

ФИЛОВИРУСЫ ЮГО-ВОСТОЧНОЙ АЗИИ, КИТАЯ И ЕВРОПЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

А.М. Поршаков¹, Ю.В. Кононова², Т.М. Лыонг³

¹Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Россия

²Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», Кольцово, Новосибирская область, Россия

³Российско-Вьетнамский тропический центр (Южное отделение), Хошимин, Вьетнам

Filoviruses of southeast Asia, China and Europe (review)

A.M. Porshakov¹, Yu.V. Kononova², T.M. Luong³

¹Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», Saratov, Russia

²State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Kol'tsovo, Novosibirsk region, Russia

³Russian-Vietnam Tropical Center (Southern Branch), Ho Chi Minh City, Vietnam

Резюме

Филовирусы известны как возбудители тяжелых геморрагических лихорадок с высоким уровнем смертности у людей. Наиболее известные из них — эболавирус Заир и Марбургвирус — связаны с возникновением спорадических случаев и вспышек геморрагических лихорадок в отдельных районах Африки. Выделение эболавируса Рестон в 1989 г. в США из образцов внутренних органов погибших яванских макаков, импортированных из Филиппин, стало первым доказательством существования филовирусов за пределами Африканского континента. В начале XXI в. с развитием новых методов диагностики эболавирус Рестон или его маркеры (РНК, антитела) были обнаружены у разных животных на Филиппинах, в Китае и других странах Юго-Восточной Азии, что существенно изменило представление о географии филовирусов. С использованием молекулярно-генетических методов были идентифицированы новые филовирусы у рукокрылых в Китае. Обнаружение генетического материала нового филовируса — Ловиу вируса — в образцах внутренних органов погибших обыкновенных летучих мышей в 2002 г. в Испании и в 2016 г. в Венгрии свидетельствует о возможности циркуляции филовирусов с неизвестным потенциалом патогенности для людей и животных среди рукокрылых умеренных широт. Настоящий обзор посвящен анализу данных о находках маркеров филовирусов у животных в Юго-Восточной Азии, Китае и Европе.

Ключевые слова: филовирусы, эболавирусы, рукокрылые, Юго-Восточная Азия, Китай, Европа.

Введение

Филовирусы (порядок Mononegavirales, семейство Filoviridae) — семейство РНК-содержащих оболочечных вирусов с характерной морфологией вирусных частиц (filo: от лат. filum — нить, англ. filamentous — нитевидный). В настоящее время семейство включает три рода — Эболавирусы (*Ebola-*

Abstract

Filoviruses are known as causative agents of severe haemorrhagic fevers with a high mortality rate in humans. Zaire ebolavirus and Marburgvirus, the most known of them, are associated with the occurrence of sporadic cases and outbreaks of hemorrhagic fevers in some parts of Africa. Isolation of Reston ebolavirus in 1989 in the United States from samples of dead cynomolgus monkeys imported from the Philippines was the first evidence on the existence of filoviruses outside the Africa. Due to the development of new diagnostic methods, Reston ebolavirus or its markers (RNA, antibodies) were found in different animals in the Philippines, China and some other countries of Southeast Asia. These events significantly changed the concept of the geography of filoviruses at present time. Novel filoviruses have been identified in bats in China using of molecular genetic methods. Detection of filovirus RNA (the Lloviu virus) in samples from dead common bent-winged bats in Spain (2002) and in Hungary (2016) indicates the possibility of circulation of filoviruses with unknown pathogenicity potential for humans and animals among bats of temperate latitudes. This review summarizes data on findings of filovirus markers in animals in Southeast Asia, China and Europe.

Key words: filoviruses, ebolaviruses, bats, Southeast Asia, China, Europe.

virus, виды — Заир эболавирус, Судан эболавирус, Тай Форест эболавирус, Бундибугио эболавирус, Рестон эболавирус), Марбургвирус (*Marburgvirus*, Марбург марбургвирус) и Куэвавирус (*Cuevavirus*, Ловиу куэвавирус) [1]. Недавно появилось сообщение о выявлении предположительно нового вида эболавируса Бомбали (*Bombali virus*, BOMV),

РНК которого была обнаружена у насекомых — карликового складчатогуба *Chaerophon pumilus* и ангольского складчатогуба *Mops condylurus* в Сьерра-Леоне [2]. С тяжелыми заболеваниями человека, сопровождающимися высоким (до 90%) уровнем смертности, связаны Марбургвирус и эболавирусы Заир, Судан, Тай Форест, Бундибугио [3]. Патогенные для человека филовirusы могут вызывать как единичные спорадические случаи заболевания людей, так и крупные вспышки с сотнями и тысячами заболевших, что было характерно для вспышки болезни, вызванной вирусом Эбола в 2013–2016 гг. в Западной Африке [4]. Все известные виды филовirusов являются зоонозными патогенами со своим природным резервуаром (в ряде случаев неустановленным), кругом восприимчивых хозяев и природными очагами, причины активизации которых на сегодняшний день мало изучены. Патогенные для человека филовirusы способны длительно персистировать в организме переболевших людей и выделяться с биологическими жидкостями и секретами, что может приводить к новым случаям заражения и возникновению локальных вспышек [5, 6]. В связи с невозможностью прогнозировать и контролировать активизацию природных очагов филовirusов, недостаточным пониманием механизмов сохранения этих вирусов в организме восприимчивых хозяев, а также отсутствием официально признанных средств лечения и профилактики вызываемых ими заболеваний у людей, обнаружение новых филовirusов за пределами Африканского континента вызывает закономерную настороженность среди ученых и представителей органов здравоохранения и требует проведения детального анализа на предмет возможной патогенности для человека.

