.)]
8. Противочумные учреждения. [Anti-plague institutions.] URL: [https://www.rospotrebnadzor.ru/region/structure/str\\_chum.php](https://www.rospotrebnadzor.ru/region/structure/str_chum.php) (28.02.2021)
9. Референс-центры по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней в рамках ММСП 2005. [Reference centers for monitoring pathogens of infectious and parasitic diseases within the framework of the IHR 2005.] URL: <http://77.rospotrebnadzor.ru/index.php/san-epid/40-2009-08-20-06-08-14/2872-2005> (28.02.2021)
10. Рустамова Л.М., Семенов С.Ф., Богданова Н.Л., Владыко А.С., Красько А.Г. Набор для выявления антител к возбудителям особо опасных вирусных инфекций Ласса и Эбола методом непрямой иммунофлуоресценции // БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2016. Т. 16, № 2. С. 115–119. [Rustamova L.M., Semenov S.F., Bogdanova N.L., Vladyko A.S., Krasko A.G. The kit for identification of antibodies against Lassa and Ebola viruses by indirect immunofluorescence. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*, 2016, vol. 16, no. 2, pp. 115–119. (In Russ.)]
11. СП 1.3.3118-13. Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности). Электронный фонд правовой и нормативно-технической документации. [Sanitary rules P 1.3118-13. Safety of work with microorganisms of the I–II groups of pathogenicity (danger). Electronic fund of legal and regulatory and technical documentation.] URL: <http://docs.cntd.ru/document/573319206> (25.02.2021)
12. Терехин С.А., Клименко И.С., Бутенко А.М., Гребенщикова Т.В., Ларичев В.Ф. Определение активности рибавирина в опытах in vitro на модели вируса Батаи // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2010. Т. 12, № 1. С. 54–56. [Terekhin S.A., Klimenko I.S., Butenko A.M., Grebennikova T.V., Larichev V.F. In vitro activity of ribavirin in experimental model of Batai virus. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya = Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 2010, vol. 12, no. 1, pp. 54–56. (In Russ.)]
13. Шатохина И.А., Тимофеев М.А. Геморрагическая лихорадка Ласса // Инфекционные болезни: Новости. Мнения. Обучение. 2015. № 1 (10). С. 39–44. [Shatokhina I.V., Timofeev M.A. Lassa fever. *Infektsionnye bolezni: Novosti. Mneniya. Obuchenie = Infectious Diseases: News, Opinions, Training*, 2015, no. 1 (10), pp. 39–44. (In Russ.)]
14. Электронный фонд правовой и нормативно-технической документации. О Центре специальной лабораторной диагностики и лечения особо опасных и экзотических инфекционных заболеваний. [Electronic fund of legal and regulatory and technical documentation. About the Center for Special Laboratory diagnostics and Treatment of especially dangerous and exotic infectious diseases.] URL: <http://docs.cntd.ru/document/901749158> (28.02.2021)
