

# ПРОБЛЕМЫ ОСОБО ОПАСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Научно-практический журнал  
Выходит четыре раза в год  
Основан в 1968 году

Главный редактор академик РАН,  
доктор медицинских наук, профессор **В.В.Кутырев**

*Журнал входит в перечень ВАК ведущих рецензируемых научных журналов и изданий,  
в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций  
на соискание ученой степени доктора и кандидата наук*

**Выпуск 1**

**2015**

**САРАТОВ**

## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

С.А.Бугоркова, докт. мед. наук  
З.Л.Девдариани, докт. мед. наук, профессор  
Г.А.Ерошенко, докт. биол. наук  
Т.Б.Караваева (отв. секретарь), канд. мед. наук  
Е.В.Куклев, докт. мед. наук, профессор  
Н.И.Микшис, докт. мед. наук  
М.Н.Ляпин, канд. мед. наук  
А.В.Осин, канд. биол. наук  
Н.В.Попов, докт. биол. наук, профессор  
Ю.А.Попов, докт. биол. наук, профессор  
Л.В.Саяпина, докт. мед. наук  
Н.И.Смирнова, докт. биол. наук, профессор  
В.П.Топорков, докт. мед. наук, профессор  
С.А.Щербакова, докт. биол. наук  
Т.Н.Щуковская, докт. мед. наук, профессор

## РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

В.Е.Безсмертный, канд. мед. наук (Москва)  
С.В.Балахонов, докт. мед. наук, профессор (Иркутск)  
В.П.Бондарев, докт. мед. наук, профессор (Москва)  
С.В.Борисевич, докт. биол. наук, профессор (Сергиев Посад)  
А.Л.Гинцбург, докт. мед. наук, академик РАН (Москва)  
И.А.Дятлов, докт. мед. наук, член-корр. РАН (Оболensk)  
А.Н.Куличенко, докт. мед. наук, профессор (Ставрополь)  
В.В.Кутырев, докт. мед. наук, академик РАН (Саратов)  
Д.К.Львов, докт. мед. наук, академик РАН (Москва)  
В.В.Малеев, докт. мед. наук, академик РАН (Москва)  
В.Л.Мотин, профессор (Галвестон, США)  
Г.Г.Онищенко, докт. мед. наук, академик РАН (Москва)  
А.В.Ракин, канд. биол. наук (Мюнхен, Германия)  
В.П.Сергиев, докт. мед. наук, академик РАН (Москва)  
М.Скурник, профессор (Хельсинки, Финляндия)  
А.В.Топорков, докт. мед. наук (Волгоград)

*Журнал включен в Реферативный журнал и Базы данных ВИНТИ, индексируется в Российском Индексе Научного Цитирования (РИНЦ) и размещен в Электронной научной библиотеке. Сведения о журнале ежегодно публикуются в международной справочной системе по периодическим и продолжающимся изданиям «Ulrich's Periodicals Directory».*

© Федеральное казенное учреждение здравоохранения  
Российский научно-исследовательский противочумный  
институт «Микроб», 2015

2015, Issue 1

## Problems of Particularly Dangerous Infections

Scientific and Practical Journal  
Issued quarterly. Founded in 1968

Problems of Particularly Dangerous Infections is published  
by Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe"

### Editor-in-Chief

*Kutyrev V.V.*, Member of the RAS,  
Doctor of Medical Science, Professor

### Editorial Board

*Bugorkova S.A.*, Doctor of Medical Science  
*Devdariani Z.L.*, Doctor of Medical Science, Professor  
*Eroshenko G.A.*, Doctor of Biological Science  
*Karavaeva T.B.* (executive secretary), Candidate of Medical Science  
*Kouklev E.V.*, Doctor of Medical Science, Professor  
*Mikshis N.I.*, Doctor of Medical Science  
*Lyapin M.N.*, Candidate of Medical Science  
*Osin A.V.*, Candidate of Biological Science  
*Popov N.V.*, Doctor of Biological Science, Professor  
*Popov Yu. A.*, Doctor of Biological Science, Professor  
*Sayapina L.V.*, Doctor of Medical Science  
*Smirnova N.I.*, Doctor of Biological Science, Professor  
*Toporkov A.V.*, Doctor of Medical Science  
*Toporkov V.P.*, Doctor of Medical Science, Professor  
*Shcherbakova S.A.*, Doctor of Biological Science  
*Shchukovskaya T.N.*, Doctor of Medical Science, Professor

### Editorial Council

*Antonov V.A.*, Doctor of Medical Science, Professor (Volgograd)  
*Bezsmertny V.E.*, Candidate of Medical Science (Moscow)  
*Balakhonov S.V.*, Doctor of Medical Science, Professor (Irkutsk)  
*Bondarev V.P.*, Doctor of Medical Science, Professor (Moscow)  
*Borisevich S.V.*, Doctor of Biological Science, Professor (Serгиев Posad)  
*Ginsburg A.L.*, Doctor of Medical Science, Member of the RAS (Moscow)  
*Dyatlov I.A.*, Doctor of Medical Science, Corresponding Member  
of the RAS (Obolensk)  
*Kulichenko A.N.*, Doctor of Medical Science, Professor (Stavropol)  
*Kutyrev V.V.*, Doctor of Medical Science, Member of the RAS (Saratov)  
*L'vov D.K.*, Doctor of Medical Science, Member of the RAS (Moscow)  
*Maleev V.V.*, Doctor of Medical Science, Member of the RAS (Moscow)  
*Motin V.L.*, Ph. D., Professor (Galveston, USA)  
*Onishchenko G.G.*, Doctor of Medical Science, Member of the RAS (Moscow)  
*Rakin A.V.*, Ph. D. (Munich, Germany)  
*Sergiev V.P.*, Doctor of Medical Science, Member of the RAS (Moscow)  
*Skurnik M.*, Professor (Helsinki, Finland)

### Editorial Office Address:

46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation  
Tel +7(845-2) 51-82-22. Fax +7(845-2) 51-52-12  
E-mail: jour@microbe.ru  
http://journal.microbe.ru

Подписной индекс в каталогах «Почта России» – 24687, «Пресса России» – 29448

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи и массовых коммуникаций. Свидетельство ПИ № ФС77-35894

Адрес редакции: 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: jour@microbe.ru. Сайт: http://journal.microbe.ru  
Зав. редакцией Л.С.Пронина. Тел. (845-2) 51-82-22. Факс (845-2) 51-52-12

Пробл. особо опасных инф. 2015. Вып. 1. 1–94  
Редакторы Е.С.Герасимова, Т.А.Поршакова. Технический редактор Т.К.Меркулова. Перевод на английский Т.Б.Караваевой, А.П.Рыжовой

Подписано в печать 02.03.15. Формат 60×88 1/8. Бумага мелованная. Печать офсетная. Усл. печ. л. 11,5. Гарнитура Таймс. Заказ 77  
Журнал отпечатан в типографии ООО «ИППОЛиТ-XXI век». 410012, Саратов, Б. Казачья, 79/85

Онищенко Г.Г., Пяташина М.А., Удовиченко С.К., Топорков А.В., Топорков В.П., Кутырев В.В. О двухуровневой структуре потенциальной эпидемической опасности массовых мероприятий с международным участием .....

5

### Обзоры и прогнозы

Попов Н.В., Безсмертный В.Е., Матросов А.Н., Князева Т.В., Кузнецов А.А., Федоров Ю.М., Попов В.П., Вержуцкий Д.Б., Корзун В.М., Чипанин Е.В., Дубянский В.М., Малецкая О.В., Григорьев М.П., Балахонов С.В., Куличенко А.Н., Кутырев В.В. Эпизоотическая активность природных очагов чумы Российской Федерации в 2014 г и прогноз на 2015 г. ....

10

Москвитина Э.А., Адаменко О.Л., Кругликов В.Д., Титова С.В., Монахова Е.В., Писанов Р.В., Иванова С.М., Анисимова Г.Б. Холера: эпидемиологическая обстановка в мире в 2005–2014 гг., прогноз на 2015 г. ....

18

Рязанова А.Г., Цыганкова О.И., Аксенова Л.Ю., Варфоломеева Н.Г., Головинская Т.М., Буравцева Н.П., Еременко Е.И., Куличенко А.Н. Эпидемиологическая и эпизоотологическая ситуация по сибирской язве в 2014 г., прогноз на 2015 г. ....

26

Транквилевский Д.В., Удовиков А.И., Попов В.П., Захаров К.С., Попов Н.В., Безсмертный В.Е. Состояние численности грызунов и эпидемиологическая обстановка по туляремии на территории Российской Федерации во втором полугодии 2014 г. и прогноз на 2015 г. ....

30

Путинцева Е.В., Смелянский В.П., Пак В.А., Бородай Н.В., Жуков К.В., Мананков В.В., Погасий Н.И., Ткаченко Г.А., Лемасова Л.В., Леденева М.Л., Пакскина Н.Д., Викторов Д.В., Антонов В.А. Эпидемическая ситуация по лихорадке Западного Нила в 2014 г. в мире и на территории Российской Федерации и прогноз ее развития в 2015 г. ....

36

Волынкина А.С., Котенев Е.С., Лисицкая Я.В., Малецкая О.В., Шапошникова Л.И., Куличенко А.Н. Крымская геморрагическая лихорадка в Российской Федерации в 2014 г., прогноз эпидемиологической обстановки на 2015 г. ....

42

Носков А.К., Ильин В.П., Андаев Е.И., Пакскина Н.Д., Веригина Е.В., Балахонов С.В. Заболеваемость клещевым вирусным энцефалитом в Российской Федерации и по федеральным округам в 2009–2013 гг., эпидемиологическая ситуация в 2014 г. и прогноз на 2015 г. ....

46

### Эпидемиология

Бачинский А.Г., Низоленко Л.Ф. Универсальная модель локальных эпидемий, вызываемых возбудителями особо опасных инфекций: моделирование новых инфекций .....

51

Кузькин Б.П., Ежлова Е.Б., Куличенко А.Н., Малецкая О.В., Демина Ю.В., Таран Т.В., Пакскина Н.Д., Скударева О.Н., Василенко Н.Ф., Харченко Т.В., Манин Е.А., Гризбебовский Г.М., Юничева Ю.В., Елдинова В.Е., Василенко Л.Е., Медяник И.М., Пиликова О.М., Клиндухов В.П., Гречаная Т.В., Тешева С.Ч., Оробей В.Г., Беланова Е.А. Актуальные вопросы обеспечения эпидемиологической безопасности по природно-очаговым инфекциям в период проведения XXII Олимпийских и XI Паралимпийских зимних игр в Сочи .....

54

Onishchenko G.G., Patyashina M.A., Udovichenko S.K., Toporkov A.V., Toporkov V.P., Kutyrev V.V. Concerning Two-Level Structure of Potential Epidemic Hazard of the Mass Events with International Participation

### Reviews and Prognoses

Popov N.V., Bezsmertny V.E., Matrosov A.N., Knyazeva T.V., Kuznetsov A.A., Fedorov Yu.M., Popov V.P., Verzhutsky D.B., Korzun V.M., Chipanin E.V., Dubyansky V.M., Maletskaya O.V., Grigor'ev M.P., Balakhonov S.V., Kulichenko A.N., Kutyrev V.V. Epizootic Activity of Natural Plague Foci in the Territory of the Russian Federation in 2014 and Prognosis for 2015

Moskvitina E.A., Adamenko O.L., Kruglikov V.D., Titova S.V., Monakhova E.V., Pisanov R.V., Ivanova S.M., Anisimova G.B. Cholera: Epidemiological Situation around the World in 2005–2014, and Prognosis for 2015

Ryazanova A.G., Tsygankova O.I., Aksenova L.Yu., Varfolomeeva N.G., Golovinskaya T.M., Buravtseva N.P., Eremenko E.I., Kulichenko A.N. Epidemiological and Epizootiological Situation on Anthrax in 2014, and Prognosis for 2015

Trankvilevsky D.V., Udovikov A.I., Popov V.P., Zakharov K.S., Popov N.V., Bezsmertny V.E. Situation on Rodents Abundance and Epidemiological Situation on Tularemia in the Territory of the Russian Federation in the Second Half of 2014, and Prognosis for 2015

Putintseva E.V., Smelyansky V.P., Pak V.A., Borodai N.V., Zhukov K.V., Manankov V.V., Pogasiy N.I., Tkachenko G.A., Lemasova L.V., Ledeneva M.L., Pakschina N.D., Viktorov D.V., Antonov V.A. Epidemic Situation on West-Nile Fever in 2014 in the Territory of the Russian Federation and Around the World, and Prognosis for its Development in 2015

Volynkina A.S., Kotenev E.S., Lisitskaya Ya.V., Maletskaya O.V., Shaposhnikova L.I., Kulichenko A.N. Crimean Hemorrhagic Fever in the Territory of the Russian Federation in 2014, Prognosis of Epidemiological Situation for 2015

Noskov A.K., P'in V.P., Andaev E.I., Pakschina N.D., Verigina E.V., Balakhonov S.V. Morbidity Rates as Regards Tick-Borne Viral Encephalitis in the Russian Federation and across Federal Districts in 2009–2013. Epidemiological Situation in 2014 and Prognosis for 2015

### Epidemiology

Bachinsky A.G., Nizolenko L.F. Universal Model of Local Epidemics Caused by the Agents of Particularly Dangerous Infections: Simulation of New Infections

Kuz'kin B.P., Ezhlova E.B., Kulichenko A.N., Maletskaya O.V., Demina Yu.V., Taran T.V., Pakschina N.D., Skudareva O.N., Vasilenko N.F., Kharchenko T.V., Manin E.A., Grizbebovsky G.M., Yunicheva Yu.V., Eldinova V.E., Vasilenko L.E., Medyanik I.M., Pilikova O.M., Klindukhov V.P., Grechanaya T.V., Tesheva S.Ch., Orobey V.G., Belanova E.A. Relevant Issues of Epidemiological Safety Provision as Regards Natural-Focal Infections during the XXII Olympic and XI Paralympic Winter Games in Sochi

Онищенко Г.Г., Кузькин Б.П., Демина Ю.В., Куличенко А.Н., Малецкая О.В., Ефременко Д.В., Рязанова А.Г., Кузнецова И.В., Савельев В.Н., Грижебовский Г.М., Кутырев В.В., Дятлов И.А., Елдинова В.Е., Юничева Ю.В., Дерлято С.К., Оробей В.Г., Клиндухов В.П., Антоненко А.Д. Обеспечение готовности и организация работы СПЭБ ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора в период проведения XXII Олимпийских и XI Паралимпийских зимних игр в Сочи .....

58

### Микробиология

Малахаева А.Н., Ляшова О.Ю., Плотников О.П., Осин А.В. Хранение штаммов *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ и *Brucella abortus* 19 ВА в жизнеспособном состоянии путем их глубокого замораживания .....

63

Маркина О.В., Шелохович А.И., Терентьев А.Н., Татаренко О.А., Водопьянов С.О., Мазрухо А.Б., Македонова Л.Д., Каминский Д.И., Шестиалтынова И.С. Стабилизированные фазовые варианты *Vibrio cholerae* El Tor P-18895 .....

67

Никифоров К.А., Одинок Г.Н., Новичкова Л.А., Ерошенко Г.А. Дифференциация штаммов *Yersinia pestis* алтайско-гиссарской группы неосновных подвидов методом ПЦР .....

71

### Биотехнология, иммунология

Ермилова О.С., Гинько З.И., Белявская В.А., Кузубов В.И., Сергеев Ар.А., Горбатовская Д.О., Азаев М.Ш., Агафонов А.П., Воевода М.И., Сергеев А.Н. Анализ особенностей течения вакцинального процесса у лиц, привитых оспенной живой вакциной, при первичной и повторных вакцинациях .....

75

Комиссаров А.В., Алешина Ю.А., Громова О.В., Никифоров А.К., Еремин С.А., Волох О.А., Лобовикова О.А., Перепелица А.И. Применение ультрафильтрации для концентрирования и очистки антигенов .....

79

Никифоров А.К., Антонычева М.В., Волох О.А., Еремин С.А., Киреев М.Н., Жулидов И.М., Алешина Ю.А., Авдеева Н.Г., Вахрушина Н.И., Холматов К.И. Разработка питательных сред на основе непищевого сырья для глубинного культивирования штаммов холерного вибриона .....

85

Храпова Н.П., Антонов В.А., Булатова Т.В., Пименова Е.В., Корсакова И.И., Голосеев Ю.А., Пьянков О.В., Пьянков С.А., Серегин С.В., Плясунов И.В., Сафронов П.Ф., Петров В.С., Агафонов А.П., Сергеев А.Н., Дятлов И.А., Шемякин И.Г., Белова Е.В. Получение моноклональных антител и перспективы их использования в качестве основы иммунодиагностических средств обнаружения вируса Крым-Конго геморрагической лихорадки .....

89

### Памяти коллеги

Памяти Владимира Ивановича Илюхина (1941–2015) .....

94

Onishchenko G.G., Kuz'kin B.P., Demina Yu.V., Kulichenko A.N., Maletskaia O.V., Efremenko D.V., Ryzanova A.G., Kuznetsova I.V., Savel'ev V.N., Grizhebovsky G.M., Kutyrev V.V., Dyatlov I.A., Eldinova V.E., Yunicheva Yu.V., Derlyatko S.K., Orobey V.G., Klindukhov V.P., Antonenko A.D. Provision of the Preparedness and Management of Work of the Specialized Anti-Epidemic Team at the Premises of the Rospotrebnadzor Stavropol Anti-Plague Institute during the XXII Olympic and XI Paralympic Winter Games in Sochi .....

### Microbiology

Malakhaeva A.N., Lyashova O.Yu., Plotnikov O.P., Osin A.V. Maintenance of *Francisella tularensis* 15 RIEH and *Brucella abortus* 19 BA Strains in a Viable State by Means of Deep Freezing .....

Markina O.V., Shelokhovich A.I., Terent'ev A.N., Tatarenko O.A., Vodop'yanov S.O., Mazrukho A.B., Makedonova L.D., Kaminsky D.I., Shestialtynova I.S. Stabilized Phase Variants of *Vibrio cholerae* El Tor P-18895 .....

Nikiforov K.A., Odinokov G.N., Novichkova L.A., Eroshenko G.A. Differentiation between *Yersinia pestis* Strains of Altaic-Hissar Group of Non-Main Subspecies by Means of PCR .....

### Biotechnology, Immunology

Ermilova O.S., Gin'ko Z.I., Belyavskaya V.A., Kuzubov V.I., Sergeev Ar.A., Gorbatovskaya D.O., Azaev M.Sh., Agafonov A.P., Voevoda M.I., Sergeev A.N. Analysis of Vaccinal Process Peculiarities in Persons Immunized with Smallpox Live Vaccine in Case of Primary Vaccination and Revaccination .....

Komissarov A.V., Aleshina Yu.A., Gromova O.V., Nikiforov A.K., Eremin S.A., Volokh O.A., Lobovikova O.A., Perepelitsa A.I. Deployment of Ultrafiltration for Concentrating and Purification of Antigens .....

Nikiforov A.K., Antonycheva M.V., Volokh O.A., Eremin S.A., Kireev M.N., Zhulidov I.M., Aleshina Yu.A., Avdeeva N.G., Vakhrushina N.I., Kholmatoev K.I. Development of Food-Raw-Material-Based Nutrient Media for Submerged Cultivation of Cholera *Vibrio* Strains .....

Khrapova N.P., Antonov V.A., Bulatova T.V., Pimenova E.V., Korsakova I.I., Gloseev Yu.A., P'yankov O.V., P'yankov S.A., Seregin S.V., Plyasunov I.V., Safronov P.F., Petrov V.S., Agafonov A.P., Sergeev A.N., Dyatlov I.A., Shemyakin I.G., Belova E.V. Obtainment of Monoclonal Antibodies and Prospects of Their Application as Basis for Immunodiagnostic Aids for Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus Detection .....

### Revering the Memory of the Colleague

Of blessed memory of Vladimir I. Ilyukhin (1941–2015)

Г.Г.Онищенко<sup>1</sup>, М.А.Патяшина<sup>2</sup>, С.К.Удовиченко<sup>3</sup>, А.В.Топорков<sup>4</sup>, В.П.Топорков<sup>3</sup>, В.В.Кутырев<sup>3</sup>

## О ДВУХУРОВНЕВОЙ СТРУКТУРЕ ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ ЭПИДЕМИЧЕСКОЙ ОПАСНОСТИ МАССОВЫХ МЕРОПРИЯТИЙ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ

<sup>1</sup>Российская академия наук, Москва, Российская Федерация; <sup>2</sup>Управление Роспотребнадзора по Республике Татарстан, Казань, Российская Федерация; <sup>3</sup>ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация; <sup>4</sup>ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт», Волгоград, Российская Федерация

В статье проанализирована эпидемиологическая конъюнктура отдельных стран и регионов мира, способных стать местом проведения массовых мероприятий с международным участием. Установлено, что наиболее неблагоприятными территориями являются страны Азии, прежде всего Юго-Восточной, и Африки, откуда брали начало большинство известных пандемий и эпидемий. Определены факторы, значимые для распространения инфекционных болезней, способных привести к возникновению чрезвычайных ситуаций санитарно-эпидемиологического характера международного значения, – туризм, миграция, торговля и экономическая деятельность, стихийные бедствия и антропогенные катастрофы. Сформулировано понятие «потенциальная эпидемическая опасность массовых мероприятий с международным участием». Показано, что структура потенциальной эпидемической опасности массовых мероприятий с международным участием включает два уровня: естественный фон местных и заносных по отношению к району проведения массового мероприятия эпидемиологических опасностей и дополнительные эпидемиологические опасности, привносимые самим мероприятием. Представлен пошаговый алгоритм оценки потенциальной эпидемической опасности массовых мероприятий с международным участием, позволяющий скорректировать мероприятия по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия населения.

*Ключевые слова:* массовые мероприятия с международным участием, потенциальная эпидемическая опасность, чрезвычайная ситуация санитарно-эпидемиологического характера международного значения, актуальные инфекционные болезни.

G.G.Onishchenko<sup>1</sup>, M.A.Patyashina<sup>2</sup>, S.K.Udovichenko<sup>3</sup>, A.V.Toporkov<sup>4</sup>, V.P.Toporkov<sup>3</sup>, V.V.Kutyrev<sup>3</sup>

## Concerning Two-Level Structure of Potential Epidemic Hazard of the Mass Events with International Participation

<sup>1</sup>Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation; <sup>2</sup>Rospotrebnadzor Administration in the Republic of Tatarstan, Kazan, Russian Federation; <sup>3</sup>Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation; <sup>4</sup>Volgograd Research Anti-Plague Institute, Volgograd, Russian Federation

The paper discusses epidemiological environment of particular countries and parts of the world viewed as potential platforms for mass events with international participation. It is established that the most unfavorable in this respect are Asian countries, primarily South-Eastern Asia ones, and African ones, from where the majority of well-known pandemics and epidemics have originated. Specified are the factors which are significant for spread of infectious diseases that can trigger emergency situation of sanitary epidemiological character of international concern. They are tourism and migration, trade and economic affairs, natural and anthropogenic disasters. The concept – “potential epidemic hazard of mass events with international participation” – is defined. It is demonstrated that its structure comprises two levels: the natural background of endemic and imported as related to mass event region epidemiological hazards, and epidemiological hazards imposed by the event itself. Outlined is a step-by-step algorithm for assessment of “potential epidemic hazard” of mass events with international participation allowing for adjustment of measures for the provision of sanitary and epidemiological welfare of the population.

*Key words:* mass events with international participation, potential epidemic hazard, emergency situation of sanitary epidemiological character of international concern, relevant infectious diseases.

Проведение массовых мероприятий (ММ) с международным участием всегда сопряжено с рисками для здоровья населения, среди которых наиболее значимым является потенциальный эпидемиологический риск. Основные угрозы исходят от актуальных известных, новых (неизвестных), возвращающихся инфекционных болезней [1]. Реализация вышеперечисленных угроз способна не только повлиять на ход ММ, но и нанести существенный социально-экономический и политический ущерб принимающей стране и мировому сообществу. В связи с этим объективная оценка рисков возникновения эпидемиологических осложнений

выступает элементом обеспечения высокого уровня готовности органов и учреждений здравоохранения санитарно-эпидемиологического и лечебно-профилактического профилей к чрезвычайной ситуации (ЧС) в целом. Целью данной работы является анализ эпидемиологической конъюнктуры, значимой для ММ, в разрезе регионов мира и определение группы факторов, обуславливающих распространение инфекционных болезней; определение понятия «потенциальная эпидемическая опасность ММ с международным участием» (ПЭО ММ), разработка его информационного содержания и методики оценки.

