

ГЛАВА 3.1.5.

КОНГО-КРЫМСКАЯ ГЕМОРРАГИЧЕСКАЯ ЛИХОРАДКА

РЕЗЮМЕ

Вирус Конго-Крымской геморрагической лихорадки (вирус ККГЛ) рода Nairovirus семейства Bunyaviridae вызывает зоонозы во многих странах Азии, Африки, Ближнего Востока и юго-восточной Европы. Поскольку распространение вируса ККГЛ совпадает с распределением его основного вектора, клещей рода Hyalomma, распространение инфицированных клещей в новые неинфицированные зоны способствует распространению вируса. Вирус реализуется в цикле клещ-позвоночное животное-клещ, но также может передаваться горизонтальным и вертикальным путем внутри популяции клещей. Клещи рода Hyalomma заражают широкий спектр диких животных, например, оленей и зайцев, а также животных, содержащихся на свободном выпасе, т.е. коз, КРС и овец. Многие птицы резистентны к инфекции, однако, страусы являются более восприимчивыми. Виремия среди домашнего скота носит краткосрочный и низкоинтенсивный характер. Данные животные играют решающую роль в жизненном цикле клещей, а также в передаче и амплификации вируса и, таким образом, заслуживают особого внимания со стороны ветеринарного здравоохранения. Поскольку у животных не развиваются клинические признаки, инфекция вирусом ККГЛ не оказывает отрицательного экономического влияния на скотоводство. В отличие от животных, инфекция у человека может привести к развитию тяжелой формы болезни, Конго-Крымской геморрагической лихорадки (ККГЛ).

Ежегодно в Албании, Болгарии, Косово и Турции регистрируется более 1000 случаев ККГЛ среди людей. В других странах уровень инфицирования и количество случаев неизвестно. Коэффициент смертности варьирует от 5% (в Турции) до 80% и может зависеть от штамма вируса, просвещенности местного населения и эффективности мероприятий, проводимых органами общественного здравоохранения. В настоящее время патогенез болезни у людей не совсем понятен. Большинство людей заражаются в результате укусов клещей, а также в результате раздавливания инфицированных клещей, однако инфицирование также возможно через контакт с кровью и другими жидкостями в организме вирусных животных. Поскольку вирус ККГЛ также может передаваться напрямую от человека к человеку, могут возникать внутрибольничные вспышки.

В настоящее время нет утвержденной вакцины против ККГЛ, а терапия ограничивается лечением симптомов. Медико-санитарное просвещение, а также информирование общественности о средствах профилактики и поведении является крайне важным для усиления восприятия людьми риска и, как следствие, для снижения вероятности возникновения инфекций. Таким образом, идентификация эндемичных зон имеет решающее значение для сфокусированного и целенаправленного применения мер в области здравоохранения. Серологический скрининг жвачных животных позволяет

идентифицировать зоны, инфицированные вирусом ККГЛ, поскольку превалентность антител у животных является хорошим индикатором местной циркуляции вируса. Обработка животных репеллентами против клещей может быть довольно эффективной мерой для снижения инфекации животных клещами. Для защиты работников лабораторий работа с материалами, инфицированными вирусом ККГЛ, должна проводиться только в помещениях с соответствующим уровнем биобезопасности.

Идентификация возбудителя: На сегодняшний день известен только один серотип вируса, несмотря на то, что секвенирование указывает на значительное генетическое разнообразие. Вирус ККГЛ обладает морфологическими и физикохимическими качествами, характерными для семейства *Bunyaviridae*. Вирус имеет геном, который представлен одноцепочечной РНК с отрицательной полярностью, состоящий из трех сегментов: L (большой), M (средний) и S (малый), каждый из которых содержится в отдельном нуклеокапсиде внутри вириона. Вирус можно выделить из образцов сыворотки или плазмы, отобранных на фебрильной или виремичной стадии инфекции, а также из печени инфицированных животных. Первичное выделение производится путем заражения нескольких культур тканей, как правило, клеток почек африканской зеленой мартышки (*Vero*) или путем интрацеребральной инокуляции мышам-сосункам. Для идентификации и описания вируса можно использовать традиционный метод полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в реальном времени (ОТ-ПЦР в реальном времени). Поскольку инфекция у животных не сопровождается явными клиническими признаками, вероятность выделения вируса у виремичных животных крайне низка.

Серологические тесты: Для выявления тип-специфических антител проводят непрямую реакцию иммунофлюоресценции или сэндвич ИФА (ИФА-IgG-) и ИФА для выявления специфических иммуноглобулинов методом "захвата" (ИФА-IgM). В настоящее время отсутствуют коммерческие тест-системы для применения в ветеринарии; известно только о нескольких самостоятельно разработанных системах, а также используется несколько наборов, в которых конъюгат заменен на подходящий для конкретного вида животных, в отношении которых проводится скрининг на антитела, специфичные к вирусу ККГЛ.