15. Akhmetzhanov A.R., Asai Y., Nishiura H. Quantifying the seasonal drivers of transmission for Lassa fever in Nigeria. *Philos. Trans. R. Soc. B: Biol. Sci.*, 2019, vol. 374, no. 1775: 20180268. doi: 10.1098/rstb.2018.0268
16. Arruda L.B., Haider N., Olayemi A., Simons D., Ehichioya D., Yinka-Ogunleye A., Ansumana R., Thomason M.J., Asogun D., Ihekweazu C., Fichet-Calvet E., Kock R.A. The niche of one health approaches in Lassa fever surveillance and control. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.*, 2021, vol. 20, no. 1: 29. doi: 10.1186/s12941-021-00431-0
17. Aston N., Bamborough P., Buckton J., Edwards C., Holmes D., Jones K., Patel V., Smee P., Somers D., Vitulli G., Walker A. p38 $\alpha$  Mitogen-activated protein kinase inhibitors: optimization of a series of biphenylamides to give a molecule suitable for clinical progression. *J. Medicinal Chemistry*, 2009, vol. 52, no. 20, pp. 6257–6269. doi: 10.1021/jm9004779
18. Bausch D.G., Rollin P.E., Demby A.H., Coulibaly M., Kanu J., Conteh A.S., Wagoner K.D., McMullan L.K., Bowen M.D., Peters C.J., Ksiazek T.G. Diagnosis and clinical virology of Lassa fever as evaluated by enzyme-linked immunosorbent assay, indirect fluorescent-antibody test, and virus isolation. *J. Clin. Microbiol.*, 2000, vol. 38, no. 7, pp. 2670–7.
19. Baumann J., Knüpfel M., Ouedraogo J., Traoré B.Y., Heitzer A., Kané B., Maiga B., Sylla M., Kouriba B., Wölfel R. Lassa and Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Viruses, Mali. *Emerg. Infect. Dis.*, 2019, vol. 25, no. 5, pp. 999–1002. doi: 10.3201/eid2505.181047
20. Bothra A., Maheswari A., Singh M., Pawar M., Jodhani K. Cutaneous manifestations of viral outbreaks. *Australas. J. Dermatol.*, 2021, vol. 62, no. 1, pp. 27–36. doi: 10.1111/ajd.13421
21. Boisen M.L., Hartnett J.N., Shaffer J.G., Goba A., Momoh M., Sandi J.D., Fullah M., Nelson D.K.S., Bush D.J., Rowland M.M., Heinrich M.L., Koval A.P., Cross R.W., Barnes K.G., Lachenauer A.E., Lin A.E., Nekoui M., Kotliar D., Winnicki S.M., Siddle K.J., Gbakie M., Fonnies M., Koroma V.J., Kanneh L., Kulakosky P.C., Hastie K.M., Wilson R.B., Andersen K.G., Folarin O.O., Happi C.T., Sabeti P.C., Geisbert T.W., Saphire E.O., Khan S.H., Grant D.S., Schieffelin J.S., Branco L.M., Garry R.F. Field validation of recombinant antigen immunoassays for diagnosis of Lassa fever. *Sci. Rep.*, 2018, vol. 8: 5939. doi: 10.1038/s41598-018-24246-w

