

Ю.М.Евченко<sup>1</sup>, О.Х.Шаяхметов<sup>1</sup>, В.М.Дубянский<sup>1</sup>, Т.В.Таран<sup>1</sup>, Д.Г.Пономаренко<sup>1</sup>, Д.А.Ковалев<sup>1</sup>,  
А.В.Власов<sup>2</sup>, В.А.Белогрудов<sup>2</sup>, Г.А.Мозлов<sup>2</sup>, Г.М.Грижебовский<sup>1</sup>, А.Н.Куличенко<sup>1</sup>

## ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ НОСИТЕЛЕЙ В ЦЕНТРАЛЬНО-КАВКАЗСКОМ ВЫСОКОГОРНОМ ПРИРОДНОМ ОЧАГЕ ЧУМЫ

<sup>1</sup>ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт», Ставрополь, Российская Федерация;

<sup>2</sup>ФКУЗ «Кабардино-Балкарская противочумная станция», Нальчик, Российская Федерация

**Цель работы.** Изучение иммунологической структуры горных сусликов на разных участках природной очаговости в Центральном-Кавказском природном очаге чумы. **Материалы и методы.** Данные о результатах серологического исследования горных сусликов за 1974–1988, 2001–2004 гг. получены из ФКУЗ «Кабардино-Балкарская противочумная станция» Роспотребнадзора. С помощью Excel Microsoft Office 2010 проанализированы 63147 результатов исследований крови сусликов в РПГА и РНАг. Используются статистические и математические методы. **Результаты и выводы.** Установлено, что наибольшие доли сусликов, имеющих в крови антитела в низких титрах, характеризующие первичный контакт с чумной инфекцией, формируются на пиках эпизоотической активности. В горной степи восточной части очага это июнь, в западной, а также альпийской и субальпийской зонах восточной части – август. Животные с антителами в высоких титрах, т.е. вторично инфицированные, в большом числе появляются на пиках летальности горных сусликов. В горной степи это наблюдается в июне, т.е. одновременно с пиком эпизоотической активности, в западной части – в июне, но максимальная активность эпизоотий имеет место в августе. В альпийской и субальпийской зонах восточной части очага пики эпизоотической активности и летальности сусликов совпадают и приходятся на август. Выделение культур чумного микроба при наличии положительных результатов серологических исследований достоверно чаще наблюдается в горной степи долины р. Баксан, чем на других участках природной очаговости.

**Ключевые слова:** природный очаг чумы, титры антител, эпизоотическая активность, горные суслики.

Корреспондирующий автор: Юрий Михайлович Евченко, e-mail: snipchi@mail.stv.ru.

Yu.M.Evchenko<sup>1</sup>, O.Kh.Shayakhmetov<sup>1</sup>, V.M.Dubyansky<sup>1</sup>, T.V.Taran<sup>1</sup>, D.G.Ponomarenko<sup>1</sup>,  
D.A.Kovalev<sup>1</sup>, A.V.Vlasov<sup>2</sup>, V.A.Belogradov<sup>2</sup>, G.A.Mozlov<sup>2</sup>, G.M.Grizhebovsky<sup>1</sup>, A.N.Kulichenko<sup>1</sup>

## Peculiarities of Immunological Structure Formation in Plague Carriers of the Central-Caucasian High-Mountain Natural Plague Focus

<sup>1</sup>Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation; <sup>2</sup>Kabardino-Balkaria Plague Control Station, Nalchik, Russian Federation

**Objective** of the study is to analyze immunological structure of the mountain souslik, habitant in various zones of natural focal-ity in the Central-Caucasian natural plague focus. **Materials and methods.** The data on serological investigations conducted on the mountain souslik, within the periods of 1974–1988 and 2001–2004 have been obtained from FGHI “Kabardino-Balkaria Plague Control Station” of the Rospotrebnadzor. Applying passive hemagglutination test and indirect hemagglutination test, with the help of Excel Microsoft Office 2010, evaluated have been 63147 blood survey results. **Conclusions.** It is established that the highest ratio of the souslik with low antibody titer in blood, which characterizes initial contact with plague infection, is observed at the peak of epizootic activity. In the mountain steppe of the eastern focal part, the apex coincides with June, in the western part, as well as in the Alpine and Subalpine zones of the eastern one – with August. Animals with high antibody titers, i.e. secondarily infected, emerge in vast numbers at the peak of mountain souslik lethality. In the mountain steppe this period falls upon June, i.e. simultaneously with the peak of epizootic activity. In the western part lethality apex is also observed in June, but maximum epizootic activity takes place in August. In Alpine and Subalpine zones of the eastern focal part, peaks of epizootic activity and lethality among the souslik populations concur and fall upon August. Isolation of plague microbe cultures alongside with positive serological tests is reasonably more often observed in the mountain steppe of the river Baksan, than in other areas of natural focal-ity.