Филовirusы – структура генома, эволюция, гипотезы о происхождении

Геном филовirusов представлен одноцепочечной, (-)смысловой РНК размером ~19 тыс нуклеотидов. Геном кодирует 7 белков — нуклеопротеин NP, вирусные белки (viral proteins) VP35, VP40, гликопротеин GP, VP30, VP24 и РНК-зависимую РНК-полимеразу L (последовательность генов 3'- NP-VP35- VP40- GP- VP30- VP24- L-5'). Нуклеопротеин NP является основным компонентом рибонуклеопротеинового комплекса. Белок VP35 является кофактором РНК-зависимой РНК-полимеразы и компонентом рибонуклеопротеинового комплекса, в инфицированных клетках выступает в качестве антагониста интерферона, и эта функция характерна для VP35 всех филовirusов. Белок VP40 является матриксным белком, ассоциирован с внутренней поверхностью вирусной оболочки; принимает участие в сборке и почковании вирионов,

у Марбургвируса проявляет функции антагониста интерферона. Трансмембранный гликопротеин GP отвечает за связывание с клеточными рецепторами, проникновение вируса в клетку и слияние мембран. VP30 является минорным компонентом рибонуклеопротеинового комплекса, участвует в инициации транскрипции. Белок VP24 принимает участие в сборке нуклеокапсида, регулировании транскрипции и трансляции, у эболавирусов этот белок является антагонистом интерферона. РНК-зависимая РНК-полимераза L входит в состав рибонуклеопротеинового комплекса, участвует в транскрипции и репликации вирусного генома, а также в редактировании мРНК [3, 7].

Все филовirusы имеют схожую структуру генома, однако существуют некоторые межвидовые и внутривидовые отличия. Так, для генома Марбургвируса показано одно перекрытие между генами VP30 и VP24, эболавирусы Заир, Судан, Тай Форест и Бундибугио имеют три перекрытия VP35/VP40, GP/VP30, VP30/VP24, эболавирус Рестон — те же, за исключением GP/VP30, в геноме Лловиувirusа были выявлены 4 перекрытия между генами NP/VP35, VP35/VP40, VP40/GP и GP/VP30 [3]. Геном всех филовirusов имеет 7 открытых рамок считывания, однако у Лловиувirusа предполагается 6 транскриптов мРНК, один из которых является бицистронным с одной рамкой считывания для генов VP24 и L [8]. У всех эболавирусов ген GP кодирует неструктурный белок — растворимый (soluble) гликопротеин sGP, а полноразмерный структурный гликопротеин GP и малый растворимый (small soluble) ssGP являются продуктами трансляции мРНК, появляющихся после редактирования транскрипта гена GP [9]. Открытые рамки считывания фланкированы нетранслируемыми участками, размер которых варьирует от 57 до 684 нуклеотидов, что является уникальной особенностью филовirusов [3].

Вопрос о происхождении филовirusов является предметом дискуссии. Проведенный Carroll et al. анализ скорости молекулярной эволюции (число нуклеотидных замен на сайт в год) на примере 97 полногеномных последовательностей известных филовirusов, представленных в базе GenBank, показал, что появление недавнего общего предшественника семейства Filoviridae произошло примерно 10 400 лет назад, что соответствует окончанию последнего ледникового периода [10]. Высокая скорость молекулярной эволюции характерна для эболавирусов Заир ($7,06 \cdot 10^{-4}$ замен на сайт в год) и Рестон ($8,21 \cdot 10^{-4}$), и, согласно проведенным расчетам, они являются самыми «молодыми» среди филовirusов — время появления последнего общего предшественника оценивается 1960 и 1979 гг. соответственно. Эболавирус Судан является самым древним среди эболавирусов (вре-

мья появления последнего общего предшественника ~1173 г.) и характеризуется самой низкой ($0,46 \cdot 10^{-4}$) среди филовирюсов скоростью молекулярной эволюции. Несколько моложе него Марбургвирус, общий предшественник которого появился примерно в 1302 г. [10]. Что касается эболавируса, ставшего причиной вспышки болезни Эбола в Западной Африке в 2013–2016 гг., филогенетическое сравнение последовательностей вирусного генома изолятов из Сьерра-Леоне и Гвинеи 2014 г. с 20 более ранними последовательностями эболавируса Заир позволяет предполагать, что появление его предшественника произошло примерно в 2004 г. в районе Центральной Африки [11].

С развитием технологий секвенирования в геномах многих видов позвоночных и беспозвоночных животных были обнаружены эндогенные вирусные элементы различных РНК-содержащих вирусов, в том числе и филовирюсов [12]. NP-, VP35- и L-филовирус-подобные эндогенные элементы были обнаружены в геномах насекомых: рукокрылых Евразии и Северной Америки, грызунов семейства хомяковых (Cricetidae) Евразии и Северной Америки, египетского тушканчика (Северо-Восточная Африка, Ближний Восток), обыкновенной буроzubки (Евразия), кенгуру Евгении (Австралия), домового опоссума (Южная Америка), слепыша *Spalax galili* (Ближний Восток), кенгурового прыгуна Орда (Северная Америка), голого землекопа (Восточная Африка), морской свинки (Южная Америка), лисьего кузу (Австралия), малого ежового тенрека (Мадагаскар), а также в геномах домовй мыши и серой крысы [13, 14]. Taylor et al. было показано, что NP- и L-филовирус-подобные последовательности из генома южноамериканского домового опоссума *Monodelphis domestica* имеют высокий уровень гомологии с фрагментами генов NP и L Марбургвируса в сравнении с аналогичными филовирус-подобными последовательностями из геномов других млекопитающих. Эти данные позволяют предполагать, что последними по времени в интеграцию филовирюсов были вовлечены южноамериканские сумчатые [13]. Анализ библиотек кДНК из разных органов австралийского сумчатого лисьего кузу *Trichosurus vulpecula* показал наличие копий NP-филовирус-подобных последовательностей в тканях, играющих важную роль в репликации филовирюсов и патогенезе вызываемой ими болезни — в печени, селезенке, лимфатической системе и гонадах [13]. На основании данных размещения в геномах грызунов семейства хомяковых (Cricetidae) NP- и VP35-эболавирус-подобных элементов Taylor et al. предполагают, что интегра-

ция этих палеовирусных элементов в геном грызунов произошла после расхождения Эболавирусов и Куэзавирусов от Марбургвирусов в раннем Миоцене (~23–5 млн лет назад), что может свидетельствовать о древнем происхождении филовирюсов [14]. В целом, вопросы эволюции и происхождения филовирюсов остаются на сегодняшний день малоизученными.