22. Bowen M.D., Rollin P.E., Ksiazek T.G., Hustad H.L., Bausch D.G., Demby A.H., Bajani M.D., Peters C.J., Nichol S.T. Genetic diversity among Lassa virus strains. *J. Virol.*, 2000, vol. 74, no. 15, pp. 6992–7004. doi: 10.1128/jvi.74.15.6992-7004.2000
23. Branco L.M., Grove J.N., Boisen M.L., Shaffer J.G., Goba A., Fullah M., Momoh M., Grant D.S., Garry R.F. Emerging trends in Lassa fever: redefining the role of immunoglobulin M and inflammation in diagnosing acute infection. *J. Virol.*, 2011, no. 8: 478. doi: 10.1186/1743-422X-8-478.
24. Buckley S.M., Casals J. Lassa fever, a new virus disease of man from West Africa. 3. Isolation and characterization of the virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1970, vol. 19, no. 4, pp. 680–691. doi: 10.4269/ajtmh.1970.19.680
25. Carrillo-Bustamante P., Nguyen T.H.T., Oestereich L., Günther S., Guedj J., Graw F. Determining Ribavirin's mechanism of action against Lassa virus infection. *Sci. Rep.*, 2017, vol. 7, no. 1: 11693. doi: 10.1038/s41598-017-10198-0
26. Crowcroft N.S., Meltzer M., Evans M., Shetty N., Maguire H., Bahl M., Gair R., Brink N., Lockwood D., Gregor S., Jones J., Nicoll A., Gopal R., Brown D., Bannister B. The public health response to a case of Lassa fever in London in 2000. *J. Infect.*, 2004, vol. 48, no. 3, pp. 221–228. doi: 10.1016/j.jinf.2003.11.009
27. Dedkov V.G., Magassouba N., Safonova M.V., Naydenova E.V., Ayginin A.A., Soropogui B., Kourouma F., Camara A.B., Camara J., Kritzkiv A.A., Tuchkov I.V., Shchelkanov M.Y., Maleev V.V. Development and evaluation of a one-step quantitative RT-PCR assay for detection of Lassa Virus. *J. Virol. Methods.*, 2019, no. 271: 113674. doi: 10.1016/j.jviromet.2019.113674
28. Demby A.H., Chamberlain J., Brown D.W., Clegg C.S. Early diagnosis of Lassa fever by reverse transcription-PCR. *J. Clin. Microbiol.*, 1994, vol. 32, no. 12, pp. 2898–2903. doi: 10.1128/JCM.32.12.2898-2903.1994.
29. Drosten C., Götting S., Schilling S., Asper M., Panning M., Schmitz H., Günther S. Rapid detection and quantification of RNA of Ebola and Marburg viruses, Lassa virus, Crimean-Congo hemorrhagic fever virus, Rift Valley fever virus, dengue virus, and yellow fever virus by real-time reverse transcription-PCR. *J. Clin. Microbiol.*, 2002, vol. 40, no. 7, pp. 2323–2330. doi: 10.1128/jcm.40.7.2323-2330.2002.
30. Drosten C., Kummerer B.M., Schmitz H., Gunther S. Molecular diagnostics of viral hemorrhagic fevers. *Antiviral. Res.*, 2003, no. 57, pp. 61–87. doi: 10.1016/S0166-3542(02)00201-2
31. Eichler R., Lenz O., Strecker T., Eickmann M., Klenk H.D., Garten W. Identification of Lassa virus glycoprotein signal peptide as a trans-acting maturation factor. *EMBO Rep.*, 2003, vol. 4, no. 11, pp. 1084–1088. doi: 10.1038/sj.embor.embor7400002
32. Elliott L.H., McCormick J.B., Johnson K.M. Inactivation of Lassa, Marburg, and Ebola viruses by gamma irradiation. *J. Clin. Microbiol.*, 1982, no. 16, pp. 704–708.
33. El Mekki A.A., van der Groen G. A comparison of indirect immunofluorescence and electron microscopy for the diagnosis of some haemorrhagic viruses in cell cultures. *J. Virol. Methods*, 1981, vol. 3, no. 2, pp. 61–69. doi: 10.1016/0166-0934(81)90002-1
34. Feng Y., Zhang Y., Ying C., Wang D., Du C. Nanopore-based fourth-generation DNA sequencing technology. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 2015, vol. 13, no. 1, pp. 4–16. doi: 10.1016/j.gpb.2015.01.009.
35. Fernandez-Montero J.V., Soriano V., Barreiro P., de Mendoza C., Artacho M.A. Coronavirus and other airborne agents with pandemic potential. *Curr. Opin. Environ. Sci. Health.*, 2020, vol. 17, pp. 41–48. doi: 10.1016/j.coesh.2020.09.001
