

Czy wirus Lassa będzie najgroźniejszym zoonotycznym patogenem?

Zdzisław Gliński, Andrzej Żmuda

z Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie

W drugim roku walki z pandemią COVID-19 zespół światowych naukowców opracował ranking ryzyka przenoszenia patogenów, które wywołują groźne choroby odzwierzęce. Z ponad 250 zoonotycznych wirusów 10 stanowi obecnie potencjalnie największe zagrożenie transferu na człowieka, szerzenia się w populacji ludzi i powodowania masowych zachorowań i zgonów. Wśród tych 10 wirusów na pierwszym miejscu znajduje się wirus Lassa, na dalszych wirusy: SARS-CoV-2, Ebola, Seul, Nipah, zapalenia wątroby typu E, Marburg, CARS-CoV, SIV (małpi wirus niedoboru immunologicznego) i wirusy wścieklizny (1). Obecnie wszystkie te wirusy występują endemicznie lub są przyczyną lokalnych ognisk, zachorowania pomimo działań sanitarno-epidemiologicznych obejmują coraz większą liczbę ludzi oraz coraz częściej pojawiają się na terenach, na których uprzednio nie występowały. Za wyjątkiem wirusa wścieklizny siedem wirusów pojawiło się w drugiej połowie XX wieku zaś dwa (SARS-CoV, SARS-CoV-2) na początku XXI wieku.

Epidemiologia wirusa Lassa

Wirus gorączki krwotocznej Lassa (Lassa hemorrhagic fever virus, Lassa mamaarenavirus) występuje endemicznie w Zachodniej Afryce, głównie w Sierra Leone, Liberii, Gwinei, Nigerii, Beninie, Ghanie, Mali i Togo, zagraża też sąsiednim krajom (2, 3). Surowice reaktywne stwierdza się u ludzi w Kongo, Senegal i Republice Środkowej Afryki. Przypadki zakażenia gorączką Lassa obserwowano już w USA, Wielkiej Brytanii,

Will Lassa virus become the most fearsome zoonotic pathogen?

Gliński Z., Żmuda A., Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin

Lassa virus (Arenaviridae), is the etiological agent of Lassa fever, a severe human disease with high mortality rates for hospitalized patients. Lassa fever can be difficult to distinguish clinically from other viral hemorrhagic fevers. The virus is initially spread to people via contact with urine or feces of an infected multimammate mouse and rat, that remain carriers for life. Once infected, people may transmit Lassa virus in both community and health care settings, by contaminated medical equipment and direct contact with bodily secretions. About 15–20% of hospitalized people with Lassa fever will die from the illness. However, many infected people do not develop symptoms, which typically include fever, headache, vomiting and muscles pain. The main feature of fatal illness is impaired or severely delayed cell mediated immunity leading to fulminant viremia. Early recognition and initiation of targeted care increase patients surviving rates. Lassa fever is diagnosed by ELISA, which may detect IgM and IgG antibodies as well as Lassa virus antigen and RT-PCR used in the early stage of disease. There is currently no licensed vaccine against Lassa fever, and the only treatment available is based on ribavirin. In this article epidemiological aspects as well as diagnostics approaches are presented and discussed in the context of possibly increasing the public health threat with Lassa fever in European countries.

Keywords: Lassa fever, symptoms, pathogenesis, control.

Francji, Izraelu, Japonii, Kanadzie, Belgii, Szwajcarii, Szwecji i Holandii (4). Najważniejszym wektorem wirusa jest szczur afrykański (myszorówka natalaska)

Mastomys natalensis. Ponadto wiele gatunków drobnych gryzoni jest wektorem różnych rodów wirusa Lassa. Surowice reaktywne dla wirusa Lassa w klasie IgG stwierdzono u *Mastomys erythroleucus*, *Praomys daltoni*, *Mus baoulei*, *Rattus rattus*, *Crocidura spp.*, *Mus minutoides* i *Praomys misonnei*. Te gatunki bywają też PCR-pozytywne (5). Ostatnio zwrócono także uwagę na udział małp w chorobie Lassa. Występowanie w surowicy małp przeciwciał w klasie IgG i IgM przeciwko antygenowi swoistemu nukleoproteiny rekombinantu wirusa Lassa (ReLASV) świadczy o naturalnej ekspozycji na zakażenie, natomiast obecność antygeny wirusa Lassa przemawia za o nosicielstwem wirusa przez pięć gatunków małp w Nigerii: *Cercocebus sabaeus*, *Callicebus torquatus*, *Cercopithecus mona*, *C. nictitans*, *Erythrocebus patas* i *Papio anubis* (6).