Требования к вакцинации: Вакцины для животных не существуют.

А. ВВЕДЕНИЕ

Конго-Крымская геморрагическая лихорадка (ККГЛ) – зоонозная болезнь, вызываемая вирусом ККГЛ, который передается клещами рода *Nairovirus* семейства *Bunyaviridae*. Вирус ККГЛ имеет геном, представленный РНК с отрицательной полярностью, состоящий из трех сегментов: L (большой), M (средний), S (малый), каждый из которых содержится в отдельном нуклеокапсиде внутри вириона. Считается, что все найровирусы передаются либо иксодовыми либо аргасидовыми клещами, и что только три являются патогенными для человека: ККГЛ, вирус Дугбе и вирус болезни овец Найроби (Swanepoel & Burt, 2004; Swanepoel & Paweska, 2011; Whitehouse 2004). Недавно впервые удалось вырастить вирус ККГЛ в нескольких линиях клеток клещей, полученных от естественных

векторов (*Hyalomma anatolicum*) и других видов клещей, которые не участвуют в естественной передаче вируса (Bell-Sakyi *et al.*, 2012).

Вирус из вспышки “Крымской геморрагической лихорадки” у солдат и сельских жителей на Крымском полуострове в 1944 году не был выделен и охарактеризован до 1967 года. В 1969 году оказалось, что вирус “геморрагической лихорадки Конго”, выделенный у пациента в бывшем Заире (нынешней Демократической республике Конго) в 1956 году, является тем же вирусом. Вследствие этого для описания болезни использовали названия обеих стран (Hoogstraal, 1979). Распространение вируса отражает широту распространения клещей рода *Hyalomma*, которые являются основным вектором вируса (Avsic-Zupanc, 2007; Grard *et al.*, 2011; Papa *et al.*, 2011; Swanepoel & Paweska, 2011).

Естественный цикл вируса ККГЛ включает трансвариальную и трансстадиальную передачу среди клещей, а также цикл клещ-позвоночное животное-клещ, в который входит широкий спектр диких и домашних животных. Инфекция может также передаваться от инфицированного клеща к неинфицированному во время совместного питания на хозяине; так называемый феномен “не виремичной передачи”. Клещи рода *Hyalomma* питаются на различных домашних жвачных животных (овцах, козах и КРС), а также на диких травоядных животных (зайцах, ежах, некоторых грызунах). Инфекция вирусом ККГЛ была рассмотрена Nalca *et al.*, (2007). Несмотря на то, что инфекция у животных обычно носит субклинический характер, ассоциированные уровни виремии являются достаточными для того, чтобы вирус мог передаться неинфицированным клещам (Swanepoel & Burn, 2004; Swanepoel & Paweska, 2011). Многие птицы резистентны к инфекции, однако, страусы являются более восприимчивым видом (Swanepoel *et al.*, 1998). Несмотря на то, что они не становятся виремичными, кормящиеся на земле птицы могут переносить клещей, инфицированных вирусом ККГЛ. Результаты серологических обследований, проведенных в Африке и Евразии, показали обширную циркуляцию вируса среди домашнего скота и диких позвоночных животных (Swanepoel & Burt, 2004).

Инфицирование людей происходит в результате укусов клещей или контакта с инфицированной кровью, а также тканями животных или людей. После инкубационного периода у человека может развиваться тяжелая форма болезни с прегеморрагической фазой, геморрагической фазой и периодом выздоровления. Геморрагические манифестации могут варьировать от петехии до крупных гематом. Также может наблюдаться кровотечение из носа, в желудочно-кишечном тракте, в матке и мочевыводящих путях, в дыхательных путях; при этом летальность составляет от 5 до 80% (Ergonul, 2006; Yen *et al.*, 1985; Yilmaz *et al.*, 2008). Степень тяжести ККГЛ у человека подчеркивает влияние данной зоонозной болезни на здравоохранение. Несмотря на то, что вирус ККГЛ не оказывает никакого экономического влияния на животноводство, серологический скрининг образцов сыворотки животных на наличие ККГЛ вирус-специфических антител является крайне важным. Поскольку превалентность среди животных служит хорошим индикатором местной циркуляции вируса, такие расследования позволяют идентифицировать зоны высокого риска заражения людей (Mertens *et al.*, 2013). Работники боен, ветеринары, пастухи и другие люди, работающие в секторе животноводства, должны быть информированы о данной болезни. Они должны принимать практические меры по ограничению или избеганию воздействия свежей крови или других тканей животных на обнаженные участки тела, а также по избеганию укусов клещей и контакта с

ними. Опыт Южной Африки показал, что использование репеллентов в отношении животных перед убоем может снизить количество инфицированных работников бойни (Swanepoel *et al.*, 1998). В целом обработка скота способна снизить плотность клещей среди данных животных и, таким образом, снизить риск укусов клещей для операторов (Martens *et al.*, 2013). Такой метод борьбы с клещами с использованием акарицидов в некоторой степени возможен, но его реализация может быть затруднена в условиях экстенсивного скотоводства. Для профилактики инфекции у людей в Восточной Европе и в странах бывшего СССР в ограниченных масштабах используют инактивированную вакцину, полученную с использованием клеток мозга мышей (Swanepoel & Paweska, 2011).