36. Gabriel M., Adomeh D.I., Ehimuan J., Oyakhilome J., Omomoh E.O., Ighodalo Y., Olorok T., Bonney K., Pahlmann M., Emmerich P., Lelke M., Brunotte L., Öschlänger S., Thomé-Bolduan C., Becker-Ziaja B., Busch C., Oda I., Ogbaini-Emovon E., Okokhere P.O., Okogbenin S.A., Akpede G.O., Schmitz H., Asogun D.A., Günther S. Development and evaluation of antibody-capture immunoassays for detection of Lassa virus nucleoprotein-specific immunoglobulin M and G. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 2018, vol. 12: e0006361. doi: 10.1371/journal.pntd.0006361
37. Ghasemnejad-Berenji M., Pashapour S. Favipiravir and COVID-19: a simplified summary. *Drug Res. (Stuttg.)*, 2021, vol. 71, no. 3, pp. 166–170. doi: 10.1055/a-1296-7935
38. Guo H., Sun S., Yang Z., Tang X., Wang Y. Strategies for ribavirin prodrugs and delivery systems for reducing the side-effect hemolysis and enhancing their therapeutic effect. *J. Control Release*, 2015, no. 209, pp. 27–36. doi: 10.1016/j.jconrel.2015.04.016
39. Gupta M., Aggarwal M., Bhari N. Acneiform eruptions: an unusual dermatological side effect of ribavirin. *Dermatol. Ther.*, 2018, vol. 31, no. 5: e12679. doi: 10.1111/dth.12679
40. Haas W.H., Breuer T., Pfaff G., Schmitz H., Köhler P., Asper M., Emmerich P., Drosten C., Gölnitz U., Fleischer K., Günther S. Imported Lassa fever in Germany: surveillance and management of contact persons. *Clin. Infect. Dis.*, 2003, vol. 36, no. 10, pp. 1254–1258. doi: 10.1086/374853
41. Happi A.N., Happi C.T., Schoepp R.J. Lassa fever diagnostics: past, present, and future. *Curr. Opin. Virol.*, 2019, vol. 37, pp. 132–138. doi: 10.1016/j.coviro.2019.08.002
42. Hulseberg C.E., Fénéant L., Szymańska-de Wijs K.M., Kessler N.P., Nelson E.A., Shoemaker C.J., Schmaljohn C.S., Polyak S.J., White J.M. Arbidol and other low-molecular-weight drugs that inhibit Lassa and Ebola viruses. *J. Virol.*, 2019, vol. 93, no. 8: e02185-18. doi: 10.1128/JVI.02185-18.15
43. Jahrling P.B. Protection of Lassa virus-infected guinea pigs with Lassa-immune plasma of guinea pig, primate, and human origin. *J. Med. Virol.*, 1983, no. 12, pp. 93–102. doi: 10.1002/jmv.1890120203
44. Jahrling P.B., Niklasson B.S., McCormick J.B. Early diagnosis of human Lassa fever by ELISA detection of antigen and antibody. *Lancet*, 1985, vol. 1, no. 8423, pp. 250–252. doi: 10.1016/s0140-6736(85)91029-3
45. Jahrling P.B., Peters C.J. Passive antibody therapy of Lassa fever in cynomolgus monkeys: importance of neutralizing antibody and Lassa virus strain. *Infect. Immun.*, 1984, vol. 44, no. 2, pp. 528–533.
46. Johnson D.M., Cubitt B., Pfeffer T.L., de la Torre J.C., Lukashevich I.S. Lassa virus vaccine candidate ML29 generates truncated viral RNAs which contribute to interfering activity and attenuation. *Viruses*, 2021, vol. 13, no. 2: 214. doi: 10.3390/v13020214
47. Johnson K.M., McCormick J.B., Webb P.A., Smith E.S., Elliott L.H., King I.J. Clinical virology of Lassa fever in hospitalized patients. *J. Infect. Dis.*, 1987, no. 155, pp. 456–464. doi: 10.1093/infdis/155.3.456
48. Knobloch J., McCormick J.B., Webb P.A., Dietrich M., Schumacher H.H., Dennis E. Clinical observations in 42 patients with Lassa fever. *Tropenmed. Parasitol.*, 1980, vol. 31, no. 4, pp. 389–398.
49. Kofman A., Choi M.J., Rollin P.E. Lassa fever in travelers from West Africa, 1969–2016. *Emerg. Infect. Dis.*, 2019, vol. 25, no. 2, pp. 245–248. doi: 10.3201/eid2502.180836