Ze względów epidemiologicznych ważne są dwa fakty: w ok. 80% przypadków zakażenie ma charakter bezobjawowy, a u 20% chorych choroba ma ciężki przebieg, w którym jest zajęta wątroba, śledziona i nerki, oraz że istnieje transmisja wirusa na drodze kontaktów międzyludzkich przy braku wektora, jakim jest szczur afrykański. Corocznie wirus Lassa powoduje ok. 300 tys. zachorowań i 5000 zgonów. Prawdopodobnie liczba zachorowań i przypadków śmierci jest większa od oficjalnie rejestrowanej (7). Chorobę zdiagnozowano w 1969 r., a jej nazwa pochodzi od miasteczka Lassa w Nigerii, gdzie zidentyfikowano pierwsze przypadki tej gorączki krwotocznej (8).

Charakterystyka wirusa

Wirus Lassa (*Lassa mammaarenavirus*), czynnik sprawczy gorączki krwotocznej, należy do rodziny Arenaviridae i jest jednym z ośmiu wirusów patogennych dla człowieka (tab. 1). Wirion kształtu sferycznego ma średnicę 50–300 nm, nukleoproteina ma formę dwóch helikalnych zamkniętych okręgów. Rdzeń wirionu otacza podwójna osłonka bogata w lipidy, przez którą wystają wypustki glikoproteinowe. Materiał genetyczny stanowi jednopasmowy dwusegmentowy RNA o polaryzacji ujemnej. Koduje on białko wiążące cynk (Z), polimerazę wirusową (L), nukleoproteinę (NP) i glikoproteiny otoczki (GP1, GP2). Glikoproteiny otoczki wiążą się z α -astroglikanem receptorem komórek docelowych (9).

Wyodrębniono siedem rodów (lineages) wirusa Lassa. Ród I to prototypowy szczep wyizolowany we

Wschodniej Nigerii, ród II – to szczepy pochodzące z Południowo-Środkowej Nigerii, III ród – szczepy z Północno-Środkowej Nigerii, IV ród tworzą szczepy z Gwinei, Liberii i Sierra Leone, do V rodu należą szczepy z Mali i Wybrzeża Kości Słoniowej (10, 11), a VI ród tworzy szczep izolowany od myszówki nigeryjskiej (*Hylomyscus pamfi*), natomiast do VII rodu zaliczono wirus izolowany w Togo.

Wirus zakaża głównie na drodze endocytozy i replikuje się w cytoplazmie, pączkuje w błonie plazmatycznej zakażonych komórek (12). Wirus jest wrażliwy na pH < 5,5 i > 9,5, działanie eteru i dezoksycholanu sodu. W 18°C ulega po 24 godz. inaktywacji pod wpływem 0,5% formaliny, w temperaturze powyżej 56°C po 20 min. Arenawirusy mają wiele różnych antygenów, część z nich odpowiada za wiązanie przeciwciał neutralizujących, w tym także za reakcje krzyżowe. W nukleoproteinie wirusa Lassa metodą ELISA wyróżniono trzy domeny: A, B i C. Domena A zawiera epitop grupowo-swoisty dla całej rodziny Arenawirusów, domena B epitopy swoiste dla wirusa Lassa, podczas gdy w domenie C znajdują się epitopy typowo swoiste i charakterystyczne dla podgrup (13).

Źródło i drogi zakażenia

Najważniejszym źródłem zakażenia jest myszorka natalaska oraz kilka gatunków drobnych gryzoni, które wydalają wirusa Lassa wraz z kałem i moczem. Człowiek zakaża się przez kontakt bezpośredni z tymi wydalaminami, pokarmem lub wodą zanieczyszczoną moczem i kałem siewców wirusa. Wrotami zakażenia oprócz przewodu pokarmowego są otarcia i rany. Podobnie jak w przypadku wirusów Machupo i Lujo zakażenie szerzy się na drodze człowieka → człowiek przez kontakty bezpośrednie z moczem, kałem i krwią zakażonych pacjentów, a także podczas krwawych zabiegów. Wirus Lassa szerzy się też drogą kontaktów płciowych i za pośrednictwem mleka zakażonych matek. Wirus utrzymuje się we krwi pacjentów do trzech tygodni po ustąpieniu objawów choroby w płynach ustrojowych i nasieniu (14, 15). Występuje wyraźna zależność pomiędzy sezonowością rozmnażania się gryzoni a dynamiką zachorowań, o czym świadczą największe liczby przypadków choroby w określonych porach roku. Bardzo ważną rolę w ocenie dynamiki zachorowań, podobnie jak w epidemiach, odgrywa bazowy współczynnik