## Материалы и методы

Основным методом наших исследований является комплексный эпидемиологический [9]. В работе использованы данные официальных отчетов Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), Центра по контролю и профилактике заболеваний, Всемирной туристской организации при ООН (ЮНВТО), Международной организации по миграции, Международной организации гражданской авиации, Федерального агентства по туризму и Федеральной миграционной службы, а также материалы, опубликованные в периодической печати.

## Результаты и обсуждение

Количество массовых мероприятий с международным участием и их масштабность возрастает из года в год. Расширяется и география мест проведения ММ. В настоящее время в качестве организаторов ММ с международным участием все чаще выступают страны, где в последние десятилетия наблюдается значительный рост экономики, но именно на этих территориях отмечается широкий спектр инфекционных болезней.

Территория любой страны мира, способная стать потенциальным местом проведения ММ, характеризуется перечнем внешних и внутренних эпидемиологических опасностей, ассоциируемых с ЧС международного значения, в силу ее географической и административной привязки, эпидемиологических, социально-экономических и геополитических особенностей, то есть не связанных с видом и масштабом ММ. Количественная выраженность естественного (фонового) уровня опасности для конкретных территорий определяется номенклатурой региональной инфекционной патологии и наличием факторов, способствующих заносу инфекционных болезней с других территорий.

Номенклатура инфекционных болезней фонового уровня, ассоциируемых с ЧС, четко определена и представлена списками болезней, регламентированными на международном, межгосударственном и национальном уровнях [7]. Перечень патогенных биологических агентов (около 40 наименований), которые могут быть применены в террористических целях, также строго регламентирован [6].

На уровне стран-членов ВОЗ перечень болезней представлен в Приложении 2 ММСП (2005 г.) и включает 14 наименований [4]. Первые 4 болезни прямо характеризуются как ЧС в области общественного здравоохранения, имеющая международное значение. Из них человеческий грипп, вызванный новым подтипом вируса, прогнозируется как вероятность появления новой, пока неизвестной болезни. Эпидемические проявления других 10 болезней могут быть определены как ЧС с помощью специальной схемы, приведенной в Приложении 2. Учитывая тенденцию появления новых инфекционных болезней и тот факт, что ЧС может быть обусловлена другими

известными и новыми (неизвестными) болезнями список в Приложении 2 является открытым, поскольку содержит рубрику «и другие». В Российской Федерации, странах СНГ и Таможенного союза созданы расширенные списки инфекционных болезней, требующие проведения мероприятий по санитарной охране территорий.

Далее мы приводим эпидемиологическую характеристику территорий, служащих потенциальным местом проведения ММ.

**Азия.** Как известно, все 7 пандемий холеры начались в Азии, при этом Индия являлась исходным пунктом распространения 6 из них. В настоящее время наблюдается снижение удельного веса стран Азиатского региона в структуре заболеваемости холерой в мире, но наличие стойких эндемичных очагов обуславливает ежегодную активизацию эпидемического процесса [5]. Заносы холеры в страны Европы, СНГ и Российскую Федерацию в большинстве случаев осуществляются из стран Азии. В 2010 г. занос из Непала привел к крупномасштабной эпидемии холеры на Гаити, угрожающей миру новой пандемической волной.

Азиатский регион является «родиной» 2-й и 3-й пандемий чумы. В настоящее время в Азии регистрируются единичные случаи заболевания чумой (Китай, Монголия) и сохраняется высокая эпизоотическая и эпидемическая активность природных очагов чумы на данной территории [8].

Страны Юго-Восточной Азии (Бангладеш, северные и центральные штаты Индии, южные провинции Пакистана) были одним из последних оплотов натуральной оспы. Китай стал отправной точкой известных пандемий гриппа в XX столетии и эпидемий, вызванных новыми подтипами вируса гриппа птиц – А(Н5N1) в 1997 г. и А(Н7N9) в 2013 г. В регионе «зарождаются» и другие новые инфекционные болезни, такие как тяжелый острый респираторный синдром (Китай), вирусный энцефалит Нипа (Малайзия).

В Афганистане и Пакистане продолжается циркуляция дикого полиовируса, что создает постоянную угрозу заноса полиомиелита на свободные территории. Регион является эндемичной территорией по тропической и трехдневной малярии. При этом наиболее неблагоприятная обстановка отмечается в Индии – одной из самых посещаемых туристами стран. С 2004 г. в странах Юго-Восточной Азии и островах Тихого океана регистрируются множественные случаи заболевания людей малярией, вызванной *Plasmodium knowlesi*.

**Африка.** Африка является исходным пунктом для контагиозных вирусных геморрагических лихорадок. Ареал лихорадки Эбола продолжает расширяться за счет вовлечения в эпидемический процесс новых территорий (Гвинея, Либерия и Сьерра-Леоне). Вспышки лихорадки Марбург зарегистрированы в Демократической Республике Конго, Уганде и Анголе. Население Западной Африки подвергается риску заражения лихорадкой Ласса.

Феномен эндемии холеры на континенте отчет-

ливо проявился со второго периода 7-й пандемии. Социально-экономические и политические факторы способствуют сохранению неблагоприятной обстановки по холере в Африке. Ежегодно вспышки наблюдаются в Демократической Республике Конго, Гвинее, Гане, Мали, Нигерии, Зимбабве.

Природные очаги лихорадки Рифт-Валли расположены на территории Северной, Восточной и Южной Африки. На континенте регистрируется оспа обезьян, способная вызывать крупные вспышки среди людей. Эндемичной территорией по полиомиелиту в настоящее время является только Нигерия, однако выносы болезни в сопредельные государства обуславливают сложную эпидемиологическую обстановку в регионе в целом. На Африканский регион приходится более 90 % от заболеваемости желтой лихорадкой в мире.

Циркуляция вируса Западного Нила (ВЗН) отмечается практически на всем Африканском континенте, сохраняя возможность заноса вируса в Южную Европу и юг Западной Сибири. Африка является исходной территорией для инфекций с высокой социально-экономической значимостью – туберкулез, ВИЧ/СПИД, малярия.

**Америка.** С возникновением крупномасштабных эпидемий холеры в Южной и Центральной Америке в 1991 г. связано начало третьего этапа 7-й пандемии. За счет эпидемий холеры на Гаити и в Доминиканской Республике на регион приходится более 50 % заболеваемости холерой в мире. Остаются активными природные очаги чумы с ежегодной регистрацией случаев болезни. Ареал желтой лихорадки включает 14 стран Южной и Центральной Америки. Неблагополучная эпидемиологическая обстановка сохраняется в Боливии, Бразилии, Эквадоре и Перу. В 1999 г. впервые установлена циркуляция ВЗН в Северной Америке. Эпидемические проявления лихорадки денге регистрируются в Центральной и Южной Америке, странах Карибского бассейна. В регионе впервые обнаружены Аргентинская и Боливийская геморрагические лихорадки.

**Европа.** Малярия оставалась эндемичным заболеванием на большей части Южной Европы вплоть до окончания второй мировой войны. На сегодняшний день, несмотря на проводимые кампании по ликвидации малярии, передача болезни сохраняется в Турции, Таджикистане, Азербайджане. Возвращение после продолжительного периода отсутствия комара *Stegomyia (Aedes) aegypti* обусловило возможность местной передачи арбовирусов. Во время крупной вспышки в октябре 2012 г. в Португалии (о. Мадейра) лихорадка денге распространилась в 12 сопредельных государств. С появлением другого высокоэффективного переносчика арбовирусов – комара *St. albopictus* связана местная передача лихорадки чикунгунья в Италии в 2007 г. [2]. Регион считается эндемичным по лихорадке Западного Нила с 1958 г. Ареал болезни продолжает увеличиваться, растет и число случаев заболевания. Италия является отправной точкой лихорадки паппатачи, Англия – болезни Крейтцфельдта-Якоба.

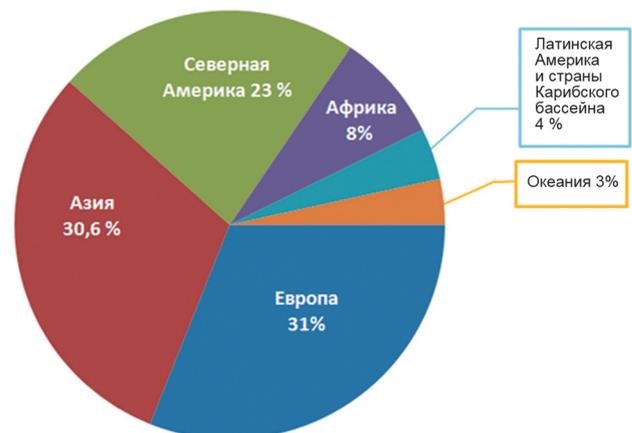
**Австралия.** В регионе регистрируются эпидемические проявления лихорадки денге и малярии. Северная часть региона является высокоэндемичной по мелиоидозу. Австралия является исходной территорией для новых болезней, вызванных вирусом Хендра и Менаngle.

Таким образом, наибольшая опасность проистекает из стран Азии, прежде всего Юго-Восточной ее части, и Африки, служивших исходными территориями возникновения и распространения ряда эпидемий и пандемий, в том числе новых инфекционных болезней.

К факторам, определяющим риск распространения инфекционных болезней и возникновение ЧС санитарно-эпидемиологического характера, относятся туризм, миграционная активность населения, торговля, экономическая деятельность и др.

**Миграционная активность населения.** Постоянный рост миграционной активности населения в мире отмечается с 1960 г. С 1990 по 2013 год, по официальным данным Международной организации по миграции, количество мигрантов увеличилось в 1,5 раза (на 77 млн). Количество нелегальных мигрантов оценивается экспертами в 50 млн человек. Прирост мигрантов из менее развитых стран в более развитые составляет до 3,5 млн человек ежегодно. В 2013 г. общая численность международных мигрантов достигла 232 млн человек (около 3,2 % мирового населения). Около 2/3 международных мигрантов проживают в Европе и Азии (рисунок). Лидирующие позиции занимают США (45,8 млн), Российская Федерация (11) и Германия (9,8). Наибольшее количество мигрантов прибывает из Китая (35 млн), Индии (20) и Филиппин (7) [11].

Значимым с точки зрения определения вероятности заноса болезней из неблагоприятных регионов на неэндемичные территории является анализ основных направлений миграционных потоков. Большинство мигрантов, проживающих в Африке, Азии, Европе и Латинской Америке, прибыли из стран этих же регионов. С 1990 по 2013 год доля мигрантов, перемещающихся из одной страны в другую, составила в Азии 87 %, в Европе – 43. В страны Европы прибывает 22 % мигрантов из Азии и 18 из Африки, что обуславливает высокую вероятность заноса опасных болезней. В



Распределение мигрантов по регионам мира в 2013 г.

Северной Америке преобладают мигранты из стран Латинской Америки (57 %) и Азии (35 %) [11].

На территорию Российской Федерации, по официальным данным Федеральной миграционной службы, в 2013 г. прибыло более 17 млн иностранных граждан, многие из которых больны туберкулезом, гепатитами, ВИЧ-инфекцией и др.

**Туризм.** Современные средства транспорта и новейшие технологии перемещения потока людей способствуют интенсивному развитию международного туризма и расширению туристических направлений. В 2013 г. количество туристов достигло 1,1 млрд, а к 2030 г., по прогнозам ЮНВТО, возрастет до 1,8 млрд человек. Мировым лидером по приему международных туристов является Европа (52 % в 2013 г.). Сохраняется рост объема туристических потоков в страны Африки (на 5 % или 3 млн человек в 2013 г. по сравнению с 2012 г.), Азии и Западной части Тихого океана (на 6 % или 14 млн человек). Ежегодно более 80 млн туристов посещают неблагоприятные по ряду опасных инфекционных болезней регионы [10].

В 2013 г. Российскую Федерацию посетили 30,8 млн иностранных граждан из 250 стран мира, что превысило на 9,3 % показатель 2012 г. Большинство поездок (64,7 %) совершается гражданами государств-участников СНГ. Удельный вес прибывающих из неблагоприятных по опасным инфекциям стран составляет до 10 %.

Высокоскоростные транспортные сообщения играют ключевую роль в осуществлении международных туристических поездок (53 %). Количество авиапассажиров в 2013 г. превысило 3 млрд человек и, по прогнозам, увеличится вдвое к 2020 г. Воздушным видом транспорта возможно перемещение больных (в состоянии инкубационного периода, носительства или проявления заболевания при проводимом самолечении), носителей и переносчиков инфекционных болезней на большие расстояния. В 1967 г. из Уганды в Германию и бывшую Югославию с обезьянами был занесен вирус лихорадки Марбург, вызвавший вспышку смертельно опасной болезни среди сотрудников вирусологических лабораторий. Интродукция инфицированных переносчиков малярии из эндемичных стран самолетами привела к локальным вспышкам в Швейцарии в 1990 г., Италии в 1990, 1996 гг., Франции в 1991 г.

**Торговля и экономическая деятельность.** Интенсивное расширение международной торговли отмечается со второй половины 90-х годов XX в., что обусловлено увеличением объема мирового экспорта. Лидирующие позиции по общему объему экспорта занимают развитые страны (Германия, США), однако остается весомым вклад экспорта из развивающихся стран и стран с переходной экономикой. В большинстве таких стран экспертиза качества товаров и грузов является недостаточной, процедура их трансграничного перемещения упрощается. Указанные факторы повышают риск завоза и реализации товаров, контаминированных возбудителями опасных инфекционных болезней (чума, бруцеллез,

сибирская язва и др.) или содержащих химические, биологические и радиоактивные вещества, угрожающие жизни и здоровью людей.

**Стихийные бедствия и антропогенные катастрофы.** По оценкам ВОЗ, около 3 млрд человек в мире проживают в условиях кризисов природного/техногенного характера или их угрозы. Стихийные бедствия и антропогенные катастрофы не только наносят весомый экономический ущерб, но и способствуют возникновению эпидемических осложнений, в том числе ЧС санитарно-эпидемиологического характера [7], что обусловлено рядом факторов: разрушением систем жизнеобеспечения населения (водо- и энергоснабжение, канализование, транспортное сообщение и др.), вынужденной внутренней миграцией среди организованных и неорганизованных контингентов людей, концентрацией населения в местах временного проживания, формированием благоприятных природно-климатических условий для роста и размножения возбудителей инфекционных болезней, их носителей и переносчиков.

Наиболее часто ЧС санитарно-эпидемиологического характера возникают при наводнениях и цунами [3]. Ярким событием последних лет стала крупнейшая эпидемия холеры на Гаити в 2010 г., возникшая после разрушительного землетрясения. С последствиями стихийных бедствий связано ухудшение эпидемиологической обстановки в 2011 и 2012 гг. в Доминиканской Республике и на Кубе.

Рассмотренный нами фоновый уровень, присутствующий конкретной административной территории, образует первый уровень ПЭО ММ с международным участием. Второй уровень ПЭО ММ представлен спектром внешних и внутренних эпидемиологических опасностей, обусловленных фактом проведения ММ, его видом, масштабом, широтой представленных стран и участников.

Таким образом, ПЭО ММ с международным участием – эпидемический потенциал, образуемый суммой эпидемиологического риска, обусловленного естественно существующими эпидемиологическими опасностями (местными и заносными), присутствующими району ММ, и дополнительными, привносимыми самими ММ (местными и заносными), способными перерасти в ЧС санитарно-эпидемиологического характера международного значения.

Информационное содержание ПЭО ММ с международным участием дифференцировано по инфекционным болезням 1-го и 2-го уровней, способным вызвать ЧС санитарно-эпидемиологического характера, и таким критериям эпидемиологического риска по каждой нозологии, как «территория риска», «факторы риска», «время риска», «контингенты риска».

Содержание критериев эпидемиологического риска, предложенных отечественными эпидемиологами В.Д.Беляковым (1985 г.) и Б.Л.Черкасским (2007 г.) для обеспечения эпидемиологического надзора, нами дополнено для оценки ПЭО ММ с международным участием:

- территория риска – принадлежность места

проведения ММ и участвующих контингентов к: неблагоприятному в эпидемиологическом отношении географическому региону, где наиболее часто возникают и получают широкое распространение новые инфекционные болезни; ареалу распространения актуальной инфекционной болезни; пункту вероятного заноса болезней, требующих проведения мероприятий по санитарной охране территорий;

- факторы риска – биотические и абиотические объекты местного и заносного происхождения, при контакте с которыми может возникнуть заболевание, ассоциируемое с ЧС санитарно-эпидемиологического характера международного значения;

- время риска – характер многолетней, сезонной заболеваемости и совпадение их пиков со временем проведения ММ;

- контингенты риска – принадлежность участников, обслуживающего персонала и гостей ММ к контингентам, подверженным риску заражения возбудителями инфекционных болезней, ассоциируемых с ЧС.

Разработанная нами методика оценки ПЭО ММ с учетом требований ММСП (2005 г.) включает ряд последовательных этапов. На первом этапе проводится оценка всего перечня инфекционных болезней и выделение приоритетных нозологических форм из числа актуальных, новых, возвращающихся, распространяющихся на новые территории, способных создать ЧС санитарно-эпидемиологического характера международного значения, присущих как фоновому уровню, так и привносимых самим ММ.

В дальнейшем в отношении каждой приоритетной нозологической формы 1-го и 2-го уровней ПЭО ММ осуществляется комплексный анализ эпидемиологического риска по вышеуказанным критериям, инвентаризация «накладок» дополнительных эпидемиологических опасностей на фоновые по составляющим эпидемиологического риска, способных привести к возникновению возможных «резонансных» эпидемиологических событий, создающих риск возникновения ЧС и оказания негативного воздействия на ход ММ.

На заключительном этапе дифференцируются уровни эпидемиологического риска по каждой инфекционной болезни и вносятся целенаправленные коррективы в мероприятия по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия ММ, включающие санитарную охрану территории, эпидемиологический надзор за природно-очаговыми зоонозными инфекционными болезнями, предупреждение и контроль ЧС санитарно-эпидемиологического характера, в том числе антропогенного происхождения.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Брико Н.И., Покровский В.И. Глобализация и эпидемиологический процесс. *Эпидемиол. и инф. бол.* 2010; 4:4–10.
2. Ганушкина Л.А., Дремова В.П. Комары *Aedes aegypti* и *Aedes albopictus* – переносчики арбовирусных инфекций. Биология. Экология. Распространение. Отличительные признаки видов. *Мед. паразитол. и паразитарн. бол.* 2011; 4:24–8.
3. Карнаухов И.Г., Старшинов В.А., Топорков В.П., Топорков А.В., Коротков В.Б. Осложнения санитарно-эпидемиологической обстановки и риск возникновения чрезвычайных ситуаций в области санитарно-эпидемиологического благополучия при стихийных бедствиях и антропогенных катастрофах. *Пробл. особо опасных инф.* 2012; 2(112):9–16.

4. Международные медико-санитарные правила (2005 г.). ВОЗ; 2008. 82 с.
5. Москвитина Э.А., Мазрухо А.Б., Адаменко О.Л., Назаретян А.А., Кругликов В.Д., Иванова С.М., Козина Д.А. Характеристика эпидемиологической обстановки по холере в мире (2003–2012 гг.) и прогноз на 2013 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 1:11–7.
6. Ответные меры системы общественного здравоохранения на угрозу применения биологического и химического оружия: руководство ВОЗ. Женева; 2004. 107 с.
7. Топорков А.В., Топорков В.П., Шиянова А.Е., Кутырев В.В. Чрезвычайная ситуация в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения как унифицированный объект надзора и оперативного реагирования в рамках современной стратегии борьбы с инфекционными болезнями. *Пробл. особо опасных инф.* 2009; 2(100):5–10.
8. Топорков В.П., Попов Н.В., Шилова Л.Д., Поршakov А.М. Заболевание легочной чумой в г. Уймен северо-западной провинции Ганьшу Китая в июле 2014 г. URL: [http://www.microbe.ru/files/Plague\\_China\\_jul2014.pdf](http://www.microbe.ru/files/Plague_China_jul2014.pdf) (дата обращения: 20.08.2014 г.).
9. Черкасский Б.Л. Риск в эпидемиологии. М.: Практическая медицина; 2007. 480 с.
10. Annual report 2013 // World Tourism Organization; 2014. 84 p. URL: [http://dtxqt4w60xqpw.cloudfront.net/sites/all/files/pdf/unwto\\_annual\\_report\\_2013.pdf](http://dtxqt4w60xqpw.cloudfront.net/sites/all/files/pdf/unwto_annual_report_2013.pdf) (дата обращения 16.05.2014 г.).
11. International migration report 2013. United Nations: New York; 2013. 22 p. URL: [http://www.un.org/en/development/desa/population/publications/pdf/migration/migrationreport2013/Full\\_Document\\_final.pdf](http://www.un.org/en/development/desa/population/publications/pdf/migration/migrationreport2013/Full_Document_final.pdf) (дата обращения: 18.04.2014 г.).

#### References

1. Briko N.I., Pokrovsky V.I. [Globalization and Epidemic Process]. *Epidemiol. Infek. Bol.* 2010; 4:4–10.
2. Ganushkina L.A., Dremova V.P. [Mosquitoes *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* – carriers of arboviral infections. Biology. Ecology. Dissemination. Distinctive features of species]. *Med. Parazitol. Parazitarn. Bol.* 2011; 4:24–8.
3. Karnaukhov I.G., Starshinov V.A., Toporkov V.P., Toporkov A.V., Korotkov V.B. [Complications of sanitary-epidemiological situation and risk of emergency situations appearance in the sphere of sanitary and epidemiological well-being in the natural and anthropogenic catastrophes]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2012; 2(112):9–16.
4. International Health Regulations (2005). WHO; 2008. 82 p.
5. Moskvitina E.A., Mazrukho A.B., Adamenko O.L., Areshina O.A., Nazaretyan A.A., Kruglikov V.D., Ivanova S.M., Kozina D.A. [Characteristics of the epidemiological situation on cholera the world over in 2003–2012 and prognosis for 2013]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 1:11–7.
6. [Public health response to biological and chemical weapons. WHO guidance]. Geneva; 2004. 107 p.
7. Toporkov A.V., Toporkov V.P., Shiyanova A.E., Kutyrev V.V. [Emergency situation in the sphere of population sanitary and epidemiological welfare as unified object of surveillance and active response in the scope of up-to-date strategy of infectious diseases control]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2009; 2(100):5–10.
8. Toporkov V.P., Popov N.V., Shilova L.D., Porshakov A.M. [Pneumonic plague case in Yumen in North-Western China province, Gansu, in July, 2014]. (cited: 20 Aug 2014). Available from: [http://www.microbe.ru/files/Plague\\_China\\_jul2014.pdf](http://www.microbe.ru/files/Plague_China_jul2014.pdf)
9. Cherkassky B.L. [Risk in Epidemiology]. M.: Prakticheskaya Meditsina; 2007. 480 p.
10. Annual report 2013. World Tourism Organization; 2014 (cited 16 May 2014). 84 p. Available from: [http://dtxqt4w60xqpw.cloudfront.net/sites/all/files/pdf/unwto\\_annual\\_report\\_2013.pdf](http://dtxqt4w60xqpw.cloudfront.net/sites/all/files/pdf/unwto_annual_report_2013.pdf)
11. International migration report 2013. United Nations: New York; 2013 (cited 18 Apr 2014). 22 p. Available from: [http://www.un.org/en/development/desa/population/publications/pdf/migration/migrationreport2013/Full\\_Document\\_final.pdf](http://www.un.org/en/development/desa/population/publications/pdf/migration/migrationreport2013/Full_Document_final.pdf).

#### Authors:

*Onishchenko G.G.* Russian Academy of Sciences. Moscow, Russian Federation.  
*Patyashina M.A.* Rospotrebnadzor Administration in the Republic of Tatarstan. 30, B. Krasnaya St., Kazan, 420111, Russian Federation. E-mail: [org@16.rospotrebnadzor.ru](mailto:org@16.rospotrebnadzor.ru)  
*Udovichenko S.K., Toporkov V.P., Kutyrev V.V.* Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: [rusrapi@microbe.ru](mailto:rusrapi@microbe.ru)  
*Toporkov A.V.* Volgograd Research Anti-Plague Institute. 7, Golubinskaya St., Volgograd, 400131, Russian Federation. E-mail: [vari2@sprint-v.com.ru](mailto:vari2@sprint-v.com.ru)

#### Об авторах:

*Онищенко Г.Г.* Российская академия наук. Москва, Российская Федерация.  
*Патяшина М.А.* Управление Роспотребнадзора по Республике Татарстан. Российская Федерация, 420111, Казань, ул. Б. Красная, 30. E-mail: [org@16.rospotrebnadzor.ru](mailto:org@16.rospotrebnadzor.ru)  
*Удовиченко С.К., Топорков В.П., Кутырев В.В.* Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: [rusrapi@microbe.ru](mailto:rusrapi@microbe.ru)  
*Топорков А.В.* Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 400131, Волгоград, ул. Голубинская, 7. E-mail: [vari2@sprint-v.com.ru](mailto:vari2@sprint-v.com.ru)

Поступила 17.02.15.