50. Ibekwe T.S., Nwogbu M.M., Asogun D., Adomeh D.I., Okokhere P.O. The sensitivity and specificity of Lassa virus IgM by ELISA as screening tool at early phase of Lassa fever infection. *Niger Med. J.*, 2012, vol. 53, pp. 196–199.
51. Ibukun F.I. Inter-lineage variation of Lassa virus glycoprotein epitopes: a challenge to Lassa virus vaccine development. *Viruses*, 2020, vol. 12, no. 4: 386. doi: 10.3390/v12040386
52. Lehmann C., Kochanek M., Abdulla D., Becker S., Böll B., Bunte A., Cadar D., Dormann A., Eickmann M., Emmerich P., Feldt T., Frank C., Fries J., Gabriel M., Goetsch U., Gottschalk R., Günther S., Hallek M., Häussinger D., Herzog C., Jensen B., Kolibay F., Krakau M., Langebartels G., Rieger T., Schaade L., Schmidt-Chanasit J., Schömig E., Schüttfort G., Shimabukuro-Vornhagen A., von Bergwelt-Baildon M., Wieland U., Wiesmüller G., Wolf T., Fätkenheuer G. Control measures following a case of imported Lassa fever from Togo, North Rhine Westphalia, Germany, 2016. *Euro Surveill.*, 2017, vol. 22, no. 39: 17-00088. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2017.22.39.17-00088
53. Liu Y., Guo J., Cao J., Zhang G., Jia X., Wang P., Xiao G., Wang W. Screening of botanical drugs against Lassa virus entry. *J. Virol.*, 2021, vol. 95, no. 8: e02429-20. doi: 10.1128/JVI.02429-20
54. Lotfi M., Hamblin M.R., Rezaei N. COVID-19: Transmission, prevention, and potential therapeutic opportunities. *Clin. Chim. Acta*, 2020, vol. 508, pp. 254–266. doi: 10.1016/j.cca.2020.05.044
55. Lunkenheimer K., Hufert F.T., Schmitz H. Detection of Lassa virus RNA in specimens from patients with Lassa fever by using the polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.*, 1990, vol. 28, no. 12, pp. 2689–2692. doi: 10.1128/JCM.28.12.2689-2692.1990
56. McCormick J.B., King I.J., Webb P.A., Scribner C.L., Craven R.B., Johnson K.M., Elliott L.H., Belmont-Williams R. Lassa fever. Effective therapy with ribavirin. *N. Engl. J. Med.*, 1986, vol. 314, no. 1, pp. 20–26. doi: 10.1056/NEJM198601023140104
57. Mire C.E., Cross R.W., Geisbert J.B., Borisevich V., Agans K.N., Deer D.J., Heinrich M.L., Rowland M.M., Goba A., Momoh M., Boisen M.L., Grant D.S., Fullah M., Khan S.H., Fenton K.A., Robinson J.E., Branco L.M., Garry R.F., Geisbert T.W. Human-monoclonal-antibody therapy protects nonhuman primates against advanced Lassa fever. *Nat. Med.*, 2017, vol. 23, no. 10, pp. 1146–1149. doi: 10.1038/nm.4396
58. Murphy F.A., Webb P.A., Johnson K.M., Whitfield S.G., Chappell W.A. Arenoviruses in Vero cells: ultrastructural studies. *J. Virol.*, 1970, vol. 6, no. 4, pp. 507–518.
59. Nguyen T.H., Guedj J., Anglaret X., Laouénan C., Madelain V., Taburet A.M., Baize S., Sissoko D., Pastorino B., Rodallec A., Piorowski G., Carazo S., Conde M.N., Gala J.L., Bore J.A., Carbonnelle C., Jacquot F., Raoul H., Malvy D., de Lamballerie X., Mentre F.; JIKI study group. Favipiravir pharmacokinetics in Ebola-infected patients of the JIKI trial reveals concentrations lower than targeted. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 2017, vol. 11, no. 2: e0005389. doi: 10.1371/journal.pntd.0005389
60. Nikisins S., Rieger T., Patel P., Muller R., Gunther S., Niedrig M. International external quality assessment study for molecular detection of Lassa virus. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 2015, vol. 9, no. 5: e0003793.
61. Niklasson B.S., Jahrling P.B., Peters C.J. Detection of Lassa virus antigens and Lassa virus specific immunoglobulins G and M by enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Clin. Microbiol.*, 1984, no. 20, pp. 239–244.