Филовирюсы Юго-Восточной Азии и Китая

В 1989 г. в США (г. Рестон, штат Вирджиния) из образцов внутренних органов импортированных с Филиппин яванских макаков (*Macaca fascicularis*), погибших во время вспышки геморрагической лихорадки, был изолирован эболаподобный вирус (эболавирус Рестон, согласно современной номенклатуре Международного комитета по таксономии вирусов), ставший первым филовирусом неафриканского происхождения [15]. В 1992 г. на Филиппинах в одном из центров по разведению приматов произошла вспышка среди яванских макаков с гибелью 82% заболевших, причиной которой был признан эболавирус Рестон, что стало первым доказательством его циркуляции на Филиппинах [16]. В 2007–2008 гг. эболавирус Рестон был изолирован из образцов внутренних органов домашних свиней, погибших во время вспышки заболевания, вызванного вирусом репродуктивно-респираторного синдрома (PPC) [17]. Проведенное позже обследование разных видов рукокрылых на Филиппинах выявило наличие антител, специфичных к эболавирусу Рестон, у представителей 3 видов крыланов — цепкохвостой летучей собаки (*Rousettus amplexicaudatus*), гривастого ацеродона (*Acerodon jubatus*) и гигантской летучей лисицы (*Pteropus vampyrus*), вирусной РНК — у восточного длиннокрыла (*Miniopterus schreibersii*, насекомоядные)¹ [18, 19]. Специфичные антитела к этому вирусу при отсутствии клинических проявлений обнаруживались в разные годы у людей — работников центров по разведению приматов, где имели место вспышки вызванного им заболевания, а также у работников свиноферм и скотоферм, контактировавших с больными животными или их органами и тканями [17]. Последняя вспышка заболевания, вызванного эболавирусом Рестон у яванских макаков, была зарегистрирована на Филиппинах в карантинном центре для приматов в провинции Южный Лузон в августе 2015 г. [20]. Изоляция вируса от обезьян и домашних свиней, обнаружение вирусной РНК и антител к нему у рукокрылых свидетельствуют о наличии на территории Филиппин природных очагов эболавируса Рестон.

¹ С 2008 г. вид *M. schreibersii* Oriental-Australasian «schreibersii» complex выделен в *M. fuliginosus*. Источник: www.iucnredlist.org

Обследование потенциальных носителей и восприимчивых к эболавирусу Рестон животных проводилось в других странах Юго-Восточной Азии (ЮВА) и в Китае (рис. 1). Серологическое обследование калимантанских орангутанов (*Pongo pygmaeus*, семейство гоминиды, Hominidae) в 2005–2006 гг. показало наличие антител, специфичных к гликопротеину эболавируса Рестон у клинически здоровых приматов, при этом в большей части сывороток серопозитивных животных были обнаружены специфичные антитела к гликопротеинам всех известных эболавирусов (включая эболавирус Заир) и Марбургвируса [21]. В отличие от африканских видов гоминид — западной гори́ллы (*Gorilla gorilla*) и обыкновенного шимпанзе (*Pan troglodytes*), высокочувствительных к африканским эболавирусам [22], среди обследованных калимантанских орангутанов 18% животных имели антитела ко всем известным эболавирусам без проявлений эпизоотического процесса.

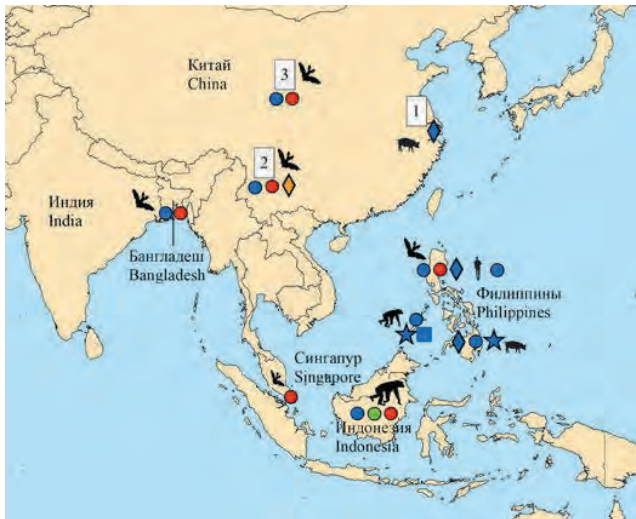


Рис. 1. Распространение филовирусов в Юго-Восточной Азии и Китае:

☆ изоляция вируса
 ○ антитела
 △ антиген
 ◇ РНК

Вirusы:
 ■ — эболавирус Рестон ■ — африканские эболавирусы
 ■ — Марбургвирус ■ — неклассифицированные филовирусы

Места сбора материала (КНР):

1 — г. Шанхай; 2 — провинция Юньнань; 3 — провинции материковой части Китая

Выбранный Nidom et al. для исследования вид приматов относится к эндемикам о. Калимантан (Индонезия), что исключает возможность интродукции неэндемичных филовирусов, связанной с завозом животных из других регионов. Полученные результаты свидетельствуют о наличии на о. Калимантан природных очагов циркуляции разных филовирусов с неизвестным природным резервуаром. Обследование сывороток крови нескольких видов рукокрылых в Бангладеш в 2010–2011 гг. методами иммуноферментного анализа (ИФА) и

Вестерн блота выявило наличие антител к эболавирусам Заир и Рестон у летучих собак Лешенолта (*Rousettus leschenaultii*), отловленных в оба сезона. У некоторых серопозитивных животных преобладали антитела, реагирующие с антигеном эболавируса Заир при анализе двумя методами; РНК эболавирусов при этом обнаружена не была [23]. В 2011 г. в Китае РНК эболавируса Рестон была обнаружена в образцах внутренних органов домашних свиней, погибших во время вспышки РРС на нескольких фермах в окрестностях г. Шанхай [24], что является в настоящее время самой северной точкой (31° с.ш.), где была отмечена циркуляция этого эболавируса. Обследование разных видов рукокрылых в Китае (провинция Юньнань) в период 2009–2015 гг. выявило наличие специфичных антител к эболавирусу Рестон у представителей пещерного крылана (*Eonycteris spelaea*), ночницы Риккетта (*Myotis ricketti*) и рукокрылых рода *Rousettus*. Кроме того, в сыворотках от этих серопозитивных животных были обнаружены антитела, реагирующие также с антигеном эболавируса Заир в ИФА и Вестерн блоте [25]. Серологическое обследование представителей 3 видов крыланов (пещерного крылана, малайского короткомордого крылана *Cynopterus brachyotis*, короткомордого крылана Лукаса *Penthetor lucasi*), проведенное в период 2011–2016 гг. в Сингапуре, показало наличие у некоторых животных антител, специфичных к эболавирусам Заир, Судан, Бундибутио и Тай Форест и отсутствие специфичных антител к эболавирусу Рестон [26].