УДК 616.98:579.842.23(470)

Н.В.Попов<sup>1</sup>, В.Е.Безсмертный<sup>2</sup>, А.Н.Матросов<sup>1</sup>, Т.В.Князева<sup>1</sup>, А.А.Кузнецов<sup>1</sup>, Ю.М.Федоров<sup>2</sup>,  
В.П.Попов<sup>2</sup>, Д.Б.Вержущий<sup>3</sup>, В.М.Корзун<sup>3</sup>, Е.В.Чипанин<sup>3</sup>, В.М.Дубянский<sup>4</sup>, О.В.Малецкая<sup>4</sup>,  
М.П.Григорьев<sup>4</sup>, С.В.Балахонов<sup>3</sup>, А.Н.Куличенко<sup>4</sup>, В.В.Кутырев<sup>1</sup>

## ЭПИЗООТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПРИРОДНЫХ ОЧАГОВ ЧУМЫ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2014 г. И ПРОГНОЗ НА 2015 г.

<sup>1</sup>ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация; <sup>2</sup>ФКУЗ «Противочумный центр Роспотребнадзора», Москва, Российская Федерация;  
<sup>3</sup>ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», Иркутск, Российская Федерация; <sup>4</sup>ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт», Ставрополь, Российская Федерация

Целью исследований являлась оценка состояния паразитарных систем и активности природных очагов чумы Российской Федерации в 2014 г. и разработка эпизоотологического прогноза на 2015 г. В 2014 г. эпизоотии чумы выявлены на территории Горно-Алтайского высокогорного, Тувинского горного, Прикаспийского песчаного природных очагов чумы на общей площади 3890,2 кв. км. Выделено 128 штаммов чумного микроба, в том числе от грызунов и зайцеобразных – 24, от кровососущих членистоногих – 103. Один штамм чумного микроба получен от больного на территории Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы. Обоснован эпизоотологический прогноз на сохранение в 2015 г. напряженной эпизоотологической обстановки в Прикаспийском песчаном, Горно-Алтайском высокогорном и Тувинском горном природных очагах чумы. Подчеркнута необходимость использования эпизоотологических прогнозов в качестве основы для планирования и проведения эпизоотологического мониторинга и профилактических мероприятий в активных природных очагах чумы. В связи с различной эпизоотологической значимостью штаммов *Y. pestis* ssp. *pestis*, *Y. pestis* ssp. *caucasica* и *Y. pestis* ssp. *altaica* данные об их пространственном распределении необходимо использовать при дифференциации очаговых территорий по степени потенциальной эпидемической опасности.

*Ключевые слова:* природные очаги чумы, эпизоотическая активность, эпизоотологический прогноз, штаммы чумного микроба, носители и переносчики чумы, профилактические мероприятия, эпидемическая опасность.

N.V.Popov<sup>1</sup>, V.E.Bezsmertny<sup>2</sup>, A.N.Matrosov<sup>1</sup>, T.V.Knyazeva<sup>1</sup>, A.A.Kuznetsov<sup>1</sup>, Yu.M.Fedorov<sup>2</sup>, V.P.Popov<sup>2</sup>,  
D.B.Verzhutsky<sup>3</sup>, V.M.Korzun<sup>3</sup>, E.V.Chipanin<sup>3</sup>, V.M.Dubyansky<sup>4</sup>, O.V.Maletskaia<sup>4</sup>, M.P.Grigor'ev<sup>4</sup>,  
S.V.Balakhonov<sup>3</sup>, A.N.Kulichenko<sup>4</sup>, V.V.Kutyrev<sup>1</sup>

## Epizootic Activity of Natural Plague Foci in the Territory of the Russian Federation in 2014 and Prognosis for 2015

<sup>1</sup>Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation; <sup>2</sup>Rospotrebnadzor Plague Control Center, Moscow, Russian Federation; <sup>3</sup>Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russian Federation; <sup>4</sup>Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Objective of the studies was to evaluate the state of parasitic systems and activity of the natural plague foci in the Russian Federation in 2014 and to develop epizootiological forecasting for 2015. In 2014 plague epizooties were detected in the territory of Gorno-Altai high-mountain, Tuva mountain, and Caspian Sea Region sandy plague foci, their total area amounting to 3890.2 km<sup>2</sup>. Isolated were 128 plague agent strains: from rodents and lagomorphs – 24, 103 – from bloodsucking arthropods. One strain was obtained from a patient in the territory of Gorno-Altai high-mountain natural plague focus. Substantiated has been epizootiological prognosis claiming persistent challenging epidemiological situation in the foci. Outlined is the necessity to use epizootiological forecasting as the basis for scheduling and carrying out epidemiological monitoring and preventive measures in active natural plague foci. Due to the varying epidemiological significance of *Y. pestis* ssp. *pestis*, *Y. pestis* ssp. *caucasica*, and *Y. pestis* ssp. *altaica* strains the data on their spatial distribution should be deployed for differentiation of focal areas according to the degree of the potential epidemic hazard.

*Key words:* natural plague foci, epizootic activity, epizootiological prognosis, plague agent strains, carriers and vectors of plague, preventive measures, epidemic hazard.

Вследствие аномального характера погодных условий 2013–2014 гг. паразитарные системы природных очагов чумы Кавказа, Предкавказья, Северного Прикаспия, Забайкалья продолжают оставаться в состоянии депрессии. Эпизоотии чумы выявлены в энзоотичных регионах Алтая (Республика Алтай, Республика Тыва) и на террито-

рии Прикаспийской низменности в Северо-Западном Прикаспии (Астраханская область, Республика Калмыкия, Республика Дагестан). Наиболее сложная эпизоотологическая обстановка сложилась на территории Горно-Алтайского высокогорного природного очага, где впервые (начиная с 1961 г.) зарегистрирован случай заболевания человека [1].

Культуры чумного микроба (128 штаммов) выделены в Горно-Алтайском высокогорном (31), Тувинском горном (44) и Прикаспийском песчаном (53) природных очагах. Общая площадь выявленных эпизоотических участков составила 3890,2 кв.км. От носителей и переносчиков возбудителя чумы выделено 127 штаммов. Один штамм возбудителя выделен от человека. Из 127 штаммов 24 (18,9 %) изолированы от 7 видов грызунов и 1 вида зайцеобразных, 97 (76,4 %) выделены от блох и 6 (4,7 %) – от других переносчиков. Из 24 штаммов 9 (37,6 %) получены от полуденной, 4 (16,6 %) – от гребенщиковой песчанок, 4 (16,6 %) – от длиннохвостого суслика, 2 (8,3 %) – от домовой мыши, 2 (8,3 %) – от монгольской пищухи, 1 (4,2 %) – от алтайского сурка, 1 (4,2 %) – от малого тушканчика, 1 (4,2 %) – от общественной полевки. Среди 16 зараженных видов блох штаммы (97) распределились следующим образом: *Citellophilus tesquorum* – 27 (27,8 %), *Nosopsyllus laeviceps* – 17 (17,5 %), *Rhadinopsylla dahurica* – 10 (10,3 %), *Nosopsyllus mokrzecky* – 8 (8,3 %), *Paradoxopsyllus scorodumovi* – 5 (5,2 %), *Xenopsylla conformis* – 5 (5,2 %), *Paramonopsyllus scalonae* – 4 (4,1 %), *Neopsylla mana* – 3 (3,1 %), *Frontopsylla hetera* – 3 (3,1 %), *Ctenophyllus hirticrus* – 3 (3,1 %), *Nosopsyllus consimilis* – 3 (3,1 %), *Paradoxopsyllus kalabukhovi* – 2 (2,1 %), *Amphipsylla primaris primaris* – 1 (1,0 %), *Amphalius runatus* – 1 (1,0 %), *Frontopsylla elatoides* – 1 (1,0 %), *Oropsylla alaskensis* – 1 (1,0 %), от блох без определения видовой принадлежности – 3 (3,1 %). Из 6 культур, выделенных от прочих переносчиков, 1 – от гамазовых клещей, 1 – от вшей грызунов (без определения вида) и 4 – от нимф и личинок иксодового клеща *Dermacentor nuttalli*.

Последний случай заражения чумой в России имел место в 1979 г. (п. Артезиан, Республика Калмыкия) на фоне резкой активизации Прикаспийского песчаного природного очага чумы после 25-летнего межэпизоотического периода (с 1954 г.). В 2014 г. вследствие оперативного и адекватного реагирования (специфическая и неспецифическая профилактика) на рост эпидемической опасности Прикаспийского песчаного очага было обеспечено эпидемиологическое благополучие по чуме. При этом эпизоотологический прогноз на его активизацию в весенний и осенний сезоны 2014 г. [3] послужил основой для своевременного планирования всего комплекса профилактических (противоэпидемических) мероприятий.

В 2014 г. значительно возросла потенциальная эпидемическая опасность территории Горно-Алтайского высокогорного природного очага, где зарегистрировано вовлечение в эпизоотический процесс промыслового вида – серого сурка и подтверждена высокая вероятность широкого распространения основного подвида чумного микроба – *Yersinia pestis* ssp. *pestis* [1]. Вплоть до 2012 г. здесь регистрировали штаммы только неосновного подвида чумного микроба *Y. pestis* ssp. *altaica*, которые обладают избирательной вирулентностью для лабораторных жи-

вотных и носителей возбудителя, и не служили причиной заражения человека. В связи с регистрацией в 2012–2014 гг. в данном очаге высоковирулентных штаммов необходимо пересмотреть дифференциацию его территории по степени потенциальной эпидемической опасности с учетом ареалов основного и неосновного подвидов чумного микроба и внести коррективы в тактику эпизоотологического обследования участков, где зарегистрирована циркуляция высоковирулентных штаммов *Y. pestis* ssp. *pestis*.

Сохранение напряженной эпидемиологической обстановки также отмечено на территории Борошайского участка очаговости Тувинского горного природного очага, где в 2012 г. выделены культуры чумы от трупа монгольского сурка и его эктопаразитов (ур. Боро-Шай). Коренное население республик Алтай и Тыва, несмотря на активную работу природоохранных служб, отлавливает сурков (серого и монгольского) в границах стойких эпизоотических участков, что создает постоянную угрозу возникновения здесь эпидемических осложнений.

В энзоотичных по чуме регионах Кавказа, как и на Алтае, зарегистрирована циркуляция штаммов как основного – *Y. pestis* ssp. *pestis* (Центрально-Кавказский высокогорный), так и неосновного – *Y. pestis* ssp. *caucasica* (Восточно-Кавказский высокогорный) подвидов чумного микроба. В Центрально-Кавказском высокогорном природном очаге в районах Приэльбрусья значительно возросла интенсивность контактов постоянного и временного населения с природно-очаговыми комплексами (рост рекреационной нагрузки, миграционной активности временного населения). На территории Терско-Сунженского низкогорного природного очага чумы подтверждена циркуляция штаммов основного (1970–1971 гг.) и неосновного (1978 г.) подвидов чумного микроба. Случаев заражения человека чумой с участием штаммов *Y. pestis* ssp. *caucasica* на территории Российской Федерации не отмечено. Однако в Закавказском высокогорном очаге полевочьего типа (Армения), где также циркулируют штаммы *Y. pestis* ssp. *caucasica*, случаи бубонной чумы имели место в 1958, 1969 и 1975 гг. [2]. Так, в Гюмринском (Ленинканском) мезоочаге в 1958 г. этот возбудитель был выделен от человека (штамм № 835). Учитывая возможность заражения человека возбудителем кавказского подвида, необходимо также повысить эффективность эпизоотологического надзора в границах его ареала (Восточно-Кавказский высокогорный, Терско-Сунженский низкогорный природные очаги). Кроме того, данные о пространственном распределении различных по эпизоотологической значимости штаммов *Y. pestis* ssp. *pestis*, *Y. pestis* ssp. *caucasica* и *Y. pestis* ssp. *altaica* могут использоваться при дифференциации очаговых территорий по степени потенциальной эпидемической опасности.

В связи с сохранением напряженной эпизоотологической обстановки в Горно-Алтайском высокогорном, Тувинском горном и Прикаспийском песча-

ном природных очагах чумы необходимо оперативно оценивать реальную современную эпидемиологическую опасность всего спектра фоновых видов грызунов, в первую очередь промысловых (сурки, суслики) и синантропных, повышать эффективность эпидемиологического надзора за контингентами высокого риска заражения. Ниже представлены эпизоотологические особенности состояния паразитарных систем 11 природных очагов чумы Российской Федерации в 2014 г. и прогноз на 2015 г.

**Горно-Алтайский высокогорный очаг.** В 2014 г. локальные эпизоотии зарегистрированы в Кош-Агачском районе Республики Алтай на площади 424,2 кв.км. Зараженные чумой животные выявлены на территории Уландрыкского и Тархатинского мезоочагов. Выделен 31 штамм возбудителя чумы, в том числе 29 алтайского подвида *Y. pestis* ssp. *altaica* (2 – от монгольской пищухи, 18 – от блох, собранных с этих зверьков, 8 – от блох из входов их нор, 1 – от блох с даурской пищухи) и 2 основного подвида *Y. pestis* ssp. *pestis* (1 – от больного человека, 1 – от серого сурка). Получены 18 положительных серологических результатов (от плоскочерепной полевки – 6, от монгольской пищухи – 10, от длиннохвостого суслика – 2). В 9 пробах погадок хищных птиц обнаружен капсульный антиген чумного микроба. Выявлены два новых эпизоотических участка – Междуречье Чаган-Бургазы-Тархата и Низ Чаган-Узуна. В костных останках сурка, собранных в долине р. Бар-Бургазы, методом ПЦР обнаружена ДНК чумного микроба основного подвида.

В сентябре 2014 г. впервые за время наблюдений (с 1961 г.) в Кош-Агачском районе Республики Алтай зарегистрировано заболевание человека чумой (бубонная форма). Заражение произошло при разделке тушки алтайского (серого) сурка, добытого в верховье р. Сербисту. Из 7 исследованных серых сурков из этого урочища от одного получена культура основного подвида *Y. pestis* ssp. *pestis*, второй послужил источником заражения человека (также возбудителем основного подвида). Последнее свидетельствует о том, что в высокогорных ландшафтах штаммы основного подвида *Y. pestis* ssp. *pestis* циркулируют преимущественно на участках, заселенных серым сурком. В 2014 г. численность монгольской пищухи в среднем по очагу составила весной 6,7 жилых нор на 1 га, осенью – 8,7 (среднемноголетние значения 4,9 и 6,8 соответственно). Численность даурской пищухи весной была равна 0,8 жилых нор на 1 га, осенью – 1,2 (многолетние показатели 0,7 и 1,5 соответственно). Плотность нор алтайского сурка на Уландрыкском участке очаговости составила весной 0,3 жилых бутанов на 1 га, летом – 0,6, осенью – 0,8; на Тархатинском участке очаговости – 0,3 жилых бутанов на 1 га. Наибольшая численность (0,9 жилых бутанов на 1 га) зарегистрирована в верховьях р. Бугузун. Численность длиннохвостого суслика осенью в среднем равнялась 4,9 особи на 1 га, что выше прошлогоднего (3,5), но ниже среднемного-

летних (5,5 особи на 1 га) значений. Показатель численности плоскочерепной полевки весной достигал 9,0 % попадания в орудия лова, осенью – 30,2 %. На стоянках животноводов численность плоскочерепной полевки составляла весной 2,6 %, осенью – 3,8 %; домовая мышь – 1,0 %. В населенных пунктах в отловах доминировала домовая мышь (до 4,8 %).

Численность блох монгольской пищухи по сравнению с предыдущим годом значительно возросла. Весной средний по очагу индекс обилия составил 12,7, осенью – 10,7 (2013 г. – 8,5 и 6,2 соответственно). Запас блох монгольской пищухи в весенний период равен 360 экз. на 1 га, в осенний – 544 (2013 г. – 235 и 406). Возросли индексы обилия блох на второстепенных носителях. Средний за год показатель на даурской пищухе составил 10,8 (2013 г. – 6,4), на длиннохвостом суслике – 1,8 (0,9) на плоскочерепной полевке – 1,3 (1,0).

В 2015 г. прогнозируется развитие локальных эпизоотий чумы на территории Кош-Агачского района Республики Алтай в границах Уландрыкского, Тархатинского и Курайского участков очаговости. Сохраняется вероятность выявления новых участков циркуляции возбудителя чумы основного подвида в поселениях алтайского сурка и длиннохвостого суслика. Показатели численности монгольской пищухи и обилия ее блох существенно не изменятся. В связи с подтверждением широкого распространения высоковирулентных штаммов основного подвида чумного микроба *Y. pestis* ssp. *pestis* по территории очага его потенциальная эпидемическая опасность резко возросла. Необходимо провести дифференциацию очаговой территории по степени потенциальной эпидемической опасности, разработать регламент эпизоотологического обследования, повысить противоэпидемическую готовность медицинских учреждений на участках повышенного риска заражения.

**Прикаспийский песчаный очаг.** В 2014 г. отмечен взрывной характер обострения эпизоотологической обстановки в центральной приморской части очага. Эпизоотии выявлены на территории Лиманского района Астраханской области, Лаганского и Черноземельского районов Республики Калмыкия, Тарумовского района Республики Дагестан (рис. 1). Общая площадь эпизоотии составила 2300 кв.км. Выделено 53 штамма *Y. pestis*: 17 культур было изолировано от грызунов (9 – от полуденной и 4 – от гребенщиковой песчанок, 2 – от домовой мыши, по одному – от общественной полевки и малого тушканчика), 36 культур получено от их блох (17 – от *N. laeviceps*, 5 – от *X. conformis*, 8 – от *N. mokrzecky*, 3 – от *N. consimilis* и 3 штамма от блох без определения вида). Методами ПЦР и ИФА подтверждена циркуляция *Y. pestis* в центральной и южной частях очага.

Активизация очага в 2014 г. произошла на фоне высокой численности носителей и переносчиков чумы. Весной общая численность перезимовавших популяций грызунов составила 31,1 особи на 1 га.

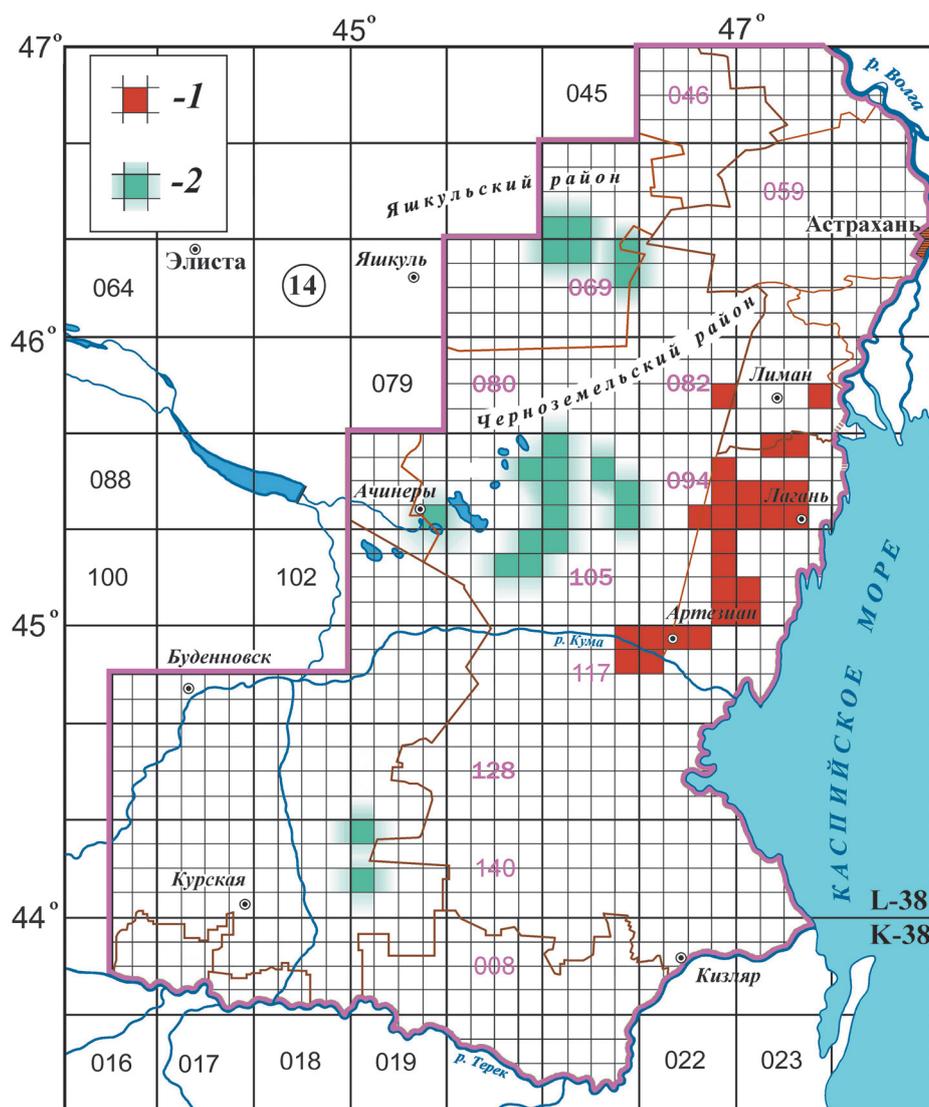


Рис. 1. Особенности пространственного распределения эпизоотических участков на территории Прикаспийского песчаного природного очага:

1 – участки выделения культур чумного микроба в 2013–2014 гг.; 2 – участки обнаружения маркеров возбудителя чумы молекулярно-генетическими методами

Плотность основных носителей – малых песчанок – равнялась 9,4 особи на 1 га, что в 2,4 раза больше средней многолетней (3,9). К осени, после жаркого лета, плотность малых песчанок снизилась до 3,7 особи на 1 га, что меньше многолетней величины (5,2). В Кумо-Манычском междуречье плотность песчанок превышала многолетние показатели для этого участка очага и составляла весной 3,9, осенью – 7,4 особи на 1 га. В Терско-Кумском междуречье плотность песчанок составляла весной 0,9, осенью – 0,8 особи на 1 га. Фоновым и самым многочисленным видом повсеместно является общественная полевка, средняя численность которой весной достигала 17,7 особи на 1 га, осенью – 9,7. Сохраняется тенденция снижения численности малого суслика – 1,2 особи на 1 га, что втрое ниже нормы (3,0). В Волго-Кумском междуречье численность мышевидных грызунов весной равнялась 7,0, летом – 4,2, осенью – 4,3 % попадания в орудия лова. В Кумо-Манычском междуречье численность мышевидных грызунов достигала весной 13,6, осенью – 4,6 %. Показатели численности мышевидных грызунов в Терско-Кумском междуречье не превышали 1,5 %. В населенных пунктах

средние показатели численности домовых мышей были не выше 3,3 % весной и 4,0 осенью, что в 1,5 раза ниже многолетних значений. Заселенность объектов варьировала от 20 до 30 %.

Индексы обилия блох в шерсти грызунов на территории Волго-Кумского междуречья значительно превысили многолетние показатели и составляли: на полуденной песчанке – 1,3; на гребенщиковой песчанке – 5,0; на сером хомячке – 4,4; на общественной полевке – 2,3; на домовых мышах – 0,4. Запас блох песчанок на 1 га достигал весной 350, осенью – 120 экземпляров. В Терско-Кумском и Кумо-Манычском междуречьях отмечены низкие показатели обилия блох на 1 га. В Кумо-Манычском междуречье при обследовании 9 поселков на площади 9,8 тыс. кв.м в домах обнаружены блохи 3 видов: *Pulex irritans*, *Stenoccephalides canis* и *N. tokrzycki*.

В весенний период 2015 г. прогнозируется спад эпизоотической активности очага на фоне низкой численности носителей и переносчиков чумы. Развитие локальных эпизоотий ожидается на территории Лиманского района Астраханской области, Лаганского и Черноземельского районов Республики

Калмыкия, Тарумовского района Республики Дагестан и Курского района Ставропольского края. В связи с высокой вероятностью расширения границ эпизоотии в западном направлении (Черноземельский район Республики Калмыкия, Курский район Ставропольского края) необходимо значительно усилить эпидемиологический надзор за этими территориями в весенний период 2015 г.