Инфекционность вируса ККГЛ разрушается при кипячении или автоклавировании, а также при низких концентрациях формалина или β -пропиолактона. Вирус чувствителен к жирорастворителям. Вирус лабилен в инфицированной ткани после смерти, предположительно по причине снижения pH, однако инфекционность сохраняется в сыворотке в течение нескольких дней при комнатной температуре и до 3 недель при температуре 4°C. Инфекционность вируса стабильна при температуре -60 °C (Swanepoel & Paweska, 2011). Вирус ККГЛ, как инфекция человека, входит в Группу риска 3 и требует принятия соответствующих мер при обращении, как описано в Главе 1.1.4 *Биобезопасность и биозащита: Стандарт по управлению биологическими рисками в ветеринарных лабораториях и на животноводческих предприятиях*. Меры биобезопасности определяются на основе анализа риска, как это описано в Главе 1.1.4 (Palmer, 2011; Whitehouse, 2004).

В. МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ

Таблица 1. Форматы диагностических тестов на наличие инфекции вирусом Конго-Крымской геморрагической лихорадки у животных

Метод	Цель					
	Свобода популяции и от инфекции	Свобода отдельного животного от инфекции перед его перемещением	Вклад в политику по искоренению	Подтверждение клинических случаев у животных	Превалентность инфекции - надзор	Иммунный статус отдельных животных или популяции после вакцинации
Идентификация возбудителя¹						
ОТ-ПЦР в реальном времени	-	+++	н/п	н/п	-	н/п
Выделение вируса в культуре клеток	-	-	н/п	н/п	+	н/п
Обнаружение иммунного ответа						
ИФА-IgG	+++	+	н/п	н/п	+++	н/п
Конкурентны	+++	+	н/п	н/п	+++	н/п

¹ Рекомендуется использовать комбинацию методов идентификации возбудителя, используя один и тот же образец.

ИФА						
ИФА-IgM	-	++	н/п	н/п	-	н/п

Разъяснение: +++ = рекомендуемый метод; ++ = подходящий метод; + = может быть использован в некоторых случаях, однако стоимость, надежность или другие факторы значительно ограничивают его применение; - = не подходит для данной цели; н/п = не применим.

Несмотря на то, что не все тесты в категории +++ или ++ прошли валидацию, их рутинная природа и тот факт, что их широко используют, а результаты не вызывают сомнений, делает их допустимыми.

ИФА = иммуносорбентный ферментный анализ; ОТ-ПЦР = полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией.

Инфекция вирусом ККГЛ вызывает у домашних и диких позвоночных животных лишь слабую лихорадку, при этом вирус можно определить в срок до 2 недель (Gonzalez *et al.*, 1998; Gunes *et al.*, 2011). Аналогичным образом у страусов развивается очень низкая и краткосрочная вирусемия и отсутствуют клинические признаки (Swanepoel & Burt, 2004). Таким образом, недавняя инфекция у животных редко диагностируется, а методы, такие как полимеразная цепная реакция (ПЦР), выделение вируса в культуре клеток и обнаружение IgM с помощью иммуносорбентного ферментного анализа (ИФА) в основном используются для диагностирования ККГЛ у человека или в особых случаях, когда необходимо классифицировать животное как благополучное по ККГЛ. Для анализа превалентности и для установления факта циркуляции вируса ККГЛ в стране предпочтительно использовать методы для обнаружения IgG антител (Таблица 1). Если существует вероятность или имеется подозрение на то, что диагностические образцы могут быть контаминированы вирусом ККГЛ – работу с ними необходимо проводить в соответствующих условиях биобезопасности, а все лица, работающие с данными образцами, должны быть осведомлены о возможном риске и должны использовать индивидуальные средства защиты, чтобы избежать заражения.

1. Идентификация возбудителя

Для тестирования животных на наличие вирусемии, а также для клинической диагностики у людей экспресс диагностирование можно осуществить путем обнаружения вирусной нуклеиновой кислоты в сыворотке или плазме, используя традиционную ПЦР (Burt *et al.*, 1998) или ОТ-ПЦР в реальном времени (Drosten *et al.*, 2002; Duh *et al.*, 2006; Wölfel *et al.*, 2007), либо путем демонстрации вирусного антигена (Shepherd *et al.*, 1988). Образцы, представляемые в лабораторию для подтверждения ККГЛ, включают образцы крови и печени. Поскольку в лаборатории существует риск инфицирования – работу с вирусом ККГЛ необходимо проводить в помещениях с соответствующей степенью биобезопасности.