**Key words:** natural plague focus, antibody titer, epizootic activity, the mountain souslik.

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

Corresponding author: Yuriy M. Evchenko, e-mail: snipchi@mail.stv.ru.

Citation: Evchenko Yu.M., Shayakhmetov O.Kh., Dubyansky V.M., Taran T.V., Ponomarenko D.G., Kovalev D.A., Vlasov A.V., Belogradov V.A., Mozlov G.A., Grizhebovsky G.M., Kulichenko A.N. Peculiarities of Immunological Structure Formation in Plague Carriers of the Central-Caucasian High-Mountain Natural Plague Focus. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; 3:27–31. (In Russ.). DOI: 10.21055/0370-1069-2016-3-27-31

Изучение иммунологической структуры носителей является важнейшей составляющей мониторинга природных очагов чумы. Использование серологических методов позволило более полно описать эпизо-

отический процесс, его пространственно-временные характеристики, тенденции развития эпизоотий, качество профилактических противочумных мероприятий. При анализе данных серологического исследования горных сусликов из Центрально-Кавказского высокогорного природного очага чумы возникают затруднения в их трактовке. Не всегда эпизоотии, подтвержденные выделением возбудителя чумы, сопровождаются каким-либо иммунным ответом со стороны задействованной популяции горных сусликов. Превышение титров антител в РНАг над РПГА редко совпадает с ростом активности эпизоотического процесса, а положительные результаты серологических реакций часто не совпадают с обнаружением возбудителя чумы. Данный очаг является неоднородным по структуре паразитарных систем и свойствам возбудителя чумы, циркулирующего на разных участках очага [4]. Выделены участки природной очаговости: горная степь долины р. Баксан в восточной части очага на территории Кабардино-Балкарской Республики и западная часть очага, расположенная в пределах Карачаево-Черкесской Республики. Первый участок функционирует как степные очаги сусликового типа с небольшими отличиями, влияющими на течение эпизоотического процесса (отсутствует период летней спячки). Второй участок является оригинальным по организации паразитарной системы: в составе основных переносчиков отсутствуют блохи *N. setosa*, а возбудитель отличается от основного подвида *Y. pestis* сниженной вирулентностью, наличием криптической плазмиды с молекулярной массой 6 МД, аутокотрофностью по пролину. Между этими территориями в Кабардино-Балкарской Республике располагается участок альпийских и субальпийских лугов восточной части очага, где эпизоотический процесс имеет сходство с обоими указанными участками. Как и в западной части, отсутствуют блохи *N. setosa*, но выделяются штаммы, характерные как для западной части очага, так и проникающие из горной степи долины р. Баксан [3].

Для уточнения особенностей антителогенеза представляет интерес провести ретроспективный анализ данных серологического исследования сусликов из разных частей очага с учетом фенологических периодов носителей и переносчиков. При этом возникает необходимость дифференцирования значений титров на низкие и высокие. Известно, что в степных очагах сусликового типа повторное инфицирование сопровождается появлением в крови животных высоких титров антител – от 1/1280 и выше. Для Центрально-Кавказского очага исследований по определению порога высоких и низких титров не проводилось. Также не исследовалось влияние эпизоотии на антителогенез у сусликов в эпизоотиях следующего года.

Целью данной работы было изучение иммунологической структуры горных сусликов на разных участках природной очаговости на Центральном Кавказе.