**Тувинский горный очаг.** В 2014 г. эпизоотии зарегистрированы на территории Монгун-Тайгинского кожууна и Овюрского кожууна Республики Тыва на площади 1166 кв.км (2013 г. – 1109 кв.км). Выделено 44 штамма *Y. pestis* (2013 г. – 38), в том числе от длиннохвостого суслика – 4; блох видов: *C. tesquorum* – 27, *N. mana* – 3, *F. hetera* – 2, *F. elatoides* – 1, *O. alaskensis* – 1; от гамазовых клещей с длиннохвостого суслика – 1, от вшей с длиннохвостого суслика – 1, от личинок клеща *D. nuttalli* – 3, от нимфы *D. nuttalli* из входа нор длиннохвостого суслика – 1. Получено 115 положительных результатов иммунологических исследований, в том числе: от длиннохвостого суслика – 109, от трупа длиннохвостого суслика – 1, от даурской пищухи – 3, от плоскочерепной полевки – 1, от каменки плясуны – 1. Эпизоотические проявления зарегистрированы на Каргинском, Борошайском, Толайлыгском, Барлыкском, Кара-Бельдырском, Саглинском и Чозовском участках.

Численность длиннохвостого суслика в 2014 г. в очаге возросла до 4,7 особи на 1 га (2013 г. – 4,1). Средняя плотность нор тарбагана по очагу составила 1,3 жилых бутанов на 1 га (2013 г. – 1,5). На большей части очага сохраняется глубокая депрессия численности монгольской пищухи. В Монгун-Тайгинском мезоочаге она снизилась до 1,5 жилых колоний на 1 га (2013 г. – 3,3). Показатель численности даурской пищухи остался на уровне предыдущего года – 0,9 жилых колоний на 1 га; плоскочерепной полевки составил 1,5 % попадания в орудия лова. На чабанских стоянках в Монгун-Тайгинском мезоочаге в летний период численность грызунов (в основном плоскочерепной полевки) снизилась до 6,2 % (2013 г. – 16,6 %). Средний показатель численности тарбагана составил 1,5 жилых бутанов на 1 га. Особенно напряженная эпидемиологическая обстановка сохраняется на Борошайском участке, где в 2012 г. выделены культуры чумы от трупа тарбагана и его эктопаразитов (ур. Боро-Шай).

В Монгун-Тайгинском мезоочаге обилие блох на длиннохвостом суслике составило 3,4 (2013 г. – 3,7), во входах нор – 0,16 (0,24); в гнездах – 75,0 (38,7). В целом по очагу индекс обилия блох на длиннохвостом суслике снизился до 3,3 (2013 г. – 3,6). Зарегистрирован рост плотности населения вшей в шерсти длиннохвостого суслика, индекс обилия составил 3,6 (2013 г. – 0,7), а также гамазовых клещей, их индекс обилия возрос до 0,1 (2013 г. – 0,05). Отмечена тенденция роста численности иксодовых клещей *D. nuttalli* – индекс обилия личинок и нимф на длиннохвостом суслике равен 13,1 (2013 г. – 12,2).

На второстепенных носителях индексы обилия эктопаразитов остаются на низком уровне. В населенных пунктах блох не обнаружено.

В 2015 г. прогнозируется сохранение высокой эпизоотической активности мезоочагов чумы на территории Монгун-Тайгинского и Овюрского кожуунов Республики Тыва. Показатели численности длиннохвостого суслика и его блох существенно не изменятся. В связи с высокой вероятностью развития эпизоотий чумы в смежных поселениях монгольских сурков и длиннохвостого суслика на территории Овюрского кожууна (Борошайский участок) необходимо значительно усилить здесь эпидемиологический надзор в 2015 г.

**Центрально-Кавказский высокогорный природный очаг.** В 2014 г. возбудитель чумы не выделен. Методом ПЦР подтверждена циркуляция *Y. pestis* на территориях Верхне-Кубанского, Кубано-Малкинского, Малко-Баксанского ландшафтно-эпизоотологических районов (ЛЭР) очага (получено 33 положительных результата).

Средняя численность горного суслика в целом по очагу составила 22,5 особи на 1 га, что практически соответствует уровню прошлого года (22,0). В различных ЛЭР показатели численности составляли: в Верхне-Кубанском – 25,5; Кубано-Малкинском – 19,5; Малко-Баксанском – 25,0; Баксано-Черекском – 20,0 особей на 1 га. Отмечена тенденция восстановления поселений горного суслика в окрестностях кошар частного пользования. На ксерофитных участках горной степи численность зверьков не превышала 12–15 особей на 1 га. Блоха *C. tesquorum*, являющаяся основным переносчиком в очаге, доминировала во всех высотных поясах и составляла в горной степи 79,6 %, в субальпике – 89,9 и зоне альпийских лугов – 83,2 %. Численность этого вида в 2014 г. на различных участках очага оказалась ниже аналогичных показателей 2013 г. На территории Верхне-Кубанского ЛЭР индексы обилия блох составляли в горной степи 4,2 – на сусликах, 5,0 – в гнездах зверьков и 0,5 – во входах нор; в зоне субальпийских лугов – 9,4 и 1,4 и на альпийских лугах – 2,4 и 1,7 на зверьках и их гнездах соответственно. Состояние популяций основного переносчика перед залеганием в спячку не предполагает роста численности в 2015 г. Средний показатель численности мышевидных грызунов составил 7,6 % попадания в орудия лова (2013 г. – 7,0 %). Численность обыкновенной полевки равнялась в среднем 8,0 %. В луговых стациях, где обитает горный суслик, численность лесной и домовых мышей возросла до 2,0 % (2013 г. – 1 %). В населенных пунктах численность мышевидных грызунов колебалась в пределах 5–15 % попадания в орудия лова. Отмечено обитание серой крысы в различных типах объектов на территории н.п. Тырныауз и Былым.

В 2015 г. показатели численности горного суслика сохранятся на уровне среднесезонных значений. Индексы обилия блох существенно не изменят-

ся. Сохраняется вероятность обнаружения единично зараженных чумой животных.

**Терско-Сунженский низкогорный природный очаг.** С 2001 г. зараженных животных в очаге не выявлено. На территории Терского и Сунженского хребтов малый суслик встречается спорадически. Общая площадь поселений носителя не превышает 3 тыс. га. Средняя плотность зверьков составляет 0,1 особи на 1 га. Средний процент попадания мышевидных грызунов в природных биотопах достигал весной и осенью 5,9 % (2013 г. – 12,6 %, среднемноголетнее значение – 3,7 %). Индексы обилия блох на мелких мышевидных грызунах не превышали 1,0, в том числе на лесных мышах – 0,5, на домовых мышах – 0,4. В 2015 г. эпизоотических проявлений на территории очага не ожидается. Сохранится депрессия численности малого суслика. Численность мышевидных грызунов весной составит 3–4 % попадания в орудия лова.

**Дагестанский равнинно-предгорный природный очаг.** С 2004 г. зараженных животных на территории очага не зарегистрировано. В равнинной зоне средние показатели численности малого суслика возросли до 4,3 особи на 1 га (2013 г. – 3,7; среднемноголетний показатель – 0,8). На севере Аграханского полуострова выявлено новое поселение малого суслика площадью свыше 1 тыс. га и плотностью зверьков более 15 особей на 1 га. В предгорной части средняя плотность малого суслика не превышала 2,7 особи на 1 га (2013 г. – 2,8; среднемноголетнее значение – 6,8). Показатель средней численности гребенщиковой песчанки весной достигал 5,0 особей на 1 га (весна 2013 г. – 4,6; среднемноголетнее значение – 6,4). Фоновая численность песчанок от весны к осени уменьшилась до 2,9 особи на 1 га (2013 г. – 5,0; среднемноголетнее значение – 7,6). Показатель численности мышевидных грызунов весной в предгорной зоне достигал 2,7 % попадания в орудия лова (2013 г. – 1,2; среднемноголетнее значение – 3,4); в равнинной зоне не превышал 2,0 % (2013 г. – 0,9; среднемноголетний показатель – 2,1). Осенью численность мышевидных грызунов в предгорной зоне снизилась до 6,9 % (2013 г. – 11,3; среднемноголетнее значение – 10,3 %); в равнинной зоне возросла до 13,9 % (2013 г. – 4,5 и 8,3 %). Отмечено сохранение низкой численности блох грызунов на территории очага. В равнинной части запас эктопаразитов малого суслика весной не превышал 10 экз. на 1 га (2013 г. – 61; среднемноголетний показатель – 18); летом вырос до 52 экз. (среднемноголетняя норма – 28). В предгорной зоне весенний запас снизился до 91 экз. на 1 га (2013 г. – 120; среднемноголетнее значение – 156); летом он достиг 116 экз. на 1 га (2013 г. – 165 и 55). Запас блох гребенщиковой песчанки весной не превышал 7,0 экз. на 1 га (2013 г. – 5,0; среднемноголетнее значение – 23,5); осенью составил 7,8 экз. (2013 г. – 4,0; среднемноголетнее значение – 17,0).

В 2015 г. прогнозируется сохранение тенденции роста численности и площади поселений малого

суслика в равнинной части очага. Возможны находки единичных зараженных животных на локальных участках в совместных поселениях малого суслика и гребенщиковой песчанки.

**Прикаспийский Северо-Западный степной очаг.** В 2014 г. эпизоотий чумы на территории очага не зарегистрировано. Популяции малого суслика и его специфических эктопаразитов продолжают оставаться в состоянии глубокой депрессии. В 2014 г. выход сусликов на поверхность почвы отмечен в январе, а массовое пробуждение произошло в первой декаде февраля, что значительно раньше обычных сроков. Средний показатель численности суслика по очагу составил около 4 особей на 1 га (2013 г. – 5,7; среднемноголетнее значение – 9,6). На севере, юге и восточных склонах Ергенинской возвышенности показатели численности зверьков достигали 3 особей на 1 га, на западных склонах поселений сусликов не выявлено. На Черных землях показатели численности сусликов снизились до 2,8 особи на 1 га. В северной части очага, в том числе на территориях Сарпинской низменности и ложины Даган, в окрестностях стоянок животноводов численность сусликов достигает 11 особей на 1 га.

В природных биотопах фоновые показатели численности мышевидных грызунов составляли весной 3–8, осенью – 5–10 % попадания в орудия лова. В северной части очага на отдельных участках численность мышевидных грызунов достигала 34,3–48,2 %. Во многих биотопах, наряду с домовыми мышью, в качестве субдоминанта отмечена общественная полевка. На Черных землях индекс доминирования общественной полевки достигал 40 %. Численность домовых мышей в населенных пунктах не превышала весной 3,3, осенью – 4,4 % попадания в орудия лова. Заселенность жилых домов мышевидными грызунами равнялась 14–47 %. Численность блох малого суслика на Ергенях достигала 380, в Низменно-солонцеватых степях – 197, на Черных землях – 267 экз. на 1 га, что выше прошлогоднего уровня, но существенно ниже среднемноголетнего. Индексы обилия блох на мышевидных грызунах повсеместно низкие. В населенных пунктах блох не зарегистрировано.

В 2015 г. в очаге сохранится низкий уровень численности носителей и переносчиков чумы. Развитие эпизоотий чумы в очаге маловероятно.

**Волго-Уральский степной очаг.** Последние находки зараженных животных в западной (российской) части очага отмечены в 1975 г., на территории Казахстана – в 2001 г. В границах Астраханской и Волгоградской областей сохраняется глубокая депрессия численности малого суслика. Средний показатель плотности суслика составляет здесь 2,4 особи на 1 га, что значительно ниже среднемноголетнего значения – 8,8.

Средняя численность мышевидных грызунов в природных биотопах весной возросла до 10,7 % (2013 г. – 7,9), осенью – до 12,7 (2013 г. – 9,6) попада-

ния в орудия лова. В населенных пунктах численность мышевидных грызунов составляла 5,3 % (2013 г. – 3,0). В 2014 г. заселенность объектов грызунами в среднем достигала 22,4 % (2013 г. – 15,6). Общий запас блох малого суслика сохранился на низком уровне – 66 экз. на 1 га (2013 г. – 61; средняя многолетняя величина – 368). Индексы обилия блох на мышевидных грызунах повсеместно низкие. В населенных пунктах блох не обнаружено.

В 2015 г. в очаге сохранится низкий уровень численности малого суслика и его блох. Численность мышевидных грызунов не превысит уровня средних многолетних значений. Развитие эпизоотий чумы в очаге маловероятно.

**Забайкальский степной очаг.** С 1971 г. проявлений чумы не зарегистрировано. В очаге сохраняется низкий уровень численности даурского суслика. Средний показатель плотности зверьков составлял весной 0,3 особи на 1 га, летом – 0,5. На локальных участках вблизи населенных пунктов и стоянок животноводов численность суслика несколько выше (2–3 особи на 1 га). Монгольский сурок или тарбаган на территории очага встречается редко: обитает на отдельных труднодоступных участках в гористой местности. Однако местами, где проводят природоохранные мероприятия, отмечается расширение площади поселений монгольского сурка. На территории Олдондинского заказника в среднем его плотность составляет 0,4 жилых бутанов на 1 га, на локальных участках достигает 1,7–2,0 жилых бутанов на 1 га. Показатели численности даурского хомячка в оптимальных биотопах варьировали в пределах 0–8 % попадания в орудия лова (в среднем 1,8). Численность хомячка Кэмпбелла не превышала 0,5 % (в среднем – 0,08). Средний показатель плотности даурской пищухи не превышал весной – 0,4 жилых нор на 1 га, осенью – 0,9. Численность полевков (узкочерепной, монгольской и Брандта) оставалась на очень низком уровне. В населенных пунктах средняя численность домового мыши равнялась 1,0 % попадания в орудия лова. Средние индексы обилия блох повсеместно низкие. На отдельных участках индекс обилия блох составлял на даурском суслике 4,1, на дурской пищухе – 1,4, на стадной полевке – 1,8.

В 2015 г. в очаге сохранится низкий уровень численности даурского суслика и его блох. Проявлений чумы в очаге не ожидается.

**Волго-Уральский песчаный очаг.** Последние эпизоотические проявления на территории Российской Федерации отмечены в 2005 г. В 2014 г. неблагоприятные погодные факторы весенне-летнего периода оказали негативное влияние на состояние численности фоновых видов грызунов и их специфических эктопаразитов. Весной показатель численности песчанок почти вдвое превышал среднее многолетнее значение (4,9 особи на 1 га) и составлял для полуденной песчанки 2,8, для гребенщиковой – 5,6 особи на 1 га. Сезонного увеличения численности песчанок в летне-осенний период не произошло. Осенний по-

казатель численности песчанок был в 1,3 раза ниже среднее многолетнее значение (9,9 особи на 1 га) и составлял для полуденной песчанки – 2,7, гребенщиковой песчанки – 4,7 особи на 1 га. Численность мышевидных грызунов весной составляла 5,2, осенью сократилась до 1,6 % попадания в орудия лова. В населенных пунктах численность мышевидных грызунов весной не превышала 2,2, осенью – 1,8 % при заселенности объектов 16 %. В связи с высокой исходной весенней численностью песчанок общий запас их блох несколько превысил уровень 2013 г. и составил весной 114 экз., осенью возрос до 480 экз. на 1 га. Все эти показатели в 2–3 раза ниже среднее многолетнее значение. В населенных пунктах насекомых не выявлено.

В 2015 г. в очаге сохранится низкий уровень численности носителей и переносчиков возбудителя чумы. Проявлений чумы в очаге не ожидается.

**Восточно-Кавказский высокогорный природный очаг.** В 2014 г. в очаге возбудитель чумы не обнаружен. Средняя численность обыкновенной полевки в горной зоне весной составила 3,7 особи на 1 га (2013 г. – 3,5; среднее многолетнее значение – 3,2). К осени средняя плотность полевков снизилась до 3,2 особи на 1 га (2013 г. – 5,0; среднее многолетнее значение – 11,9). В предгорной зоне численность полевков осенью составила 3,9 особи на 1 га (2013 г. – 3,8; среднее многолетнее значение – 8,7). В горной зоне численность мышевидных грызунов в природных биотопах составила весной 1,2 % попадания в орудия лова (2013 г. – 1,9; среднее многолетнее значение – 2,9), осенью – 1,8 (2013 г. – 1,5; среднее многолетнее – 8,3). В предгорной зоне осенняя численность мышевидных грызунов достигала 6,9 % (2013 г. – 5,3; среднее многолетнее значение – 10,3). В населенных пунктах осенняя численность мышевидных грызунов в предгорной зоне составляла 3,1; в горной – 0 %.

В горной и предгорной зонах отмечена очень низкая численность блох обыкновенной полевки. В горной зоне запас блох весной составлял 2,6 экз. на 1 га (2013 г. – 4,3; среднее многолетнее значение – 53,2), к осени – увеличился до 8,3 экз. на 1 га (2013 г. – 6,0, среднее многолетнее значение – 231). В предгорной зоне этот показатель составлял 6,2 экз. на 1 га (среднее многолетнее значение – 161). Индекс обилия блох на лесной мыши составил 0,15; домового мыши – 0,02; общественной полевке – 0,2. На сером хомячке и полевой мыши блох не обнаружено.

В 2015 г. в очаге прогнозируется низкий уровень численности носителей и переносчиков возбудителя чумы. Сохраняется вероятность обнаружения единичных зараженных животных на участках стойкого проявления чумы.

Представленные выше материалы служат основой для обоснования прогноза на сохранение напряженной эпидемиологической обстановки в природных очагах чумы Северо-Западного Прикаспия и Сибири. В 2015 г. развитие эпизоотий ожидается на территории Прикаспийского песчаного, Горно-

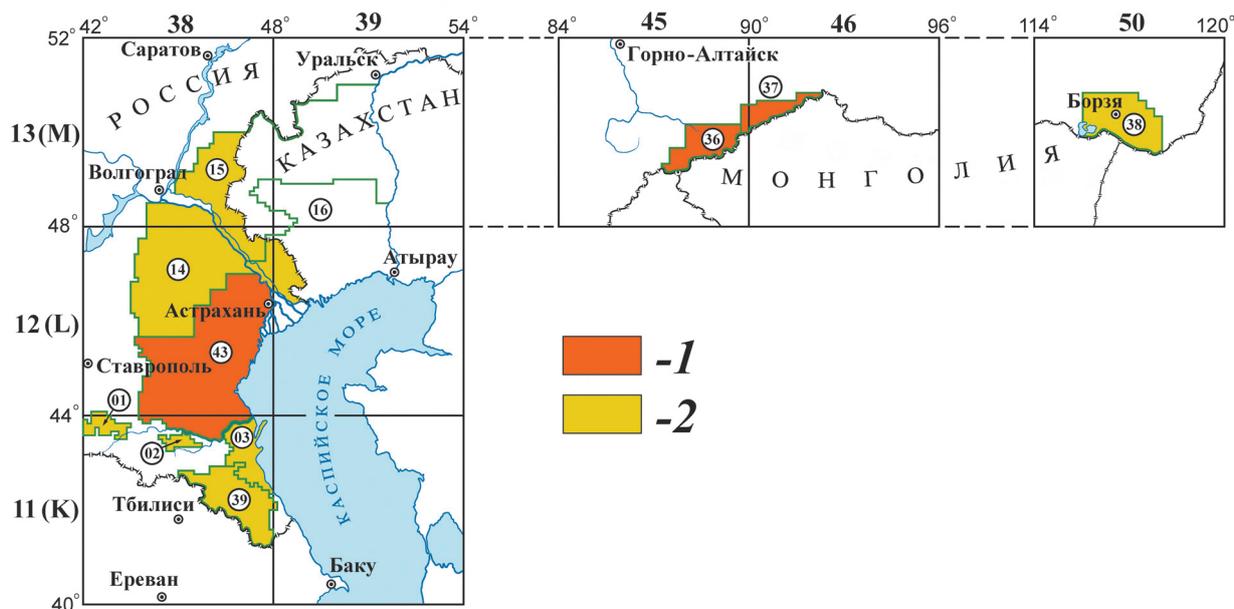


Рис. 2. Прогноз эпизоотической активности природных очагов чумы Российской Федерации на 2015 г.:

1 – сохранение эпизоотической активности; 2 – сохранение межэпизоотического периода

Алтайского высокогорного, Тувинского горного природных очагов чумы (рис. 2). В остальных очагах прогнозируется отсутствие эпизоотий, хотя находки единично зараженных животных не исключены.

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

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кутырев В.В., Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Пакскина Н.Д., Щучинов Л.В., Михайлов Е.П., Мищенко А.И., Рождественский Е.Н., Базарова Г.Х., Денисов А.В., Шарова И.Н., Попов Н.В., Кузнецов А.А. Заболевание человека чумой в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге в 2014 г. Сообщение 1. Эпидемиологические и эпизоотологические особенности проявлений чумы в Горно-Алтайском высокогорном (Сайлюгемском) природном очаге чумы. *Пробл. особо опасных инф.* 2014; 4:9–16.

2. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Природные очаги чумы Кавказа, Прикаспия, Средней Азии и Сибири. М.: Медицина; 2004. 192 с.

3. Попов Н.В., Безсмертный В.Е., Топорков В.П., Матросов А.Н., Князева Т.В., Кузнецов А.А., Попов В.П., Вержуцкий Д.Б., Корзун В.М., Чипанин Е.В., Дубянский В.М., Малецкая О.В., Григорьев М.П., Балахонov С.В., Куличенко А.Н., Кутырев В.В. Эпизоотическая активность природных очагов чумы Российской Федерации в 2013 г. и прогноз на 2014 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2014; 2:13–8.

#### References

1. Kutyrev V.V., Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Pakskina N.D., Shchuchinov L.V., Mikhailov E.P., Mishchenko A.I., Rozhdestvensky E.N., Bazarova G.Kh., Denisov A.V., Sharova I.N., Popov N.V., Kuznetsov A.A. [Infection of an individual with plague in the Gorno-Altai high-mountain natural focus in 2014. Communication 1. Epidemiological and epizootiological peculiarities of plague manifestations in the Gorno-Altai high-mountain (Sailyugemsky) natural plague focus]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2014; 4:9–16.

2. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors. [Natural Plague Foci in Caucasus, Caspian Sea Region, Central Asia, and Siberia]. M.: Meditsina; 2004. 192 p.

3. Popov N.V., Bezsmertny V.E., Toporkov V.P., Matrosov A.N., Knyazeva T.V., Kuznetsov A.A., Popov V.P., Verzhutsky D.B., Korzun V.M., Chipanin E.V., Dubyansky V.M., Maletskaya O.V., Grigoryev M.P., Balakhonov S.V., Kulichenko A.N., Kutyrev V.V. [Epizootic activity of natural plague foci in the Russian Federation in 2013 and prognosis for the year of 2014]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2014; 2:13–8.

#### Authors:

Popov N.V., Matrosov A.N., Knyazeva T.V., Kuznetsov A.A., Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapl@microbe.ru

Bezsmertny V.E., Fedorov Yu.M., Popov V.P. Plague Control Center. 4, Musorgskogo St., Moscow, 127490, Russian Federation. E-mail: protivochym@nlm.ru

Verzhutsky D.B., Korzun V.M., Chipanin E.V., Balakhonov S.V. Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East. 78, Trilissera St., Irkutsk, 664047, Russian Federation. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Dubyansky V.M., Maletskaya O.V., Grigor'ev M.P., Kulichenko A.N. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: snipchi@mail.stv.ru

#### Об авторах:

Попов Н.В., Матросов А.Н., Князева Т.В., Кузнецов А.А., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapl@microbe.ru

Безсмертный В.Е., Федоров Ю.М., Попов В.П. Противочумный центр. Российская Федерация, 127490, Москва, ул. Мусоргского, 4. E-mail: protivochym@nlm.ru

Вержуцкий Д.Б., Корзун В.М., Чипанин Е.В., Балахонov С.В. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока. Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Дубянский В.М., Малецкая О.В., Григорьев М.П., Куличенко А.Н. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: snipchi@mail.stv.ru

Поступила 29.01.15.

Э.А.Москвитина<sup>1</sup>, О.Л.Адаменко<sup>1</sup>, В.Д.Кругликов<sup>1</sup>, С.В.Титова<sup>1</sup>, Е.В.Монахова<sup>1</sup>, Р.В.Писанов<sup>1</sup>,  
С.М.Иванова<sup>2</sup>, Г.Б.Анисимова<sup>1</sup>

## ХОЛЕРА: ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ОБСТАНОВКА В МИРЕ В 2005–2014 гг., ПРОГНОЗ НА 2015 г.

<sup>1</sup>ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт», Ростов-на-Дону, Российская Федерация; <sup>2</sup>ФКУЗ «Противочумный центр», Москва, Российская Федерация

При оценке эпидемиологической обстановки по холере в мире (2005–2014 гг.) установлено распространение инфекции в странах Африки, Азии, Америки, в регионе Карибского Бассейна, с межгосударственными и межконтинентальными завозами инфекции в страны Европы, Австралии с Океанией, Америки, в США и Канаду. Характерны разлитой в пространстве с поражением новых стран, административных территорий и хронический во времени типы эпидемического процесса (Америка, страны Карибского Бассейна; Африка), связанные с чрезвычайными ситуациями природного и социального характера. Наряду с эпидемиями и вспышками, обусловленными генетически измененными вариантами *V. cholerae* O1 El Tor и штаммами с множественной резистентностью к антибиотикам, в странах Юго-Восточной Азии (Китай) ежегодно имеют место вспышки с выделением из клинического материала *V. cholerae* O139 серогруппы. Прогноз по холере в мире на 2015 г. остается неблагоприятным, что, в свою очередь, определяет возможность завоза инфекции в Россию.

