

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-22-30

УДК 616.9:616-07

М.Ю. Карташов^{1,2}, Е.В. Чуб¹, Т.П. Микрюкова¹, Е.В. Найденова³, В.А. Терновой¹

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ПЕТЛЕВОЙ ИЗОТЕРМИЧЕСКОЙ АМПЛИФИКАЦИИ В ДИАГНОСТИКЕ ОПАСНЫХ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ, ВЫЗВАННЫХ ВИРУСАМИ I ГРУППЫ ПАТОГЕННОСТИ

¹ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», п. Кольцово, Российская Федерация;²Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Российская Федерация;³ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация

Опасные вирусные инфекционные болезни представляют серьезную угрозу для жизни и здоровья людей, так как неконтролируемое их распространение приводит к развитию крупных вспышек и эпидемий. Быстрое и точное выявление возбудителя является важнейшей составляющей борьбы с инфекционными заболеваниями. Данный обзор посвящен петлевой изотермической амплификации (loop-mediated isothermal amplification, LAMP), являющейся одним из простых и надежных методов молекулярно-генетических исследований, отвечающих современным требованиям. Простота процедуры постановки анализа и учета полученных результатов, необходимая в условиях с минимальными возможностями лабораторной базы, позволяет рассматривать данный вид диагностических технологий как наиболее перспективный, позволяющий выявить генетические маркеры (ДНК или РНК) возбудителей опасных инфекционных болезней в максимально короткие сроки. **Цель** обзора состоит в обобщении и систематизации имеющихся на сегодняшний день данных о случаях применения LAMP для выявления РНК опасных инфекционных болезней, вызванных вирусами, относящимися к I группе патогенности (Эбола, Марбург, Ласса). В работе рассматриваются основные принципы реакции петлевой изотермической амплификации, компоненты, входящие в состав реакционной смеси и используемые для постановки анализа, а также способы детекции полученных результатов. При изучении имеющихся в литературных источниках сведений о достоинствах и недостатках LAMP показано, что во многих случаях изотермическая амплификация не уступает по чувствительности и специфичности основным молекулярно-генетическим методам диагностики, используемым в настоящее время. Рассмотрены также модификации, которые можно применять для ускоренной диагностики РНК-содержащих вирусов.

Ключевые слова: петлевая изотермическая амплификация, молекулярно-генетические методы исследований, вирус Эбола, вирус Марбург, вирус Ласса.

Корреспондирующий автор: Карташов Михаил Юрьевич, e-mail: vector@vector.nsc.ru.

Для цитирования: 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; 2:22–30. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-22-30

Поступила 29.10.19. Отправлена на доработку 13.11.19. Принята к публ. 18.04.20.

M.Yu. Kartashov^{1,2}, E.V. Chub¹, T.P. Mikryukova¹, E.V. Naidenova³, V.A. Ternovoy¹

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

¹State Scientific Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Kol’sovo, Novosibirsk Region, Russian Federation;²Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russian Federation;³Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation

Abstract. Dangerous viral infectious diseases pose a serious threat to human life and health, as their uncontrolled spread leads to the development of major outbreaks and epidemics. Rapid and accurate detection of the pathogen is an essential component of the fight against infectious diseases. This review is devoted to loop-mediated isothermal amplification (LAMP), which is one of the simplest and most reliable methods of molecular-genetic research that meets modern requirements. The simplicity of the analysis and registration of the obtained results, which is necessary under conditions with minimal laboratory capacities, makes it possible to consider this type of diagnostic technology as the most promising, which allows us to identify genetic markers (DNA or RNA) of pathogens of dangerous infectious diseases in the shortest possible time. **Objective** of the review is to summarize and systematize the data available to date on the use of LAMP for detecting RNA of dangerous infectious diseases caused by the Ebola, Marburg and Lassa viruses. The paper discusses the basic principles of the loop isothermal amplification reaction, the components that make up the reaction mixture and are used for the analysis, as well as methods for detecting the results obtained. When studying the information available in the literature sources about the advantages and disadvantages of LAMP, it is shown that in many cases, isothermal amplification is not inferior in sensitivity and specificity to the main molecular-genetic diagnostic methods currently used. Modifications that can be used for accelerated diagnostics of RNA-containing viruses are also considered.

Key words: loop-mediated isothermal amplification, LAMP, molecular diagnostics, Ebola virus, Marburg virus, Lassa virus.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Corresponding author: Mihail Yu. Kartashov, e-mail: vector@vector.nsc.ru.

Citation: 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; 2:22–30. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-22-30

Received 29.10.19. Revised 13.11.19. Accepted 18.04.20.

В настоящее время для выявления РНК/ДНК возбудителей инфекционных болезней используют целый комплекс молекулярно-генетических методов. Однако наибольшее распространение для индикации и первоначальной идентификации патогенов получила полимеразная цепная реакция (ПЦР) в ее различных вариантах и модификациях. Суть ПЦР заключается в специфической амплификации исследуемых участков геномов возбудителей с помощью термостабильных полимераз с использованием программируемых амплификаторов (термоциклеров), обеспечивающих быструю циклическую смену температуры.

За последние 30 лет разработан ряд альтернативных способов амплификации нуклеиновых кислот в изотермических условиях. Наибольшее развитие и популярность приобрели методы, основанные на цепь-вытесняющей активности некоторых ДНК-полимераз: амплификация с вытеснением цепи (strand displacement amplification, SDA) [1], амплификация с множественным вытеснением (multiple displacement amplification, MDA) [2], полимеразная спиральная реакция (polymerase spiral reaction, PSR) [3], петлевая амплификация (hinge-initiated primer-depend amplification, HIP) [4] и др. Однако наибольшее практическое применение получила петлевая изотермическая амплификация (loop-mediated isothermal amplification, LAMP), которой и посвящен данный обзор.

Цель обзора состоит в рассмотрении основных принципов петлевой изотермической реакции, способов учета результатов, достоинств и ограничений ее применения, а также перспектив использования данного метода в молекулярной диагностике опасных вирусных инфекционных болезней.

Общая характеристика LAMP. Принципы метода разработаны коллективом японских исследователей под руководством Цугунори Нотоми (T. Notomi), которым удалось, используя большой фрагмент *Bst*-полимеразы, успешно амплифицировать фрагменты геномов фага M13 и вируса гепатита В при инкубации в течение 1 ч в условиях постоянной температуры (65 °С) [5]. Постановка реакции в данном случае предполагает одновременное использование как минимум двух пар праймеров: внешних (прямой «forward» F3 и обратный «backward» B3) и внутренних («forward inner primer» – FIP и «backward inner primer» – BIP). Для повышения чувствительности метода и улучшения кинетики протекающей реакции разработчиками в последующих работах введена еще одна пара «петлевых» праймеров – LF и LB («loop forward» и «loop backward» соответственно) [6].