## Материалы и методы

Данные о результатах серологического исследования горных сусликов за 1974–1988, 2001–2004 гг. получены из ФКУЗ «Кабардино-Балкарская противочумная станция» Роспотребнадзора. В таблицы Excel Microsoft Office 2010 введены: адреса проб полевого материала, количество исследованных горных сусликов, количество выделенных штаммов чумного микроба, титры антител в РПГА и РНАг для каждого исследованного животного. Анализировали данные из 1674 эпизоотических точек, 63147 результатов исследований сывороток крови горных сусликов, из которых 25 % были положительными в РПГА и/или РНАг. Активность эпизоотий оценивали по количеству выделенных штаммов чумного микроба. Доли популяции горных сусликов, давших положительные результаты при серологическом исследовании, определяли как процентное отношение к исследованным животным на конкретных территориях. Летальность определяли как процентное отношение трупов сусликов, погибших от чумной инфекции, к сумме трупов и живых сусликов, от которых выделены культуры чумного микроба на конкретных территориях. Для сопоставления групп животных по частоте встречаемости положительных результатов серологического исследования использовали критерий Фишера ( $\varphi$ ) [5]. Определение границы (порога) между высокими и низкими титрами антител к чумному микробу в крови горных сусликов на разных участках очага проводили путем вычисления интегральной функции распределения вероятностных событий [1].

## Результаты и обсуждение

Антителообразование у сусликов из разных участков изучали в зависимости от эпизоотологической ситуации текущего года. Сравнивались поселения, где были изолированы культуры возбудителя чумы (эпизоотические поселения) и поселения, в которых эпизоотии не подтверждены изоляцией штаммов чумы (неэпизоотические поселения) (табл. 1).

Из табл. 1 следует, что положительные серологические результаты достоверно чаще отмечаются при исследовании горных сусликов из эпизоотических поселений горной степи долины р. Баксан, чем из западной части очага ( $\varphi_1^* = 6,46$ ). В неэпизоотических поселениях положительные находки антител у сусликов наблюдались с одинаковой частотой как в горной степи, так и западной части ( $\varphi_2^* = 1,521$ ).

В горной степи р. Баксана положительные серологические результаты регистрируются чаще при наличии выделенных штаммов чумного микроба, чем при их отсутствии ( $\varphi_3^* = 6,846$ ), а в западной части антитела у сусликов обнаруживаются с одинаковой частотой как в эпизоотических, так и в неэпизоотических поселениях.

Определенный интерес представляет наличие антител у сусликов в начале эпизоотического сезо-

Результаты серологического исследования сусликов из эпизоотических и неэпизоотических поселений разных участков природной очаговости

Поселения	Участки	Результаты серологического исследования сусликов из разных участков природной очаговости				Статистическая значимость между горной степью и западной частью очага
		горная степь в долине р. Баксан		западная часть природного очага		
		+	-	+	-	
Эпизоотические		34 72,3 %	13 27,7 %	12 16,2 %	62 83,8 %	$\phi_1^* = 6,46$ различия достоверны
Неэпизоотические		31 18,9 %	133 81,1 %	12 12 %	88 88 %	$\phi_2^* = 1,521$ различия недостоверны
Статистическая значимость между эпизоотическими и неэпизоотическими поселениями сусликов		$\phi_3^* = 6,846$ различия достоверны		$\phi_4^* = 0,789$ различия недостоверны		

Примечания: «+» – положительные результаты; «-» – отрицательные результаты серологического исследования.

на. Существует мнение, что такие антитела являются следствием прошлогоднего заражения грызунов. Для изучения влияния прошлогодних эпизоотий на антителообразование в условиях Центрального Кавказа отобрали поселения сусликов, на которых в апреле текущего года обнаруживались суслики с антителами, а в предыдущем году на них регистрировались бактериологически подтвержденные эпизоотии чумы. Эти поселения разделены на две группы: первая представлена поселениями, на которых в текущем году выделены штаммы чумного микроба; вторая – где в текущем году не было бактериологического подтверждения эпизоотий. Всего отобрано 25 урочищ. Из них в первую группу вошло 21 поселение (21 – «Есть эффект»; 4 – «Нет эффекта»), во вторую – четыре поселения (4 – «Есть эффект»; 21 – «Нет эффекта»). Сравнение групп по критерию Фишера позволило установить статистически значимую разницу ( $\phi^* = 5,289$ ). Это позволяет заключить, что образование антител в крови у горных сусликов в начале эпизоотического сезона происходит большей частью в результате инфицирования животных в те-

кущем, а не в предыдущем году.

Для определения порогового значения высоких и низких титров рассмотрены статистические и интегральные (накопленные) частоты распределения титров антител (табл. 2).