Tabela 1. Arenawirusy patogenne dla człowieka

WIRUS	CHOROBA	WYSTĘPOWANIE	ROK ODKRYCIA
LCMV	limfocytarne zapalenie splotu naczyńnkowego i opon	cały świat	1933
Junin	argentyńska gorączka krwotoczna	Argentyna, Ameryka Południowa	1958
Machupo	boliwijska gorączka krwotoczna	Boliwia, Ameryka Środkowa	1963
Lassa	gorączka krwotoczna Lassa	Afryka Zachodnia, Izrael, USA, Wielka Brytania, Francja, Japonia, Holandia, Kanada, Szwecja	1969
Guanarito	wenezuelska gorączka krwotoczna	Wenezuela	1989
Sabia	brazylijska gorączka krwotoczna	Ameryka Południowa	1993
Chapare	gorączka krwotoczna Chapare	Boliwia	2004
Lujo	gorączka krwotoczna Lujo	Afryka Południowa	2008

reprodukcji zakażenia (R_0) określający liczbę nowych zakażeń pochodzących od jednego zakażonego pacjenta. Przy $R_0 > 1$ zakażenie rozprzestrzenia się, natomiast w przypadku, gdy $R_0 < 1$, wygasa. Na zachorowalność i śmiertelność wpływa cały kompleks działań, które obejmują: leczenie przy użyciu rybowiryny, przestrzeganie zasad higieny osobistej, izolacja chorych i podejrzanych o zakażenie, deratyzacja, uświadamianie zagrożenia choroba w akcjach oświatowych (16).

W patogenezie choroby decydującą rolę odgrywa osłabienie odporności komórkowej związane z zakażeniem (17). Krótko przed zgonem pewne znaczenie może odgrywać burza cytokinowa. Wiremia z wysokim mianem wirusa jest następstwem słabej odpowiedzi komórkowej przy jednoczesnym braku przeciwciał neutralizujących wirus Lassa (18). W tej sytuacji zarówno replikacja wirusa Lassa w komórkach docelowych, jak jego rozsiew w organizmie nie są hamowane. Wiremia osiąga maksimum pomiędzy czwartym a dziewiątym dniem po wystąpieniu objawów choroby (19) i u pacjentów, którzy przeżywiają, kończy się po trzech tygodniach, natomiast u pacjentów w dniu śmierci wynosi od 10^3 do 10^8 TCID₅₀/ml (20, 21). Wirus Lassa nie aktywuje komórek dendrytycznych i makrofagów, proliferacja limfocytów T z markerem CD40, CD80 i CD 86 jest nieznaczna (22). Kliniczne obserwacje potwierdzają istnienie korelacji pomiędzy śmiertelnym zejściem choroby z niskim poziomem lub brakiem we krwi interleukiny-8 (IL-8) i białka IP-10 indukowanego przez INF (23).

Komórki prezentujące antygen, komórki dendrytyczne i makrofagi są pierwszymi komórkami docelowymi wirusa Lassa (22). Komórki prezentujące antygen są najprawdopodobniej odpowiedzialne za transfer wirusa i szerzenie się zakażenia ze względu na swoją mobilność i występowanie w wielu narządach. Masywne uwalnianie wirusa ma miejsce we wtórnych narządach limfatycznych i w wątrobie. Wirus replikuje się w hepatocytach, fibroblastach i komórkach śródbłonki naczyniowego. Na początku choroby występuje spadek liczby limfocytów TCD4+ i CD8+, komórek NK i limfocytów B, a po dwóch tygodniach pojawia się leukocytoza, głównie neutrofilowa (24). W gorączce Lassa nie stwierdza się rozsianej zakrzepicy. Burzę cytokinową przypominającą burzę cytokinową w posocznicy notowano u pacjentów z uszkodzeniem wielonarządowym i wstrząsem krwotocznym poprzedzającym zgon. Miano prozapalnych cytokin INF- γ i TNF- α jest u nich bardzo wysokie (25).

Badania na małpach *Macacuss* spp. i obserwacje kliniczne jednoznacznie wskazują na kluczowe znaczenie limfocytów T w chorobie Lassa. Choroba o ciężkim przebiegu jest efektem osłabienia aktywności tych limfocytów, zaś skuteczne zwalczanie choroby jest uzależnione od nasilenia i efektywności ich odpowiedzi (26). Przeciwciała produkowane w początkowej fazie zakażenia nie neutralizują wirusa Lassa, taką właściwość mają przeciwciała produkowane pod koniec choroby, miano ich jest jednak niskie (20). Stąd też przy niskim nasileniu odpowiedzi komórkowej i braku lub niskim mianie przeciwciał neutralizujących wirus Lassa, może się bez przeszkód replikować (27). U małp, które przeżyły zakażenie wirusem

Lassa liczba aktywowanych limfocytów T jest duża, natomiast przy niskiej liczbie aktywowanych limfocytów T rozwija się choroba o ciężkim przebiegu ze śmiertelnym zejściem. U seropozytywnych małp na terenach endemicznych stwierdza się dużą liczbę limfocytów TCD4+ (27). Przeciwciała neutralizujące są skierowane przeciw komponentom białkowym wirusa (28), niektóre wykazują swoistość szczepową lub reagują z innymi gatunkami arenowirusów (29).