Молекулярно-генетический анализ образцов внутренних органов рукокрылых из разных провинций материкового Китая позволил идентифицировать РНК филовирусов, не относящихся ни к одному из известных в настоящее время родов семейства Filoviridae. В 2013 г. в образцах легких от клинически здоровых летучих собак Лешенолта были выявлены фрагменты генов VP35 и L филовируса, формирующего отдельную ветвь на филогенетическом дереве [27]. Yang et al. обнаружили РНК филовирусов в образцах внутренних органов пещерных крыланов и рукокрылых рода *Rousettus*, отловленных в 2009 г. и 2015 г. По результатам филогенетического анализа фрагментов гена L изоляты филовирусов от рукокрылых кластеризовались на три группы, две из которых формировали отдельную ветвь от изолятов Марбургвируса, выделенных от людей и рукокрылых [25]. РНК неклассифицированных филовирусов была обнаружена в образцах от животных, отловленных в разные годы (2009, 2013 и 2015 гг.) и в разных провинциях, что свидетельствует о постоянной циркуляции филовирусов в популяциях рукокрылых в Китае (см. рис. 1). При этом находки РНК филовирусов были характерны только для видов, использующих в качестве дневных убежищ пещеры.

В целом, на основании данных, представленных в научной литературе, можно констатировать наличие природного очага эболавируса Рестон на территории Филиппин, циркуляцию этого вируса в некоторых странах ЮВА и в Китае среди диких (рукокрылые, приматы) и домашних (свиньи) животных. Единственным восприимчивым к этому вирусу видом животных являются яванские макаки. Этот вид обезьян широко распространен в странах ЮВА, наряду с другими приматами семейства марышковых (*Cercopithecidae*), но на Филиппинах он является единственным представителем этого семейства [28]. Вспышки заболевания, вызванные эболавирусом Рестон, были зарегистрированы только среди животных, находящихся в центрах по разведению приматов или карантина, случаев заболевания обезьян в дикой природе, в том числе среди локальных островных популяций, отмечено не было. Домашние свиньи являются, по-видимому, случайными хозяевами эболавируса Рестон — экспериментальное инфицирование им свиней вызывает развитие бессимптомной инфекции с последующей сероконверсией [29]. Также во время вспышек РРС на Филиппинах и в Китае было отмечено, что эболавирус Рестон обнаруживался в органах больных свиней, инфицированных вирусом РРС, и не был обнаружен в органах здоровых животных [17, 24]. Наличие маркеров эболавируса Рестон у разных видов рукокрылых как на Филиппинах (антитела, РНК), так и в других странах ЮВА и Китае (антитела) позволяет рассматривать их в качестве потенциального природного резервуара этого вируса, по аналогии с африканскими рукокрылыми, считающимися потенциальным природным резервуаром эболавируса Заир.

Как было сказано ранее, появление предшественника эболавируса Рестон относится примерно к 1979 г. [10], при этом Carroll et al. обращают особое внимание на существовавшую в то время усиленную антропогенную нагрузку на экосистемы Филиппин, выраженную в резком росте населения и массовой вырубке лесов. Для этой страны также характерны высокая степень фрагментации территории (свыше 7100 островов Филиппинского архипелага) и наличие более 20 тыс. видов-эндемиков среди флоры и фауны [30]. Следствием этого является наличие большого числа локальных популяций наземных животных (в том числе восприимчивых к вирусу яванских макаков), отделенных друг от друга естественным физическим барьером (проливы между островами Филиппинского архипелага). Фауна рукокрылых Филиппин насчитывает 79 видов, из которых 40 видов используют пещеры в качестве дневных убежищ [31]. Длительная антропогенная нагрузка в сочетании с уникальными географическими, фаунистическими

и экологическими особенностями могли способствовать образованию устойчивых природных очагов эболавируса Рестон именно на территории Филиппин.

Остается открытым вопрос о возможном участии людей в циркуляции азиатских филовирсов. Несмотря на находки филовирсной РНК и антител к различным эболавирусам у рукокрылых в Китае и некоторых странах ЮВА, серологическое обследование людей было ограничено только работниками центров по разведению приматов, свиноферм и скотобоен на Филиппинах, где был обнаружен эболавирус Рестон. При этом Openshaw et al. на примере сельских районов Бангладеш были описаны различные формы взаимодействия людей с рукокрылыми, включая охоту и употребление в пищу мяса крыланов в половине обследованных деревень [32], что позволяет предполагать наличие специфических антител к филовирсам у лиц, активно контактирующих с рукокрылыми.

Филовирсы в Европе

В 2002 г. в пещерах Франции, Испании и Португалии была отмечена массовая гибель колоний обыкновенного длиннокрыла *Miniopterus schreibersii*. Во время эпизоотии из пещеры Лловиу (провинция Астуриас, Испания) было взято 20 тушек погибших животных для проведения патолого-анатомических, микробиологических и токсикологических исследований (рис. 2).

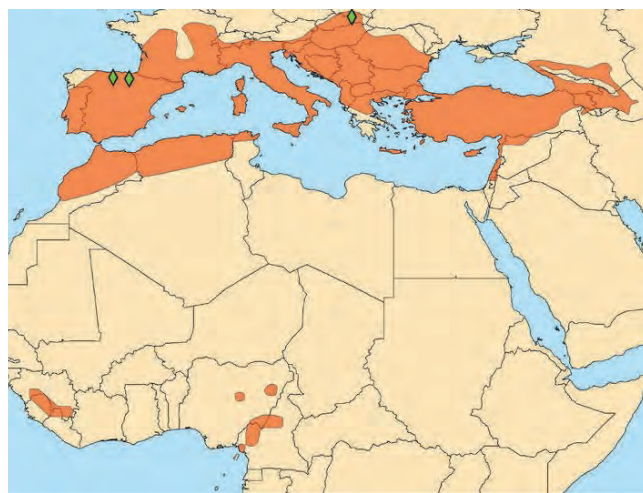


Рис. 2. Места гибели обыкновенных длиннокрылов *M. schreibersii*, вызванной Лловиу вирусом:

— ареал *M. schreibersii* — места обнаружения РНК Лловиу вируса

Гистологические исследования образцов легких погибших обыкновенных длиннокрылов показали наличие признаков вирусной пневмонии. Был проведен анализ образцов легких и селезенок погибших длиннокрылов методом ПЦР на наличие генетического материала лисса-, коро-

на-, парамиксо-, хенипа-, герпес- и филовирюсов. В легких, печени, селезенках и ректальных мазках 5 животных были идентифицированы нуклеотидные последовательности, относящиеся к геному филовирюсов; методом РеалТайм-ПЦР было установлено наличие генетического материала филовирюсов в образцах от 15 погибших животных. Гибель обыкновенных длиннокрылов была отмечена в нескольких пещерах провинции Кантабрия (Испания), где были собраны образцы головного мозга, легких, печени, ректальных и глоточных мазков от 14 погибших животных (5 обыкновенных длиннокрылов и 9 больших ночниц *Myotis myotis*). Анализ образцов методом РеалТайм-ПЦР показал наличие генетического материала филовирюсов у всех погибших длиннокрылов, но ни у одной из погибших больших ночниц. Определение нуклеотидной последовательности вирусного генома проводилось с помощью разных методов секвенирования из образцов печени с максимальной вирусной нагрузкой по данным РеалТайм-ПЦР. Идентифицированный филовирус получил название Лловиу вирус (*Lloviu virus*) [8]. В 2013 г., согласно решению Международного комитета по таксономии вирусов (International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV), он был признан единственным представителем вида *Lloviu cuevavirus* рода *Cuevavirus* семейства *Filoviridae* [1].

В период 2004–2008 гг. РеалТайм-ПЦР анализ ректальных и глоточных мазков и образцов фекалий от 1295 здоровых рукокрылых из разных районов Испании, относящихся к 29 видам (в том числе от 45 здоровых обыкновенных длиннокрылов из пещеры Лловиу), показал отсутствие генетического материала Лловиу вируса.

В 2013 г. в Венгрии в одной из пещер горного массива Бюкк была отмечена массовая гибель (порядка 500 особей) колонии обыкновенного длиннокрыла. При внешнем осмотре погибших животных вокруг носовых ходов были обнаружены сгустки крови, что указывало на возможные респираторные геморрагии. В связи с состоянием тушек погибших длиннокрылов проведение вирусологического исследования было исключено. Обследование других известных колоний обыкновенного длиннокрыла в этом районе не выявило случаев массовой гибели животных. В 2016 г. примерно в 50 км на северо-восток от места массовой гибели длиннокрыла в 2013 г., у входа в пещеру с колонией этого вида были обнаружены 5 особей с признаками респираторного кровотечения. 7 клинически здоровых животных находились в глубине пещеры в состоянии гибернации (спячки) отдельно от больных. В декабре 2017 г. была отмечена гибель 25 обыкновенных длиннокрылов, находящихся в отдельной зимовочной колонии. Учитывая состояние части тушек погибших жи-

вотных, гибель могла произойти в период с июля по декабрь. Тушки животных, погибших относительно недавно («fresh carcasses»), были направлены для исследований. В образцах легкого и селезенки одного из 5 взятых для анализа животных была обнаружена РНК филовирюсов. Филогенетический анализ, проведенный по фрагментам генов L и NP, показал принадлежность филовирюса, обнаруженного в Венгрии, к виду *Lloviu cuevavirus*, ранее идентифицированному в Испании. Попытки изоляции вируса на культуре клеток из образцов внутренних органов (головной мозг, легкие, печень, почки и селезенка) животного, позитивного на наличие филовирюсной РНК, оказались безуспешными [33].

Обыкновенный длиннокрыл (*M. schreibersii* (Kuhl, 1817), Chiroptera: Miniopteridae) — мигрирующий, широко распространенный вид на юго-западе Европы, в Турции, на Ближнем Востоке и Кавказе; встречается в Северной и Западной Африке [34]. Рукокрылые этого вида образуют колонии от сотен и тысяч животных (выводковые колонии в период размножения) до нескольких (не более 30) особей (зимовочные колонии, особенно на северной границе ареала); колонии имеют свою социальную структуру. В качестве дневных убежищ предпочитают карстовые полости (пещеры, гроты, галереи), реже заброшенные туннели и штольни, очень восприимчивы к антропогенному воздействию [28]. В Российской Федерации обыкновенный длиннокрыл встречается на юге Краснодарского края, занесен в Красную книгу России [35, 36]. Этот вид встречается также в Республике Абхазия, при этом, согласно многолетним наблюдениям, в разные годы отмечались значительные колебания численности обыкновенного длиннокрыла в пещере Уаз-Абаа, одном из важнейших убежищ для рукокрылых Абхазии [37]. Данные по динамике численности этого вида на юге России в доступной научной литературе (в том числе ретроспективные) отсутствуют. Значительное снижение численности обыкновенных длиннокрылов в разных частях ареала этого вида в Европе было одним из показателей эпизоотического процесса, вызванного циркуляцией среди них Лловиу вируса [24]. В связи с этим для изучения возможной циркуляции этого филовирюса среди обыкновенного длиннокрыла в пределах ареала на юге РФ и сопредельных территорий (Республика Абхазия) особую актуальность приобретает мониторинг численности этих рукокрылых в местах убежищ.

Заключение

На основании анализа доступной научной литературы, в настоящее время доказана циркуляция филовирюсов в некоторых странах Юго-Восточной Азии, в Китае и Европе. Северная граница цирку-

ляции филовирюсов в Азии соответствует 31° с.ш. (эболавирус Рестон, Китай), в Европе — 48° с.ш. (Лловиу вирус, Венгрия). Носителями или восприимчивыми животными преимущественно являются виды рукокрылых, использующих в качестве убежищ пещеры. Согласно результатам филогенетического анализа филовирюсов, обнаруженных у рукокрылых в Китае, видовое разнообразие вирусов семейства Filoviridae может быть значительно шире в сравнении с официально признанными видами. Выявление у рукокрылых и обезьян в отдельных странах ЮВА и Китае антител, специфичных к антигенам африканских филовирюсов, свидетельствует о циркуляции на этих территориях вирусов, антигенно близких с филовирюсами, циркулирующими в Африке. Для эболавируса Рестон показано отсутствие патогенности для человека, в отношении других филовирюсов ЮВА, Китая и Европы патогенность для человека и животных остается в настоящее время неизвестной. Сочетание демографических, фаунистических и экологических факторов может способствовать формированию очагов циркуляции филовирюсов в разных странах ЮВА, в том числе активно посещаемых с туристическими целями. Обитание на части территории РФ и в сопредельных государствах восприимчивого к Лловиу вирусу обыкновенного длиннокрыла создает условия для возможной циркуляции филовирюсов на территории России.