Амплификация начинается с отжига всех специфических фрагментов на ДНК-матрице с последующей их элонгацией. При этом используемая ДНК-

полимераза с цепь-вытесняющей активностью при взаимодействии с 5'-концом последующего праймера начинает его вытеснение вместе с вновь синтезированной цепью. В результате освобождается одноцепочечная ДНК, на которой гибридизован праймер FIP, и за счет комплементарности свободного фрагмента F1 с участком F1 матрицы формируется петля. Образование петли с участием праймеров VIP и B3 происходит и на 3'-конце одноцепочечного фрагмента. В результате формируется гантелеобразная структура («стволовая шпилька»), которая становится основой для дальнейшей амплификации, идущей как с 3'-конца шпильки, так и с гибридизовавшихся с ней праймеров (рисунок). Продуктом LAMP является как сама «стволовая шпилька», так и конкатемеры амплифицируемой последовательности. Показано, что в результате реакции менее чем за час может быть сгенерировано до 10⁹ копий целевого фрагмента ДНК, что обуславливает высокую чувствительность метода. Поскольку при постановке петлевой изотермической реакции используется две или три пары праймеров (комплементарных шести или восьми регионам-мишеням искомого ДНК соответственно), данный анализ характеризуется высокой специфичностью.

Полимеразы, используемые в LAMP. Для проведения реакции петлевой изотермической амплификации необходимо применение термостабильных полимераз, способных синтезировать новую цепь ДНК, вытесняя при этом уже существующую цепь в 5'–3' направлении, что снимает потребность в нагревании смеси для термической денатурации дцДНК. В большинстве работ, посвященных данному вопросу, используется *Bst*-полимераза – ДНК-полимераза I мезофильной бактерии *Geobacillus stearothermophilus* (до 2001 г. бактерия именовалась *Bacillus stearothermophilus*, полимеразы сохранила исторически сложившееся название), которая отличается большей процессивностью в сравнении с *Taq*-полимеразой. Температурный оптимум при использовании данного фермента составляет 60 °С. С практической точки зрения *Bst*-полимеразу выгодно отличает ее высокая устойчивость ко многим ингибиторам, присутствующим, например, в биологических образцах или культуральных средах [7, 8]. На сегодняшний день широкое применение нашли ее рекомбинантные аналоги. Так, *Bst* 2.0 ДНК-полимераза (NEB, Великобритания) отличается большей скоростью полимеризации, повышенной термостабильностью (оптимум активности при температуре 60–72 °С), способностью включать во вновь синтезируемую цепь dUTP, а также толерантностью к высокой концентрации солей (до 120 мМ одновалентных катионов). По аналогии с «горячим стартом» в ПЦР разработана *Bst* 2.0 WarmStart ДНК-полимераза

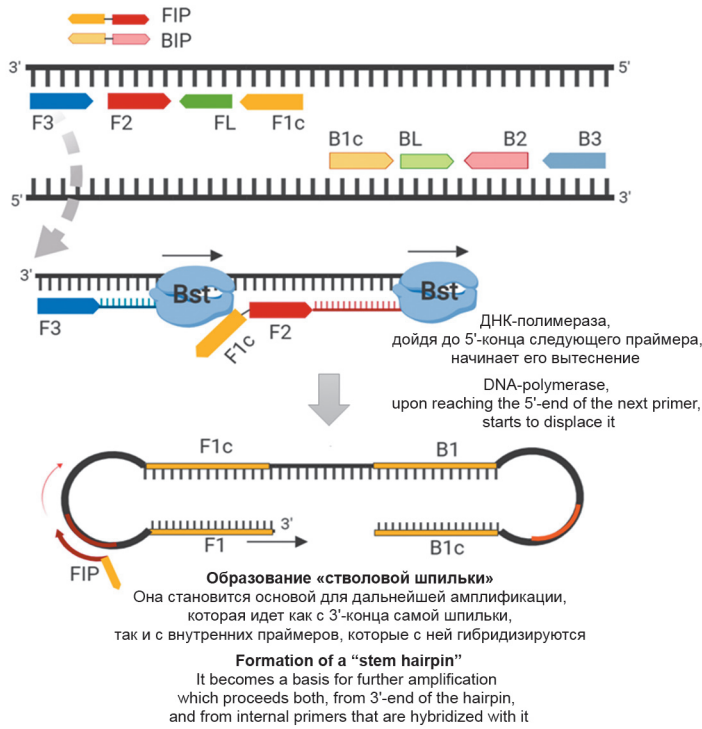


Схема постановки реакции петлевой изотермической амплификации (LAMP)

Algorithm of the loop isometric amplification (LAMP)

(NEB, Великобритания), которая обратимо связана с аптомерами, ингибирующими ее активность при температуре ниже 45 °С. Bst 3.0 полимеразы (NEB, Великобритания), помимо полимеразной, обладает активностью обратной транскриптазы, а также показывает еще большую устойчивость к целому ряду ингибиторов.

Интерес вызывает OmniAmp полимеразы, представляющая собой рекомбинантный аналог полимеразы фага 3173, выделенного из термальных источников Йеллоустонского национального парка [9]. OmniAmp полимеразы способна успешно амплифицировать как ДНК-матрицы (*Bacillus atrophaeus*, *Staphylococcus aureus*, фаг M13), так и РНК-матрицы (вирусы Эбола, Западного Нила, Крымской-Конго геморрагической лихорадки) [10]. Также сконструирован рекомбинантный продуцент фермента – SD-полимераза (мутант Taq-полимеразы), обладающая цепь-вытесняющей способностью, но с более высокой термостабильностью по сравнению с Bst-полимеразой, что позволяет добавить этап первичной высокотемпературной денатурации ДНК, повышающий эффективность LAMP [11].

Детекция результатов LAMP. По аналогии с ПЦР учет накопления продуктов реакции может быть проведен по «конечной точке» или в режиме «реального времени». Наиболее простым и наименее предпочтительным является метод электрофореза в агарозном геле. Поскольку продуктом амплификации в LAMP является набор ампликонов возрастающей длины, то на электрофореграмме наблюдается «лесенка». Данный способ детекции усложняет и удлиняет анализ, а также значительно повышает риск контаминации продуктами амплификации. Удобными и быстрыми являются визуальные

способы определения протекания реакции. Один из них – турбидиметрический метод, основанный на изменении оптической плотности реакционной смеси (повышение мутности раствора), которая определяется визуально или может быть измерена прибором. Это связано с тем, что параллельно с наработкой ампликонов высвобождаются пирофосфат-анионы, которые взаимодействуют с катионами магния, образуя осадок нерастворимого пирофосфата магния. Сопутствующее изменение концентрации катионов магния может быть визуализировано с использованием металл-чувствительных индикаторов: кальцеин (изменяет цвет от темно-желтого к желтому), малахитовый зеленый (от темно-синего к светло-синему), синий гидроксинафтол (от темно-синего к синему). Для детекции протекания реакции могут быть использованы электрохимические методы (например, технологии полупроводниковых рН-сенсоров), т.к. в ходе полимеризации новой цепи, помимо пирофосфата, высвобождаются и катионы водорода. Простым способом обнаружения наработки ампликонов является изменение окраски реакционной смеси, наблюдаемое невооруженным глазом, при добавлении специальных красителей.