Objawy choroby

W 80% przypadków choroba jest bezobjawowa, w 20% pozostałych przypadków występuje postać jawna choroby. Chorobę jawną zapoczątkowują objawy grypopodobne, które pojawiają się po 7–21-dniowym okresie inkubacji i cechują się ogólnym osłabieniem i złym samopoczuciem utrzymującym się przez 1–3 dni, gorączką powyżej 39°C, która osiąga nawet 41°C i trwa 10 dni. Następnie w ciągu 4–7 dni występuje ból gardła, na śluzówce gardła pojawiają się białe plamy, występują bóle głowy, bóle w klatce piersiowej, karku, brzucha i stawów, zapalenie spojówek, nudności i krwawe wymioty, krwawa biegunka, suchy kaszel wysiłkowy, białkomocz i spadek ciśnienia krwi oraz niedokrwistość. Po 7 dniach twarz jest obrzęknięta, występują drgawki, krwawienie ze śluzówki jamy ustnej, nosa, oczu, krwotoki wewnętrzne, krwimocz i dezorientacja, a w ciężkim przebiegu po 14 dniach pacjent umiera w śpiączce (30, 31). Może też występować obrzęk węzłów chłonnych i śledziony. Około 33% pacjentów, którzy przeżyli, traci słuch; utrata słuchu może się utrzymywać przez całe życie (32). W łagodnym przebiegu choroby powrót do zdrowia rozpoczyna się 8–10 dnia po zachorowaniu. Zakażenie stwarza zagrożenie dla kobiet ciężarnych i ich płodów. Śmiertelność chorych kobiet w ciąży w III trymestrze wynosi powyżej 30%, a śmierć płodów i noworodków matek chorych – 85%. Charakterystyczny jest zespół obrzękniętego płodu (swollen baby syndrome) charakteryzujący się obrzękami, płynem w jamie klatki piersiowej, wodobrzuszem i krwawieniami.

Zmiany anatomopatologiczne i histopatologiczne

Do najważniejszych zmian należy wysięk opłucnowy, obrzęk płuc, wodobrzusze oraz wybroczyny i wylewy krwawe w przewodzie pokarmowym. W wątrobie występuje ogniskowe zwyrodnienie hepatocytów, rozsiane ogniska martwicy hepatocytów oraz nacieki monocytarny znekrotyzowanych hepatocytów (33). Ponadto występuje martwica śledziony, martwica kory nadnerczy, śródmiażdżowe zapalenie mięśnia sercowego, obrzęk i zastój krwi w pęcherzykach płucnych, śródmiażdżowe zapalenie płuc o średnim nasileniu, histiocytoza zatok węzłów chłonnych, wybroczyny na śluzówce jelit, uszkodzenie kanalików nerkowych i śródmiażdżowe zapalenie nerek (34).

Rozpoznanie

Wczesne rozpoznanie choroby ze względu na brak objawów patognomicznych i podobieństwo wielu

objawów do występujących w malarii, tyfusie i gorączkach krwotocznych jest możliwe wyłącznie na podstawie badań laboratoryjnych. Nawet krwawienie, które nasuwa podejrzenie choroby Lassa łącznie z endemicznym jej występowaniem, nie jest pomocne w rozpoznaniu ze względu na występowanie tylko u ok. 30% chorych (2). Obecnie w diagnostyce najczęściej stosuje się testy IgM ELISA i IgG ELISA, które umożliwiają wykrycie przeciwciał, a także antygenów wirusa Lassa, oraz test RT-PCR zalecany w diagnostyce wczesnego stadium choroby (35). Wykonuje się też test IgM cELISA i IgM ELISA w systemie MAGPIX (36). RT-PCR wykrywa 1,237–4,290 RNA kopii wirusa/ml (37). Ze względu na dużą różnorodność antygenową różnych szczepów wirusa testy serologiczne cechują duży odsetek wyników fałszywie dodatnich. Ponadto w pierwszym tygodniu choroby przy obecności antygenów wirusa Lassa są nieobecne w krwiobiegu przeciwciała w klasie IgM, natomiast już w drugim tygodniu choroby są obecne przeciwciała w klasie IgG przy braku antygenów wirusowego, a ok. trzeciego tygodnia występują przeciwciała w klasie IgG (38). Z tych względów za „złoty standard” przyjmuje się wyniki izolacji wirusa, najczęściej w hodowli komórkowej Vero E6. Oprócz efektu cytopatycznego obecność wirusa w hodowli potwierdza się testem RT-PCR lub badaniem w mikroskopie elektronowym (39). Materiałem do izolacji wirusa jest krew, wymaz z gardła, moczu, płyn mózgowo-rdzeniowy, łożysko, a po śmierci wątroba, śledziona, płuca, nerki i serce (40). Test RT-PCR umożliwia wcześniejsze wykrycie zakażenia aniżeli izolacja wirusa w hodowli tkankowej, przy czym do testu można użyć materiału inaktywowany chemicznie (41).