Из сопоставления значений столбца «Статистическая частота (вероятность)», касающихся горной степи, видно, что величины с первой по шестую строку (титры от 1/20 до 1/640) возрастают с одним темпом и дают прирост функции «Интегральные (накопленные) частоты». Начиная с седьмой строки эти величины уменьшились на порядок, т.е. эта строка (титр 1/1280) является порогом (показатель экстремума). При этом в столбце «Интегральные (накопленные) частоты» строки с 7-й по 13-ю представляют собой эффект насыщения – они нарастают со значительно меньшим темпом, чем это было с 1-й по 7-ю строку. Для западной части так же, как и для восточной, таким порогом является шестая строка (титр 1/640). Иными словами, низкие титры – это те, которые находятся в периоде интенсивного роста. После порогового значения к вероятности значений низких

Таблица 2

Распределение титров антител по вероятности их встречаемости у сусликов из разных участков природной очаговости

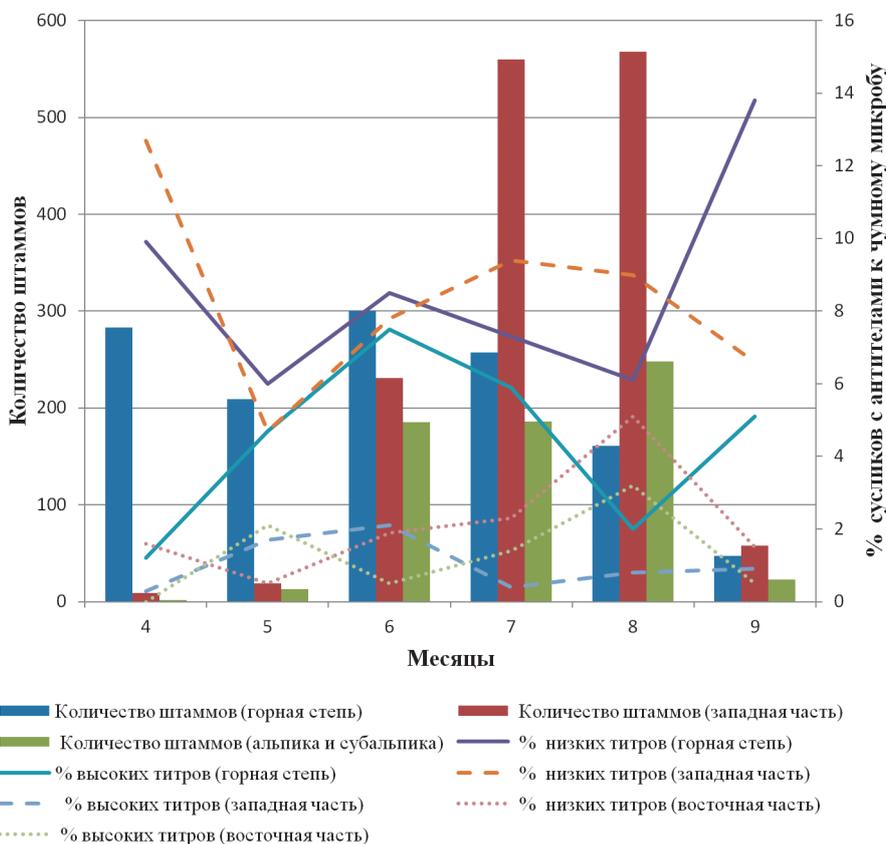
N n/p	Титры антител	Статистическая частота (вероятность)			Интегральные (накопленные) частоты		
		горная степь	западная часть	восточная часть	горная степь	западная часть	восточная часть
1	1/20	0,04	0,012	0,070	0,038	0,011	0,070
2	1/40	0,11	0,11	0,137	0,15	0,125	0,206
3	1/80	0,14	0,19	0,180	0,288	0,322	0,386
4	1/160	0,11	0,24	0,099	0,403	0,563	0,485
5	1/320	0,12	0,24	0,110	0,525	0,808	0,595
6	1/640	0,12	0,07	0,102	0,642	0,877	0,697
7	1/1280	0,08	0,06	0,054	0,723	0,941	0,751
8	1/2560	0,06	0,02	0,054	0,789	0,970	0,804
9	1/5120	0,08	0,002	0,051	0,873	0,973	0,855
10	1/10240	0,06	0,008	0,078	0,940	0,982	0,933
11	1/20480	0,04	0,005	0,059	0,989	0,988	0,992
12	1/40560	0,008	0,011	0,003	0,998	1	0,995
13	1/81120	0,001	нет	0,005	1	нет	1

титров, которые образовывались в крови сусликов при первичном инфицировании, добавляется вероятность второго, более высокого значения титров. Высокие титры формировались уже в других условиях – при повторной встрече сусликов с возбудителем чумы. Порогом между низкими и высокими титрами является значение 1/1280 для сусликов горной степи и 1/640 для сусликов западной и восточной частей очага. В горной степи значения низких титров составляют от 1/20 до 1/640, в западной и восточных – от 1/20 до 1/320. Высокие титры у сусликов горной степи представлены значениями 1/1280 и выше, в западной и восточных частях – 1/640 и выше.