Широкое применение нашли интеркалирующие красители SYBR Green I [12, 13], PicoGreen [14, 15], Eva Green [16], Goldview II [17, 18], SYTO [19, 20], пропидиум йодид [21]. Дешевым аналогом интеркалирующих красителей может являться алкалоид барберин, содержащийся в различных частях многих растений. Детекция флуоресценции, основанная на применении интеркалирующих красителей, осуществляется стандартными амплификаторами для проведения ПЦР в режиме реального времени, что позволяет перевести LAMP в формат количественно-

го анализа. Однако сами флуоресцентные красители могут выступать в качестве ингибиторов амплификации, следует тщательно подбирать их концентрацию [22, 23].

На сегодняшний день на рынке представлены турбидиметры, позволяющие мониторить изменение мутности в режиме реального времени, проводя измерения каждые 6 сек (серия Looramp Realtime Turbidimeter LA-200, LA-320, LA-500, EIKEN, Япония), и специально разработанные термостатируемые флуориметры Genie III (OPTIGENE, США).

Варианты проведения LAMP. RT-LAMP (петлевая изотермическая амплификация со стадией обратной транскрипции, RT-LAMP) – одностадийный метод, заключающийся в протекании в одной пробирке реакции обратной транскрипции и изотермической амплификации, что позволяет детектировать наличие РНК-матриц. Для проведения данного вида исследований к стандартной смеси может быть добавлена обратная транскриптаза, которая синтезирует кДНК по матрице РНК, а образовавшаяся кДНК амплифицируется ДНК-полимеразой [24, 25]. Использование недавно разработанных полимераз Bst 3.0 (NEB, Великобритания), совмещающих активности полимеразы и обратной транскриптазы, значительно упрощает проведение RT-LAMP. Данный метод применяют для индикации и идентификации РНК-содержащих вирусов. На сегодняшний день разработаны наборы праймеров для обнаружения вирусов денге 1–4 типов [26], Зика [27], Западного Нила [28], Чикунгунья [29], клещевого энцефалита [30], коронавируса SARS-CoV [31], коронавируса MERS [32], нового коронавируса COVID-19 [33] и многих других. Метод характеризуется достаточно высокой специфичностью и чувствительностью, не уступающими таковым полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР).

LAMP в формате теста на экспресс-полосках (lateral flow strip – LFS, lateral flow dipstick – LFD). Данный вариант LAMP является одним из самых быстрых, простых и портативных, напоминает тесты на иммунохроматографических полосках. Анализируемый образец (слюна, кровь, моча и другие биологические жидкости) наносится на один конец полоски (загрузочная площадка, buffer loading pad), содержащий все компоненты для протекания изотермической реакции. Также в данной области содержится меченый ДНК-зонд, распознающий только целевые специфические ампликоны. Образование специфических комплексов антител с ампликонами вместе с меченым ДНК-зондом проявляется с помощью наночастиц золота и визуализируется в виде проявления полосы в определенном месте. Использование различных меток для ДНК-зондов и, соответственно, детектирующих их антител позволяет мультиплексировать данный вариант LAMP [34–36]. Использование экспресс-полосок нашло применение в диагностике вируса кори [37] и японского энцефалита [38].

Ограничения и недостатки LAMP. Наряду с видимыми достоинствами петлевой изотермической амплификации нельзя не упомянуть и о существующих ограничениях использования данного метода. Так как в одной реакции одновременно используются две или три пары праймеров, значительно усложняется их дизайн и оптимизация условий проведения амплификации. Также, по сравнению с ПЦР в режиме реального времени, LAMP гораздо сложнее мультиплексировать для одновременного обнаружения нескольких патогенов [39]. И одним из существенных недостатков является то, что метод неприменим для проведения дальнейших генно-инженерных манипуляций с наработанными ампликонами (например, клонирование в вектор, сиквенирование) [40].

Применение LAMP для выявления РНК возбудителей опасных вирусных инфекционных болезней.

Применение LAMP в молекулярной диагностике болезни, вызванной вирусом Эбола. Вирус Эбола относится к семейству *Filoviridae*, род *Ebolavirus*. К роду *Ebolavirus* относятся шесть видов: Заир (Zaire ebolavirus, ZEBOV), Рестон (Reston ebolavirus, RESTV), Судан (Sudan ebolavirus, SUDV), Тай Форест (Tai Forest ebolavirus, TAFV), Бундибуджио (Bundibugyo ebolavirus, BDBV) и Бомбали (Bombali ebolavirus, BOMV). Из всех видов только RESTV не опасен для человека (для недавно открытого BOMV подтвержденных данных, свидетельствующих о патогенности для человека, пока не описано) [41].

Геном вируса Эбола представлен несегментированной одноцепочечной молекулой РНК негативной полярности и состоит из семи генов, кодирующих девять белков, вирус обладает высокой степенью контагиозности и вирулентности.

Начиная с 1976 г., заболевание регистрировалось в сельских районах Центральной и Восточной Африки и характеризовалось как единичные вспышки. За время эпидемии БВВЭ в странах Западной Африки в 2014–2016 гг. заболело 28616 человек, 11310 из которых погибли. Отмечались случаи завоза инфекции за пределы Африканского континента.

Диагностика БВВЭ на основании только клинических данных крайне затруднена, т.к. характеризуется отсутствием специфичных симптомов на ранних этапах заболевания, что вызывает необходимость проведения дифференциальной диагностики с другими инфекционными болезнями, распространенными в странах Африки (малярия, тиф, лептоспироз, лихорадка Ласса и др.). Одним из главных факторов контроля за распространением возбудителя БВВЭ является точная и быстрая лабораторная диагностика.

Основным молекулярно-генетическим методом, позволяющим выявлять РНК вируса Эбола в биологических жидкостях пациентов на ранних стадиях заболевания, является ОТ-ПЦР [42].

RT-LAMP является одним из перспективных направлений для совершенствования методов лабораторной диагностики БВВЭ. В качестве мишеней

для дизайна праймеров в данном случае могут выступать 3'-нетранслируемая область [43, 44], ген нуклеопротеина NP [45], ген гликопротеина GP [46] и ген полимеразы L [47]. В таблице представлены последовательности праймеров, используемых в данном виде работы. Большинство тестов разработано для выявления ZEBOV, т.к. он наиболее патогенный для человека. Зарубежными авторами разработаны видоспецифичные праймеры, комплементарные NP гену, способные дифференцировать 5 видов (ZEBOV, SUDV, TAFV, BDBV, RESTV) [45, 48].