62. Oestereich L., Rieger T., Lüdtke A., Ruibal P., Wurr S., Pallasch E., Bockholt S., Krasemann S., Muñoz-Fontela C., Günther S. Efficacy of Favipiravir alone and in combination with Ribavirin in a lethal, immunocompetent mouse model of Lassa fever. *J. Infect. Dis.*, 2016, vol. 213, no. 6, pp. 934–938. doi: 10.1093/infdis/jiv522
63. O’Hearn A.E., Voorhes M.A., Fetterer D.P., Wauquier N., Coomber M.R., Bangura J., Fair J.N., Gonzalez J.P., Schoepp R.J. Serosurveillance of viral pathogens circulating in West Africa. *J. Virol.*, 2016, vol. 13, no. 1: 163. doi: 10.1186/s12985-016-0621-4
64. Olschläger S., Lelke M., Emmerich P., Panning M., Drosten C., Hass M., Asogun D., Ehichioya D., Omilabu S., Günther S. Improved detection of Lassa virus by reverse transcription-PCR targeting the 5’ region of S RNA. *J. Clin. Microbiol.*, 2010, vol. 48, no. 6, pp. 2009–2013. doi: 10.1128/JCM.02351-09
65. Purushotham J., Lambe T., Gilbert S.C. Vaccine platforms for the prevention of Lassa fever. *Immunol. Lett.*, 2019, no. 215, pp. 1–11. doi: 10.1016/j.imlet.2019.03.008
66. Raabe V., Koehler J. Laboratory Diagnosis of Lassa Fever. *J. Clin. Microbiol.*, 2017, vol. 55, no. 6, pp. 1629–1637. doi: 10.1128/JCM.00170-17
67. Raabe V.N., Kann G., Ribner B.S., Morales A., Varkey J.B., Mehta A.K., Lyon G.M., Vanairdale S., Faber K., Becker S., Eickmann M., Strecker T., Brown S., Patel K., De Leuw P., Schuettfort G., Stephan C., Rabenau H., Klena J.D., Rollin P.E., McElroy A., Ströher U., Nichol S., Kraft C.S., Wolf T.; Emory Serious Communicable Diseases Unit. Favipiravir and ribavirin treatment of epidemiologically linked cases of Lassa fever. *Clin. Infect. Dis.*, 2017, vol. 65, no. 5, pp. 855–859. doi: 10.1093/cid/cix40
68. Report World Health Organization. WHO coronavirus disease (COVID-19) dashboard. URL: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019> (06.10.2021)
69. Robinson J.E., Hastie K.M., Cross R.W., Yenni R.E., Elliott D.H., Rouelle J.A., Kannadka C.B., Smira A.A., Garry C.E., Bradley B.T., Yu H., Shaffer J.G., Boisen M.L., Hartnett J.N., Zandonatti M.A., Rowland M.M., Heinrich M.L., Martínez-Sobrido L., Cheng B., de la Torre J.C., Andersen K.G., Goba A., Momoh M., Fullah M., Gbakie M., Kanneh L., Koroma V.J., Fonnier R., Jalloh S.C., Kargbo B., Vandi M.A., Gbetuwa M., Ikponmwosa O., Asogun D.A., Okokhere P.O., Follarin O.A., Schieffelin J.S., Pitts K.R., Geisbert J.B., Kulakowski P.C., Wilson R.B., Happi C.T., Sabeti P.C., Gevaio S.M., Khan S.H., Grant D.S., Geisbert T.W., Saphire E.O., Branco L.M., Garry R.F. Most neutralizing human monoclonal antibodies target novel epitopes requiring both Lassa virus glycoprotein subunits. *Nat. Commun.*, 2016, no. 7: 11544. doi: 10.1038/ncomms11544
70. Russmann S., Grattagliano I., Portincasa P., Palmieri V.O., Palasciano G. Ribavirin-induced anemia: mechanisms, risk factors and related targets for future research. *Curr. Med. Chem.*, 2006, vol. 13, no. 27, pp. 3351–3357. doi: 10.2174/092986706778773059
71. Ruo S.L., Mitchell S.W., Kiley M.P., Roumillat L.F., Fisher-Hoch S.P., McCormick J.B. Antigenic relatedness between arenaviruses defined at the epitope level by monoclonal antibodies. *J. Gen. Virol.*, 1991, vol. 72, no. 3, pp. 549–555. doi: 10.1099/0022-1317-72-3-549.
72. Sakurai Y., Kolokoltsov A.A., Chen C.C., Tidwell M.W., Bauta W.E., Klugbauer N., Grimm C., Wahl-Schott C., Biel M., Davey R.A. Ebola virus. Two-pore channels control Ebola virus host cell entry and are drug targets for disease treatment. *Science*, 2015, no. 347, pp. 995–998. doi: 10.1126/science.1258758