*Ключевые слова:* холера, эпидемиологическая обстановка, социальные и природные факторы, *V. cholerae* O1, *V. cholerae* O139, прогноз.

E.A.Moskvitina<sup>1</sup>, O.L.Adamenko<sup>1</sup>, V.D.Kruglikov<sup>1</sup>, S.V.Titova<sup>1</sup>, E.V.Monakhova<sup>1</sup>, R.V.Pisanov<sup>1</sup>, S.M.Ivanova<sup>2</sup>,  
G.B.Anisimova<sup>1</sup>

## Cholera: Epidemiological Situation around the World in 2005–2014, and Prognosis for 2015

<sup>1</sup>Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation; <sup>2</sup>Plague Control Center of the Rospotrebnadzor, Moscow, Russian Federation

Cholera epidemiological situation around the world (2005–2014) has been assessed. Distribution of infection in the territory of African, Asian, and American countries, as well as in the Caribbean Region has been shown. Interstate and inter-continental importations of cholera in Europe, Australia, and America, including USA and Canada have taken place during this period. Epidemic process is spatially disseminated (with involvement and affection of new countries and administrative territories) and temporally chronic (America, the Caribbean Region; Africa) due to occurring of natural or social emergency situations. Alongside epidemics and outbreaks of the disease, caused by genetically altered variants of *V. cholerae* O1 El Tor and strains with multiple drug resistance, outbreaks with isolation of clinical strains of *V. cholerae* O139 serogroup take place in the Southeast Asia (China) on an annual basis. The forecast for 2015, as regards cholera in the world, stays unfavorable, which in its turn allows for the possibility to import this infection in the territory of the Russian Federation.

*Key words:* cholera, epidemiological situation, social and natural factors, *V. cholerae* O1, *V. cholerae* O139, prognosis.

В современный период эпидемиологический надзор за инфекционными болезнями, в том числе за холерой с учетом теоретических основ, методических приемов (эпидемиологический анализ и диагностика), действующих Международных медико-санитарных правил (2005 г.) [1], а также законодательных и нормативных документов на национальных уровнях предназначен для оценки эпидемиологической обстановки на глобальном и других территориальных уровнях, управления потенциальными и реальными эпидемиологическими рисками для предотвращения чрезвычайных ситуаций санитарно-эпидемиологического характера.

В работе использованы сведения проблемно-ориентированных баз данных «Холера Эль-Тор. Эпидемиологический анализ заболеваемости в мире», «Холера Эль-Тор. Мир. Административные территории», «Холера Бенгал», «Холера Эль-Тор. Эпидемиологический анализ заболеваемости в

СНГ, России», «Холерные вибрионы. Россия». Формирование их осуществляли с использованием сведений из Wkly Epidemiologic Record World Health Organization [7–15], AProMED-mailpost <<http://www.promedmail.org>> (2014 г.), с сайта <http://www.mspp.gouv.ht/site/index.php>. Documentation-MSSP, научных публикаций из поисковой системы PubMed, и информационно-библиографической базы данных «Холера и патогенные для человека вибрионы», созданной в Ростовском-на-Дону научно-исследовательском противочумном институте (ретроспектива – с 1989 г.). На основании оперативной информации, поступающей в институт как Референс-центр по мониторингу за холерой, из противочумных институтов и станций, Управлений Роспотребнадзора и ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъектах Российской Федерации Роспотребнадзора, паспортных данных на штаммы после их окончательной идентификации осуществлен анализ выделения

холерных вибрионов O1 и O139 серогрупп из поверхностных водоемов и других объектов окружающей среды в субъектах, различных по типам эпидемических проявлений.

**Мир.** На основании официальных ежегодных данных ВОЗ с 2005 по 2014 год (AProMED-mailpost на 08.12.2014 г.) поступила информация о 2372999 больных в мире с тенденцией снижения показателей заболеваемости при среднем ежегодном темпе –1,498 %. Летальность составила от 1,28 (2012 г.) до 3,06 % (2008 г.). В итоговой сводке о холере в 2013 г. [15] приводится ссылка на сообщение M.Ali *et al.* [6], в котором указано, что «Ежегодно по всему миру холерой болеет от 1,4 до 4,3 млн человек, а также регистрируется от 28 до 142 тыс. смертей от холеры. Во время вспышек многие страны сообщают как о холере о случаях острой водянистой диарее, этиологическим агентом которой является не *V. cholerae*. По этой причине ясно, что фактическое число случаев заболевания холерой может расходиться с официально регистрируемыми цифрами. Далее приводится информация, поступающая со всех континентов в ВОЗ, в соответствии с ММСП (2005 г.), которая нами используется при оценке эпидемиологической обстановки.

В 2014 г. поступили сообщения о 126626 случаях холеры из 31 страны мира, в 2013 г. – 129064 из 47 и в 2012 г. – 251428 из 51 страны соответственно. В структуре мировой заболеваемости в 2014 г. наибольший удельный вес больных холерой приходится на Африканский континент – 76,27 % (96579 больных холерой), на Американском континенте он составил 18,97 % (24022), в странах Азии – 4,76 % (6024), Европы – 0,001 % (1). Показатель летальности в мире в 2014 г. – 1,28 %, в целом в странах Америки – 1,03 %, Африки – 1,38 %, Азии – 0,53 %.

**Азия.** В динамике заболеваемости выявлена тенденция снижения при среднем ежегодном темпе – 2,629 % в 2014 г. (относительно 2005 г.). При этом число пораженных холерой стран, в том числе с завозами, составило 23, из них в Южной Азии – 4 (Индия, Пакистан, Бангладеш, Непал); Юго-Восточной – 10 (Вьетнам, Малайзия, Филиппины, Таиланд и др.); Восточной – 3 (Республика Корея, Япония и Тайвань); Юго-Западной – 2 (Иран, Йемен); Западной Азии – 1 (Ирак); Центральной Азии – 3 (Китай, Афганистан, Казахстан). Эндемичными по холере странами (по состоянию на 2014 г.) являются Индия, Пакистан, Бангладеш и Малайзия. Летальность составила от 0,32 % (2006 г.) до 1,12 % (2011 г.). За анализируемый период зарегистрировано 1044 меж- и внутригосударственных завозов холеры, что указывает на значение миграции населения как косвенного регулятора эпидемического процесса в возникновении вспышек на континенте.

В 2014 г. поступили сообщения о 6024 больных холерой. По данным ВОЗ, представленные странами Азии цифры в 2013 г. (11576 больных холерой) контрастируют с большим числом случаев острой водянистой диарее, значительная часть которых вызвана

*V. cholerae* [15]. В частности, со ссылкой на работу M.Ali *et al.* [6] отмечено, что в Бангладеш ежегодно регистрируются более 2 млн случаев острой водянистой диарее, из которых 22 % могут быть вызваны *V. cholerae*.

Эпидемический процесс при холере в 2014 г. характеризовался:

- поэтапным в пространстве распространением инфекции на континенте, в странах и их административных территориях: в штатах Индии (Uttar Pradesh, West Bengal, Odisha, Gujarat, Maharashtra, Punjab, Kerala, Assam), провинциях Филиппин (South Cotabato, Zamboangadel Sol Province), регионах Непала (Central Region, Rautahat district; Kathmandu), Мьянме (штаты Kachin, Yangon) и Китае;

- сезонностью, с мая по сентябрь – Непал, Филиппины, с июля по декабрь – Индия, октябрь Мьянма, Китай;

- реализацией водного пути распространения возбудителя инфекции за счет контаминации *V. cholerae* источников водоснабжения в Непале (Central Region), на Филиппинах (South Cotabato), в Индии (Uttar Pradesh, West Bengal, Maharashtra); обнаружения *V. cholerae* в городской системе водоснабжения в Мьянме (Yangon); Индии (Gujarat);

- возрастанием риска распространения возбудителя холеры после ливней за счет контаминации источников водоснабжения и водопользования, антисанитарных условий;

- активизацией эпидемических проявлений в лагере для перемещенных гражданских лиц, бежавших от вооруженного конфликта в Мьянме, штате Kachin [17, 33].

Эпидемии и вспышки в странах Азии обусловлены штаммами *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, серовара Огава с холерным токсином классического биовара (CTX) и аллелью В-7 гена *ctxB* [44, 48, 52]. В Непале выявлены штаммы *V. cholerae*, которые имели все открытые рамки считывания (ORF), характерные для VSP-I, но были лишены ORF 498-511 островка VSP-II. Штаммы характеризовались множественной устойчивостью к антибиотикам. Они проявляли резистентность к триметоприм-сульфаметоксазолу, налидиксовой кислоте и стрептомицину и несли генетический элемент SXT[42].

P.Zhang *et al.* [54] при характеристике 211 штаммов *V. cholerae* серогруппы O139, выделенных из различных местностей в Китае в период с 1993 по 2012 год от больных (n=92) и из окружающей среды (n=119), установлено, что среди клинических штаммов 88 (95,7 %) из 92 были токсигенными в сравнении с 47 (39,5 %) из 119 природных штаммов. Токсигенные штаммы несли профаг CTX и ген *tcpA* типа Эль Тор, а также островки VSP-I и VSP-II. В отличие от этого, у нетоксигенных штаммов по преимуществу отсутствовали VSP-I и VSP-II, штаммы относились к двум клонам, отличавшимся от токсигенных штаммов. В подгруппе из 42 токсигенных штаммов, которые были типированы методом мультилокусного секвени-

рования (MLST), все штаммы относились к тому же типу последовательности, что и клинический штамм (MO45), выделенный во время вспышки, берущей начало в Индии. Эти данные позволили исследователям предположить, что токсигенные штаммы *V. cholerae* O139, широко разделенные географически, хотя и демонстрируют некоторое разнообразие, но при этом в течение двадцатилетнего периода сумели сохранить сравнительно устойчивую клональную структуру.

**Африка.** С 2005 по 2014 год на континенте зарегистрировано 1470027 больных холерой (62,84 % от мировой заболеваемости). В динамике заболеваемости выявлена тенденция снижения в 2014 г. со средним ежегодным темпом – 3,880 % (относительно 2005 г.). Число стран, где имели место эпидемии и вспышки, варьировало от 22 (2013 г.) до 36 (2008 г.). При этом установлено поражение холерой за последнее десятилетие всех регионов континента, преимущественно Центрального, Западного, Восточного и в 2014 г. Северного (рис. 1). Эндемичные территории, где эпидемические проявления имели место более трех лет, выявлены на 31 административной территории 13 стран Западного, Восточного и Центрального регионов континента, что было обусловлено чрезвычайными ситуациями природного и, в основном, социального характера. Летальность – от 1,78 (2005 г.) до 3,66 % (2013 г.). В ВОЗ поступила информация о 66 завозах в 2008 г. [10].

В 2014 г. из разных источников поступили сообщения о холере из 19 стран, из них из Западного региона – 9 (Бенин, Гана, Гвинея, Гвинея-Бисау, Кот-д'Ивуар, Либерия, Нигер, Нигерия, Того), Восточного – 5 (Бурунди, Замбия, Зимбабве, Сомали, Уганда), Центрального – 3 (Демократическая Республика Конго, Камерун и Чад), Северного – 1 (Южный Судан) и Южного – 1 (Намибия). Эпидемиологическая обстановка на Африканском континенте была обусловлена:

- продолжением эпидемий, начавшихся в ноябре 2013 г. в Нигерии (штаты Kano, Zamfara), Демократической Республике Конго (провинция Katanga), Намибии (провинция Kunene) [16, 17, 23], стреми-

тельным распространением инфекции с поражением новых административных территорий, высокими показателями заболеваемости и летальности, неконтролируемым числом больных холерой [16, 23, 28, 38];

- внутригосударственной и межгосударственной миграцией, связанной с перемещением сотен тысяч беженцев, в том числе в результате междоусобных военных действий (Нигерия, штаты Vorno, Taraba; Нигер; Сомали, регион Galguduud; Южный Судан, Central Equatoria; Камерун, провинция Far North Region, Гана), созданием критических ситуаций в связи с дефицитом источников водоснабжения, низкими санитарными условиями в лагерях для перемещенных лиц, катастрофической их переполненностью [28, 34, 37];

- среди социальных факторов риска для здоровья населения континента на первом месте стоит отсутствие надлежащих санитарных условий, а следовательно, и соответствующего санитарного уровня населения; отсутствие доброкачественной питьевой воды, в том числе из-за нарушения функционирования городских систем водоснабжения, периодического пересыхания источников водоснабжения во время засухи; участие в погребении умерших от холеры [16, 19, 21, 23, 27, 29];

- реализацией водного пути распространения возбудителя холеры за счет употребления воды из открытых водоемов, из озера Танганьика, куда попадают стоки из туалетов (Демократическая Республика Конго, провинция South Kivu), рек и ручьев (Южный Судан, East Equatoria) [30, 33];

- природными факторами, влияющими на активизацию эпидемического процесса: засуха, неурожай, голод, что вынуждает местных жителей и беженцев отправляться в поисках пищи (Нигер), наступление сезона дождей (Нигерия, Замбия, Южный Судан) [18, 22, 28];

- малочисленностью медицинского персонала, отсутствием нового поступления лекарств и других ресурсов, необходимых для сдерживания вспышек (Сомали, Middle Jubba; Уганда, дистрикт Namaungo, Камерун, провинция Far North Region; Гана) [26, 35, 36, 38].

Министерство здравоохранения Республики Южный Судан при поддержке ВОЗ, ЮНИСЕФ, организаций «Врачи без границ» и других провели кампании по вакцинации против холеры более 80 тыс. человек, в том числе в лагерях для перемещенных лиц, для сдерживания вспышки [25]. ВОЗ, ЮНИСЕФ, ООН, «Врачи без границ» оказывали помощь в осуществлении надзора, обеспечении лекарствами, продовольствием в крупных, а также малодоступных очагах холеры в разных странах континента.

В работе S.Rebaudet *et al.* [51] при определении происхождения эпидемии холеры в Гвинею в 2012 г. с использованием данных эпидемиологического и молекулярного анализов, в частности полногеномного секвенирования, клинические штаммы были охарактеризованы как «атипичные» варианты Эль Тор, не-

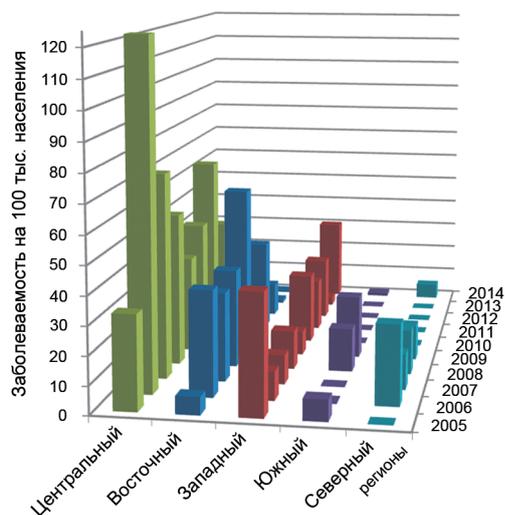


Рис. 1. Динамика заболеваемости холерой по регионам Африки, 2005–2014 гг.

сущие ген *ctxB* классического типа. Полногеномный филогенетический анализ на основе полиморфизмов по одному нуклеотиду (SNP) позволил установить, что штамм из Гвинеи отличался от ранее изученных штаммов в этой стране и был родственен штаммам, выделенным в Бангладеш в 1994 г. и в Сьерра-Леоне в 2012 г., откуда был установлен завоз холеры. О выделении при вспышках генетически измененных *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, а также резистентных к антибиотикам штаммов указано в работах P.Kumar *et al.* [45], O.C.Stine, J.G.Morris [53].

**Америка.** Эпидемиологические осложнения по холере отмечены в странах Карибского бассейна, Южной и Центральной Америки, имели место завозы инфекции в США и Канаду.

**Страны Карибского бассейна.** В Гаити, Доминиканской Республике и на Кубе в 2014 г. выявлено снижение уровня в динамике заболеваемости.

**Гаити.** По данным Министерства общественного здравоохранения и народонаселения Гаити, с 18.10.2010 по 08.12.2014 г. зарегистрировано 720524 больных холерой, летальных исходов – 8774 [34]; в 2014 г. – 23730 и 243 соответственно, летальность – 1,02 %, которая в летний и осенний сезоны в ряде департаментов страны (Северном, Северо-Восточном, Южном, Юго-Восточном и Гранд-Ансе) была значительно выше. Холеру регистрируют с января по декабрь с подъемами в сезоны дождей. Координатор ООН по вопросам реагирования на холеру в Гаити отметил, что, несмотря на снижение заболеваемости холерой, для распространения болезни по-прежнему имеются условия. Лишь 25 % населения Гаити имеет доступ к медико-санитарным услугам, в стране самые низкие в мире уровни охвата населения питьевой водой и канализацией [31]. Среди профилактических мер можно отметить планы по реализации национальной программы иммунизации населения страны в 2014 г., инициатором которой являлось Министерство общественного здравоохранения и народонаселения при поддержке ВОЗ и Регионального Отделения ВОЗ по странам Америки, а также инициативу Международного Комитета Красного Креста в сотрудничестве с властями Гаити и Министерством юстиции о проведении кампании вакцинации для сдерживания распространения холеры в тюрьмах страны [40, 43]. С 2010 г. выявлено распространение из Гаити штаммов *V. cholerae* El Tor O1, несущих классический ген *ctxB*, в страны Карибского бассейна, Центральной, Южной Америки, США и в Европу [2, 3].

Прогноз по холере в Гаити на 2015 г. остается неблагоприятным. Это обусловлено, наряду с социальными и природными факторами, формированием эндемичных территорий, что, в первую очередь, зависит от постоянного присутствия в водных источниках страны токсигенных штаммов *Vibrio cholerae*. С этой точки зрения обнаружение M.Rahman *et al.* [49] высокой продукции ругозного экзополисахарида клиническими и природными штаммами *Vibrio cholerae*, выделенными в Гаити, может быть факто-

ром, благоприятствующим персистенции вибрионов в окружающей среде.

**Доминиканская Республика.** С начала эпидемии (ноябрь 2010 г.) зарегистрировано 31703 больных холерой с 472 летальными исходами, в 2014 г. – 231 и 5 соответственно [41]. По данным PAHO/WHO, холера выявлена в провинциях Maria Trinidad, Santo Domingo, Santiago San Pedro de Macoris, La Altagracia, Azua, San Juan с февраля по декабрь 2014 г. [19]. В ряде провинций (Santiago, Santo Domingo и San Juan) холеру регистрируют ежегодно, что свидетельствует о формировании эндемичных территорий в стране.

**Куба.** В 2014 г. зарегистрировано 43 случая холеры, в том числе в провинциях Camaguey и Villa Clara, муниципалитете Ranchuel, где факторами передачи возбудителя инфекции являлись употребление пищи, купленной у уличных торговцев, и отсутствие доступа к доброкачественной питьевой воде [20, 32], летальность – 9,3 %. С 2012 г. холерой оказались поражены 10 из 16 провинций, Villa Clara – впервые в 2014 г., что свидетельствует о распространении возбудителя инфекции на новые территории.

**Центральная Америка. Мексика.** После крупной вспышки в 2013 г., когда было выявлено 187 больных холерой и один умерший (летальность – 0,53 %) [15], по данным PAHO/WHO, с июня по декабрь 2014 г. число больных холерой достигло 14, из них в штате Hidalgo 13, в штате Queretaro – 1 [41]. Различия в распространении холеры в Гаити и Мексике напрямую связана с уровнем инфраструктуры водоснабжения и состоянием общественного здравоохранения [31].

**Южная Америка.** Национальный координатор ММСП в Чили сообщил в 2014 г. о подтвержденном случае холеры, вызванном *Vibrio cholerae* O1 Огава. Этот больной ранее совершил поездку на Кубу [39]. В 2013 г. также имели место завозы холеры из Кубы в Чили (2) и Венесуэлу (2) [24].

**Европа.** За анализируемый период в ВОЗ поступила информация о завозах холеры: в Австрию, Бельгию, Польшу (2005 г.), Швейцарию и Швецию (2006 г.), Великобританию (2006–2011, 2013 гг.), Францию (2006–2009, 2011 гг.), Германию (2006–2007, 2010, 2011 гг.), Испанию (2006–2008, 2010 гг.), Норвегию (2005–2007 гг.), Финляндию, Нидерланды, Данию (2005, 2006, 2008 гг.), Италию (2006–2007, 2013 гг.), Словению (2007 г.), Украину (2007, 2011 гг.). Распространения инфекции, кроме Украины (2011 г.), в странах Европы не отмечено.

**Австралия с Океанией.** За анализируемый период зарегистрированы крупные вспышки холеры в Папуа-Новая Гвинея – 1957 (38,91 ‰) больных в 2009 г., 8997 (178,87 ‰) – в 2010 г. и 1535 (30,52 ‰) – в 2011 г. Имели место завозы без распространения возбудителя инфекции в Австралию (2007, 2010–2011, 2013 гг.). Летальность в Австралии с Океанией – от 0,13 (2011 г.) до 2,30 % (2009 г.).

Холера, обусловленная *V. cholerae* O139 серогруппы, имеет распространение, ограниченное, в основном, странами Юго-Восточной Азии – Китай (2005,

2007–2009, 2012–2013 гг.) и Таиланд (2007, 2008 гг.) и Южной – Индия (2011 г.). Имели место завозы холеры Бенгал в Украину (2007 г.), Россию (2008 г.) и США (2009 г.) без последующего распространения.

**Страны СНГ.** За указанный период холера отмечена в Казахстане в 2005 [5] и 2008 гг. [10], а также в Украине в 2007 [9] и 2011 гг. При вспышке холеры в Украине, в Донецкой области в 2011 г., по данным государственной санитарно-эпидемиологической службы Украины, с 29.05 по 09.09.2011 г. было зарегистрировано 33 больных и 24 вибриононосителя с выделением из клинического материала *V. cholerae* El Tor серовара Огава, *ctxAB*<sup>+</sup> *tcpA*<sup>+</sup>. Завозы холеры на фоне изоляции в указанных и других странах СНГ атоксигенных гемолизположительных холерных вибрионов О1 из поверхностных водоемов и других объектов окружающей среды позволяют в целом оценить эпидобстановку как неустойчивую.

**Россия.** Характерны завозы холеры с выделением от больных холерных вибрионов О1 биовара Эль Тор серовара Огава с генами *ctxA*<sup>+</sup> *tcpA*<sup>+</sup> в Мурманскую область (2006 г.) и Москву (2010, 2012, 2014 гг.) из Индии; в Тверскую область и Москву (2005 г.) – из Таджикистана. В этот период отмечен завоз холеры, обусловленной атоксигенными холерными вибрионами О1 биовара Эль Тор, серовара Огава, в Ростовскую область (2005 г.) из Таджикистана с локальной вспышкой (два больных холерой и 30 вибриононосителей) и реализацией водного пути передачи возбудителя инфекции [4].

Одно из ключевых мест при оценке и прогнозировании эпидемиологической обстановки по холере занимают сведения о выделении холерных вибрионов из объектов окружающей среды. С использованием сведений проблемно-ориентированной базы данных «Холерные вибрионы. Россия» установлено, что в 32 субъектах Российской Федерации с 2005 по 2014 год из воды поверхностных водоемов и других объектов окружающей среды выделено 614 штаммов холерных вибрионов *V. cholerae* О1 *ctxA*<sup>+</sup> и *tcpA*<sup>+</sup>, *ctxA*<sup>+</sup> и *tcpA*<sup>+</sup> и *V. cholerae* О139 *ctxA*<sup>+</sup> и *tcpA*<sup>+</sup>, а также три штамма *V. cholerae* О1 биовара Эль Тор, *ctxA*<sup>+</sup> и *tcpA*<sup>+</sup> (Санкт-Петербург, 2005 г.; Ростовская область, 2011, 2014 гг.). Штаммы *V. cholerae* О139 *ctxA*<sup>+</sup> и *tcpA*<sup>+</sup> были изолированы в Москве (2005–2006, 2008 гг.), Иркутской (2006 г.), Челябинской (2010, 2012 гг.) областях.