Postępowanie

Rybawiryna jest jedynym lekiem zalecanym w gorączce Lassa, który daje efekty, gdy się zastosuje na początku choroby. Dobre efekty notuje się u pacjentów z ciężkim przebiegiem gorączki Lassa, a znacznie gorsze w łagodnym przebiegu choroby (42). Równocześnie z leczeniem rybawiryną stosuje się leczenie podtrzymujące, m.in. terapię elektrolitową, nawadnianie i natlenianie organizmu, a także leczenie powikłań bakteryjnych. Badania wykazały, że rybawiryna *in vitro* hamuje replikację wirusa, natomiast tylko w niewielkim zakresie hamuje replikację wirusa przez hamowanie odczynu zapalnego u pacjentów chorych na gorączkę Lassa (43). Jej najważniejsze działanie polega na ochronie przed obumarciem hepatocytów zakażonych przez wirus Lassa (44). Rybawiryna u ok. 20% pacjentów powoduje spadek wartości hematokrytu, wywołuje wymioty, biegunkę, suchość w jamie ustnej, bóle mięśni i głowy, żółtaczkę, wysypkę, tachykardię, trombocytozę i wzrost aktywności lipazy (45).

W profilaktyce deratyzacja, przestrzeganie zasad higieny osobistej, noszenie maseczek i izolacja chorych przynosi dobre efekty. Badania nad szczepionkami są zaawansowane. Szczepionka z ekspresją białek strukturalnych wirusa Lassa na wirusie krowianki przynosi efekty u *Macacus mulata* i *M. fascicularis*. Wszystkie zwierzęta nieszczepione po zakażeniu

padły, przeżyło natomiast 90% zwierząt, które zaszczepiono szczepionką zawierającą wszystkie białka strukturalne wirusa. Miano poszczepienne surowic nie jest jednak wysokie. Wysokie miano przeciwciał uzyskano po szczepieniu nukleoproteiną, ale przy 20% przeżyciu po zakażeniu. Natomiast po oddzielnym szczepieniu glikoproteiną G1 lub G2 żadne zwierzę nie przeżyło zakażenia (46). Prowadzi się badania nad wieloma szczepionkami (47). Dobre efekty uzyskano u małp z reasortantem ML29 wirusa Lassa i rekombinantem VSV/LASV (48). Ostatnio duże nadzieje wiąże się z żywą atenuowaną szczepionką opartą o rekombinant wirusa Lassa z ekspresją kodonu genu prekursora glikoproteiny rLASV-GPC/CD (49).

Duże prawdopodobieństwo ekspansji wirusa Lassa, zwłaszcza możliwość pojawienia się epidemii lub nawet pandemii tej choroby, jest uwarunkowane kilkoma czynnikami, do których można zaliczyć wysoką zakaźność i wysoką śmiertelność (15–20% wśród hospitalizowanych pacjentów), łatwość szerzenia się wirusa Lassa na drodze kontaktów człowiek → człowiek, a nie tylko na drodze gryzonie → człowiek oraz przez inhalację zanieczyszczonych wirusem kałem i moczem. Brak typowych objawów klinicznych utrudnia wczesne rozpoznanie choroby, a tym samym uniemożliwia szybkie podejmowanie działań sanitarno-profilaktycznych. Ciężką sytuację epidemiologiczną pogłębia brak komercyjnej szczepionki i skutecznych leków. Nasilona migracja ludności, zwłaszcza z krajów endemicznego występowania gorączki Lassa, którą często trudno kontrolować, sprzyja szerzeniu się choroby przez kontakty międzyludzkie nawet na duże odległości (50). Następstwem dużej zmienności wirusa może być pojawienie się izolatów o jeszcze większej zjadliwości i zakaźności (51). Wirus już rozprzestrzenił się poza Afrykę. Przypadki zakażenia gorączką Lassa obserwuje się w USA, Wielkiej Brytanii, Francji, Izraelu, Japonii, Holandii, Kanadzie, Belgii, Szwajcarii i Szwecji. Ze względu na potencjał zagrożenia stanu zdrowia publicznego przy braku skutecznych leków i szczepionek istnieje konieczność opracowania planów szybkiego i wdrożenia globalnej strategii zapobiegania chorobie. Według WHO R&D Blueprint do priorytetowych chorób zoonotycznych oprócz gorączki Lassa należy krymsko-kongijska gorączka krwotoczna, choroba Ebola i choroba Marburg, MERS, SARS, choroba Nipah, gorączka Doliny Rift i choroba Zika (52). Odrębnym i ważnym problemem jest możliwość wykorzystania wirusa Lassa jako broni biologicznej (53).