73. Safronetz D., Lopez J.E., Sogoba N., Traore S.F., Raffel S.J., Fischer E.R., Ebihara H., Branco L., Garry R.F., Schwan T.G., Feldmann H. Detection of Lassa virus, Mali. *Emerg. Infect. Dis.*, 2010, vol. 16, no. 7, pp. 1123–1126. doi: 10.3201/eid1607.100146
74. Saijo M., Georges-Courbot M.C., Marianneau P., Romanowski V., Fukushi S., Mizutani T., Georges A.J., Kurata T., Kurane I., Morikawa S. Development of recombinant nucleoprotein-based diagnostic systems for Lassa fever. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2007, vol. 14, no. 9, pp. 1182–1189. doi: 10.1128/CVI.00101-07
75. Salam A.P., Cheng V., Edwards T., Olliaro P., Sterne J., Horby P. Time to reconsider the role of ribavirin in Lassa fever. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 2021, vol. 15, no. 7: e0009522. doi: 10.1371/journal.pntd.0009522
76. Satterly N.G., Voorhees M.A., Ames A.D., Schoepp R.J. Comparison of MagPix assays and enzyme-linked immunosorbent assay for detection of hemorrhagic fever viruses. *J. Clin. Microbiol.*, 2017, vol. 55, no. 1, pp. 68–78. doi: 10.1128/JCM.01693-16
77. Takah N.F., Brangel P., Shrestha P., Peeling R. Sensitivity and specificity of diagnostic tests for Lassa fever: a systematic review. *BMC Infect. Dis.*, 2019, vol. 19, no. 1: 647. doi: 10.1186/s12879-019-4242-6
78. Tani H., Shuzo U. Arenavirus research and antiviral candidate. *Uirusu*, 2018, vol. 68, no. 1, pp. 51–62. doi: 10.2222/jsv.68.51
79. Tang H., Abouleila Y., Mashaghi A. Lassa hemorrhagic shock syndrome-on-a-chip. *Biotechnol. Bioeng.*, 2021, vol. 118, no. 3, pp. 1405–1410. doi: 10.1002/bit.27636
80. Ter Meulen J., Koulemou K., Wittekindt T., Windisch K., Strigl S., Conde S., Schmitz H. Detection of Lassa virus antinucleo-protein immunoglobulin G (IgG) and IgM antibodies by a simple recombinant immunoblot assay for field use. *J. Clin. Microbiol.*, 1998, vol. 36, pp. 3143–3148. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9774554/>
81. Tomori O., Johnson K.M., Kiley M.P., Elliott L.H. Standardization of a plaque assay for Lassa virus. *J. Med. Virol.*, 1987, vol. 22, no. 1, pp. 77–89. doi: 10.1002/jmv.1890220110
82. Trombley A.R., Wachter L., Garrison J., Buckley-Beason V.A., Jahrling J., Hensley L.E., Schoepp R.J., Norwood D.A., Goba A., Fair J.N., Kulesh D.A. Comprehensive panel of real-time TaqMan polymerase chain reaction assays for detection and absolute quantification of filoviruses, arenaviruses, and New World hantaviruses. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2010, vol. 82, no. 5, pp. 954–960. doi: 10.4269/ajtmh.2010.09-0636
83. Troup J.M., White H.A., Fom A.L., Carey D.E. An outbreak of Lassa fever on the Jos plateau, Nigeria, in January-February 1970. A preliminary report. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1970, vol. 19, no. 4, pp. 695–696. doi: 10.4269/ajtmh.1970.19.695
84. Wang S., Liu Y., Guo J., Wang P., Zhang L., Xiao G., Wang W. Screening of FDA approved drugs for inhibitors of Japanese encephalitis virus infection. *J. Virol.*, 2017, vol. 91, no. 21: e01055-17. doi: 10.1128/JVI.01055-17
85. Wang P., Liu Y., Zhang G., Wang S., Guo J., Cao J., Jia X., Zhang L., Xiao G., Wang W. Screening and identification of Lassa virus entry inhibitors from an FDA-approved drug library. *J. Virol.*, 2018, vol. 92, no. 16: e00954-18. doi: 10.1128/JVI.00954-18
86. Wolkowicz T. The utility and perspectives of NGS-based methods in BSL-3 and BSL-4 laboratory — sequencing and analysis strategies. *Brief Funct. Genomics*, 2018, vol. 17, no. 6, pp. 471–476. doi: 10.1093/bfgp/elx033
87. Wulff H., Johnson K.M. Immunoglobulin M and G responses measured by immunofluorescence in patients with Lassa or Marburg virus infections. *Bull. World Health Organ.*, 1979, vol. 57, pp. 631–635. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/118812>
88. Zhang X., Yan F., Tang K., Chen Q., Guo J., Zhu W., He S., Banadyga L., Qiu X., Guo Y. Identification of a clinical compound losmapimod that blocks Lassa virus entry. *Antiviral. Res.*, 2019, no. 167, pp. 68–77. doi: 10.1016/j.antiviral.2019.03.014
89. Zhurilo N.I., Chudinov M.V., Matveev A.V., Smirnova O.S., Konstantinova I.D., Miroshnikov A.I., Prutkov A.N., Grebenkina L.E., Pulkova N.V., Shvets V.I. Isosteric ribavirin analogues: synthesis and antiviral activities. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2018, vol. 28, no. 1, pp. 11–14. doi: 10.1016/j.bmcl.2017.11.029