В соответствии с письмом Руководителя Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека «О резолюции совещания специалистов Роспотребнадзора по совершенствованию эпиднадзора за холерой» от 23.06.2014 г. № 01/7042-14-32 сотрудниками ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора совместно со специалистами Управления Роспотребнадзора по Республике Крым проведено определение эпидемического потенциала Республики Крым и города федерального значения Севастополя с учетом показателей, характеризующих многофакторность эпидемического

процесса при холере. Республика Крым отнесена к территориям I типа по эпидемическим проявлениям холеры, город федерального значения Севастополь – к территориям III типа подтипа А по эпидемическим проявлениям холеры с соответствующей тактикой эпидемиологического надзора.

Установлено, что на территориях I типа по эпидемическим проявлениям холеры изолировано 94 (13,75 %) штамма *V. cholerae* О1 серогруппы, II типа – 329 (54,74 %), III типа подтипа А – 109 (18,14 %), III типа подтипа Б – 69 (11,48 %), рис. 2. Штаммы *V. cholerae* О1 гемолизотрицательные, *ctxA*<sup>+</sup> и *tcpA*<sup>+</sup> были изолированы на территориях I типа и III типа подтипа А. *V. cholerae* О139 обнаружены в поверхностных водоемах на территориях III типа подтипа А. Сезон обнаружения – с мая (Москва, 2005 г.; Ростовская область, 2006 г.) по сентябрь.

Систематизация данных о выделении холерных вибрионов из объектов окружающей среды с учетом регламентированной в стране тактики эпидемиологического надзора позволила установить, что холерные вибрионы были обнаружены на территориях I типа: в зонах санитарной охраны поверхностных водоемов, используемых для питьевого и хозяйственно-бытового водоснабжения (Ростовская область, 2005 г.; Астраханская область, 2012 г.; Ставропольский край, 2005–2006 гг.); в зонах организованного (Ростовская область, 2011 г.) и неорганизованного рекреационного водопользования (Ростовская область, 2005–2006, 2011, 2013–2014 гг.); в местах сброса хозяйственно-бытовых сточных вод (Ростовская область, 2005–2014 гг.; Республика Крым, 2014 г.); в точках отбора проб по санитарно-гигиеническим показаниям, в частности, в местах возможных аварийных сбросов в водные объекты (Ростовская область, 2008–2010 гг.).

На территориях II типа холерные вибрионы изолированы: в зонах санитарной охраны поверхностных водоемов (Республика Калмыкия, 2010, 2012 гг.; Приморский край, 2005–2008 гг.); в зонах организованного (Республика Калмыкия, 2010, 2012, 2014 гг.; Краснодарский край, 2005, 2007, 2013 гг.) и неорганизованного рекреационного водопользования (Республика Калмыкия, 2005–2014 гг.; Приморский край, 2007–2009, 2011 гг.); в местах сброса сточных вод в поверхностные водоемы (Республика Калмыкия, 2009–2014 гг.; Приморский край, 2005–2008, 2010 гг.); по санитарно-гигиеническим пока-

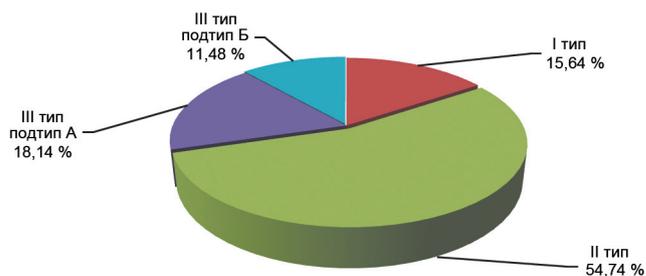


Рис 2. Удельный вес выделенных штаммов холерных вибрионов О1 в субъектах Российской Федерации, различных по типам эпидемических проявлений холеры, 2014 г.

заниям (вода плавательного бассейна, Республика Калмыкия, 2007, 2011 гг.); в местах возможных аварийных сбросов в водные объекты (Приморский край, 2010, 2014 гг.).

На территориях III типа подтипа А холерные вибрионы обнаружены: в зонах санитарной охраны поверхностных водоемов (Кировская область, 2012 г.); в зонах организованного (Санкт-Петербург, 2009 г.; Архангельская область, 2009 г.; Иркутская и Липецкая области, 2011 г.; Тюменская и Челябинская области, 2012 г.; Калининградская область, 2014 г.; Республика Татарстан, 2012, 2014 гг.) и неорганизованного рекреационного водопользования: (Вологодская область, 2010 г.; Санкт-Петербург, 2005 г.; Москва, 2005–2006, 2008, 2010, 2011 гг.; Республика Татарстан, 2011, 2014 гг.; Алтайский край, 2011–2012, 2014 гг.; Новосибирская, 2006, 2008–2009 гг.; Кемеровская, 2011 г.; Иркутская области, 2005–2006, 2009–2011 гг.); в местах сброса хозяйственно-бытовых сточных вод (Москва, 2011–2012, 2014 гг.; Рязанская область, 2006, 2014 гг.; Кировская область, 2007, 2012 гг.; Республика Татарстан, 2010 г.; Тюменская и Челябинская области, 2008 и 2010 гг.; Алтайский край, 2009 г.; Иркутская область, 2006, 2009–2010, 2012–2014 гг.; Республика Саха, 2009 г.); по санитарно-гигиеническим показателям (Иркутская область, 2009 г.).

На территориях III типа подтипа Б установлено выделение холерных вибрионов: в зонах санитарной охраны поверхностных водоемов (Забайкальский край, 2005 г., Хабаровский край, 2006 г.); в зонах организованного (Забайкальский край, 2007–2009, 2012–2014 гг.; Свердловская область, 2005, 2008 гг.; Республики Бурятия и Коми, 2013 г.) и неорганизованного рекреационного водопользования (Республика Коми, 2010 г.; Забайкальский край, 2006, 2009, 2013 гг.; Свердловская область, 2008 г.; Воронежская область, 2007 г.); в местах сброса хозяйственно-бытовых сточных вод (Забайкальский край, 2005, 2007, 2009, 2011–2012 гг., Хабаровский край, 2006, 2013 гг.; Республике Алтай, 2005 г.; Псковская область, 2005, 2014 гг.); в точках, определенных по санитарно-гигиеническим показателям (Забайкальский край, 2008–2010 гг.).

В 2014 г. из воды поверхностных водоемов и других объектов окружающей среды в 12 субъектах России изолировано 39 штаммов *V. cholerae* O1 El Tor, серовара Огава – 25 и серовара Инаба – 13, R-вариант – 1, атоксигенных – 38, токсигенных – 1.

Токсигенный штамм *V. cholerae* O1 El Tor Inaba № 81 был выделен в Ростовской области, идентифицирован в Референс-центре по мониторингу за холерой. Проведение полногеномного секвенирования штамма выявило наличие в его геноме гибридного профага CTX, содержащего ген *ctxB* классического типа (аллель *ctxB1*) и ген *rstR* типа Эль Тор, ген *tcpA* с мутациями в кодирующей и промоторной областях (аллель *tcpETCIRS*), а также наличие null-мутации в гене *rtxA* (аллель *rtxA4*) и протяженной делеции в пределах острова пандемичности. Сравнительный анализ

по ПЦР и VNTR-анализу показал, что штамм является геновариантом штамма *V. cholerae* 301 Инаба, выделенного из воды Таганрогского залива в 2011 г. во время эпидемии по холере на территории Украины (Мариуполь). Результаты полногеномного секвенирования были выложены в GenBank (Номера доступа сиквенсов ДНК штамма *V. cholerae* 81, полученных в рамках настоящего исследования, в GenBank: JPOP00000000/SAMN02911891, JRQM00000000 (полногеномные сиквенсы), KM352500 (CTX), KM401563 (CTX+RTX), KM816583 (RS1), KM660639 (VSP-II)), а также в Интернет-базе данных NCBI (№ регистрации в Интернет-базе данных NCBI: *Vibrio cholerae* O1 str. RND81; Bioproject PRNJA255199).

В связи с выделением токсигенных штаммов из водных объектов был введен и реализован план оперативных санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий по холере. По результатам эпидрасследования выявлены возможные источники контаминации поверхностных водоемов. Ежегодное выделение атоксигенных холерных вибрионов указывает на необходимость выявления потенциальных и реальных рисков контаминации холерными вибрионами O1/O139 серогрупп водных объектов и их устранения.

Таким образом, на основании оценки эпидемиологической обстановки по холере в мире за 2005–2014 гг. установлено интенсивное и широкомасштабное распространение инфекции в странах Африки, Азии, Америки, в регионе Карибского бассейна, межгосударственными и межконтинентальными перевозками инфекции в страны Европы, Австралии с Океанией, Америки, в США и Канаду. Характерны разлитой в пространстве с поражением новых стран, административных территорий и хронический во времени типы эпидемического процесса (Америка, страны Карибского бассейна; Африка), связанные с чрезвычайными ситуациями природного и социального характера. Наряду с эпидемиями и вспышками, обусловленными генетически измененными вариантами *V. cholerae* O1 El Tor и штаммами с множественной резистентностью к антибиотикам, в странах Юго-Восточной Азии (Китай) ежегодно имеют место вспышки с выделением из клинического материала *V. cholerae* O139 серогруппы.

Прогноз по холере в мире на 2015 г. с учетом изложенного остается неблагоприятным, что, в свою очередь, определяет возможность завоза инфекции в Россию.

Приносим благодарность Т.В.Ковалёвой – сотруднику информационно-аналитической группы лаборатории эпидемиологии особо опасных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт» за помощь при подготовке материалов для статьи.

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Международные медико-санитарные правила (2005 г.). Всемирная организация здравоохранения. Женева; 2006. 79 с.
2. Москвитина Э.А., Мазрухо А.Б., Адаменко О.Л., Арешина О.А., Назаретян А.А., Кругликов В.Д., Иванова С.М., Козина Д.А. Характеристика эпидемиологической обстановки по холере в мире (2003–2012 гг.) и прогноз на 2013 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 1:11–7.
3. Москвитина Э.А., Адаменко О.Л., Дворцова И.В., Кругликов В.Д., Иванова С.М., Козина Д.А. Эпидемиологическая обстановка по холере в мире в 2013 г., прогноз на 2014 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2014; 2:19–26.
4. Онищенко Г.Г., Ломов Ю.М., Москвитина Э.А., Подосинникова Л.С., Монахова Е.В., Водопьянов А.С., Телеснич Н.Р., Дудина Н.П. Эпидемические проявления холеры, обусловленные ctxAB<sup>+</sup> trpA<sup>+</sup> холерными вибрионами O1. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* 2007; 1:23–9.
5. Сагымбек У.А., Мусагалиева Р.С., Касенова А.К., Сеитова Р.А. Эпидемическая и неэпидемическая холера на территории Республики Казахстан. *Окружающая среда и здоровье населения.* Алматы, 2012; 2:28–32.
6. Ali M., Lopez A.L., You Y.A., Kim Y.E., Sah B., Maskery B., Cemens J. The global burden of cholera. *Bull. World Health Organisation.* 2012; 90:209–18A.
7. Cholera, 2005. *Wkly Epidem. Rec.* 2006; 81(31):297–308.
8. Cholera, 2006. *Wkly Epidem. Rec.* 2007; 82(31):273–84.
9. Cholera, 2007. *Wkly Epidem. Rec.* 2008; 83(31):269–84.
10. Cholera: global surveillance summary, 2008. *Wkly Epidem. Rec.* 2009; 84(31):309–24.
11. Cholera, 2009. *Wkly Epidem. Rec.* 2010; 85(31):293–308.
12. Cholera, 2010. *Wkly Epidem. Rec.* 2011; 86(31):325–40.
13. Cholera, 2011. *Wkly Epidem. Rec.* 2012; 87(31):289–304.
14. Cholera, 2012. *Wkly Epidem. Rec.* 2013; 88(31):321–6.
15. Cholera, 2013. *Wkly Epidem. Rec.* 2014; 89(31):345–56.
16. Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (02): Africa, 2014 [Internet]. 10 Jan 2014 [cited 10 Jan 2014]. Archive number: 20140113.2168248. Available from: <http://www.promedmail.org>.
17. Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (04): Africa, Asia [Internet]. 17 Jan 2014 [cited 17 Jan 2014]. Archive number: 20140124.2226620. Available from: <http://www.promedmail.org>.
18. Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (08): Africa, 2014 [Internet]. 4 Mar 2014 [cited 4 Mar 2014]. Archive number: 20140305.2315513. Available from: <http://www.promedmail.org>.
19. Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (09): Americas, 2014 [Internet]. 20 Mar 2014 [cited 20 Mar 2014]. Archive number: 20140322.2349186. Available from: <http://www.promedmail.org>.
20. Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (10): Americas, 2014 [Internet]. 28 Mar 2014 [cited 28 Mar 2014]. Archive number: 201440330.2366959. Available from: <http://www.promedmail.org>.
21. Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (11): Africa, 2014 [Internet]. 27 Mar 2014 [cited 27 Mar 2014]. Archive number: 20140330.2367620. Available from: <http://www.promedmail.org>.
22. Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (15): Africa, 2014 [Internet]. 28 Apr 2014 [cited 28 Apr 2014]. Archive number: 20140430.2439912. Available from: <http://www.promedmail.org>.
23. Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (16): Africa, 2014 [Internet]. 30 Apr 2014 [cited 30 Apr 2014]. Archive number: 20140501.2442685. Available from: <http://www.promedmail.org>.
24. Cholera, diarrhea & dysentery update 2013 (19): Chile, Venezuela (ex Cuba). [Internet]. 13 Aug 2013 [cited 13 Aug 2013]. Archive number: 20130813.1877405. Available from: <http://www.promedmail.org>.
25. Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (21): Africa, 2014 [Internet]. 15 May 2014 [cited 15 May 2014]. Archive number: 20140516.2477056. Available from: <http://www.promedmail.org>.
26. Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (22): Africa, Asia, 2014 [Internet]. 15 May 2014 [cited 15 May 2014]. Archive number: 20140517.2478988. Available from: <http://www.promedmail.org>.
27. Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (24): South Sudan (Jonglei), 2014 [Internet]. 18 May 2014 [cited 18 May 2014]. Archive number: 20140519.2482234. Available from: <http://www.promedmail.org>.
28. Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (33): South Sudan (Central Equatoria), 2014 [Internet]. 1 Jun 2014 [cited 1 Jun 2014]. Archive number: 20140601.2512341. Available from: <http://www.promedmail.org>.
29. Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (41): South Sudan, 2014 [Internet]. 16 Jun 2014 [cited 16 Jun 2014]. Archive number: 20140616.2544496. Available from: <http://www.promedmail.org>.
30. Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (44): South Sudan, Eastern Equatoria 2014 [Internet]. 25 Jun 2014 [cited 25 Jun 2014]. Archive number: 20140625.2565655. Available from: <http://www.promedmail.org>.
31. Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (45): Americas (Haiti, Mexico), 2014 [Internet]. 25 Jun 2014 [cited 25 Jun 2014]. Archive number: 20140627.2568444. Available from: <http://www.promedmail.org>.
32. Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (51): Americas, 2014 [Internet]. 7 Jul 2014 [cited 7 Jul 2014]. Archive number: 20140709.2595720. Available from: <http://www.promedmail.org>.
33. Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (59): Africa, Asia [Internet]. 30 Jul 2014 [cited 30 Jul 2014]. Archive number: 20140802.2652007. Available from: <http://www.promedmail.org>.
34. Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (60): Africa, 2014 [Internet]. 2 Aug 2014 [cited 2 Aug 2014]. Archive number: 20140805.2656406. Available from: <http://www.promedmail.org>.
35. Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (61): Africa, 2014 [Internet]. 6 Aug 2014 [cited 6 Aug 2014]. Archive number: 20140806.2664874. Available from: <http://www.promedmail.org>.
36. Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (64): Ghana, 2014 [Internet]. 31 Aug 2014 [cited 31 Aug 2014]. Archive number: 20140902.2738541. Available from: <http://www.promedmail.org>.
37. Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (72): Ghana, 2014 [Internet]. 9 Oct 2014 [cited 9 Oct 2014]. Archive number: 20141011.2850486. Available from: <http://www.promedmail.org>.
38. Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (76): Africa, 2014 [Internet]. 30 Oct 2014 [cited 30 Oct 2014]. Archive number: 20141031.2918082. Available from: <http://www.promedmail.org>.
39. Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (77): Cuba. [Internet]. 6 Nov 2014 [cited 6 Nov 2014]. Archive number: 20141108.2936964. Available from: <http://www.promedmail.org>.
40. Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (78): Americas, Africa, Asia. Haiti (Port-au-Prince) prison vaccination program [Internet]. 16 Nov 2014 [cited 16 Nov 2014]. Archive number: 20141120.2962893. Available from: <http://www.promedmail.org>.
41. Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (84): Americas, 2014 [Internet]. 2 Dec 2014 [cited 2 Dec 2014]. Archive number: 20141224.3053142. Available from: <http://www.promedmail.org>.
42. Dixit S.M., Johura F.T., Manandhar S., Sadique A., Rajbhandari R.M., Mannan S.B., Rashid M.U., Islam S., Karmacharya D., Watanabe H., Sack R.B., Cravioto A., Alam M. Cholera outbreaks (2012) in three districts of Nepal reveal clonal transmission of multi-drug resistant *Vibrio cholerae* O1. *BMC Infect. Dis.* 2014; 14(1):392.
43. Haiti cholera success of the second vaccination campaign. [cited 17 Sep 2014] Available from: <http://www.haitilibre.com/en/news-12338>.
44. Koley H., Ray N., Chowdhury G., Barman S., Mitra S., Ramamurthy T., Mukhopadhyay A.K., Sarkar B.L., Katyal R., Das P., Panda S., Ghosh S. Outbreak of cholera caused by *Vibrio cholerae* O1 El Tor variant strain in Bihar, India. *Jpn. J. Infect. Dis.* 2014; 67(3):321–6.
45. Kumar P., Mishra D.K., Deshmukh D.G., Jain M., Zade A.M., Ingole K.V., Goel A.K., Yadava P.K. *Vibrio cholerae* O1 Ogawa El Tor strains with the ctxB7 allele driving cholera outbreaks in south-western India in 2012. *Infect. Genet. Evol.* 2014; 25(C):93–6.
46. Mahmud Z.H., Islam S., Zaman R.U., Akter M., Talukder K.A., Bardhan P.K., Khan A.I., Rhodes E.C., Kamara A., Wurie I.M., Alemu W., Jambai A., Faruque S.M., Clemens J.D., Islam M.S. Phenotypic and genotypic characteristics of *Vibrio cholerae* O1 isolated from the Sierra Leone cholera outbreak in 2012. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2014; 108(11):715–20.
47. Ministère de la Santé Publique et de la Population (MSPP). RAPPORT DE CAS. République D'Haiti. Rapport journalier MSSP du 8 Decembre 2014 [cited 28 Dec 2014]. Available from: <http://mssp.gouv.ht/site/index.php>.
48. Mutreja A., Kim D.W., Thomson N.R., Connor T.R., Lee J.H., Kariuki S., Croucher N.J., Choi S.Y., Harris S.R., Lebens M., Niyogi S.K., Kim E.J., Ramamurthy T., Chun J., Wood J.L., Clemens J.D., Czerkinsky C., Nair G.B., Holmgren J., Parkhill J., Dougan G. Evidence for several waves of global transmission in the seventh cholera pandemic. *Nature.* 2011; 477:462–5.
49. Rahman M., Jubair M., Alam M.T., Weppelmann T.A., Azarian T., Salemi M., Sakharuk I.A., Rashid M.H., Johnson J.A., Yasmin M., Morris J.G., Ali A. High-frequency rugose exopolysaccharide production by *Vibrio cholerae* strains isolated in Haiti. *PLoS One.* 2014; 9(11):e112853.
50. Rashed S.M., Azman A.S., Alam M., Li S., Sack D.A., Morris J.G. Jr., Longini I., Siddique A.K., Iqbal A., Huq A., Colwell R.R., Sack R.B., Stine O.C. Genetic variation of *Vibrio cholerae* during outbreaks, Bangladesh, 2010–2011. *Emerg. Infect. Dis.* 2014; 20(1):54–60.
51. Rebaudet S., Mengel M.A., Koivogui L., Moore S., Mutreja A., Kande Y., Yattara O., Sarr Keita V., Njanpop-Lafourcade B.M., Fournier P.E., Garnotel E., Keita S., Piarroux R. Deciphering the origin of the 2012 cholera epidemic in Guinea by integration epidemiological and molecular analyses. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2014; 8(6):e2898.
52. Shah M.A., Mutreja A., Thompson N., Baker S., Parkhill J., Dougan G., Bokhari H., Wren B.W. Genomic epidemiology of *Vibrio cholerae* O1 associated with floods, Pakistan, 2010. *Emerg. Infect. Dis.* 2014; 20(1):13–20.
53. Stine O.C., Morris J.G. Circulation and transmission

of clones of *Vibrio cholerae* during cholera outbreaks. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2014; 379:181–93.

54. Zhang P., Zhou H., Diao B., Li F., Du P., Li J., Kan B., Morris J.G. Jr, Wang D. A molecular surveillance reveals prevalence of *Vibrio cholerae* O139 isolates in China, 1993–2012. *J. Clin. Microbiol.* 2014; 52(4):1146–52.

## References

- International Health Regulations (2005). WHO. Geneva; 2006.
- Moskvitina E.A., Mazrukho A.B., Adamenko O.L., Areshina O.A., Nazaretyan A.A., Kruglikov V.D., Ivanova S.M., Kozina D.A. [Characteristics of the epidemiological situation on cholera the world over]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 1:11–7.
- Moskvitina E.A., Adamenko O.L., Dvortsova I.V., Kruglikov V.D., Ivanova S.M., Kozina D.A. [Epidemiological situation on cholera throughout the world in 2013, forecasting for 2014]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2014; 2:19–26.
- Onishchenko G.G., Lomov Yu.M., Moskvitina E.A., Podosinnikova L.S., Monakhova E.V., Vodop'yanov A.S., Telesmanich N.R., Dudina N.P. [Epidemiological manifestations of cholera caused by the cholera vibrios O1 ctxAB<sup>+</sup> tcpA<sup>+</sup>]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2007; 1:23–9.
- Sagymbek U.A., Musagalieva R.S., Kasenova A.K., Seitova R.A. [Epidemic and non-epidemic cholera in the territory of the Republic of Kazakhstan]. *Okrush. Sreda Zdor. Naseleniya.* Almaty; 2012; 2:28–32.
- Ali M., Lopez A.L., You Y.A., Kim Y.E., Sah B., Maskery B., Cemens J. The global burden of cholera. *Bull. World Health Organisation.* 2012; 90:209–18A.
- Cholera, 2005. *Wkly Epidem. Rec.* 2006; 81(31):297–308.
- Cholera, 2006. *Wkly Epidem. Rec.* 2007; 82(31):273–84.
- Cholera, 2007. *Wkly Epidem. Rec.* 2008; 83(31):269–84.
- Cholera: global surveillance summary, 2008. *Wkly Epidem. Rec.* 2009; 84(31):309–24.
- Cholera, 2009. *Wkly Epidem. Rec.* 2010; 85(31):293–308.
- Cholera, 2010. *Wkly Epidem. Rec.* 2011; 86(31):325–40.
- Cholera, 2011. *Wkly Epidem. Rec.* 2012; 87(31):289–304.
- Cholera, 2012. *Wkly Epidem. Rec.* 2013; 88(31):321–6.
- Cholera, 2013. *Wkly Epidem. Rec.* 2014; 89(31):345–56.
- Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (02): Africa, 2014 [Internet]. 10 Jan 2014 [cited 10 Jan 2014]. Archive number: 20140113.2168248. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (04): Africa, Asia 2014 [Internet]. 17 Jan 2014 [cited 17 Jan 2014]. Archive number: 20140124.2226620. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (08): Africa, 2014 [Internet]. 4 Mar 2014 [cited 4 Mar 2014]. Archive number: 20140305.2315513. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (09): Americas, 2014 [Internet]. 20 Mar 2014 [cited 20 Mar 2014]. Archive number: 20140322.2349186. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (10): Americas, 2014 [Internet]. 28 Mar 2014 [cited 28 Mar 2014]. Archive number: 201440330.2366959. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (11): Africa, 2014 [Internet]. 27 Mar 2014 [cited 27 Mar 2014]. Archive number: 20140330.2367620. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (15): Africa, 2014 [Internet]. 28 Apr 2014 [cited 28 Apr 2014]. Archive number: 20140430.2439912. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (16): Africa, 2014 [Internet]. 30 Apr 2014 [cited 30 Apr 2014]. Archive number: 20140501.2442685. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea & dysentery update 2013 (19): Chile, Venezuela (ex Cuba). [Internet]. 13 Aug 2013 [cited 13 Aug 2013]. Archive number: 20130813.1877405. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (21): Africa, 2014 [Internet]. 15 May 2014 [cited 15 May 2014]. Archive number: 20140516.2477056. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (22): Africa, Asia, 2014 [Internet]. 15 May 2014 [cited 15 May 2014]. Archive number: 20140517.2478988. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (24): South Sudan (Jonglei), 2014 [Internet]. 18 May 2014 [cited 18 May 2014]. Archive number: 20140519.2482234. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (33): South Sudan (Central Equatoria), 2014 [Internet]. 1 Jun 2014 [cited 1 Jun 2014]. Archive number: 20140601.2512341. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (41): South Sudan, 2014 [Internet]. 16 Jun 2014 [cited 16 Jun 2014]. Archive number: 20140616.2544496. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (44): South Sudan, Eastern Equatoria 2014 [Internet]. 25 Jun 2014 [cited 25 Jun 2014]. Archive number: 20140625.2565655. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (45): Americas (Haiti, Mexico), 2014 [Internet]. 25 Jun 2014 [cited 25 Jun 2014]. Archive number: 20140627.2568444. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (51): Americas, 2014 [Internet]. 7 Jul 2014 [cited 7 Jul 2014]. Archive number: 20140709.2595720. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (59): Africa, Asia 2014 [Internet]. 30 Jul 2014 [cited 30 Jul 2014]. Archive number: 20140802.2652007. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (60): Africa, 2014 [Internet]. 2 Aug 2014 [cited 2 Aug 2014]. Archive number: 20140805.2656406.