Метод RT-LAMP успешно применен для диагностики БВВЭ в Республике Гвинея в 2015 г. [44]. Выявление РНК возбудителя проводилось с использованием двух наборов праймеров (комплементарных trailer region и гену NP). Специфичность проверена на панели, содержащей близкородственные вирусы (Заир, Рестон, Судан, Тай Форест, Бундидубжио), а также вирусы других семейств (вирусы Ласса – семейство *Arenaviridae*, денге 1–4 типов, желтой лихорадки – семейство *Flaviviridae*, лихорадки долины Рифт – семейство *Phenuiviridae*). Апробация метода проведена на 100 образцах (44 сыворотки и 56 ротоглоточных мазков), полученных от больных, проходивших лечение в Национальном госпитале Донка в г. Конакри. При использовании праймеров, комплементарных генетической последовательности trailer region вируса Эбола, положительный результат получен в 100 % случаев, ген NP обнаруживался в 97,9 % исследуемых образцов, что подтверждает возможность использования RT-LAMP в качестве метода выявления РНК возбудителя БВВЭ.

Важным фактором использования RT-LAMP тестов является стабильность компонентов реакционной смеси при хранении и их устойчивость к перепадам температуры. Удобным является стабилизация компонентов путем лиофильного высушивания с добавлением D-трегалозы [47].

Применение LAMP в молекулярной диагностике болезни, вызванной вирусом Марбург. Болезнь, вызванная вирусом Марбург (БВВМ) – острое инфекционное заболевание, характеризующееся тяжелым геморрагическим синдромом, поражением печени, желудочно-кишечного тракта и центральной нервной системы. Вирус Марбург (MARV) относится к семейству *Filoviridae*, роду *Marburg virus* и включает в себя единственный вид *Lake Victoria Marburg virus*, который отчетливо разделяется на две генетические линии, имеющие уровень гомологии нуклеотидных последовательностей около 80 % [49]. Наиболее крупная вспышка БВВМ произошла в Анголе в 2004–2005 гг., когда зафиксировали 252 случая заболевания, уровень летальности составил 90 % [50].

Мишенью для разработки праймеров для проведения RT-LAMP является ген нуклеопротеина NP [50, 51] (таблица). Разработанный способ включает в себя два набора праймеров для индикации всех известных на сегодняшний день генетических линий

MARV – Musoke и Ravn. Данный тест позволяет выявлять до 100 копий генома на реакцию в течение 40 мин. Учет результатов может быть проведен визуально (при окрашивании флуоресцентным красителем) или в режиме «реального времени» турбидиметрическим способом. Тест апробирован на 24 клинических образцах, полученных во время вспышки в Анголе 2004–2005 гг., из которых в 18 методом ОТ-ПЦР выявлена РНК вируса Марбург, а 6 являлись отрицательными. Методом RT-LAMP в 14 из 18 случаев получен положительный ответ (78 %), в остальных пробах результат был негативный.

Применение LAMP в молекулярной диагностике лихорадки Ласса. Геморрагическая лихорадка Ласса (ГЛЛ) – особо опасная инфекция, вызываемая вирусом Ласса (семейство *Arenaviridae*) и характеризующаяся наличием геморрагических проявлений, интоксикацией, поражением органов дыхания, почек, ЦНС и миокарда. Территория Западной Африки является эндемичной для данной инфекционной болезни. Во время вспышки в Нигерии в 2018 г. зафиксировано 423 случая заболевания с уровнем летальности от 30 до 70 % [52]. ГЛЛ является одной из наиболее частых импортируемых экзотических лихорадок [53], в связи с чем разработка быстрых и чувствительных методов для выявления РНК возбудителя является крайне актуальной. Вирусный геном представлен одноцепочечной молекулой РНК негативной полярности и состоит из двух сегментов: большого L (7,1 kb) и малого S (3,4 kb). На сегодняшний день в мире выявлено шесть геновариантов вируса Ласса [54].

При разработке праймеров для RT-LAMP мишенями могут служить гены NP [55] и GPC [56], располагающиеся на S-сегменте (таблица). Так, для выявления случаев ГЛЛ, зарегистрированных на территории Южной и Центральной Нигерии, разработано три набора праймеров для детекции вируса Ласса II генотипа, распространенного в данном регионе [56]. Наборы апробированы на коллекции из 73 образцов плазмы от больных лихорадкой Ласса. С их помощью доказана возможность применения метода LAMP для диагностики этой инфекции при возможной вспышке.

В результате проведенных зарубежными авторами исследований показано, что применение методов петлевой изотермической амплификации является перспективным направлением для разработки новых диагностических тестов для выявления РНК опасных вирусных инфекций. Простота и короткий срок постановки реакции, а также минимальные требования к приборному оснащению делают крайне удобным ее применение при проведении скрининговых исследований клинического материала при мониторинге, осуществляющемся в рамках эпидемиологического надзора.

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

Последовательности праймеров, используемые для выявления РНК вирусов, относящихся к I группе патогенности, методом RT-LAMP (по данным зарубежных авторов)

Primer sequences used for virus RNA detection, which fall under the pathogenicity group I, applying RT-LAMP (by the data from the foreign authors)