Piśmiennictwo

1. Grange Z.L., Goldstein T., Johnson C.K., Anthony S., Gilardi K., Daszak P., Olival K.J., O'Rourke T., Murray S., Olson S.H., Togami E., Vidal G., Maje J.A.K.: Ranking the risk of animal-to-human spillover for newly discovered viruses. *PNAS* April 13, 2021, **118** (15) e2002324118
2. Ogbu O., Ajuluchukwu E., Uneke C.J.: Lassa fever in West African sub region: an overview. *J. Vector Borne Dis.* 2007, **44**, 1–11.
3. Shaffer J.G., Grant D.S., Schieffelin J.S., Boisen M.L., Goba A., Hartnett, J.N.: Lassa fever in post-conflict Sierra Leone. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2014, **8**: e2748. Doi: 10.1371/journal.pntd.0002748.
4. Macher A.M., Wolfe M.S.: Historical Lassa fever reports and 30-year clinical update. *Emerg. Infect. Dis.* 2006, **12**, 835–837.
5. Olayemi A., Oyeyiola A., Obadare A., Igbokwe J., Adesina A.S., Onwe R., Ukwaja K.N., Ajayi N.A., Rieger T., Günter T., Fichet-Calvet E.:

- Widespread arenavirus occurrence and seroprevalence in small mammals, Nigeria. *Parasit. Vectors*. 2018, **11**, 416–436.
6. Ogunro B.N., Olugasa B.O., Kayode A., Ishola O.O., Kolawole O.N., Odigie E.A., Happi C.: Detection of antibody and antigen for Lassa virus nucleoprotein in monkeys from Southern Nigeria. *J. Epid. Global Health* 2019, **9**, 125–127.
 7. WHO: Lassa fever. https://www.who.int/health-topics/lassa-fever#tab=tab_1
 8. Frame J.D., Baldwin J.M., Gocke D.J., Troup J.M.: Lassa fever, a new virus disease of man from West Africa: clinical description and pathological findings. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1970, **19**, 670–676.
 9. Hastie K.M., Zandonatti M.A., Kleinfelder L.M., Heinrich M.L., Rowland M.M., Chandran K., Branco L.M., Robinson J.E., Garry R.F., Saphire E.O.: Structural basis for antibody-mediated neutralization of Lassa virus. *Science* 2017, **356**, 923–928.
 10. Günther S., Emmerich P., Laue T., Kühle O., Asper M., Jung A., Grewing T., Muelen J., Schmitz H.: Imported Lassa fever in Germany: molecular characterization of a new Lassa virus strain. *Emerg. Infect. Dis.* 2000, **6**, 466–476.
 11. Manning J.T., Forrester N., Paessler S.: Lassa virus isolates from Mali and the Ivory Coast represent an emerging fifth lineage. *Front. Microbiol.* 2015, **6**, 1037–1039.
 12. Zhang X., Wang C., Chen B., Wang Q., Xu W., Ye S., Jiang S., Zhu Y., Zhang R.: Crystal structure of refolding fusion core of Lassa virus GP2 and design of Lassa virus fusion inhibitors. *Front. Microbiol.* 2019. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01829>
 13. Hufert F.T., Lüdke W., Schmitz H.: Epitope mapping of the Lassa virus nucleoprotein using monoclonal anti-nucleocapsid antibodies. *Arch. Virol.* 1989, **106**, 201–212.
 14. Richmond J.K., Baglole D.J.: Lassa fever: epidemiology, clinical features, and social consequences. *BMJ* 2003, **327**, 1271–1275.
 15. WHO: Lassa fever fact sheet. Geneva, WHO, 2000, 179.
 16. Bakare E.A., Are E.B., Abolarin O.E., Osanyinlusi S.A., Ngwu B., Ubaka O.N.: Mathematical modelling and analysis of transmission dynamics of Lassa fever. *J. Appl. Mathematics* 2000. <https://doi.org/10.1155/2020/6131708>
 17. Russier M., Pannetier D., Baize S.: Immune responses and Lassa virus infection. *Viruses* 2012, **4**, 2766–2785.
 18. Chen J.P., Cosgriff T.M.: Hemorrhagic fever virus-induced changes in hemostasis and vascular biology. *Blood Coagul. Fibrinolysis* 2000, **11**, 461–483.
 19. Demby A.H., Chamberlain J., Brown D.W., Clegg C.S.: Early diagnosis of Lassa fever by reverse transcription-PCR. *J. Clin. Microbiol.* 1994, **32**, 2898–2903.