Исследование проводилось в рамках выполнения государственного задания ГЗ-23/16.

Литература

1. Virus Taxonomy: 2017 Release. EC 49, Singapore, July 2017. [Cited 22.08.2018] Available from: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>
2. Goldstein T, Anthony SJ, Gbakima A, et al. The discovery of Bombali virus adds further support for bats as hosts of ebolaviruses. *Nat Microbiol.* 2018 Aug. doi: 10.1038/s41564-018-0227-2.
3. Emanuel J, Marzi A, Feldmann H. Filoviruses: Ecology, Molecular Biology, and Evolution. *Adv Virus Res.* 2018; 100:189-221. doi: 10.1016/bs.aivir.2017.12.002.
4. Vine V, Scott DP, Feldmann H. Ebolaviruses. *Methods and Protocols. Methods Mol. Biol. Springer Science + Business Media LLC.* c2017. Ebolavirus: An Overview of Molecular and Clinical Pathogenesis. p. 39-50. doi: 10.1007/978-1-4939-7116-9_3.
5. Brainard J, Pond K, Hooper L, et al. Presence and Persistence of Ebola or Marburg Virus in Patients and Survivors: A Rapid Systematic Review. *PLoS Negl Trop Dis.* 2016 Feb; 10(2):e0004475. doi: 10.1371/journal.pntd.0004475.
6. Subissi L, Keita M, Mesfin S, et al. Ebola Virus Transmission Caused by Persistently Infected Survivors of the 2014-2016 Outbreak in West Africa. *J Infect Dis.* 2018 Jun; doi: 10.1093/infdis/jiy280.
7. Cantoni D, Rossman JS. Ebolaviruses: New roles for old proteins. *PLoS Negl Trop Dis.* 2018 May; 12(5):e0006349. doi: 10.1371/journal.pntd.0006349.
8. Negredo A, Palacios G, Vázquez-Morón S, et al. Discovery of an ebolavirus-like filovirus in Europe. *PLoS Pathog.* 2011 Oct; 7(10):e1002304. doi: 10.1371/journal.ppat.1002304.
9. Mehedi M, Falzarano D, Seebach J, et al. A new Ebola virus nonstructural glycoprotein expressed through RNA editing. *J Virol.* 2011 Jun; 85(11):5406-14. doi: 10.1128/JVI.02190-10.
10. Carroll SA, Towner JS, Sealy TK, et al. Molecular evolution of viruses of the family Filoviridae based on 97 whole-genome sequences. *J Virol.* 2013 Mar; 87(5):2608-16. doi: 10.1128/JVI.03118-12.
11. Gire SK, Goba A, Andersen KG, et al. Genomic surveillance elucidates Ebola virus origin and transmission during the 2014 outbreak. *Science.* 2014 Sep; 345(6202):1369-72. doi: 10.1126/science.1259657.
12. Patel MR, Emerman M, Malik HS. Paleovirology — ghosts and gifts of viruses past. *Curr Opin Virol.* 2011 Oct; 1(4):304-9. doi: 10.1016/j.coviro.2011.06.007.
13. Taylor DJ, Leach RW, Bruenn J. Filoviruses are ancient and integrated into mammalian genomes. *BMC Evol Biol.* 2010 Sep; 10:193. doi: 10.1186/1471-2148-10-193.
14. Taylor DJ, Ballinger MJ, Zhan JJ, et al. Evidence that ebolaviruses and cuevaviruses have been diverging from marburgviruses since the Miocene. *PeerJ.* 2014 Jun; 2:e556. doi: 10.7717/peerj.556.
15. Jahrling PB, Geisbert TW, Dalgard DW, et al. Preliminary report: isolation of Ebola virus from monkeys imported to USA. *Lancet.* 1990 Mar; 335(8688):502-5.
16. Hayes CG, Burans JP, Ksiazek TG, et al. Outbreak of fatal illness among captive macaques in the Philippines caused by an Ebola-related filovirus. *Am J Trop Med Hyg.* 1992 Jun; 46(6):664-71.
17. Miranda ME, Miranda NL. Reston ebolavirus in humans and animals in the Philippines: a review. *J Infect Dis.* 2011 Nov; 204(Suppl 3):S757-760. doi: 10.1093/infdis/jir296.
18. Taniguchi S, Watanabe S, Masangkay JS, et al. Reston Ebolavirus antibodies in bats, the Philippines. *Emerg Infect Dis.* 2011 Oct; 17(8):1559-60. doi: 10.3201/eid1708.101693.
19. Jayme SI, Field HE, de Jong C, et al. Molecular evidence of Ebola Reston virus infection in Philippine bats. *Virol J.* 2015 Jul; 12:107. doi: 10.1186/s12985-015-0331-3.
20. Demetria C, Smith I, Tan T, et al. Reemergence of Reston ebolavirus in Cynomolgus Monkeys, the Philippines, 2015. *Emerg Infect Dis.* 2018 Jul; 24(7):1285-91. doi: 10.3201/eid2407.171234.
21. Nidom CA, Nakayama E, Nidom RV, et al. Serological evidence of Ebola virus infection in Indonesian orangutans. *PLoS One.* 2012 Jul; 7(7):e40740. doi: 10.1371/journal.pone.0040740.
22. Leroy EM, Rouquet P, Formenty P, et al. Multiple Ebola virus transmission events and rapid decline of central African wildlife. *Science.* 2004 Jan; 303(5656):387-90.
23. Olival KJ, Islam A, Yu M, et al. Ebola virus antibodies in fruit bats, Bangladesh. *Emerg Infect Dis.* 2013 Feb; 19(2):270-73. doi: 10.3201/eid1902.120524.
24. Pan Y, Zhang W, Cui L, et al. Reston virus in domestic pigs in China. *Arch Virol.* 2014 May; 159(5):1129-32. doi: 10.1007/s00705-012-1477-6.
25. Yang XL, Zhang YZ, Jiang RD, et al. Genetically Diverse Filoviruses in Rousettus and Eonycteris spp. Bats, China, 2009 and 2015. *Emerg Infect Dis.* 2017 Mar; 23(3):482-86. doi: 10.3201/eid2303.161119.
26. Laing ED, Mendenhall IH, Linster M, et al. Serologic Evidence of Fruit Bat Exposure to Filoviruses, Singapore, 2011-2016. *Emerg Infect Dis.* 2018 Jan; 24(1):114-17. doi: 10.3201/eid2401.170401.
27. He B, Feng Y, Zhang H, et al. Filovirus RNA in Fruit Bats, China. // *Emerg Infect Dis.* 2015 Sep; 21(9):1675-1677. doi: 10.3201/eid2109.150260.