Название возбудителя Pathogen	Структура праймера Primer structure		Ген-мишень Target gene	Условия проведения анализа Terms of analysis
1	2		3	4
Вирус Эбола Ebola virus	F3	GACGGGAGTGAGTGTCTACC	GP	72 °C, 40 min
	B3	AGCTTGGGGCAGTATCAGAA		
	FIP	GGCACATGGTCCCCTTCTGATTTTTAGCGCCAGACGGGATTTCG		
	BIP	TGCCTTCCACAAAGAGGGTGCTTTTTGCGAAAAGTCGTTCTCTCGGT		
	LF	GCACATACCGGCACC		
	LB	CTTCTGTATGATCGACTTGCTTC		
Вирус Эбола, вид Zaire ebolavirus Ebola virus, species Zaire ebolavirus	F3	AATAACGAAAAGGAGTCCCTA	3'-UTR	63 °C, 60 min
	B3	CTGACAGGATATTGATACAACA		
	FIP	GTCACACATGCTGCAATTGTTTTTCTAATTTAGCCTCTCTCCCT		
	BIP	GCCGCAATGAATTTAACGCAATTTAATATGAGCCCAGACCTT		
Вирус Эбола, вид Zaire ebolavirus Ebola virus, species Zaire ebolavirus	F3	CAATAAACTAATTTAAATAAC	3'-UTR	63 °C, 30 min
	B3	CTGGCAAGATATTGATACAACA		
	FIP	GTCACACATGCTGCAATTGTTTTTCTAATTTAGCCTCTCTCCCT		
	BIP	AACGCAACATAATAAACTCTGCAATTTTATCAATAACAATATGAGCCCAG		
Вирус Эбола, вид Zaire ebolavirus Ebola virus, species Zaire ebolavirus	F3	TGAAGTCAAGAAGCGTGATGG	NP	63 °C, 30 min
	B3	AGTCCTTGCTCTGCACTACT		
	FIP	CATGGCAGCAAGTGTCTCTTTTTAGTGAAGCGCCTTGAGGAA		
	BIP	CAGTTTCTCTCTTTGCAAGTCTTTTTGAACCTTCTCAAGGCAAGCC		
	LF	TGTTTTTCCACTAGATACTGCTGG		
	LB	TCCTCCGAAATTGGTAGTAGGA		
Вирус Эбола, вид Zaire ebolavirus Ebola virus, species Zaire ebolavirus	F3	TTATCCGACTCGCAATGT	L	64 °C, 30 min
	B3	ICTAAATGCAAGATTGTATTCTCT		
	FIP	CCGTAACCTACCATCATATTGCTAGGCAAACTTTGTGAAGCTCTG		
	BIP	CGTGAICAAAAAGAAAGCTTATTGCAICTACTCCCTCTAACTGT		
	LF	GCTTTAGCAAGACCATCAGCIAA		
	LB	ATCAAGCATCATGGCACCAC		
Вирус Эбола, вид Zaire ebolavirus Ebola virus, species Zaire ebolavirus	F3	GGAGATTACAACTTTTCTTGG	NP	63 °C, 30 min
	B3	GGAGAGAACTGACCGG		
	FIP	CGCTTCACTCCATCACGCTCTTTTTGTGGCGCAGTCAAGTATTGG		
	BIP	CCAGCAGTATCTAGTGGAAATTTGCTTCAGTTGTCTCTCTTC		
	LF	GACTTCAAAACGGAACCCGTGCCCT		
	LB	GAACACTTGCTGCCATG		
Вирус Эбола, вид Sudan ebolavirus Ebola virus, species Sudan ebolavirus	F3	GGAGATCATAGGCTCTTCTC	NP	63 °C, 30 min
	B3	GGATAAAAAGTACCAGC		
	FIP	CGGTGCACATCTCCTTTTCTCTTTGTGATGCAGTTCAATACTTAG		
	BIP	CCCAATGTCACCGGTGGAAATTTGCTTCTGTTGTCTCTCTTC		
	LF	GACCTCAAACCTGAAACCATGGCC		
	LB	GAACATTGGCTGCAATG		
Вирус Эбола, вид Bundibugyo ebolavirus Ebola virus, species Bundibugyo ebolavirus	F3	GGGGATTATAAACAATTTTGG	NP	63 °C, 30 min
	B3	TGAAAGAAATTGTCCAGC		
	FIP	CGCTTGACACCTTCCTTTTCTTTTTGTAATGCGGTAAAATACCTTG		
	BIP	CCTGCTGCCTCGAGTGGAAATTTGCTTCTGTTGTTTCTCTCTC		
	LF	CATCTCAAACCGGAATCCATGACC		
	LB	GAACATTGGCTGCAATGC		
Вирус Эбола, вид Tai Forest ebolavirus Ebola virus, species Tai Forest ebolavirus	F3	GGTGACTACAAGCAATCTTGG	NP	63 °C, 30 min
	B3	AGAGAGGAACTGTCCGGC		
	FIP	CGCTTGACTCCTTCCTTTTCTTTTGAATGCAGTCAAGTACCTTG		
	BIP	CCTGCTGCATCCAGTGGCAATTTGCTTCTGTTGTCTCTCTTC		
	LF	GACCTCAAAGCGAAAGCCATGACCC		
	LB	GAACACTGGCTGCAATG		
Вирус Эбола, вид Reston ebolavirus Ebola virus, species Reston ebolavirus	F3	GGTGACTATAAATGTCTTGGAG	NP	63 °C, 30 min
	B3	TGAGAGAAATTGCCCTGC		
	FIP	CGATTGACACCGTCTCTTCTTTTGAATGCTGTACAGTATTGG		
	BIP	CCTGCTGCAACGAGTGGAAATTTGCTTCTGTAGTCTCTCTTC		
	LF	GAGCTCAAATTTGAATCCATGACCT		
	LB	CGTACGTTGGCCGCACT		

Продолжение таблицы

1	2	3	4	1
Вирус Марбург, линия Musoke Marburg virus, Musoke lineage	F3	TTCATCAAGGAGTAAATTTGGT	NP	63 °C, 60 min
	B3	GCCTGCTTGAAGCTTAGCA		
	FIP	GAAGTCCTGAGAATCTAGTTTGACCTTTTGACAGGTCATGATGCCTAT		
	BIP	TCATCTTGCAAAAAAAGTTCAGTTTCTTTCATTTTTACTTTGGAGGT		
	LF	TACTGAATTACTRATGATACTGTC		
	LB	TGACACTACATCCTTTGGTGCGG		
Вирус Марбург, линия Ravn Marburg virus, Ravn lineage	F3	TCCATCAGGGAGTAAACTTGGT	NP	63 °C, 60 min
	B3	GCCTGTTTGAAGCTTGCA		
	FIP	GAAGCCCTGAGAATCTAGTTTGTCCTTTTGACAGGTCATGATGCCTAT		
	BIP	TCATCCTACAAAAAAGTTCAGTTTCTTTCATTTTTACTTTTGAGGT		
	LF	TACTGAATTACTRATGATACTGTC		
	LB	TGGCATTGCATCCACTTGTGCGG		
Вирус Ласса I генотип (Северо-Восточная Нигерия) Lassa virus, genotype I (North-Eastern Nigeria)	F3	CCTATTCTCAACTGATGACAC	NP	63 °C, 25 min
	B3	GATCTGTAACATCTATCCCATG		
	FIP	TTCAGGCCTGCCCTCAATATTTTTTGTATGTTACAGTTGGACC		
	BIP	CCAGTGGAGATTGCTTTGTTTCTTTTAGCATCCTGTTTGAATTGC		
	LF	CTATCCATGTTTTGCTACTTG		
	LB	TTAGAGAACCTACTGACCTT		
Вирус Ласса IV генотип (Сьерра-Леоне) Lassa virus, genotype IV (Sierra Leone)	F3	ATTCTCAGCTGATGACCTC	NP	63 °C, 25 min
	B3	GTCTGTGACATCAATCCCATGT		
	FIP	TCCACTGGATCTTCAGGCTTCCCTTTTAAAGGATGCAATGCTGCAAC		
	BIP	GCCCTCTATCAACCAAGTTCAGGCTTTTGCATCCTGCTTGAAGTGT		
	LF	AATGTCCATCCAGGTCTTAGC		
	LB	TGCTACATACACTTCTCCGTG		
Вирус Ласса II генотип (юг Нигерии) Lassa virus, genotype II (South of Nigeria)	F3	TGCTGTCACAGAGAACTAGA	GPC	63 °C, 30 min
	B3	ATGCTCATCTGTGCTTCTG		
	FIP	CAGTATCCACCGGTGCTTCTTTTTCGGAGACTTCTTGGAACT		
	BIP	GCTGAATTGAAGTGCTTTGGGATTTTATACAGAATTCCTCATCGTG		
	LF	TTGCCCTCAGAGTCAGAGA		
	LB	CACAGCCATTGCAAAGTGTA		
Вирус Ласса II генотип (юг Нигерии) Lassa virus, genotype II (South of Nigeria)	F3	TATTGTACAGAGAACTAGA	GPC	63 °C, 30 min
	B3	ATATCATCTGTGCTTCTG		
	FIP	CAGTACCCACCGGTGCTTCTTTTTCGAAGACTTCTCGGAACC		
	BIP	GCAGAACTGAAGTGTCTTTGGGATTTT TGTC		
	LF	TTGCCCTCAGAATCAGAAA		
	LB	CACAGCAGTCGCAAAGTGCAA		
Вирус Ласса II генотип (юг Нигерии) Lassa virus, genotype II (South of Nigeria)	F3	AGGACCAGGGACATTTACA	GPC	63 °C, 30 min
	B3	TCTGTCTTCAGCCTCCTTAT		
	FIP	CAATACCCACCGGTGTTTCATTTTTCGAAGACTTCTTGGGACTTT		
	BIP	GATGCTGATTGAGGCCGAGTTTCTTTTGT TCTCATTGCATTTGCGC		
	LF	TCAGAATCAGAGAGAGTCCAAGT		
	LB	AAGTGCTTTGGGAACACAGC		