 20. Johnson K.M., McCormick J.B., Webb P.A., Smith E.S., Elliott L.H., King I.J.: Clinical virology of Lassa fever in hospitalized patients. *J. Infect. Dis.* 1987, **155**, 456–464.
 21. Flatz L., Rieger T., Merkler D., Bergthaler A., Regen T., Schedensack M., Bestmann L., Verschoor A., Kreutzfeldt M., Brück W., Hanisch U.K., Günther S., Pinschewer D.D.: T cell-dependence of Lassa fever pathogenesis. *PLoS Pathog.* 2010; **6**: e1000836. Doi: 10.1371/journal.ppat.1000836.
 22. Baize S., Kaplon J., Faure C., Pannetier D., Georges-Courbot M.C., Deubel V.: Lassa virus infection of human dendritic cells and macrophages is productive but fails to activate cells. *J. Immunol.* 2004, **172**, 2861–2869.
 23. Mahanty S., Bausch D.G., Thomas R.L., Goba A., Bah A., Peters C.J., Rollin P.E.: Low levels of interleukin-8 and interferon-inducible protein-10 in serum are associated with fatal infections in acute Lassa fever. *J. Infect. Dis.* 2001, **183**, 1713–1721.
 24. Hensley L., Smith M., Geisbert J., Fritz E., Daddario-DiCaprio K., Larsen T., Geisbert T.: Pathogenesis of Lassa fever in cynomolgus macaques. *Virol. J.* 2011, **8**, 205–209.
 25. Schmitz H., Kohler B., Laue T., Drosten C., Veldkamp P.J., Gunther S., Emmerich P., Geisen H.P., Fleischer K., Beersma M.F., Hoerauf A.: Monitoring of clinical and laboratory data in two cases of imported Lassa fever. *Microbes Infect.* 2002, **4**, 43–50.
 26. Ly H.: Lassa fever: Viral replication, disease pathogenesis, and host immune modulations. *Pathogens* 2020, **9**(6), 437; <https://doi.org/10.3390/pathogens9060437>
 27. Flatz L., Rieger T., Merkler D., Bergthaler A., Regen T., Schedensack M., Bestmann L., Verschoor A., Kreutzfeldt M., Brück W., Hanisch U.K., Günther S., Pinschewer D.D.: T cell-dependence of Lassa fever pathogenesis. *PLoS Pathog.* 2010; **6**: e1000836. Doi: 10.1371/journal.ppat.1000836.
 28. Günther S., Kühle O., Rehder D., Odaibo G., Olaleye D., Emmerich P., Meulen J., Schmitz H.: Antibodies to Lassa virus Z protein and nucleoprotein co-occur in human sera from Lassa fever endemic regions. *Med. Microbiol. Immun.* 2001, **189**, 225–229.
 29. Ruo S.L., Mitchell S.W., Kiley M.P., Roumillat L.F., Fisher-Hoch S.P., McCormick J.B.: Antigenic relatedness between arenaviruses defined at the epitope level by monoclonal antibodies. *J. Gen. Virol.* 1991, **72**, 549–555.
 30. McCormick J.B., King I.J., Webb P.A., Johnson K.M., O'Sullivan R., Smith E.S., Trippel S., Tong T.C.: A case-control study of the clinical diagnosis and course of Lassa fever. *J. Infect. Dis.* 1987, **155**, 445–455.
 31. McCarthy M.: USA moves quickly to push biodefence research. *Lancet* 2002, **360**, 732–741.
 32. Cummins D., McCormick J.B., Bennett D., Samba J.A., Farrar B., Machin S.J., Fisher-Hoch S.P.: Acute sensorineural deafness in Lassa fever. *JAMA* 1990, **264**, 2093–2096.
 33. McCormick J.B., Walker D.H., King I.J., Webb P.A., Elliott L.H., Whitfield S.G., Johnson K.M.: Lassa virus hepatitis: a study of fatal Lassa fever in humans. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1986, **35**, 401–407.
 34. Fisher-Hoch S., McCormick J.B., Sasso D., Craven R.B.: Hematologic dysfunction in Lassa fever. *J. Med. Virol.* 1988, **26**, 127–135.
 35. Raabe V., Koehler J.: Laboratory diagnosis of Lassa fever. *J. Clin. Microbiol.* 2017, **55**, 1629–1637.
 36. Satterly N.G., Voorhees M.A., Ames A.D., Schoepp R.J.: Comparison of MagPix assays and enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of hemorrhagic fever viruses. *J. Clin. Microbiol.* 2017, **55**, 68–78.