28. The IUCN Red List of Threatened Species [Cited 02.08.2018] <http://www.iucnredlist.org>

29. Marsh GA, Haining J, Robinson R, et al. Ebola Reston virus infection of pigs: clinical significance and transmission potential. *J Infect Dis.* 2011 Nov; 204(Suppl 3):S804-9. doi: 10.1093/infdis/jir300.

30. Monteclaro RAO, Nu eza OM. Species diversity of fruit bats in Bega Watershed, Prosperidad, Agusan del sur, Philippines. *J Bio Env Sci.* 2015 Apr; 6(4):124-37.

31. Alviola PA, Macasaet JPA, Afuang LE, et al. Cave-dwelling bats of Marinduque Island, Philippines. 2015; *Mus Pub Nat His.* 4:1-17.

32. Openshaw JJ, Hegde S, Sazzad HMS, et al. Bat Hunting and Bat-Human Interactions in Bangladeshi Villages: Implications for Zoonotic Disease Transmission and Bat Conservation. *Transbound Emerg Dis.* 2017 Aug; 64(4):1287-93. doi: 10.1111/tbed.12505.

33. Kemenesi G, Kurucz K, Dallos B, et al. Re-emergence of Lloviu virus in *Miniopterus schreibersii* bats, Hungary, 2016. *Emerg Microbes Infect.* 2018 Apr; 7(1):66. doi: 10.1038/s41426-018-0067-4.

34. Система отряда рукокрылых Chiroptera [Cited 02.08.2018] Available from: <http://zmmu.msu.ru/bats/science/system/system.html>

35. Romashin AV. Bats of the Sochi National Park and their protection. *Central European Journal of Zoology.* 2015; 1(1):4-23. DOI: 10.13187/cejz.2015.1.4

36. Красная книга России [Cited 02.08.2018] Available from: <http://redbookrf.ru/obyknovennyy-dlinnokryl-miniopterus-schreibersi>

37. Иваницкий, А.Н. Пещера Уаз-Абаа — важнейшее убежище рукокрылых (Chiroptera) Абхазии. // Вестник Тамбовского университета. Серия: Естественные и технические науки. — 2016. — Т. 21, №2. — С. 615-618. DOI: 10.20310/1810-0198-2016-21-2-615-618

References

1. Virus Taxonomy: 2017 Release. EC 49, Singapore, July 2017. [Cited 22.08.2018] Available from: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>

2. Goldstein T, Anthony SJ, Gbakima A, et al. The discovery of Bombali virus adds further support for bats as hosts of ebolaviruses. *Nat Microbiol.* 2018 Aug. doi: 10.1038/s41564-018-0227-2.

3. Emanuel J, Marzi A, Feldmann H. Filoviruses: Ecology, Molecular Biology, and Evolution. *Adv Virus Res.* 2018; 100:189-221. doi: 10.1016/bs.aivir.2017.12.002.

4. Vine V, Scott DP, Feldmann H. Ebolaviruses. *Methods and Protocols. Methods Mol. Biol. Springer Science + Business Media LLC.* c2017. Ebolavirus: An Overview of Molecular and Clinical Pathogenesis. p. 39-50. doi: 10.1007/978-1-4939-7116-9_3.

5. Brainard J, Pond K, Hooper L, et al. Presence and Persistence of Ebola or Marburg Virus in Patients and Survivors: A Rapid Systematic Review. *PLoS Negl Trop Dis.* 2016 Feb; 10(2):e0004475. doi: 10.1371/journal.pntd.0004475.

6. Subissi L, Keita M, Mesfin S, et al. Ebola Virus Transmission Caused by Persistently Infected Survivors of the 2014-2016 Outbreak in West Africa. *J Infect Dis.* 2018 Jun; doi: 10.1093/infdis/jiy280.

7. Cantoni D, Rossman JS. Ebolaviruses: New roles for old proteins. *PLoS Negl Trop Dis.* 2018 May; 12(5):e0006349. doi: 10.1371/journal.pntd.0006349.

8. Negredo A, Palacios G, Vázquez-Morón S, et al. Discovery of an ebolavirus-like filovirus in Europe. *PLoS Pathog.* 2011 Oct; 7(10):e1002304. doi: 10.1371/journal.ppat.1002304.

9. Mehedi M, Falzarano D, Seebach J, et al. A new Ebola virus nonstructural glycoprotein expressed through RNA editing. *J Virol.* 2011 Jun; 85(11):5406-14. doi: 10.1128/JVI.02190-10.

10. Carroll SA, Towner JS, Sealy TK, et al. Molecular evolution of viruses of the family Filoviridae based on 97 whole-genome sequences. *J Virol.* 2013 Mar; 87(5):2608-16. doi: 10.1128/JVI.03118-12.

11. Gire SK, Goba A, Andersen KG, et al. Genomic surveillance elucidates Ebola virus origin and transmission during the 2014 outbreak. *Science.* 2014 Sep; 345(6202):1369-72. doi: 10.1126/science.1259657.

12. Patel MR, Emerman M, Malik HS. Paleovirology — ghosts and gifts of viruses past. *Curr Opin Virol.* 2011 Oct; 1(4):304-9. doi: 10.1016/j.coviro.2011.06.007.

13. Taylor DJ, Leach RW, Bruenn J. Filoviruses are ancient and integrated into mammalian genomes. *BMC Evol Biol.* 2010 Sep; 10:193. doi: 10.1186/1471-2148-10-193.

14. Taylor DJ, Ballinger MJ, Zhan JJ, et al. Evidence that ebolaviruses and cuevaviruses have been diverging from marburgviruses since the Miocene. *PeerJ.* 2014 Jun; 2:e556. doi: 10.7717/peerj.556.

