

*Рустамова Л. М., Родионова Л. П., Семенов С. Ф., Богданова Н. Л.,  
Семижон П. А., Счеслёнок Е. П., Владыко А. С., Красько А. Г.*

**РАЗРАБОТКА СРЕДСТВ ДИАГНОСТИКИ И ПРОФИЛАКТИКИ ОСОБО  
ОПАСНЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ**

*Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии,  
г. Минск, Республика Беларусь*

Современная эпидемиологическая обстановка характеризуется распространением в ряде стран мира опасных инфекций, имеющих большое социальное значение. Возрастающие угрозы биотерроризма и техногенного распространения особо опасных патогенных микроорганизмов требуют проведения постоянного

мониторинга для обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения. Контроль заноса на территорию страны опасных патогенных биологических агентов (ПБА) является важной составляющей целостной системы биологической безопасности.

Анализ современной эпидемиологической ситуации последнего десятилетия показал существенное изменение эпидемических проявлений геморрагических лихорадок – Эбола, Ласса, Марбург и др. Очевидна глобализация эпидемического процесса - масштабность, рост заболеваемости, сокращение интервалов между эпидемическими вспышками, нарастание опасности заноса инфекции из очага на не эндемичные территории. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) признала эпидемическую ситуацию по лихорадке Эбола в странах Западной Африки «чрезвычайной ситуацией в области общественного здравоохранения, имеющей международное значение» в соответствии с критериями Международных медико-санитарных правил (2005 г.) [1].

Вирус Эбола высоко контагиозен передается через контакт с жидкостями организма инфицированных людей. Решающее значение в предотвращении заноса возбудителей геморрагических лихорадок на территорию имеет эффективное, быстрое выявление вируса.

Лабораторная диагностика предусматривает выявление генетического материала возбудителей (ОТ-ПЦР), применение ИФА-тест-систем, иммунофлюоресцентных методов. Методы доступны только в условиях хорошо оснащённых вирусологических лабораторий строгого противозидемического режима уровней Р3-Р4, с соблюдением максимальных мер по защите персонала.

На базе Государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии» Министерства здравоохранения Республики Беларусь (РНПЦ эпидемиологии и микробиологии), создана «Специализированная коллекция вирусов и бактерий, патогенных для человека», в которой хранятся и поддерживаются в жизнеспособном состоянии уникальные штаммы, изоляты и культуры (Ласса, Эбола, Марбург), выделенные от пациентов и биообъектов, в том числе в некоторых странах Африки. Эти штаммы использовались для создания диагностикумов в отношении особо опасных вирусных инфекций. Диагностические исследования с целью выявления возбудителей геморрагических лихорадок в регламентированном объеме проводятся в лабораториях республиканского референс-центра по диагностике особо опасных, природно-очаговых и вновь возникающих инфекций РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, в условиях, предупреждающих возможность инфицирования персонала и попадания возбудителей на объекты внешней среды, т. е. в специально оборудованных защитных технологических линиях (уровень защиты Р4) в соответствии с требованиями безопасности при работе с микроорганизмами 1-2 групп патогенности СанПиН 1.2.011-94 [2].

На основании полученных нами данных по динамике экспрессии вирусов Ласса и Эбола в культуре клеток Vero E6, оптимизирован непрямой метод флюоресцирующих антител для выявления специфических антигенов Эбола, разработан и изготовлен набор для выявления антител к возбудителям особо опасных вирусных инфекций Ласса и Эбола методом непрямой иммунофлюоресценции

«Белар-РИФ-ЛАС-ЭБОЛ». Данные по экспрессии антигенов вируса Эбола в культуре клеток позволяют оптимизировать процесс приготовления «слайд-антигенов» высокого качества.

С использованием рекомбинантных антигенов, разработана унифицированная рекомбинантная тест-система для выявления антител к вирусам Ласса, Марбург и Эбола методом иммуноферментного анализа «Белар-Лас-Мар-Эбо-АТ» в сыворотках крови пациентов.