Вирус можно выделить из сыворотки или суспензии органов на многих культурах клеток, включая Vero, LLC-MK2, SW-13, CER и клетки ВНК21, а затем идентифицировать путем иммунофлюоресценции, используя специфические антитела. Выделение и идентификацию вируса можно провести через 1-5 дней, но культура клеток обладает довольно низкой чувствительностью, и обычно можно обнаружить только высокие концентрации вируса в крови. Интрацеребральная инокуляция мышам-сосункам является более чувствительным методом выделения вируса по сравнению с культурой клеток, но из соображения благополучия животных данный метод не рекомендован.

1.1 Выделение вируса на культуре клеток

Вирус ККГЛ можно выделить на культуре клеток млекопитающих. Обычно используют клетки Vero, при этом урожай собирают через 1-5 дней после инокуляции. Цитопатическое действие вируса ККГЛ выражено слабо, поэтому титр инфекционности определяется путем демонстрации иммунофлюорисценции инфицированных клеток (Shepherd *et al.*, 1986). Для выделения вируса также широко используется линия клеток SW-13, в которой образуются бляшки в пределах 4 дней после инокуляции. Идентификацию изолята вируса ККГЛ необходимо подтвердить с помощью молекулярных методов или иммунофлюорисценции (Burt *et al.*, 1998; Shepherd *et al.*, 1986).

1.1.1. Процедура тестирования

- i) Линии чувствительных клеток включают клетки Vero-E6, ВНК-21, LLC-MK2 и SW-13. 80% слившийся монослой предпочитаемой линии клеток инокулируют образцом. Используемый объем образца зависит от размера сосуда для культивирования (т.е. 25 см² колба для культивирования или 6- или 24-луночный планшет для культур тканей). Объем образца должен быть достаточным, чтобы покрыть клеточный монослой. Образцы недостаточного объема можно развести средой для культуры тканей, чтобы приготовить достаточный для инокуляции объем.
- ii) Образец оставляют для адсорбции при температуре 37°C на 1 час.
- iii) Удаляют инокулят. Добавляют свежую среду для культуры ткани, содержащую 2% эмбриональную телячью сыворотку и другие необходимые добавки в зависимости от требований к среде и линии клеток.
- iv) Инкубируют при температуре 37°C и 5% CO₂ в течение 4-7 дней.
- v) Надосадочную жидкость исследуют на наличие вирусной РНК вируса ККГЛ с помощью ОТ-ПЦР в реальном времени, как описано ниже, или проводят реакцию иммунофлюоресценции на соскобе клеток.
- vi) В большинстве линии клеток изоляты вируса ККГЛ от клинических образцов не вызывают различимое под микроскопом цитопатическое действие (ЦПД).

1.2. Обнаружение нуклеиновой кислоты

Молекулярные методы диагностики, такие как ОТ-ПЦР, являются передовым средством диагностирования ККГЛ, а также других геморрагических лихорадок (Drosten *et al.*, 2003). Преимущество молекулярных методов диагностики заключается в их скорости по сравнению с культивированием вируса, что часто позволяет поставить предположительный диагноз в течение нескольких часов после получения образца (Burt *et al.*, 1998). ОТ-ПЦР – это чувствительный метод диагностики, но по причине генетического разнообразия вируса ККГЛ могут возникнуть некоторые трудности, связанные с дизайном праймеров или проб, который бы позволил обнаружить все циркулирующие штаммы вируса. Недавно была описана ОТ-ПЦР в реальном времени, которая позволяет обнаружить штаммы из различных географических локаций. Исследование показало высокую чувствительность; с помощью него можно обнаружить 1164 копии вирусной РНК в 1 мл плазмы (Wölfel *et al.*, 2007). За последние 20 лет референтная лаборатория Всемирной организации здравоохранения активно валидирует микрочип низкой плотности, разработанный на основе наиболее актуальной информации о геноме, используя

клинические образцы, полученные с подтвержденных случаев ККГЛ. Было доказано, что с помощью него можно обнаружить 6,3 копии генома за одну реакцию (Wölfel *et al.*, 2009).