References / Список литературы

1. Walker G.T., Fraiser M.S., Schram J.L., Little M.C., Nadeau J.G., Malinowski D.P. Strand displacement amplification – an isothermal, *in vitro* DNA amplification technique. *Nucl. Acids Res.* 1992; 20(7):1691–6. DOI: 10.1093/nar/20.7.1691.

2. Dean F.B., Hosono S., Fang L., Wu X., Faruqi A.F., Bray-Ward P., Sun Z., Zong Q., Du Y., Du J., Driscoll M., Song W., Kingsmore S.F., Egholm M., Lasken R.S. Comprehensive human genome amplification using multiple displacement amplification. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 2002; 99(8):5261–6. DOI: 10.1073/pnas.082089499.

3. Liu W., Dong D., Yang Z., Zou D., Chen Z., Yuan J., Huang L. Polymerase Spiral Reaction (PSR): A novel isothermal nucleic acid amplification method. *Sci. Rep.* 2015; 5(1):12723. DOI: 10.1038/srep12723.

4. Fischbach J., Frohme M., Glöckler J. Hinge-initiated primer-dependent amplification of nucleic acids (HIP) – a new versatile isothermal amplification method. *Sci. Rep.* 2017; 7(1):7683. DOI: 10.1038/s41598-017-08067-x.

5. Notomi T., Okayama H., Masubuchi H., Yonekawa T., Watanabe K., Amino N., Hase T. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucl. Acids Research.* 2000; 28(12):663. DOI: 10.1093/nar/28.12.e63.

6. Mori Y., Notomi T. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a rapid, accurate, and cost-effective diagnostic method for infectious diseases. *J. Infect. Chemother.* 2009; 15(2):62–9. DOI: 10.1007/s10156-009-0669-9.

7. Kaneko H., Kawana T., Fukushima E., Suzutani T. Tolerance of loop-mediated isothermal amplification to a culture medium and biological substances. *J. Biochem. Biophys. Methods.* 2007; 70(3):499–501. DOI: 10.1016/j.jbbm.2006.08.008.

8. Francois P., Tangomo M., Hibbs J., Bonetti E.-J., Boehme C.C., Notomi T., Perkins M.D., Schrenzel J. Robustness of a loop-mediated isothermal amplification reaction for diagnostic applications. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2011; 62(1):41–8. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2011.00785.x.

9. Moser M.J., DiFrancesco R.A., Gowda K., Klingele A.J., Sugar D.R., Stocki S., Mead D.A., Schoenfeld T.W. Thermostable DNA polymerase from a viral metagenome is a potent RT-PCR enzyme. *PLoS ONE.* 2012; 7(6):e38371. DOI: 10.1371/journal.pone.0038371.

10. Chander Y., Koelbl J., Puckett J., Moser M.J., Klingele A.J., Liles M.R., Carrias A., Mead D.A., Schoenfeld T.W. A novel thermostable polymerase for RNA and DNA loop-mediated isothermal amplification (LAMP). *Front. Microbiol.* 2014; 5. DOI: 10.3389/fmicb.2014.00395.