В результате проведенных исследований на основе специфических олигонуклеотидов (праймеров), комплементарных участкам геномов возбудителей опасных и особо опасных вирусных инфекций, и фланкирующих фрагментов геномов, содержащих диагностически значимые участки генов бунья-, арена-, флави- и филовирусов: размером 228 н.о. для вируса ККГЛ, 365 н.о. для хантавирусов, 197 н.о. для вируса Ласса, 417 н.о. для вирусов Марбург и Эбола, полученного положительного контроля ( $K^{+LAS}$  ОТ-ПЦР), позволяющего оценить прохождение всех стадий реакции, разработана диагностическая тест-система для индикации возбудителей природно-очаговых, арбовирусных и особо опасных вирусных инфекций методом обратной транскрипции-полимеразной цепной реакции «Белар-Буниа-Флави-Фило-Арена-ПЦР». Подтверждены диагностическая специфичность (99%) тест-системы и чувствительность, составляющая 50-200 копий РНК-матрицы на реакцию.

На модели геморрагической лихорадки Эбола разработана схема лабораторной диагностики, позволяющая при исследовании материала выявлять варианты вирусов и проводить их идентификацию. Схема отработана в лабораторных условиях и испытана на практике при обследовании пациентов, прибывших из регионов, эндемичных по вирусным геморрагическим лихорадкам.

Другим направлением деятельности РНПЦ эпидемиологии и микробиологии является разработка средств терапии и профилактики опасных вирусных инфекций [3, 4]. В рамках задания Государственной научно-технической программы «Новые технологии диагностики, лечения и профилактики», подпрограммы «Инфекции и микробиологические нанотехнологии» в 2011-2015 гг. исследовано около 50 фармакопейных препаратов *in vitro*. Препараты с ХТИ  $\geq 4$  исследованы *in vivo* на животных (BALB/c и беспородные белые мыши). Выявлены препараты из группы производных нуклеозидов и противоопухолевых средств, эффективно ингибировавшие развитие экспериментальной инфекции, вызываемой вирусом Эбола.

Результаты этих исследований отражены в инструкциях по экстренной терапии геморрагических лихорадок Ласса, Марбург и Эбола в дополнение к патогенетической терапии. Инструкции введены в действие для лечения пациентов по разрешению Министерства здравоохранения Республики Беларусь для лабораторно подтвержденных случаев заболеваний геморрагическими лихорадками, выявленными в Республике Беларусь в соответствии с постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 23 декабря 2008 г., № 237.

Своевременная диагностика инфекций, вызванных особо опасными вирусами, является ключевым моментом в организации противоэпидемических мероприятий в случае завоза заболевания на территорию республики. В результате

исследований оптимизирован непрямой метод флюоресцирующих антител для выявления специфических антигенов, разработан и изготовлен набор для выявления антител к возбудителям особо опасных вирусных инфекций Ласса и Эбола методом непрямой иммунофлюоресценции, разработана диагностическая тест-система для индикации возбудителей природно-очаговых, арбовирусных и особо опасных вирусных инфекций методом обратной транскрипции-полимеразной цепной реакции.

Выявлены препараты, эффективно ингибирующие развитие экспериментальной инфекции, вызываемой вирусом Эбола.

Разработана схема лабораторной диагностики пациентов, прибывших из регионов, эндемичных по вирусным геморрагическим лихорадкам.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Заявление ВОЗ по итогам совещания Комитета Международных медико-санитарных правил по чрезвычайной ситуации в отношении вспышки Эболы 2014 г. в Западной Африке.* [Электронный ресурс]. 8 августа 2014 г. Режим доступа: <http://www.who.int/mediacentre/news/statements/2014/ebola-20140808/ru/>. Дата доступа: 07.10.2016.

2. *История создания белорусской специализированной коллекции вирусов и бактерий, патогенных для человека / Л. М. Рустамова [и др.] // 12-я междунар. науч-практ. конф. по истории медицины и фармации: сб. материалов / редкол. Э. А. Вальчук [и др.]. Гродно: ГрГМУ, 2012. С. 239-241.*

3. *Активность синтетических и растительных препаратов при экспериментальной геморрагической лихорадке Ласса и лимфоцитарном хориоменингите / Н. Л. Богданова [и др.] // Материалы V Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням, Москва, 25-27 марта, 2013. С. 62.*

4. *Богданова, Н. Л.* Лекарственные средства, ингибирующие вирусы лимфоцитарного хориоменингита и лихорадки Ласса *in vitro* / Н. Л. Богданова, Л. М. Рустамова, А. Г. Красько // *Здравоохранение.* 2012. № 11. С. 25-27.