С учетом полученных результатов построены диаграммы, характеризующие динамику антителообразования и активность эпизоотического процесса на разных участках очага (рисунок).

Поскольку эпизоотологическое обследование начинается в апреле, на диаграммах отсутствует месяц март, в котором регистрируется высокая миграционная активность горных сусликов в связи с просыпанием после зимней спячки, гоним и расселением, и, соответственно, начинаются весенние эпизоотии. В апреле, как следует из рисунка, наблюдается весенний пик эпизоотий в горной степи долины р. Баксан и единичные эпизоотические проявления в западной и восточных частях очага. Антитела в низких титрах образуются у сусликов впервые инфицированных (первичный иммунный ответ). Высокие титры есть результат повторного заражения животных, имевших контакт с возбудителем чумы в прошлом году и обладающих иммунологической памятью (вторичный им-

мунный ответ). Доли животных с низкими титрами в апреле имеют высокие значения, но к маю снижаются в связи с уменьшением миграционной активности сусликов из-за массовой беременности и лактации. Затем начинается рост количества животных с низкими титрами антител в горной степи долины р. Баксан до июня, а в западной части, а также субальпийских и альпийских лугах восточной части очага – до августа. В указанные месяцы на соответствующих участках отмечаются пики эпизоотической активности, т.е. выделяется наибольшее число штаммов чумного микроба. Доли сусликов с высокими титрами антител, указывающими на повторный контакт с возбудителем чумы, в горной степи долины р. Баксан и западной части растут до июня, в восточной – до августа. В эти месяцы на данных участках отмечаются наивысшие показатели летальности горных сусликов, при этом регистрируется значительное число зараженных чумой блох, лишившихся прокормителей. Эти эктопаразиты, находясь в поиске прокормителя, значительно активизируют трансмиссивную передачу возбудителя чумы. В горной степи этот процесс наблюдается в июне, провоцируя максимальную активность эпизоотий. В восточной части наибольшие показатели летальности отмечаются в августе. Здесь также имеет место совпадение пиков активности эпизоотий и летальности. В западной части очага пик летальности отмечается в июне, и в этот же месяц регистрируются самые большие проценты сусликов с высокими титрами, но пик активности эпизоотий приурочен к августу. Этим объясняется асинхронность пиков долей животных с низкими и высокими



Динамика антителообразования и активность эпизоотического процесса у сусликов из горной степи долины р. Баксан, западной и восточной частей очага

титрами на данной территории.

Окончание эпизоотического сезона проходит с участием преимущественно молодых сусликов. Посещение нор сусликами на освободившихся участках приводит к активизации трансмиссивного пути передачи чумной инфекции. В результате в горной степи долины р. Баксан отмечается резкое повышение доли зверьков с антителами в низких титрах, что вновь указывает на первичное инфицирование значительной части популяции сеголеток, уходящих в зимнюю спячку. Подобного повышения доли сусликов с низкими титрами антител в конце эпизоотического сезона не наблюдается в других частях очага. Это явление находит свое объяснение при рассмотрении фенологических периодов основных переносчиков возбудителя чумы – *C. t. ciscaucasicus* и *N. s. setosa*. Так, в горной степи долины р. Баксан трансмиссивную передачу обеспечивают имаго *N. s. setosa*, вышедшие из коконов летом и инфицированные возбудителем чумы. Они в сентябре находятся в состоянии гонотрофической активности и присутствуют в большом количестве. Что касается западной и восточной частей очага, то здесь в это время трансмиссию чумного микроба осуществляют имаго *C. t. ciscaucasicus* летней генерации [2]. В состоянии гонотрофической активности этих блох остается небольшое количество и поэтому трансмиссивная передача возбудителя чумы снижена в сравнении с другими периодами эпизоотического сезона.