 37. Vieth S., Drosten C., Lenz O., Vincent M., Omilabu S., Hass M., Becker-Ziaja B., Meulen J., Nichol S.T., Schmitz H., Gunther S.: RT-PCR assay for detection of Lassa virus and related Old World arenaviruses targeting the L gene. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2007, **101**, 1253–1264.
 38. Bausch D.G., Rollin P.E., Demby A.H., Coulibaly M., Kanu J., Conteh A.S., Wagoner K.D., McMullan L.K., Bowen M.D., Peters C.J., Ksiazek T.G.: Diagnosis and clinical virology of Lassa fever as evaluated by enzyme-linked immunosorbent assay, indirect fluorescent-antibody test, and virus isolation. *J. Clin. Microbiol.* 2000, **38**, 2670–2677.
 39. Drosten C., Kummerer B.M., Schmitz H., Gunther S.: Molecular diagnosis of viral hemorrhagic fevers. *Antiviral Res.* 2003, **57**, 61–87.
 40. Günther S., Weisner B., Roth A., Grewing T., Asper M., Drosten C., Emmerich P., Petersen J., Wilczek M., Schmitz H.: Lassa fever encephalopathy: Lassa virus in cerebrospinal fluid but not in serum. *J. Infect. Dis.* 2001, **184**, 345–349.
 41. Trappier S.G., Conaty A.L., Farrar B.B., Auperin D.D., McCormick J.B., Fisher-Hoch S.P.: Evaluation of the polymerase chain reaction for diagnosis of Lassa virus infection. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1993, **49**, 214–221.
 42. Eberhardt K.A., Mischlinger J., Jordan S., Gregor M., Günter S., Ramharther M.: Ribavirin for the treatment of Lassa fever: A systematic review and meta-analysis. *Int. J. Infect. Dis.* 2019, **87**, 15–20.
 43. Oestereich L., Rieger T., Lüdtker A., Ruibal P., Wurr E., Pallasch E.: Efficacy of favipiravir and in combination with ribavirin in a lethal, immunocompetent mouse model of Lassa fever. *J. Infect. Dis.* 2016, **213**, 934–938.
 44. Carrillo-Bustamante P., Nguyen T.H.T., Oestereich L., Günther S., Guedj J., Graw F.: Determining Ribavirin's mechanism of action against Lassa virus infection. *Sci. Rep.* 2017, **7**, 11693. Doi: 10.1038/s41598-017-10198-0.
 45. Bausch D.G., Hadi C.M., Khan S.H., Lertora J.J.L.: Review of the literature and proposed guidelines for the use of oral ribavirin as post exposure prophylaxis for Lassa fever. *Clin. Infect. Dis.* 2010, **51**, 1435–1441.
 46. Brown B., McCormick B.: Effective vaccine for Lassa fever. *J. Virol.* 2000, **74**, 6777–6783.
 47. Fisher-Hoch S.P., McCormick J.B.: Lassa fever vaccine. *Expert. Rev. Vaccines* 2004, **3**, 189–197.
 48. Lukashevich I.S., Pushko P.: Vaccine platforms to control Lassa fever. *Expert. Rev. Vaccines* 2016, **15**, 1135–1150.
 49. Cai Y., Ye C., Cheng B., Nogales A., Iwasaki M., Yu S., Cooper K., Liu D.X., Hart R., Adams R., Brady T., Postnikova E.N., Kurtz J., St Claire M., Kuhn J.H., de la Torre J.C., Martinez-Sobrido L.: A Lassa fever live-attenuated vaccine base on codon deoptimization of the viral glycoprotein gene. *mBio* 2020. Doi: 10.1128/mBio.00039-20.
 50. Gilsdorf A., Morgan D., Leitmeyer K.: Guidance for contact tracing of cases of Lassa fever, Ebola or Marburg haemorrhagic fever on an airplane: results of a European expert consultation. *BMC Public Health*. 2012, **21**. Doi: 10.1186/1471-2458-12-1014.
 51. Leski T.A., Stockelman M.G., Moses L.M., Park M., Stenger D.A., Ansumana R., Bausch D.G., Lin B.: Sequence variability and geographic distribution of Lassa virus: Sierra Leone. *Emerg. Infect. Dis.* 2015, **21**, 609–618.
 52. Mehand M.S., Shorbaji F.A., Millett P., Murgue B.: The WHO R&D Blueprint: 2018 review of emerging infectious diseases requiring urgent research and development efforts. *Antiviral Res.* 2018. Doi: 10.1016/j.antiviral.2018.09.009.
 53. Brosh-Nissimov T.: Lassa fever: another threat from West Africa. *Disaster Mil. Med.* 2016, **2**, 8–13.