Wölfel *et al.* (2007) разработал ОТ-ПЦР в реальном времени, которая нацелена на S-сегмент генома вируса ККГЛ, и с помощью которой можно обнаружить штаммы из различных географических локаций. Метод включает транскрибированную *in-vitro* копию РНК целого S-сегмента в качестве стандарта количественного определения РНК. Исследование основано на паре праймеров и трех зондах. Матрица, используемая в исследовании, представляет собой вирусную РНК, выделенную из образца с помощью любого стандартного метода выделения вирусной РНК или с помощью коммерческого тест-набора. Последовательности и участки связывания праймеров и трех проб:

Праймер RWCF

- i) Прямой праймер
- ii) Позиция 1068-1095
- iii) Последовательность 5'-CAA-GGG-GTA-CCA-AGA-AAA-TGA-AGA-AGG-C-3'

Праймер RWCR

- i) Обратный праймер
- ii) Позиция 1248-1223
- iii) Последовательность 5'-GCC-ACA-GGG-ATT-GTT-CCA-AAG-CAG-AC-3'

Зонд SE01

- i) Зонд широкого спектра
- ii) Позиция 1172-1198
- iii) Последовательность 5'-FAM-ATC-TAC-ATG-CAC-CCT-GCT-GTG-TTG-ACA-TAMRA-3'

Зонд SE03

- i) Дополнительный зонд
- ii) Позиция 1172-1198
- iii) Последовательность 5'-FAM-ATT-TAC-ATG-CAC-CCT-GCC-GTG-CTT-ACA-TAMRA-3'

Зонд SE0A

- i) Дополнительный зонд
- ii) Позиция 1131-1198
- iii) Последовательность 5'-FAM-ATT-TAC-ATG-CAC-CCT-GCC-GTG-CTT-ACA-TAMRA-3'

Исследование было валидировано с помощью реагентов из специального коммерческого набора, но их можно заменить любыми эквивалентными реагентами из других коммерческих наборов. Реакция проводится следующим образом: 25 μ л объема реакционной смеси, состоящей из 5 μ л вирусной РНК, 1 \times концентрации рабочего

буферного раствора для ПЦР и энзимов из любого коммерческого набора для одношаговой ОТ-ПЦР, 400 мкмоль дНТФ, 800 нг не ацелированного альбумина бычьей сыворотки. Параметры цикла: 30 минут при температуре 50°C, 15 минут при температуре 95 °C, 46× 15 секунд при температуре 94 °C, 30 секунд при температуре 59 °C и 30 секунд при температуре 72 °C. Флюоресценция возникает в режиме с шагом 59 °C.

2. Серологические исследования

Реакции вирус нейтрализации, которые обычно считаются высокоспецифичными, редко используются для диагностирования ККГЛ. Члены рода *Nairovirus* обычно индуцируют более слабый ответ нейтрализующих антител по сравнению с членами другого рода семейства *Bunyaviridae*. Другим недостатком является необходимость проведения данного исследования в условиях высокого уровня биобезопасности, поскольку в данном случае используется живой вирус (Burt *et al.*, 1994; Rodriguez *et al.*, 1997).

В настоящее время существует несколько коммерческих наборов для ИФА-IgM и ИФА-IgG, а также для реакции иммунофлюоресценции (РИФ) для диагностики вируса ККГЛ. Все они разработаны для выявления болезни у человека. Однако можно адаптировать данные коммерческие ИФА и РИФ наборы для серологического исследования животных. Кроме того, известно несколько самостоятельно разработанных ИФА для обнаружения специфических к вирусу ККГЛ антител у животных (Таблица 2).

ИФА для выявления специфических IgM и IgG антител к вирусу ККГЛ является более чувствительным методом по сравнению с РИФ. IgG антитела можно обнаружить с помощью IgG-сэндвич или непрямого ИФА, а суммарные антитела можно обнаружить с помощью конкурентного ИФА. Преимущество конкурентного ИФА заключается в его способности проводить исследование на различных видах животных, поскольку они не зависят от вида хозяина. Протоколы опубликованных исследований (Таблица 2) являются примером общей процедуры и протоколов для различных видов исследований по обнаружению антител, специфичных к вирусу ККГЛ. Ограничивающим фактором повторения данных протоколов в других лабораториях является доступность антигенов и (где это уместно) указанных моноклональных антител. Большинство тестов, описанных для домашнего скота и диких животных, не прошли формальной валидации (Martens *et al.*, 2013). Одной из самых больших трудностей такой валидации является доступность адекватного количества положительных должным образом охарактеризованных контрольных образцов.

Для получения информации о доступности референтных реагентов для использования в ветеринарных диагностических лабораториях свяжитесь с Референтными лабораториями МЭБ или с Центром по сотрудничеству МЭБ по зоонозам в Европе.