**Авторы:**

**Казачинская Е.И.**, д.б.н., ведущий научный сотрудник отдела экспериментального моделирования патогенеза инфекционных заболеваний Научно-исследовательского института вирусологии Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины Сибирского отделения Российской Академии наук, Новосибирск, Россия; ведущий научный сотрудник отдела биоинженерии ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия;

**Арипов В.С.**, аспирант, младший научный сотрудник отдела биоинженерии ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия;

**Иванова А.В.**, к.б.н., старший научный сотрудник отдела биоинженерии ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия;

**Шестопалов А.М.**, д.б.н., профессор, зав. отделом экспериментального моделирования патогенеза инфекционных заболеваний Научно-исследовательского института вирусологии Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины Сибирского отделения Российской Академии наук, Новосибирск, Россия.

**Authors:**

**Kazachinskaja E.I.**, PhD, MD (Biology), Leading Researcher, Department of Experimental Modeling of Pathogenesis of Infectious Diseases, Research Institute of Virology, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation; Leading Researcher, Department of Bioengineering, State Research Centre of Virology and Biotechnology “Vector” of Rospotrebnadzor, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation;

**Aripov V.S.**, PhD Candidate, Junior Researcher, Department of Bioengineering, State Research Centre of Virology and Biotechnology “Vector” of Rospotrebnadzor, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation;

**Ivanova A.V.**, PhD (Biology), Senior Researcher, Department of Bioengineering, State Research Centre of Virology and Biotechnology “Vector” of Rospotrebnadzor, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation;

**Shestopalov A.M.**, PhD, MD (Biology), Professor, Head of the Department of Experimental Modeling of Pathogenesis of Infectious Diseases, Research Institute of Virology, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation.

Поступила в редакцию 04.11.2021  
Отправлена на доработку 21.11.2021  
Принята к печати 19.02.2022

Received 04.11.2021  
Revision received 21.11.2021  
Accepted 19.02.2022