Available from: <http://www.promedmail.org>.

35. Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (61): Africa, 2014 [Internet]. 6 Aug 2014 [cited 6 Aug 2014]. Archive number: 20140806.2664874. Available from: <http://www.promedmail.org>.

36. Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (64): Ghana, 2014 [Internet]. 31 Aug 2014 [cited 31 Aug 2014]. Archive number: 20140902.2738541. Available from: <http://www.promedmail.org>.

37. Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (72): Ghana, 2014 [Internet]. 9 Oct 2014 [cited 9 Oct 2014]. Archive number: 20141011.2850486. Available from: <http://www.promedmail.org>.

38. Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (76): Africa, 2014 [Internet]. 30 Oct 2014 [cited 30 Oct 2014]. Archive number: 20141031.2918082. Available from: <http://www.promedmail.org>.

39. Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (77): Cuba. [Internet]. 6 Nov 2014 [cited 6 Nov 2014]. Archive number: 20141108.2936964. Available from: <http://www.promedmail.org>.

40. Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (78): Americas, Africa, Asia, Haiti (Port-au-Prince) prison vaccination program [Internet]. 16 Nov 2014 [cited 16 Nov 2014]. Archive number: 20141120.2962893. Available from: <http://www.promedmail.org>.

41. Cholera, diarrhea & dysentery update 2014 (84): Americas, 2014 [Internet]. 2 Dec 2014 [cited 2 Dec 2014]. Archive number: 20141224.3053142. Available from: <http://www.promedmail.org>.

42. Dixit S.M., Johura F.T., Manandhar S., Sadique A., Rajbhandari R.M., Mannan S.B., Rashid M.U., Islam S., Karmacharya D., Watanabe H., Sack R.B., Cravioto A., Alam M. Cholera outbreaks (2012) in three districts of Nepal reveal clonal transmission of multi-drug resistant *Vibrio cholerae* O1. *BMC Infect. Dis.* 2014; 14(1):392.

43. Haiti cholera success of the second vaccination campaign. [cited 17 Sep 2014] Available from: <http://www.haitilivre.com/en/news-12338>.

44. Koley H., Ray N., Chowdhury G., Barman S., Mitra S., Ramamurthy T., Mukhopadhyay A.K., Sarkar B.L., Katyal R., Das P., Panda S., Ghosh S. Outbreak of cholera caused by *Vibrio cholerae* O1 El Tor variant strain in Bihar, India. *Jpn. J. Infect. Dis.* 2014; 67(3):321–6.

45. Kumar P., Mishra D.K., Deshmukh D.G., Jain M., Zade A.M., Ingole K.V., Goel A.K., Yadava P.K. *Vibrio cholerae* O1 Ogawa El Tor strains with the ctxB7 allele driving cholera outbreaks in south-western India in 2012. *Infect. Genet. Evol.* 2014; 25(C):93–6.

46. Mahmud Z.H., Islam S., Zaman R.U., Akter M., Talukder K.A., Bardhan P.K., Khan A.I., Rhodes E.C., Kamara A., Wurie I.M., Alemu W., Jambai A., Faruque S.M., Clemens J.D., Islam M.S. Phenotypic and genotypic characteristics of *Vibrio cholerae* O1 isolated from the Sierra Leone cholera outbreak in 2012. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2014; 108(11):715–20.

47. Ministère de la Santé Publique et de la Population (MSPPP). RAPPORT DE CAS. République D'Haiti. Rapport journalier MSSP du 8 Décembre 2014 [cited 28 Dec 2014]. Available from: <http://mspp.gouv.ht/site/index.php>.

48. Mutreja A., Kim D.W., Thomson N.R., Connor T.R., Lee J.H., Kariuki S., Croucher N.J., Choi S.Y., Harris S.R., Lebens M., Niyogi S.K., Kim E.J., Ramamurthy T., Chun J., Wood J.L., Clemens J.D., Czerkinsky C., Nair G.B., Holmgren J., Parkhill J., Dougan G. Evidence for several waves of global transmission in the seventh cholera pandemic. *Nature*. 2011; 477:462–5.

49. Rahman M., Jubair M., Alam M.T., Weppelmann T.A., Azarian T., Salemi M., Sakharuk I.A., Rashid M.H., Johnson J.A., Yasmin M., Morris J.G., Ali A. High-frequency rugose exopolysaccharide production by *Vibrio cholerae* strains isolated in Haiti. *PLoS One.* 2014; 9(11):e112853.

50. Rashed S.M., Azman A.S., Alam M., Li S., Sack D.A., Morris J.G. Jr., Longini I., Siddique A.K., Iqbal A., Huq A., Colwell R.R., Sack R.B., Stine O.C. Genetic variation of *Vibrio cholerae* during outbreaks, Bangladesh, 2010–2011. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 20(1):54–60.

51. Rebaudet S., Mengel M.A., Koivogui L., Moore S., Mutreja A., Kande Y., Yattara O., Sarr Keita V., Njanpop-Lafourcade B.M., Fournier P.E., Garnotel E., Keita S., Piarroux R. Deciphering the origin of the 2012 cholera epidemic in Guinea by integration epidemiological and molecular analyses. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2014; 8(6):e2898.

52. Shah M.A., Mutreja A., Thompson N., Baker S., Parkhill J., Dougan G., Bokhari H., Wren B.W. Genomic epidemiology of *Vibrio cholerae* O1 associated with floods, Pakistan, 2010. *Emerg. Infect. Dis.* 2014; 20(1):13–20.

53. Stine O.C., Morris J.G. Circulation and transmission of clones of *Vibrio cholerae* during cholera outbreaks. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2014; 379:181–93.

54. Zhang P., Zhou H., Diao B., Li F., Du P., Li J., Kan B., Morris J.G. Jr, Wang D. A molecular surveillance reveals prevalence of *Vibrio cholerae* O139 isolates in China, 1993–2012. *J. Clin. Microbiol.* 2014; 52(4):1146–52.

## Authors:

Moskvitina E.A., Adamenko O.L., Kruglikov V.D., Titova S.V., Monakhova E.V., Pisanov R.V., Anisimova G.B. Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute. 117/40, M.Gor'kogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation. E-mail: [plague@aanet.ru](mailto:plague@aanet.ru)  
Ivanova S.M. Plague Control Center. 4, Musorgskogo St., Moscow, 127490, Russian Federation. E-mail: [protivochym@nl.n.ru](mailto:protivochym@nl.n.ru)

## Об авторах:

Москвитина Э.А., Адаменко О.Л., Кругликов В.Д., Титова С.В., Монахова Е.В., Писанов Р.В., Анисимова Г.Б. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 344002, Ростов-на-Дону, ул. М.Горького, 117/40. E-mail: [plague@aanet.ru](mailto:plague@aanet.ru)

Иванова С.М. Противочумный центр. Российская Федерация, 127490, Москва, ул. Мусоргского, 4. E-mail: [protivochym@nl.n.ru](mailto:protivochym@nl.n.ru)

Поступила 04.02.15.

А.Г.Рязанова, О.И.Цыганкова, Л.Ю.Аксенова, Н.Г.Варфоломеева, Т.М.Головинская,  
Н.П.Буравцева, Е.И.Еременко, А.Н.Куличенко

## ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ И ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО СИБИРСКОЙ ЯЗВЕ В 2014 г., ПРОГНОЗ НА 2015 г.

ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт», Ставрополь,  
Российская Федерация

Представлены результаты анализа эпидемиологической и эпизоотологической ситуации по сибирской язве в Российской Федерации и в мире в 2014 г. Заболеваемость сибирской язвой людей в России увеличилась по сравнению с предыдущим годом, но не превысила пределов годовых колебаний за последние 10 лет. Зафиксировано три очага инфекции среди сельскохозяйственных животных. Неблагополучная по сибирской язве ситуация сложилась в ряде стран ближнего и дальнего зарубежья. В Европе имели место факты поставки в торговую сеть мяса и мясной продукции, контаминированных возбудителем сибирской язвы. В 2015 г. в России прогнозируется от 1 до 20 случаев заболевания людей сибирской язвой.

*Ключевые слова:* сибирская язва, возбудитель сибирской язвы, вспышка, заболеваемость.

A.G.Ryazanova, O.I.Tsygankova, L.Yu.Aksenova, N.G.Varfolomeeva, T.M.Golovinskaya, N.P.Buravtseva,  
E.I.Eremenko, A.N.Kulichenko

### Epidemiological and Epizootiological Situation on Anthrax in 2014, and Prognosis for 2015

Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Presented are the results of analysis of epidemiological and epizootiological situation on anthrax across the Russian Federation and around the world in 2014. Anthrax morbidity rates in Russia have increased as compared to the previous year, but have not exceeded the range of annual variations within the past decade. Three foci of animal infection have been detected here. Unfavorable, as regards anthrax, situation has developed in the CIS countries and the territories beyond. In Europe the cases of deliveries of meat and meat products contaminated with anthrax agent to retail store network have taken place. 1 to 20 cases of anthrax among the population are forecasted in Russia for 2015.

*Key words:* anthrax, anthrax agent, outbreak, morbidity.

**Заболеваемость людей в Российской Федерации.** В 2014 г. в Российской Федерации зарегистрировано 7 случаев сибирской язвы у людей, что на 5 случаев больше по сравнению с 2013 г. Случаи заболевания зафиксированы в пяти субъектах Южного, Приволжского и Центрального федеральных округов.

В Кукморском районе Республики Татарстан зарегистрировано 2 случая заболевания кожной формой сибирской язвы. Первый случай заражения жителя д. Люга в июле был связан с проведением убоя заболелшего теленка, не вакцинированного против сибирской язвы, без ветеринарного освидетельствования. Из клинического материала в ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан» выделена культура возбудителя сибирской язвы, подтвержденная результатами окончательной идентификации в ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора. Согласно заключению ветеринарной экспертизы ГБУ «Республиканская ветеринарная лаборатория» Республики Татарстан в мясе животного также обнаружен возбудитель сибирской язвы.

Второй случай заболевания выявлен в д. Княбаш в сентябре. При проведении эпидемиологического расследования предполагаемый источник заражения определить не удалось. При исследовании клинического материала в Референс-центре по мониторингу за возбудителем сибирской язвы ФКУЗ

«Ставропольский противочумный институт» диагноз «сибирская язва» подтвержден на основании результатов серологического (непрямой метод флуоресцирующих антител) и аллергологического (реакция бласттрансформации лимфоцитов) методов.

Кожная форма сибирской язвы диагностирована у жителя хутора Ильмень-Суворовский Октябрьского района Волгоградской области, инфицированного в процессе проведения вынужденного убоя ранее вакцинированного теленка без разрешения ветеринарной службы в августе 2014 г. Предположительно, мясную продукцию без сопроводительных документов доставили перекупщиками на один из рынков Волгограда. При исследовании проб материала в ФКУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Волгоградской области» выделена культура возбудителя сибирской язвы, окончательная идентификация и MLVA-генотипирование которой проведены в ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт»; две культуры *B. anthracis* изолированы в Областной ветеринарной лаборатории из материала от забитого теленка.

Кожная форма сибирской язвы зафиксирована у двух жителей Ливенского района Орловской области, проводивших вынужденный убой коровы в ТНВ «Малиновское» Краснозорецкого района. Диагноз поставлен на основании клинической картины, данных эпидемиологического анализа, положительных

результатов ПЦР-исследования клинического материала, проведенного ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора.

В августе кожной формой сибирской язвы заболели два скотника с. Кутейниково Родионово-Несветайского района Ростовской области. Заражение произошло при разделке на территории летнего молочного лагеря ЗАО «Витязь-М» без предварительного ветеринарного осмотра туши павшей коровы, вакцинированной против сибирской язвы в феврале. Один из заболевших обратился за медицинской помощью самостоятельно, симптомы заболевания у второго скотника выявлены в процессе проведения эпидемиологического расследования. Установлено, что молоко из ЗАО «Витязь-М» поставлялось в ОАО сыродельный завод «Семикаракорский» (г. Семикаракорск Ростовской области), что не исключало возможность доставки на завод молока заболевшей коровы. При проведении ветеринарной экспертизы шкуры павшей коровы получен положительный результат на наличие возбудителя сибирской язвы. Диагноз у заболевших людей подтвержден на основании результатов ПЦР, нМФА и алерготестирования с сибирезывенным аллергеном *in vitro* в ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт», где также было проведено MLVA-генотипирование проб ДНК, выделенных из клинического материала.

**Заболелаемость животных в Российской Федерации.** По официальным данным Россельхознадзора, в 2014 г. (в 3-м квартале) в Российской Федерации зарегистрировано 3 очага сибирской язвы КРС – в Республике Татарстан, Волгоградской и Ростовской областях.

**Заболелаемость людей в странах Содружества Независимых Государств.** Наиболее неблагоприятная по сибирской язве ситуация в 2014 г. сложилась в Узбекистане, где имели место 3 крупные вспышки. Первая вспышка произошла в июне в кишлаке Хуснобод Хавастского района Сырдарьинской области Узбекистана, когда с диагнозом «сибирская язва» в период с 23 по 25 июня было госпитализировано 35 человек, у 9 диагноз был подтвержден. Все заболевшие участвовали в убое и разделке КРС, продавали или покупали инфицированное мясо. 26 июня с тем же диагнозом госпитализированы 8 жителей кишлака Вагашти Ургутского района Самаркандской области, заболевших при вынужденном убое овец. В августе с подозрением на сибирскую язву госпитализировано 22 из 30 обратившихся за медицинской помощью жителей кишлака Канкул Узунского района Сурхандарьинской области, принимавших участие в вынужденном убое, разделке КРС, продаже мяса. По данным санитарно-эпидемиологической службы Сурхандарьинской области, около 180 человек взяты под наблюдение в связи с подозрением на возможность заражения сибирской явкой. Информации о подтверждении/опровержении диагноза у госпитализированных не имеется.

В Молдавии (Кагульский район) подтверждено

6 случаев заражения работников фермы сибирской явкой при проведении убоя скота. Также известно, что еще один работник той же фермы, принимавший участие в убое, скончался, однако причина его смерти официально не объявлена.

В Кыргызстане зарегистрировано 5 случаев заражения сибирской явкой: 2 – в Чуйской области, по 1 – в Бишкеке, Ошской и Баткенской областях.

Случай кожной формы сибирской язвы зарегистрирован у жительницы Жанибекского района Западно-Казахстанской области Казахстана, заражение которой произошло в процессе прирезки заболевшей овцы. В Карасайском районе Алматинской области под наблюдением медицинских работников находился 61 человек, принимавших участие в убое скота. Двое госпитализированы с характерными для кожной формы сибирской язвы клиническими проявлениями, диагноз подтвержден.

**Заболелаемость животных в странах СНГ.** Случаи заболевания сибирской явкой сельскохозяйственных животных имели место в Узбекистане, Кыргызстане, Казахстане, Молдавии.

**Эпидемиологическая и эпизоотологическая ситуация в странах дальнего зарубежья.** В 2014 г. случаи заболевания сибирской явкой животных и людей регистрировались во многих странах дальнего зарубежья.

Неблагополучная по сибирской язве ситуация сложилась в ряде европейских стран. Помимо этого, имели место факты поставки в торговую сеть мяса/мясных продуктов, контаминированных возбудителем сибирской язвы. В Венгрии госпитализированы 8 человек с диагнозом «сибирская язва» после проведения несанкционированного убоя 2 голов КРС. Часть мяса была распределена между членами семьи, другую продали небольшой компании, предоставляющей услуги горячего питания нескольким организациям, включая учреждения службы социальной защиты детей. 50 лицам была назначена экстренная антибиотикопрофилактика. В парламенте государства полагают, что скот привезли в Венгрию незаконно, а лицам, занимавшимся импортом и вынужденным убоем, было известно, что животные больны. Еще один случай заболевания был выявлен в другом населенном пункте Венгрии. Заражение также произошло при убое больного КРС.

В сентябре на ферме в Словакии (г. Прешов) произошла вспышка сибирской язвы среди КРС, пали 3 из 59 животных. Скот с фермы, охваченной вспышкой, доставили для убоя из Словакии в Польшу, а мясо было продано 19 компаниям в Нидерландах и 26 компаниям в Бельгии, Германии, Дании, Швеции, Франции, Португалии, Италии и Испании. В Нидерландах после поступления на рынок партии мяса, включавшей туши из Словакии и Польши, его изъяли. Исследование показало наличие возбудителя сибирской язвы в двух тушах. В Германию было поставлено 3609 кг говядины. По данным Федерального ведомства защиты прав потребителей и безопасно-

сти продуктов питания ФРГ, в нескольких супермаркетах, мясных магазинах и на оптовых предприятиях по всей Германии обнаружили говядину, а также жаркое из говядины, гуляш и колбасы, содержащие возбудитель сибирской язвы. Продукцию изъяли из оборота. На территории Российской Федерации также провели изъятие поступившей из Германии мясной продукции. Подтвержденных случаев заражения людей сибирской язвой от употребления указанной продукции не зарегистрировано.

Регистрировались случаи заболевания сибирской язвой животных и людей и в других европейских странах. Заражение людей связано с проведением вынужденного убоя заболевшего скота, разделкой туш, контактом с павшими сельскохозяйственными животными: Албания – 3 человека, 1 вспышка (1 голова КРС); Болгария – 1 вспышка (1 КРС); Германия – 1 вспышка (4 КРС); Италия – 1 человек, 3 вспышки (5 КРС); Польша – 1 лошадь, 2 вола; Румыния – 3 человека, 1 вспышка (2 МРС); Турция – 13 человек, 1 вспышка (КРС); Хорватия – 2 вспышки (3 КРС); Швеция – 1 вспышка (КРС). Зафиксирован случай гибели льва в зоопарке Венгрии после поедания инфицированной говядины.

Заболевания сибирской язвой людей, обусловленные контактом с больными, павшими животными, выявлены в Африке: Гвинея – 19 подозрительных случаев, из них 11 с летальным исходом; Зимбабве – 36; Кения – 23, 7 летальных, 2000 человек после употребления в пищу мяса павшего гиппопотама и 100 человек после употребления мяса павшего КРС подверглись экстренной антибиотикопрофилактике. В Азии: Бангладеш – 225 (по состоянию на сентябрь 2014 г.); Вьетнам – 9; Индия – около 100, из них 12 летальных. В Северной Америке: Гаити – 9; Южной Америке: Аргентина – 1. Подавляющее количество случаев заболевания людей в странах Азии и Африки связаны с употреблением в пищу мяса павших животных.

Вспышки сибирской язвы, преимущественно среди сельскохозяйственных животных, зафиксированы в странах Африки: Ангола – 1 вспышка (150 КРС заболели, 5 пали), Ботсвана – 1 вспышка (1 слон в национальном парке), Зимбабве – 3 (около 80 КРС, 3 МРС), Кения – (КРС, гиппопотам), Лесото – 3 (26 КРС, 1 лошадь), Того – 1 (КРС); Азии: Бангладеш – КРС, Индия – многочисленные вспышки среди КРС, МРС, случай падежа носорога в зоопарке, слона в национальном парке, Пакистан – 1 (14 азиатских антилоп нильгау пали в национальном парке); Северной Америки: Гаити – 1 (8 волов), Канада – 1 (1–3 КРС), США – 6 (1 вспышка среди МРС, 2 – среди белохвостых оленей, 3 вспышки среди КРС, из них 2 – среди коров, 1 – среди домашних бизонов); Южной Америки: Аргентина – 5 (44 КРС).

Заслуживает внимания инцидент, связанный с риском лабораторного заражения сибирской язвой специалистов лабораторий Центра по контролю и профилактике заболеваний (CDC) в США. В июне отчетного года в лаборатории передовых техноло-

гий и быстрого реагирования на биотерроризм CDC (BRRAT, Атланта, США) с высоким уровнем биологической безопасности (BSL-3) подготовили панель белковых экстрактов 8 патогенных биологических агентов, включая *Bacillus anthracis*, для последующего исследования методом MALDI-TOF-масс-спектрометрии в лабораториях CDC более низкого уровня биологической защиты (BSL-2), сотрудники которых не вакцинированы против опасных ПБА и не используют в своей практике средства индивидуальной защиты, необходимые при работе с опасными патогенами. Для обеззараживания образцов использовали новую методику химической инактивации. Данное исследование предполагало проведение предварительной оценки возможности применения новой процедуры белковой экстракции для MALDI-TOF-масс-спектрометрии как более быстрого способа выявления возбудителя сибирской язвы по сравнению с обычными методами и возможности ее использования лабораториями экстренного реагирования.

После химического воздействия на культуру вирулентного штамма *B. anthracis* Ames в течение 10 мин и экстракции образцы протестировали на специфическую стерильность посевом на питательные среды. В связи с отсутствием бактериального роста на чашках с питательной средой после 24 ч инкубации образцы, которые продолжали находиться под воздействием химического агента в течение суток, передали в лаборатории BSL-2 как обеззараженные. Спустя неделю сотрудник лаборатории BSL-3 внезапно обнаружил рост специфичных для возбудителя сибирской язвы колоний на чашках с посевами образцов, подвергнутых химической инактивации в течение 10 мин. Хотя в лаборатории BSL-2 были отправлены образцы после 24 ч подобной инактивации, не исключалось возможность отсутствия их специфической стерильности. Таким образом, в течение недели риску заражения в связи с возможным образованием аэрозоля при открытии пробирок без должных СИЗ подверглось в общей сложности 84 сотрудника лабораторий. Все лица были обследованы (получены отрицательные результаты), получили экстренную вакцинопрофилактику, а также антибиотикопрофилактику, определенную риском заражения для различных групп сотрудников.

Эксперты CDC в отчете по результатам расследования происшествия констатировали, что причинами данной ситуации явился ряд грубых нарушений требований биологической безопасности при работе с ПБА:

- отсутствие согласованного и утвержденного руководством плана проводимых манипуляций в соответствии с требованиями биологической безопасности;
- использование нерегламентированного метода обеззараживания материала;
- передача образцов за пределы организации, в лаборатории с более низким уровнем биологической

защиты без подтверждения его специфической стерильности;

- использование для тестирования методики вирулентного штамма *B. anthracis*, тогда как для отработки процедур используют вакцинные/авирулентные штаммы, являющиеся равноценными в плане получения результатов подобных экспериментов;

- отсутствие стандартных операционных процедур инактивации и передачи образцов ПБА.

Лаборатория BRRAT была закрыта до получения детальных результатов расследования ситуации; руководство CDC предложило сократить количество лабораторий высокого уровня защиты в США (BSL-2+), специалистов работающих в них, а также перечня используемых в работе опасных ПБА до необходимого минимума.

Таким образом, в 2014 г. в Российской Федерации отмечено повышение заболеваемости сибирской язвой людей по сравнению с предыдущим годом. Количество зарегистрированных случаев не превысило пределов годовых колебаний за последние 10 лет. Заражение происходило в результате вынужденного убоя сельскохозяйственных животных без ветеринарного освидетельствования.

Наиболее неблагоприятная по сибирской язве ситуация в 2014 г. среди стран ближнего зарубежья сложилась в Узбекистане.

Вспышки сибирской язвы животных регистрировались в мире практически повсеместно. Основным видом в структуре заболеваемости сельскохозяйственных животных остается КРС. На высоком уровне продолжает оставаться заболеваемость животных и людей в странах Азии и Африки.

В Европе имели место неоднократные факты поставки в торговую сеть мяса и мясных продуктов, контаминированных возбудителем сибирской язвы.