Таблица 2. Серологические исследования для обнаружения антител, специфичных к вирусу ККГЛ, или для обнаружения вирусного антигена

Исследование		Целевой вид	Разработчик/производитель исследования
Коммерчески	ИФА-IgM	человек	BDSL, Дрегхорн, Шотландия
			Vector-Best, Новосибирск, Россия

	ИФА-IgG	вирус	Vector-Best, Новосибирск, Россия
	РИФ-IgM		Euroimmun, Любек, Германия
	РИФ-IgG		Euroimmun, Любек, Германия
	ИФА с захватом антигена		Vector-Best, Новосибирск, Россия
Самостоятельно-разработанные методы	ИФА-IgM	человек	(Mourya <i>et al.</i> , 2012)
			(Garcia <i>et al.</i> , 2006)
			(Dowall <i>et al.</i> , 2012)
			(Emmerich <i>et al.</i> , 2010)
			(Tang <i>et al.</i> , 2003)
	ИФА-IgG	человек	(Burt <i>et al.</i> , 1994)
			(Dowall <i>et al.</i> , 2012)
			(Garcia <i>et al.</i> , 2006)
			(Burt <i>et al.</i> , 1994)
			(Emmerich <i>et al.</i> , 2010)
			(Samudzi <i>et al.</i> , 2012)
	РИФ-IgM	человек	(Saijo <i>et al.</i> , 2002a)
			USAMRID, Форт-Детрик, США
			(Burt <i>et al.</i> , 1994)
	РИФ-IgG	человек	(Saijo <i>et al.</i> , 2002b)
			(Burt <i>et al.</i> , 1994)
IgG Вестерн-блот	человек	(Xia <i>et al.</i> , 2011)	
ИФА-IgM	овцы	(Xia <i>et al.</i> , 2011)	
ИФА-IgG	овцы	(Burt <i>et al.</i> , 1993)	
		(Qing <i>et al.</i> , 2003)	
	КРС	(Garcia <i>et al.</i> , 2006)	
		(Garcia <i>et al.</i> , 2006)	
животные	CDC, Атланта, США		
	USAMRID, Форт-Детрик, США		
Конкурентный ИФА	независимо от вида	(Burt <i>et al.</i> , 1993)	
ИФА с захватом антигена	вирус	(Burt <i>et al.</i> , 1993)	
		(Saijo <i>et al.</i> , 2005)	

РИФ: реакция иммунофлюоресценции. ИФА: иммуносорбентный ферментный анализ
(Данные и таблица модифицированы из Martens *et al.*, 2013)

С. ТРЕБОВАНИЯ К ВАКЦИНАМ

Вакцины для животных не существует

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

AVŠIČ-ŽUPANC T. (2007). Epidemiology of Crimean–Congo hemorrhagic fever in the Balkans. In: Crimean–Congo Hemorrhagic Fever, a Global Perspective, Ergonul O. & Whitehouse C.A., eds. Springer: Dordrecht, Netherlands, 75–88.

BELL-SAKYI L., KOHL D., BENTE D.A. & FAZAKERLEY J.F. (2012). Tick cell lines for study of Crimean–Congo hemorrhagic fever virus and other arboviruses. Vector Borne Zoonotic Dis., 12, 769–781.

BURT F.J., LEMAN P.A., SMITH J.F. & SWANEPOEL R. (1998). The use of a reverse transcription-polymerase chain reaction for the detection of viral nucleic acid in the diagnosis of Crimean–Congo haemorrhagic fever. *J. Virol. Methods*, 70, 129–37.

BURT F.J., SWANEPOEL R. & BRAACK L. (1993). Enzyme-linked immunosorbent assays for the detection of antibody to Crimean–Congo hemorrhagic fever virus in the sera of livestock and wild vertebrates. *Epidemiol. Infect.*, 111, 547–557.

DOWALL S.D., RICHARDS K.S., GRAHAM V.A., CHAMBERLAIN J. & HEWSON R. (2012). Development of an indirect ELISA method for the parallel measurement of IgG and IgM antibodies against Crimean–Congo haemorrhagic fever (CCHF) virus using recombinant nucleoprotein as antigen. *J. Virol. Methods*, 179, 335–341.

DROSTEN C., GOTTING S., SCHILLING S., ASPER M., PANNING M., SCMITZ H. & GUNTER S. (2002). 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 transcription-PCR. *J. Clin. Microbiol.*, 40, 2323–2340.

DROSTEN C., KUMMERER B.M., SCMITZ H. & GUNTER S. (2003). Molecular diagnosis of viral hemorrhagic fevers. *Antiviral Res.*, 57, 61–87.

DUH D., SAKSIDA A., PETROVEC M., DEDUSHAJ I. & AVSIC-ZUPANC T. (2006). Novel one-step real-time RT-PCR assay for rapid and specific diagnosis of Crimean–Congo hemorrhagic fever encountered in the Balkans. *J. Virol. Methods*, 133, 175–179.