15. Jahrling PB, Geisbert TW, Dalgard DW, et al. Preliminary report: isolation of Ebola virus from monkeys imported to USA. *Lancet.* 1990 Mar; 335(8688):502-5.

16. Hayes CG, Burans JP, Ksiazek TG, et al. Outbreak of fatal illness among captive macaques in the Philippines caused by an Ebola-related filovirus. *Am J Trop Med Hyg.* 1992 Jun; 46(6):664-71.

17. Miranda ME, Miranda NL. Reston ebolavirus in humans and animals in the Philippines: a review. *J Infect Dis.* 2011 Nov; 204(Suppl 3):S757-760. doi: 10.1093/infdis/jir296.

18. Taniguchi S, Watanabe S, Masangkay JS, et al. Reston Ebolavirus antibodies in bats, the Philippines. *Emerg Infect Dis.* 2011 Oct; 17(8):1559-60. doi: 10.3201/eid1708.101693.

19. Jayme SI, Field HE, de Jong C, et al. Molecular evidence of Ebola Reston virus infection in Philippine bats. *Virol J.* 2015 Jul; 12:107. doi: 10.1186/s12985-015-0331-3.

20. Demetria C, Smith I, Tan T, et al. Reemergence of Reston ebolavirus in *Cynomolgus* Monkeys, the Philippines, 2015. *Emerg Infect Dis.* 2018 Jul; 24(7):1285-91. doi: 10.3201/eid2407.171234.

21. Nidom CA, Nakayama E, Nidom RV, et al. Serological evidence of Ebola virus infection in Indonesian orangutans. *PLoS One.* 2012 Jul; 7(7):e40740. doi: 10.1371/journal.pone.0040740.

22. Leroy EM, Rouquet P, Formenty P, et al. Multiple Ebola virus transmission events and rapid decline of central African wildlife. *Science.* 2004 Jan; 303(5656):387-90.

23. Olival KJ, Islam A, Yu M, et al. Ebola virus antibodies in fruit bats, Bangladesh. *Emerg Infect Dis.* 2013 Feb; 19(2):270-73. doi: 10.3201/eid1902.120524.

24. Pan Y, Zhang W, Cui L, et al. Reston virus in domestic pigs in China. *Arch Virol.* 2014 May; 159(5):1129-32. doi: 10.1007/s00705-012-1477-6.

25. Yang XL, Zhang YZ, Jiang RD, et al. Genetically Diverse Filoviruses in *Rousettus* and *Eonycteris* spp. Bats, China, 2009 and 2015. *Emerg Infect Dis.* 2017 Mar; 23(3):482-86. doi: 10.3201/eid2303.161119.

26. Laing ED, Mendenhall IH, Linster M, et al. Serologic Evidence of Fruit Bat Exposure to Filoviruses, Singapore, 2011-2016. *Emerg Infect Dis.* 2018 Jan; 24(1):114-17. doi: 10.3201/eid2401.170401.

27. He B, Feng Y, Zhang H, Xu L, et al. Filovirus RNA in Fruit Bats, China. // *Emerg Infect Dis.* 2015 Sep; 21(9):1675-1677. doi: 10.3201/eid2109.150260.

28. The IUCN Red List of Threatened Species [Cited 02.08.2018] <http://www.iucnredlist.org>
29. Marsh GA, Haining J, Robinson R, et al. Ebola Reston virus infection of pigs: clinical significance and transmission potential. *J Infect Dis.* 2011 Nov; 204(Suppl 3):S804-9. doi: 10.1093/infdis/jir300.
30. Monteclaro RAO., Nuñez OM. Species diversity of fruit bats in Bega Watershed, Prosperidad, Agusan del sur, Philippines. *J Bio Env Sci.* 2015 Apr; 6(4):124-37.
31. Alviola PA, Macasaet JPA, Afuang LE, et al. Cave-dwelling bats of Marinduque Island, Philippines. 2015; *Mus Pub Nat His.* 4:1-17.
32. Openshaw JJ, Hegde S, Sazzad HMS, et al. Bat Hunting and Bat-Human Interactions in Bangladeshi Villages: Implications for Zoonotic Disease Transmission and Bat Conservation. *Transbound Emerg Dis.* 2017 Aug; 64(4):1287-93. doi: 10.1111/tbed.12505.
33. Kemenesi G, Kurucz K, Dallos B, et al. Re-emergence of Lloviu virus in *Miniopterus schreibersii* bats, Hungary, 2016. *Emerg Microbes Infect.* 2018 Apr; 7(1):66. doi: 10.1038/s41426-018-0067-4.
34. System of Order Chiroptera [Cited 02.08.2018] Available from: <http://zmmu.msu.ru/bats/science/system/system.html>
35. Romashin AV. Bats of the Sochi National Park and their protection. *Central European Journal of Zoology.* 2015; 1(1):4-23. DOI: 10.13187/cejz.2015.1.4
36. Red Book of Russia [Cited 02.08.2018] Available from: <http://redbookrf.ru/obyknovennyy-dlinnokryl-miniopterus-schreibersi>
37. Ivanitskiy AN. The Waz-Abaa cave — an important shelter for bats (Chiroptera) of Abkhazia. *Vestnik Tambovskogo Universiteta. Seria: Yestestvennyye i tekhnicheskiye nauki.* 2016; 21(2): 615-18. DOI: 10.20310/1810-0198-2016-21-2-615-618 (in Russian)

Авторский коллектив:

Поршаков Александр Михайлович — старший научный сотрудник лаборатории эпизоотологии отдела эпидемиологии Российского научно-исследовательского противочумного института «Микроб», к.б.н.; тел.: 8(8452) 26-21-31, e-mail: rusrapi@microbe.ru

Кононова Юлия Владимировна — старший научный сотрудник отдела молекулярной вирусологии флавивирусов и вирусных гепатитов Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор», к.б.н.; тел.: 8(383)363-47-00 доп. 21-60; e-mail: kononova@vector.nsc.ru, yuliakononova07@yandex.ru

Льонг Тхи Мо — научный сотрудник лаборатории медико-биологических исследований Российско-Вьетнамского тропического центра (Южное отделение), к.х.н.; тел.: +84-983-067-001, e-mail: luongmo@mail.ru