11. Ignatov K.B., Barsova E.V., Fradkov A.F., Blagodatskikh K.A., Kramarova T.V., Kramarov V.M. A strong strand displacement activity of thermostable DNA polymerase markedly improves the results of DNA amplification. *BioTechniques*. 2014; 57(2):81–7. DOI: 10.2144/000114198.
12. Lee S.H., Baek Y.H., Kim Y.H., Choi Y.K., Song M.S., Ahn J.-Y. One-pot reverse transcriptional loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) for detecting MERS-CoV. *Front. Microbiol.* 2017; 7:2166. DOI: 10.3389/fmicb.2016.02166.
13. Monazah A., Zeinoddini M., Saeedinia A.R. Evaluation of a rapid detection for Coxsackievirus B3 using one-step reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP). *J. Virol. Methods*. 2017; 246:27–33. DOI: 10.1016/j.jviromet.2017.04.006.
14. Curtis K.A., Rudolph D.L., Owen S.M. Rapid detection of HIV-1 by reverse-transcription, loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP). *J. Virol. Methods*. 2008; 151(2):264–70. DOI: 10.1016/j.jviromet.2008.04.011.
15. Batra K., Kumar A., Kumar V., Nanda T., Maan N.S., Maan S. Development and evaluation of loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of Capripoxvirus. *Vet. World*. 2015; 8(11):1286–92. DOI: 10.14202/vetworld.2015.1286-1292.
16. Oscorbin I.P., Belousova E.A., Zakabunin A.I., Boyarskikh U.A., Filipenko M.L. Comparison of fluorescent intercalating dyes for quantitative loop-mediated isothermal amplification (qLAMP). *BioTechniques*. 2016; 61(1):20–5. DOI: 10.2144/000114432.
17. Shi W., Li K., Ji Y., Jiang Q., Shi M., Mi Z. Development and evaluation of reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of enterovirus 71. *BMC Infect. Dis.* 2011; 11(1):197. DOI: 10.1186/1471-2334-11-197.
18. Wu R., Liu X., Guo B., Chen F., Wang X. Development of double loop-mediated isothermal amplification to detect *Listeria monocytogenes* in food. *Curr. Microbiol.* 2014; 69(6):839–45. DOI: 10.1007/s00284-014-0661-1.
19. Watts M.R., James G., Sultana Y., Ginn A.N., Outhred A.C., Kong F., Outhred A.C., Iredell J.R., Chen S.C.-A., Lee R. A Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) Assay for *Strongyloides stercoralis* in stool that uses a visual detection method with SYTO-82 fluorescent dye. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2014; 90(2):306–11. DOI: 10.4269/ajtmh.13-0583.
20. Mwendwa F., Mbae C.K., Kinyua J., Mulinge E., Mburugu G.N., Njiru Z.K. Stem loop-mediated isothermal amplification test: comparative analysis with classical LAMP and PCR in detection of *Entamoeba histolytica* in Kenya. *BMC Res Notes*. 2017; 10(1):142. DOI: 10.1186/s13104-017-2466-3.
21. Hill J., Beriwal S., Chandra I., Paul V.K., Kapil A., Singh T., Wadowsky R.M., Singh V., Goyal A., Jahnukainen T., Johnson J.R., Tarr P.I., Vats A. Loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of common strains of *Escherichia coli*. *J. Clin. Microbiol.* 2008; 46(8):2800–4. DOI: 10.1128/JCM.00152-08.
22. Gudnason H., Dufva M., Bang D.D., Wolff A. Comparison of multiple DNA dyes for real-time PCR: effects of dye concentration and sequence composition on DNA amplification and melting temperature. *Nucleic Acids Research*. 2007; 35(19):e127. DOI: 10.1093/nar/gkm671.
23. Eischeid A.C. SYTO dyes and EvaGreen outperform SYBR Green in real-time PCR. *BMC Res. Notes*. 2011; 4(1):263. DOI: 10.1186/1756-0500-4-263.
24. Mori Y., Kanda H., Notomi T. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): recent progress in research and development. *J. Infect. Chemother.* 2013; 19(3):404–411. DOI: 10.1007/s10156-013-0590-0.
25. Notomi T., Mori Y., Tomita N., Kanda H. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): principle, features, and future prospects. *J. Microbiol.* 2015; 53(1):1–5. DOI: 10.1007/s12275-015-4656-9.
26. Parida M., Horioka K., Ishida H., Dash P.K., Saxena P., Jana A.M., Islam M.A., Inoue S., Hosaka N., Morita K. Rapid detection and differentiation of Dengue virus serotypes by a real-time reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification assay. *J. Clin. Microbiol.* 2005; 43(6):2895–903. DOI: 10.1128/JCM.43.6.2895-2903.2005.
27. Tian B., Qiu Z., Ma J., Gómez de la Torre T.Z., Johansson C., Svedlindh P., Strömberg M. Attomolar Zika virus oligonucleotide detection based on loop-mediated isothermal amplification and AC susceptometry. *Biosens. Bioelectron.* 2016; 86:420–5. DOI: 10.1016/j.bios.2016.06.085.
28. Li S., Fang M., Zhou B., Ni H., Shen Q., Zhang H., Han Y., Yin J., Chang W., Xu G., Cao G. Simultaneous detection and differentiation of dengue virus serotypes 1–4, Japanese encephalitis virus, and West Nile virus by a combined reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification assay. *Virol. J.* 2011; 8:360. DOI: 10.1186/1743-422X-8-360.
29. Parida M.M., Santhosh S.R., Dash P.K., Tripathi N.K., Lakshmi V., Mamidi N., Shrivastva A., Gupta N., Saxena P., Babu J.P., Rao P.V.L., Morita K. Rapid and real-time detection of Chikungunya virus by reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay. *J. Clin. Microbiol.* 2007; 45(2):351–7. DOI: 10.1128/JCM.01734-06.
30. Hayasaka D., Aoki K., Morita K. Development of simple and rapid assay to detect viral RNA of tick-borne encephalitis virus by reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification. *Virol. J.* 2013; 10(1):68. DOI: 10.1186/1743-422X-10-68.
31. Hong T.C., Mai Q.L., Cuong D.V., Parida M., Minekawa H., Notomi T., Hasebe F., Morita K. Development and evaluation of a novel loop-mediated isothermal amplification method for rapid detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus. *J. Clin. Microbiol.* 2004; 42(5):1956–61. DOI: 10.1128/jcm.42.5.1956-1961.2004.
32. Shirato K., Semba S., El-Kafrawy S.A., Hassan A.M., Tolah A.M., Takayama I., Kageyama T., Notomi T., Kamitani W., Matsuyama S., Azhar E.I. Development of fluorescent reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) using quenching probes for the detection of the Middle East respiratory syndrome coronavirus. *J. Virol. Methods*. 2018; 258:41–8. DOI: 10.1016/j.jviromet.2018.05.006.
33. Nguyen T., Bang D.D. and Wolff A. 2019 Novel Coronavirus Disease (COVID-19): Paving the road for rapid detection and point-of-care diagnostics. *Micromachines*. 2020; 11(3):306. DOI: 10.3390/mi11030306.
34. Park B.H., Oh S.J., Jung J.H., Choi G., Seo J.H., Kim D.H., Lee E.Y., Seo T.S. An integrated rotary microfluidic system with DNA extraction, loop-mediated isothermal amplification, and lateral flow strip based detection for point-of-care pathogen diagnostics. *Biosens. Bioelectron.* 2017; 91:334–40. DOI: 10.1016/j.bios.2016.11.063.
35. Nurul Najian A.B., Engku Nur Syafirah E.A.R., Ismail N., Mohamed M., Yean C.Y. Development of multiplex loop mediated isothermal amplification (m-LAMP) label-based gold nanoparticles lateral flow dipstick biosensor for detection of pathogenic *Leptospira*. *Anal. Chim. Acta*. 2016; 903:142–8. DOI: 10.1016/j.aca.2015.11.015.
36. Kongkasuriyachai D., Yongkiettrakul S., Kiatpathomchai W., Arunrut N. Loop-Mediated Isothermal Amplification and LFD Combination for Detection of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax*. In: Prickril B., Rasooly A., editors. *Biosensors and Biodetection*. New York, NY: Humana Press; 2017. Vol. 1572. P. 431–43. DOI: 10.1007/978-1-4939-6911-1_28.
37. Xu C., Feng Y., Chen Y., Gao J., Lu Y. Rapid detection of measles virus using reverse transcription loop-mediated isothermal amplification coupled with a disposable lateral flow device. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2016; 85(2):168–73. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2016.02.023.
38. Deng J., Pei J., Gou H., Ye Z., Liu C., Chen J. Rapid and simple detection of Japanese encephalitis virus by reverse transcription loop-mediated isothermal amplification combined with a lateral flow dipstick. *J. Virol. Methods*. 2015; 213:98–105. DOI: 10.1016/j.jviromet.2014.12.006.
39. Wong Y-P., Othman S., Lau Y-L., Radu S., Chee H.-Y. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): a versatile technique for detection of micro-organisms. *J. Appl. Microbiol.* 2018; 124(3):626–43. DOI: 10.1111/jam.13647.
40. Sahoo P.R., Sethy K., Mohapatra S., Panda D. Loop mediated isothermal amplification: An innovative gene amplification technique for animal diseases. *Vet. World*. 2016; 9(5):465–9. DOI: 10.14202/vetworld.2016.465-469.
41. Goldstein T., Anthony S.J., Gbakima A., Bird B.H., Bangura J., Tremeau-Bravard A., Belaganahalli M.N., Wells H.L., Dhanota J.K., Liang E., Grodus M., Jangra R.K., De Jesus V.A., Lasso G., Smith B.R., Jambai A., Kamara B.O., Kamara S., Bangura W., Monagin C., Shapira S., Johnson C.K., Saylor K., Rubin E.M., Chandran K., Lipkin W.I., Mazet J.A.K. The discovery of Bombali virus adds further support for bats as hosts of ebolaviruses. *Nat. Microbiol.* 2018; 3(10):1084–9. DOI: 10.1038/s41564-018-0227-2.
42. Dedkov V.G., Magassouba N.F., Safonova M.V., Deviatkin A.A., Dolgova A.S., Pyankov O.V., Sergeev A.A., Utkin D.V., Odinokov G.N., Safronov V.A., Agafonov A.P., Maleev V.V., Shipulin G.A. Development and evaluation of a real-time RT-PCR assay for the detection of Ebola virus (Zaire) during an Ebola outbreak in Guinea in 2014–2015. *J. Virol. Methods*. 2016; 228:26–30. DOI: 10.1016/j.jviromet.2015.11.007.
43. Kurosaki Y., Takada A., Ebihara H., Grolla A., Kamo N., Feldmann H., Kawaoka Y., Yasuda J. Rapid and simple detection of Ebola virus by reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification. *J. Virol. Methods*. 2007; 141(1):78–83. DOI: 10.1016/j.jviromet.2006.11.031.
44. Kurosaki Y., Magassouba N., Oloniniyi O.K., Cherif M.S., Sakabe S., Takada A., Hirayama K., Yasuda J. Development and evaluation of reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) assay coupled with a portable device for rapid diagnosis of Ebola Virus Disease in Guinea. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016; 10(2):e0004472. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004472.
45. Oloniniyi O.K., Kurosaki Y., Miyamoto H., Takada A., Yasuda J. Rapid detection of all known ebolavirus species by reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP). *J. Virol. Methods*. 2017; 246:8–14. DOI: 10.1016/j.jviromet.2017.03.011.
46. Benzine J.W., Brown K.M., Agans K.N., Godiska R., Mire