EMMERICH P., AVSIC-ZUPANC T., CHINIKAR S., SAKSIDA A., THOME-BOLDUAN C., PARCZANY-HARTMANN A., LANGROUDI A.G., MORADI M., AHMETI S., GUNTHER S. & SCHMIDT-CHANASIT J. (2010). Early serodiagnosis of acute human Crimean–Congo hemorrhagic fever virus infections by novel capture assays. *J. Clin. Virol.*, 48, 294–295.

ERGONUL O. (2006). Crimean–Congo haemorrhagic fever. *Lancet Infect. Dis.*, 6, 203–214.

GARCIA S., CHINIKAR S., COUDRIER D., BILLECOCQ A., HOOSHMAND B., CRANCE J.M., GARIN D. & BOULOY M. (2006). Evaluation of a Crimean–Congo hemorrhagic fever virus recombinant antigen expressed by Semliki Forest suicide virus for IgM and IgG antibody detection in human and animal sera collected in Iran. *J. Clin. Virol.*, 35, 154–159.

GONZALEZ J.-P., CAMICAS J.-L., COMET J.-P. & WILSON M.L. (1998). Biological and clinical responses of West African sheep to Crimean–Congo haemorrhagic fever virus experimental infection. *Res. Virol.*, 149, 445–455.

GUNES T., POYRAZ O., VATANSEVER Z. (2011). Crimean–Congo hemorrhagic fever virus in ticks collected from humans, livestock, and picnic sites in the hyperendemic region of Turkey. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 11, 1411–1416.

GRARD G., DREXLER J.F., FAIR J., MUYEMBE J.-J., WOLFE N.D., DROSTEN C. & LEROY E.M. (2011). Re-emergence of Crimean–Congo hemorrhagic fever virus in Central Africa. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 5(10): e1350. doi:10.1371/journal.pntd.0001350.

- HOOGSTAL H. (1979). The epidemiology of tick-borne Crimean–Congo haemorrhagic fever in Asia, Europe and Africa. *J. Med. Entomol.*, 15, 307–417.
- MERTENS M., SCHMIDT K., OZKUL A. & GROSCHEP M.H. (2013). The impact of Crimean–Congo hemorrhagic fever virus on public health. *Antiviral Res.*, 98 (2), 248–260.
- MOURYA D.T., YADAV P.D., SHETE A.M., GURAV Y.K., RAUT C.G., JADI R.S., PAWAR S.D., NICHOL S.T. & MISHRA A.C. (2012). Detection, isolation and confirmation of Crimean–Congo hemorrhagic fever virus in human, ticks and animals in Ahmadabad, India, 2010–2011. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 6, e1653.
- NALCA A. & WHITEHOUSE C.A. (2007). Crimean–Congo hemorrhagic fever virus infection among animals. In: *Crimean–Congo Hemorrhagic Fever: A Global Perspective*, Ergonul O. & Whitehouse C.A., eds. Springer: Dordrecht, Netherlands, 155–165.
- PALMER S. (2011). Deliberate release of zoonotic agents. In: *Oxford Textbook of Zoonosis: Biology, Clinical Practise and Public Health Control, Second Edition*, Palmer S.R., Soulsby L., Torgerson P.R. & Brown D.W.G., eds. Oxford University Press, UK, p. 1214.
- PAPA A., TZALA E. & MALTEZOU H. (2011). Crimean–Congo hemorrhagic fever virus, Northeastern Greece. *Emerg. Infect. Dis.*, 17, 141–143
- QING T., SAIJO M., LEI H., NIKURA M., MAEDA A., IKEGAMI T., XINJUNG W., KURANE I. & MORIKAWA S. (2003). Detection of immunoglobulin G to Crimean–Congo hemorrhagic fever virus in sheep sera by recombinant nucleoprotein-based enzyme-linked immunosorbent and immunofluorescence assays. *J. Virol. Methods*, 108, 111–116.
- RODRIGUEZ L.L., MAUPIN G.O., KSIAZEK T.G., ROLLIN P.E., KHAN A.S., SCHWARZ T.F., LOFTS R.S., SMITH J.F., NOOR A.M., PETERS C.J. & NICHOL S.T. (1997). Molecular investigation of a multisource outbreak of Crimean–Congo hemorrhagic fever in the United Arab Emirates. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 57 (5), 512–518. SAIJO M., QING T., NIKURA M., MAEDA A., IKEGAMI T., PREHAUD C., KURANE I. & MORIKAWA S. (2002a). Recombinant nucleoprotein-based enzyme-linked immunosorbent assay for detection of immunoglobulin G antibodies to Crimean–Congo hemorrhagic fever virus. *J. Clin. Microbiol.*, 40, 1587–1591.
- SAIJO M., QING T., NIKURA M., MAEDA A., IKEGAMI T., SAKAI K., PREHAUD C., KURANE I. & MORIKAWA S. (2002b). Immunofluorescence technique using HeLa cells expressing recombinant nucleoprotein for detection of immunoglobulin G antibodies to Crimean–Congo hemorrhagic fever virus. *J. Clin. Microbiol.*, 40, 372–375.
- SAIJO M., TANG Q., SHIMAYI B., HAN L., ZHANG Y., ASIGUMA M., TIANSHU D., MAEDA A., KURANE I. & MORIKAWA S. (2005). Antigen-capture enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of Crimean–Congo hemorrhagic fever using a novel monoclonal antibody. *J. Med. Virol.*, 77, 83–88.