Таким образом, в результате ретроспективного анализа данных серологического исследования удалось установить особенности антителообразования у горных сусликов из разных частей очага при едином механизме формирования иммунной прослойки в поселениях основного носителя чумы. Наибольшие доли сусликов с низкими титрами антител, характеризующие первичный контакт с чумной инфекцией, формируются на пиках эпизоотической активности. В горной степи это июнь, западной и восточных частях – август. Животные с высокими титрами антител, т.е. вторично инфицированные, в большом числе появляются на пиках летальности. В горной степи это наблюдается в июне, т.е. одновременно с пиком эпизоотической активности. В западной части также в июне, но это раньше, чем активность эпизоотий достигает наивысших показателей. В восточной части очага пики эпизоотической активности и летальности горных сусликов совпадают и приходятся на август.

В заключение следует обратить внимание на тот факт, что в западной части очага весной при наличии положительных серологических результатов выделяется несоизмеримо малое число штаммов чумного микроба. Для горной степи долины р. Баксан соот-

ношение выделенных штаммов чумного микроба и долей серопозитивных сусликов в этот период примерно одинаковое. Поэтому при получении весной положительных результатов серологического исследования в западной части очага наиболее вероятно подтвердить течение эпизоотии бактериологически находками в июле–августе. В эти месяцы следует организовать повторное эпизоотологическое обследование поселений горного суслика.

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

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аскеров П.Ф., Пахунова Р.Н., Пахунув А.В. Общая и прикладная статистика. М.: НИЦ ИНФРА; 2013. 272 с.
2. Белявцева Л.И., Чумакова И.В. Актуальные вопросы мониторинга эколого-эпизоотологического состояния популяций блох сусликов в природных очагах чумы Северного Кавказа. *Карантинные и зоонозные инф. в Казахстане*. 2011; 1–2(23–24):50–5.
3. Евченко Ю.М., Ефременко Д.В., Кузнецова И.В., Мезенцев В.М., Белявцева Л.И., Платонов М.Е., Евсеева В.В., Дентовская С.В., Анисимов А.П., Куличенко А.Н. Изучение генетического разнообразия штаммов *Yersinia pestis* из Центрально-Кавказского высокогорного природного очага чумы. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 4:51–5.
4. Евченко Ю.М., Куличенко А.Н., Мозлоев Г.А., Мезенцев В.М. Особенности пространственной структуры Центрально-Кавказского высокогорного природного очага чумы. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 3:13–4.
5. Сидоренко Е.В. Методы математической обработки в психологии. СПб: Речь; 2007. 220 с.

#### References

1. Askerov P.F., Pakhunova R.N., Pakhunov A.V. [General and Applied Statistics]. M.: Research Publishing Center INFRA; 2013. 272 p.
2. Belyavtseva L.I., Chumakova I.V. [Topical issues of monitoring over ecological-epizootiological state of sousek flea populations in natural plague foci of the North Caucasus]. *Karantin. Zoonoz. Infek. v Kazakhstane*. 2011; 1–2(23–24):50–5.
3. Evchenko Yu.M., Efremenko D.V., Kuznetsova I.V., Mezentsev V.M., Belyavtseva L.I., Platonov M.E., Evseeva V.V., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P., Kulichenko A.N. [Studies of genetic diversity of *Yersinia pestis* strains isolated in Central-Caucasian high-mountain natural plague focus]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 4:51–5.
4. Evchenko Yu.M., Kulichenko A.N., Mozloev G.A., Mezentsev V.M. [Peculiarities of spatial structure of the Central Caucasian high-mountain natural plague focus]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 3:13–4.
5. Sidorenko E.V. [Methods of Mathematical Treatment in Psychology]. St. Petersburg: "Rech"; 2007. 220 p.

#### Authors:

Evchenko Yu.M., Shayakhmetov O.Kh., Dubyansky V.M., Taran T.V., Ponomarenko D.G., Kovalev D.A., Grizhebovsky G.M., Kulichenko A.N. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: snipchi@mail.stv.ru  
Vlasov A.V., Belogradov V.A., Mozloev G.A. Kabardino-Balkarian Plague Control Station. 35, Baysutanova St., Nalchik, 360017, Russian Federation. E-mail: kbpchs07@mail.ru.

#### Об авторах:

Евченко Ю.М., Шаяхметов О.Х., Дубянский В.М., Таран Т.В., Пономаренко Д.Г., Ковалев Д.А., Грижебовский Г.М., Куличенко А.Н. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: snipchi@mail.stv.ru  
Власов А.В., Белогрудов В.А., Мозлоев Г.А. Кабардино-Балкарская противочумная станция. Российская Федерация, 360017, Нальчик, ул. Байсултанова, 35. E-mail: kbpchs07@mail.ru.

Поступила 10.11.15.