- C.E., Gowda K., Converse B., Geisbert T.W., Mead D.A., Chander Y. Molecular diagnostic field test for point-of-care detection of Ebola virus directly from blood. *J. Infect. Dis.* 2016; 214(suppl 3):S234–S242. DOI: 10.1093/infdis/jiw330.
47. Carter C., Akrami K., Hall D., Smith D., Aronoff-Spencer E. Lyophilized visually readable loop-mediated isothermal reverse transcriptase nucleic acid amplification test for detection Ebola Zaire RNA. *J. Virol. Methods.* 2017; 244:32–8. DOI: 10.1016/j.jviromet.2017.02.013.
48. Towner J.S., Sealy T.K., Khristova M.L., Albariño C.G., Conlan S., Reeder S.A., Quan P.-L., Lipkin W.I., Downing R., Tappero J.W., Okware S., Lutwama J., Bakamutumaho B., Kayiwa J., Comer J.A., Rollin P.E., Ksiazek T.G., Nichol S.T. Newly discovered Ebola virus associated with hemorrhagic fever outbreak in Uganda. *PLoS Pathog.* 2008; 4(11):e1000212. DOI: 10.1371/journal.ppat.1000212.
49. Peterson A.T., Holder M.T. Phylogenetic assessment of filoviruses: how many lineages of Marburg virus? *Ecol. Evol.* 2012; 2(8):1826–33. DOI: 10.1002/ece3.297.
50. Towner J.S., Khristova M.L., Sealy T.K., Vincent M.J., Erickson B.R., Bawiec D.A., Hartman A.L., Comer J.A., Zaki S.R., Ströher U., Gomes da Silva F., del Castillo F., Rollin P.E., Ksiazek T.G., Nichol S.T. Marburgvirus Genomics and association with a large hemorrhagic fever outbreak in Angola. *J. Virol.* 2006; 80(13):6497–516. DOI: 10.1128/JVI.00069-06.
51. Kurosaki Y., Grolla A., Fukuma A., Feldmann H., Yasuda J. Development and evaluation of a simple assay for marburg virus detection using a reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification method. *J. Clinical Microbiology.* 2010; 48(7):2330–6. DOI: 10.1128/JCM.01224-09.
52. Mazzola L.T., Kelly-Cirino C. Diagnostics for Lassa fever virus: a genetically diverse pathogen found in low-resource settings. *BMJ Glob Health.* 2019; 4(Suppl 2):e001116. DOI: 10.1136/bmjgh-2018-001116.
53. Macher A.M., Wolfe M.S. Historical Lassa fever reports and 30-year clinical update. *Emerg. Infect. Dis.* 2006; 12(5):835–7. DOI: 10.3201/eid1205.050052.
54. 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; 74(15):6992–7004. DOI: 10.1128/JVI.74.15.6992-7004.2000.
55. Fukuma A., Kurosaki Y., Morikawa Y., Grolla A., Feldmann H., Yasuda J. Rapid detection of Lassa virus by reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification: Detection of Lassa virus by RT-LAMP. *Microbiol. Immunol.* 2011; 55(1):44–50. DOI: 10.1111/j.1348-0421.2010.00286.x.
56. Pemba C.M., Kurosaki Y., Yoshikawa R., Oloniniyi O.K., Urata S., Sueyoshi M., Zadeh V.R., Nwafor I., Iroezindu M.O., Ajayi N.A., Chukwubike C.M., Chika-Igwenyi N.M., Ndu A.C., Nwidi D.U., Maehira Y., Unigwe U.S., Ojide C.K., Onwe E.O., Yasuda J. Development of an RT-LAMP assay for the detection of Lassa viruses in southeast and south-central Nigeria. *J. Virol. Methods.* 2019; 269:30–7. DOI: 10.1016/j.jviromet.2019.04.010.

Authors:

Kartashov M.Yu. State Scientific Centre of Virology and Biotechnology “Vector”; Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation; e-mail: vector@vector.nsc.ru. Novosibirsk State University; Novosibirsk, Russian Federation.

Chub E.V., Mikryukova T.P., Ternovoy V.A. State Scientific Centre of Virology and Biotechnology “Vector”. Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru

Naidenova E.V. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru.

Об авторах:

Карташов М.Ю. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»; Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., п. Кольцово; e-mail: vector@vector.nsc.ru. Новосибирский государственный университет; Новосибирск, Российская Федерация.

Чуб Е.В., Микрюкова Т.П., Терновой В.А. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., п. Кольцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

Найденова Е.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrap@microbe.ru.