- SAMUDZI R.R., LEMAN P.A., PAWESKA J.T., SWANEPOEL R. & BURT F.J. (2012). Bacterial expression of Crimean–Congo hemorrhagic fever virus nucleoprotein and its evaluation as a diagnostic reagent in an indirect ELISA. *J. Virol. Methods*, 179, 70–76.
- SHEPHERD A.J., SWANEPOEL R. & GILL D.E. (1988). Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay and reversed passive hemagglutination for detection of Crimean–Congo hemorrhagic fever virus antigen. *J. Clin. Microbiol.*, 26, 347–353.
- SHEPHERD A.J., SWANEPOEL R., LEMAN P.A. & SHEPHERD S.P. (1986). Comparison of methods for isolation and titration of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *J. Clin. Microbiol.*, 24, 654–656.
- SWANEPOEL R & BURT F.J. (2004). Crimean–Congo haemorrhagic fever. Second Edition. In: *Infectious diseases of livestock with special reference to South Africa*, Coetzer J.A.W, Tustin R.C., eds. Cape Town: Oxford University Press Southern Africa, pp. 1077–1085.
- SWANEPOEL R., LEMAN P.A., BURT, F.J., JARDINE J., VERWOERD D.J., CAPUA I., BRUCKNER G.K. & BURGER W.P. (1998). Experimental infection of ostriches with Crimean-Congo haemorrhagic fever virus. *Epidemiol. Infect.*, 121, 427–432.
- SWANEPOEL R. & PAWESKA J.T. (2011). Crimean-Congo hemorrhagic fever. In: *Oxford Textbook of Zoonosis: Biology, Clinical Practise and Public Health Control*, Second Edition. Palmer S.R., Soulsby L., Torgerson P.R. & Brown D.W.G., eds. Oxford University Press, UK, pp. 287–293.
- TANG Q., SAIJO M., ZHANG Y., ASIGUMA M., TIANSHU D., HAN L., SHIMAYI B., MAEDA A., KURANE I. & MORIKAWA S. (2003). A patient with Crimean–Congo hemorrhagic fever serologically diagnosed by recombinant nucleoproteinbased antibody detection systems. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 10, 489–491.
- WHITEHOUSE C.A. (2004). Crimean–Congo hemorrhagic fever. *Antivir. Res.*, 64, 145–160.
- WÖLFEL R., PAWESKA J.T., PETERSEN N., GROBBELAAR A.G., LEMAN P.A., HEWSON R., GEORGES-COURBOT, M., PAPA, A., GÜNTER S. & DROSTEN C. (2007). Virus detection and monitoring of viral load in Crimean-Congo hemorrhagic fever virus patients. *Emerg. Infect. Dis.*, 13, 1097–1100.
- WÖLFEL R., PAWESKA J.T., PETERSEN N., GROBBELAAR A.G., LEMAN P.A., HEWSON R., GEORGES-COURBOT M., PAPA, A., HEISER V., PANNING M., GUNTER S. & DROSTEN C. (2009). Low-density microarray for rapid detection and identification of Crimean–Congo hemorrhagic fever virus. *J. Clin. Microbiol.*, 47, 1025–1030.
- XIA H., LI P., YANG J., PAN L., ZHAO J., WANG Z., LI Y., ZHOU H., DONG Y., GUO S., TANG S., ZHANG Z., FAN Z., HU Z., KOU Z. & LI T. (2011). Epidemiological survey of Crimean–Congo hemorrhagic fever virus in Yunnan, China, 2008. *Int. J. Infect. Dis.*, 15, e459–463.
- YEN Y.C., KONG L.X., LEE L., ZHANG Y.Q., LI F., CAI B.J. & GAO S.Y. (1985). Characteristics of Crimean–Congo hemorrhagic fever virus (Xinjiang strain) in China. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 34, 1179–1182.

YILMAZ G.R., BUZGAN T., TORUNOGLU M.A., SAFRAN A., IRMAK H., COM S., UYAR Y., CARHAN A., OZKAYA E. & ERTEK M. (2008). A preliminary report on Crimean–Congo haemorrhagic fever in Turkey, March–June 2008. *Euro Surveill.*, 13