Эпизоотологическое неблагополучие по сибир-

ской язве в ряде стран мира создает угрозу поставки на территорию Российской Федерации сырья и продукции, содержащих возбудитель сибирской язвы.

Факт проведения неэффективного обеззараживания культуры возбудителя сибирской язвы с дальнейшей передачей за пределы учреждения, произошедший в США, должен быть принят к сведению лабораториями, работающими с опасными ПБА. Этот инцидент еще раз указывает на необходимость проявления должного внимания к качеству обеззараживания и тестирования образцов на специфическую стерильность перед передачей проб в подразделения/организации, работающие с обеззараженным материалом, в том числе при подготовке панелей контрольных образцов Референс-центрами для проведения внешнего контроля качества диагностических исследований лабораторной сети.

Принимая во внимание показатели заболевания людей за последние годы в Российской Федерации, эпидемиологическую и эпизоотологическую ситуацию по сибирской язве в стране и за рубежом, на 2015 г. можно прогнозировать от 1 до 20 случаев заболевания людей.

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

**Authors:**

*Ryazanova A.G., Tsygankova O.I., Aksenova L.Yu., Varfolomeeva N.G., Golovinskaya T.M., Buravtseva N.P., Eremenko E.I., Kulichenko A.N.* Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: snipchi@mail.stv.ru

**Об авторах:**

*Рязанова А.Г., Цыганкова О.И., Аксенова Л.Ю., Варфоломеева Н.Г., Головинская Т.М., Буравцева Н.П., Еременко Е.И., Куличенко А.Н.* Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: snipchi@mail.stv.ru

Поступила 30.01.15.

Д.В.Транквилевский<sup>1</sup>, А.И.Удовиков<sup>2</sup>, В.П.Попов<sup>3</sup>, К.С.Захаров<sup>2</sup>, Н.В.Попов<sup>2</sup>, В.Е.Безсмертный<sup>3</sup>

## СОСТОЯНИЕ ЧИСЛЕННОСТИ ГРЫЗУНОВ И ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ОБСТАНОВКА ПО ТУЛЯРЕМИИ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ВО ВТОРОМ ПОЛУГОДИИ 2014 г. И ПРОГНОЗ НА 2015 г.

<sup>1</sup>ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии», Москва, Российская Федерация; <sup>2</sup>ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация; <sup>3</sup>ФКУЗ «Противочумный центр», Москва, Российская Федерация

Проанализированы данные состояния популяций носителей (относительная численность, распределение по станциям) по субъектам Российской Федерации в 2014 г. в сравнении с предыдущим периодом. В целом численность мелких млекопитающих (ММ) не превышала средних многолетних значений. В каждом из 9 федеральных округов дана оценка степени эпизоотической и эпидемической активности природных очагов туляремии в 2014 г. Отмечено, что по сравнению с 2013 г. уровень заболеваемости туляремией резко снизился. Выявлено, что за 20-летний период было 3 вспышки заболеваемости (1995, 2005 и 2013 гг.). На основе полученных данных сделан прогноз состояния природных очагов туляремии различного типа на 2015 г. На фоне резкого снижения заболеваемости, как правило, последующие вспышки наблюдаются лишь через определенное количество лет, тем не менее современное нестабильное состояние экосистем может провоцировать в некоторой степени неоднозначные ответы паразитарных систем.

*Ключевые слова:* природные очаги туляремии, носители, эпизоотическая и эпидемическая активность, прогноз.

D.V.Trankvilevsky<sup>1</sup>, A.I.Udovikov<sup>2</sup>, V.P.Popov<sup>3</sup>, K.S.Zakharov<sup>2</sup>, N.V.Popov<sup>2</sup>, V.E.Bezsmertny<sup>3</sup>

## Situation on Rodents Abundance and Epidemiological Situation on Tularemia in the Territory of the Russian Federation in the Second Half of 2014, and Prognosis for 2015

<sup>1</sup>Federal Center of Hygiene and Epidemiology, Moscow, Russian Federation; <sup>2</sup>Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation; <sup>3</sup>Plague Control Center, Moscow, Russian Federation

Analyzed are the data on the state of the carrier populations (abundance rates, distribution by stations) across constituent entities of the Russian Federation in 2014 as compared to the previous period. On the whole abundance of small mammals has not exceeded the long-term average annual values.

For each of the 9 Federal Districts given has been an estimation of epizootic and epidemic activity in the natural tularemia foci in 2014. Outlined is a sharp decrease in tularemia morbidity in comparison to 2013. It is determined that within the past two decades there has occurred three major incidence outsurges in 1995, in 2005, and 2013, respectively.

Based on the information obtained made has been the forecast for the development of epidemiological situation in natural tularemia foci of various types. Against the background of sharp decrease in the morbidity rates consequent upsurges are registered at certain intervals of several years, nevertheless current volatile state of ecosystems may draw a mixed response of parasitic systems.

*Key words:* natural tularemia foci, carriers, epizootic and epidemic activity, prognosis.

В Российской Федерации заболеваемость туляремией находится на относительно невысоком, но нестабильном уровне [1]. Всего в 2000–2009 гг. выявлено 1549 случаев заболевания. В том числе в период 2000–2004 гг. – 343, в период 2005–2009 гг. – 1209. Число заболевших в 2005–2009 гг. по сравнению с 2000–2004 гг. выросло в 3,5 раза. Средний показатель заболеваемости по Российской Федерации в 2000–2009 гг. составил 0,12 на 100 тыс. населения [2]. Если взять более обширную ретроспективу (за последние 20 лет), то можно четко отметить 3 резких подъема заболеваемости туляремией, которые развивались стремительно и продолжались в течение всего года: 1995, 2005 и 2013 гг. (рис. 1). Последний пик заболеваемости был обусловлен вспышкой в Ханты-Мансийском автономном округе, где уровень заболеваемости достиг 63,9 на 100 тыс. человек (по всей Российской Федерации в этот период – 0,74). В 2014 г. вновь произошло резкое снижение показате-

лей заболеваемости (в пределах 0,06 на 100 тыс. человек). Ниже приводятся данные о состоянии популяций носителей, эпизоотических и эпидемических проявлениях в очагах туляремии в 2014 г.

**Центральный федеральный округ (ЦФО).** Средняя численность ММ на территории округа составила 12,9 % попадания на 100 ловушко-суток (за аналогичный период прошлого года – 11,0 %). Численность ММ в лесокустарниковых станциях варьировала от 5,8 до 37,9 % попадания, в среднем по ЦФО составила 12,6 % (за аналогичный период прошлого года – 11,5 %). В открытых луго-полевых станциях численность ММ варьировала от 1,1 до 38,3 % попадания, в среднем по ЦФО – 10,1 % (за аналогичный период прошлого года – 10,7 %). Более 15 % попадания зарегистрировано на территориях Липецкой и Калужской областей. В закрытых луго-полевых станциях численность колебалась от 0 до 16,8 %. Численность ММ околородных станций варьировала

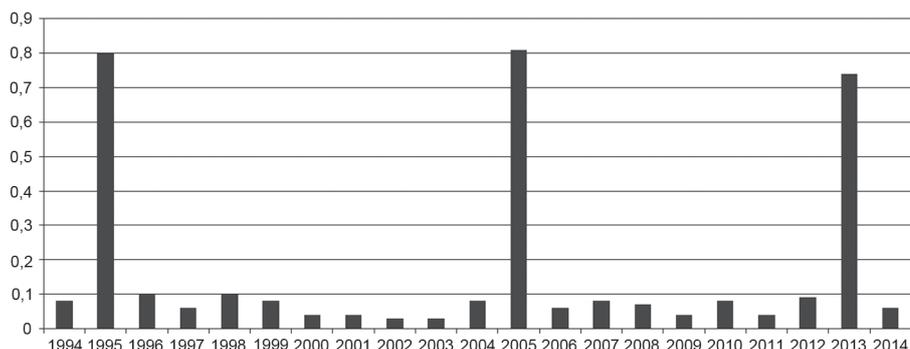


Рис. 1. Динамика заболеваемости туляремией в Российской Федерации (на 100 тыс. населения)

от 0 до 26,5 % попадания, в среднем составила 8,2 % (8,2 % за аналогичный период прошлого года). Более 15 % попадания зарегистрировано на территориях Калужской и Воронежской областей. Численность ММ в населенных пунктах сельской местности, в среднем по ЦФО составила 6,9 % попадания (за аналогичный период прошлого года – 8,6 %).

Эпизоотии туляремии, отмеченные в 14 субъектах ЦФО (в 12 субъектах за аналогичный период прошлого года), носили локальный характер. За 10 месяцев на территории ЦФО зарегистрировано 9 больных туляремией (7 – за аналогичный период прошлого года), случаи отмечены в 5 субъектах округа (в 4 – за аналогичный период прошлого года). В обзорном периоде выделено 2 культуры туляремии (биовар I) от рыжих полевков в Тверской области (за аналогичный период прошлого года культуры *F. tularensis* не выделялись) и одна культура из воды в Ярославской области. При помощи иммунологических и молекулярно-генетических методов среди грызунов и насекомоядных положительные находки отмечены в 12 субъектах округа: Воронежской, Калужской, Костромской, Курской, Липецкой, Рязанской, Смоленской, Тамбовской, Тверской, Тульской, Ярославской областях и Москве (в 11 субъектах за аналогичный период прошлого года). Видовой состав инфицированных ММ не описан в обзоре Тамбовской области. На долю инфицированных полевых мышей приходится 35,8 % от всех положительных туляремийных находок, рыжих полевков – 24, серых полевков – 13,4, лесных мышей – 11,8, бурозубок – 7,9, домовых мышей – 3,5, серых крыс – 2, желтогорлых мышей – 1,2, кротов – 0,4 %. Антигены туляремии обнаружены при исследовании комаров рода *Culex* в Воронежской области. С помощью ПЦР положительный результат получен в Курской области при исследовании комаров *Aedes caspius*. В Воронежской области выявлены антигены при исследовании клещей (*Ixodes lividus*, *Dermacentor reticulatus*). В Орловской области при исследовании погадок, погрызов и гнезд грызунов обнаружен антиген возбудителя. Приведенные данные свидетельствуют об идущих локальных эпизоотиях туляремии.

В прогнозируемом периоде не ожидается изменений эпизоотологической ситуации, однако существует риск возникновения спорадических случаев заболеваемости среди населения.

#### Северо-Западный федеральный округ (СЗФО).

Средняя численность грызунов и насекомоядных на территории округа составила 7,3 % попадания на 100 ловушко-суток (за аналогичный период прошлого года – 10,7 %). Численность ММ в лесостарничковых станциях варьировала от 0,7 до 29,2 % попадания, в среднем по СЗФО составила 11,8 % (за аналогичный период прошлого года – 12,3 %). Более 15 % попадания отмечено на территориях Санкт-Петербурга, Калининградской и Вологодской областей, Республики Карелия. В открытых лугополевых станциях численность ММ варьировала от 2,5 до 57,3 % попадания, в среднем по СЗФО составила 18,4 % (за аналогичный период прошлого года – 13,4 %). Более 15 % попадания зарегистрировано в Вологодской и Калининградской областях, Республике Карелия и Санкт-Петербурге. Учеты численности ММ в околородных станциях проводились в 6 субъектах СЗФО (за аналогичный период прошлого года – в 8). Показатели варьировали от 1,5 до 16,4 % попадания, в среднем отмечено 6,9 % (за аналогичный период прошлого года – 3,6 %). Более 15 % попадания отмечено в Калининградской области; от 5 до 15 % – в Вологодской, Мурманской и Ленинградской областях. В населенных пунктах численность ММ в среднем составила 7,5 % попадания.

**Туляремия.** Циркуляция возбудителя туляремии установлена в 7 субъектах СЗФО (за аналогичный период прошлого года – в 9). За 10 месяцев на территории СЗФО зарегистрировано 36 больных туляремией (за аналогичный период прошлого года – 13), случаи отмечены в 6 субъектах округа (за аналогичный период прошлого года – в 5). В Архангельской области отмечен рост относительных и абсолютных показателей заболеваемости населения более чем в 3 раза по сравнению с аналогичным периодом прошлого года, 50 % от всех заболевших зарегистрировано в августе 2014 г. Культура *F. tularensis* выделена в Новгородской области от темной полевки (*Microtus (Agricola) agrestis* Linnaeus, 1761) (за аналогичный период прошлого года – не выделялись). В референс-центр по мониторингу за туляремией на базе ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора культура туляремии не направлялась. Инфицированные ММ обнаружены в 6 субъектах СЗФО: Вологодской, Калининградской, Ленинградской, Новгородской

и Архангельской областях, Республике Карелия (в 6 субъектах за аналогичный период прошлого года). Основную долю среди положительных находок в СЗФО составили рыжие полевки (40,7 %), также регистрировались полевые, лесные и желтогорлые мыши, серые полевки и полевки экономки, серые крысы, бурузубки. Количество инфицированных особей ММ по видам не описано в обзоре Ленинградской области. В Вологодской области антиген возбудителя обнаружен при исследовании погадок и гнезд грызунов, в Архангельской – воды открытых водоемов. Антигены возбудителя обнаружены при исследовании клещей в Ленинградской (*I. ricinus*), Архангельской областях (*I. persulcatus*) и Санкт-Петербурге (вид не указан).

В прогнозируемом периоде существует вероятность локальных эпизоотий и возникновения случаев заболеваемости людей спорадического характера.

**Южный федеральный округ (ЮФО).** Средняя численность ММ на территории округа составила 10,7 % попадания на 100 ловушко-суток (за аналогичный период прошлого года – 12,2 %).

Численность ММ в лесокустарниковых станциях варьировала от 6,5 до 13,7 % попадания, в среднем составила 8,9 % (за аналогичный период прошлого года – 9,7 %).

В открытых луго-полевых станциях численность ММ варьировала от 3,5 до 19,2 % попадания, в среднем по ЮФО составила 9,1 % (за аналогичный период прошлого года – 8,9 %). Учеты в закрытых луго-полевых станциях проводились в Волгоградской области – 9 % попадания, Ростовской области – 11,6, Республике Калмыкия – 10,8 (за аналогичный период прошлого года в Ростовской области – 10,6, Республике Калмыкия – 9,8 %). Численность ММ околородных станций варьировала от 6,8 до 20,7 %, в среднем составила 13,3 % (за аналогичный период прошлого года – 10,2 %). От 5 до 15 % попадания зарегистрировано в Астраханской области, Краснодарском крае, Республиках Адыгея и Калмыкия; более 15 % – в Ростовской и Волгоградской областях. При учетах, следы обитания водяной полевки не отмечены. В отловах повсеместно присутствовали домовые и лесные мыши, серые полевки.

Численность ММ в населенных пунктах в Ростовской области составила 13,8 % попадания и Астраханской области – 1,9 (в Ростовской области 13 % попадания за аналогичный период прошлого года).

**Туляремия.** При исследовании зоологического материала циркуляция возбудителя туляремии отмечена в 4 субъектах ЮФО (за аналогичный период прошлого года – в 4), культуры не выделены. За 10 месяцев на территории ЮФО зарегистрирован 1 больной туляремией в Краснодарском крае (за аналогичный период прошлого года – 2). Среди ММ при проведении иммунологических исследований положительные находки отмечены в Краснодарском крае, Республике Адыгея, Волгоградской и Ростовской областях. Основную долю среди положительных находок

составляют лесные (38,7 %), домовые (20,4 %), желтогорлые и полевые (по 12,2 %) мыши. Также единичные инфицированные пробы выявлены при исследовании материала от серых полевок, бурузубок и кавказских лесных мышей. Видовой состав инфицированных грызунов не представлен в обзоре Ростовской области. В Волгоградской области положительные результаты получены при исследовании клещей *D. reticulatus*, *D. marginatus*, *Rhipicephalus rossicus*, *Hyalomma scupense*; в Ростовской области – *D. marginatus*.

Следовательно, на анализируемых территориях зарегистрирована активность природных очагов инфекции, и в прогнозируемом периоде активность очагов туляремии сохранится.

**Северо-Кавказский федеральный округ (СКФО).** Средняя численность ММ на территории округа составила 7,1 % попадания (на прошлогоднем уровне). Численность ММ в лесокустарниковых станциях определялась в Республиках Дагестан, Ингушетия, Северная Осетия и Ставропольском крае (за аналогичный период прошлого года – в 4 субъектах) и составила 2,0, 2,5, 8,3, 28,6 % попадания соответственно. В среднем по округу – 10,3 % попадания на 100 ловушко-суток (за аналогичный период прошлого года – 13,3 %). Результаты работы в открытых луго-полевых станциях представлены в отчетах 4 субъектов СКФО, где зарегистрировано от 9,5 до 15,4 % попадания, в среднем – 12,1 % (за аналогичный период прошлого года – 10,6 %).

В закрытых луго-полевых станциях учеты проводились в Кабардино-Балкарской Республике. Численность составила 15,7 % попадания (за аналогичный период прошлого года – 19,8 %). Численность ММ в околородных станциях представлена в обзорах Республики Ингушетия и Ставропольского края и составила 0 и 23 % соответственно. В населенных пунктах учеты проводились в Республике Ингушетия, где численность составила 17 % попадания, в отловах зарегистрированы домовые и лесные мыши.

**Туляремия.** Циркуляция возбудителя отмечена в Республике Северная Осетия (за аналогичный период прошлого года – в 2 субъектах) при исследовании погадок. За 10 месяцев на территории СКФО зарегистрировано 3 больных туляремией в Ставропольском крае (2 больных в 2 субъектах за аналогичный период прошлого года). Культуры туляремии от природных объектов не выделены (за аналогичный период прошлого года – 1 культура).

В прогнозируемом периоде не исключается локальная активность природных очагов туляремии.

**Приволжский федеральный округ (ПФО).** На большинстве территорий ПФО в обзорном периоде численность ММ увеличилась по сравнению с аналогичными показателями прошлого года и в среднем составила 21,4 % попадания (за аналогичный период прошлого года – 14,3 %). Численность ММ в лесокустарниковых станциях варьировала от 4,3 до 50,3 % попадания, в среднем по ПФО составила 23,3 %

(за аналогичный период прошлого года – 17 %). Численность ММ в открытых луго-полевых станциях варьировала от 3 до 53,8 % попадания, в среднем составила 20,1 % (за аналогичный период прошлого года – 21,8 %). Численность ММ в околородных станциях варьировала от 3,6 до 56,7 % попадания, в среднем составила 21,7 % (за аналогичный период прошлого года – 18,3 %). При этом более 15 % попадания отмечено в Республиках Башкортостан и Удмуртия, Ульяновской, Кировской, Саратовской областях, Пермском крае. В населенных пунктах – колебания от 0 до 27,2 %.

**Туляремия.** Культуры туляремии не выделены (за аналогичный период прошлого года также не выделены). За 10 месяцев на территории ПФО зарегистрировано 6 больных туляремией (за аналогичный период прошлого года – 11), случаи отмечены в 3 субъектах округа (за аналогичный период прошлого года – в 4). Антиген возбудителя отмечен в материале от ММ в 5 субъектах округа: Пермский край, Нижегородская и Пензенская области, Республики Башкортостан и Мордовия (за аналогичный период прошлого года – в 6). Спектр инфицированных видов был разнообразным: рыжие полевки (от всех зарегистрированных проб – 56,2 %), лесные (21,9 %) и полевые (15,6 %) мыши, единичные обыкновенные полевки и бурозубки. Видовой состав инфицированных ММ не отражен в отчете Пермского края. Исследование погадок хищных птиц и помета хищных млекопитающих показало положительные результаты в Республиках Чувашия и Удмуртия, Кировской и Самарской областях; клещей – в Республике Мордовия (*I. ricinus*), Самарской (*D. marginatus*), Саратовской областях (виды не указаны).

В прогнозируемом периоде возможны локальные эпизоотии туляремии на территории ПФО. Также нельзя исключать случаи заражения населения.

**Уральский федеральный округ (УФО).** Подготовленный обзор по УФО проведен без учета данных по Ямало-Ненецкому автономному округу, ввиду отсутствия специалистов.

Средняя численность составила 9,8 % попадания (за аналогичный период прошлого года – 6,6 %). Численность ММ в лесостарничковых станциях варьировала от 6,1 до 61,1 %, в среднем составила 19,9 % попадания (за аналогичный период прошлого года – 9,5 %). В открытых луго-полевых станциях численность ММ составила в Тюменской области 30 % (за аналогичный период прошлого года – 14,8 %), Свердловской – 10,4 % попадания. В закрытых луго-полевых станциях учеты проводились только в Челябинской и Курганской областях, численность составила 18,3 и 31,5 % попадания соответственно.

В околородных станциях учеты проведены в Свердловской и Челябинской областях, численность ММ составила 10,3 и 30,5 % попадания соответственно. Численность ММ в населенных пунктах представлена в обзоре только Ханты-Мансийского автономного округа и составила 4,9 % попадания.

**Туляремия.** Эпизоотическая активность очагов туляремии зарегистрирована в 2 субъектах УФО (за аналогичный период прошлого года – в 5). За 10 месяцев на территории УФО зарегистрировано 28 больных туляремией (за аналогичный период прошлого года – 1005). Случаи заболевания в 2014 г. отмечены в 3 субъектах УФО (за аналогичный период прошлого года только в Ханты-Мансийском автономном округе (ХМАО)). При исследовании зоолого-энтомологического материала культуры не выделены (за аналогичный период прошлого года – 3). При исследовании ММ из Свердловской области и ХМАО антигены возбудителя обнаружены в пробах органов рыжих полевок, на долю которых приходится 41,4 % от всех положительных проб, бурозубок – 30,1 %, домовых мышей – 15,5 %, также отмечены единичные находки среди рыжих, красно-серых, узкочерепных и серых полевок, полевок-экономок, лесных мышей, степных пеструшек и серых крыс. Антигены туляремии обнаружены при исследовании комаров в ХМАО (род не указан).

Сложившаяся ситуация указывает на активность природных очагов туляремии. В прогнозируемом периоде ситуация останется напряженной. В связи с этим необходимо увеличить объем профилактических мероприятий и, в первую очередь, вакцинацию населения.

**Сибирский федеральный округ (СФО).** Средняя численность ММ на территории округа составила 11,5 % попадания на 100 ловушко-суток (за аналогичный период прошлого года – 9,6 %). В лесостарничковых станциях отмечено от 1,5 до 42 % попадания, в среднем по СФО – 10,8 % (за аналогичный период прошлого года – 11,3 %). В открытых луго-полевых станциях численность ММ варьировала от 1,7 до 25,6 % попадания, в среднем составила 13,1 % (за аналогичный период прошлого года – 3,3 %): в Алтайском крае, Республике Алтай, Новосибирской и Томской областях – более 15 %. В закрытых луго-полевых станциях учеты проводились в Забайкальском и Красноярском краях, где численность составила от 0,5 до 40,6 % попадания соответственно. Численность ММ околородных станций варьировала от 1,5 до 33,9 % попадания, в среднем составила 13,8 % (за аналогичный период прошлого года – 12,8 %): в Алтайском крае, Иркутской области и Республике Бурятия – более 15 %.

**Туляремия.** Активность очагов туляремии отмечена в 9 субъектах СФО (за аналогичный период прошлого года – 8). За 10 месяцев на территории СФО зарегистрировано 5 больных туляремией (за аналогичный период прошлого года – 5), случаи отмечены в 3 субъектах округа (за аналогичный период прошлого года – в 2). Культуры возбудителя не выделялись (за аналогичный период прошлого года – 2). При исследовании иммунологическими и молекулярно-генетическими методами инфицированные млекопитающие зарегистрированы в Кемеровской, Новосибирской, Омской и Томской областях,

Красноярском и Алтайском краях. За анализируемый период на территории СФО выявлены инфицированные клещи (*I. persulcatus*) в Республике Бурятия, Красноярском крае, Новосибирской и Томской областях. В Алтайском крае антиген обнаружен у клещей *D. silvarum*. При исследовании комаров циркуляция возбудителя выявлена в Новосибирской (*Ochlerotatus cantans*, *Oc. punctor*; *Oc. flavescens*) и Томской областях (р. *Anopheles*); слепней – Алтайском крае (*Tabanus autumnalis*), Новосибирской (р. *Huromitra*) и Омской (*Tabanus autumnalis*) областях; эктопаразитов – в Красноярском крае. Антигены возбудителя обнаружены при исследовании гнезд грызунов в Красноярском крае и Новосибирской области; погадок хищных птиц и помета хищных млекопитающих – в Республиках Алтай и Бурятия, Алтайском и Красноярском краях, Иркутской и Новосибирской областях.

На территории округа в прогнозируемом периоде активность природных очагов туляремии сохранится на прежнем уровне.

**Дальневосточный федеральный округ (ДФО).**

Подготовленный обзор по ДФО проведен без учета данных по Чукотскому автономному округу. Средняя численность ММ на территории округа составила 12,5 % попадания на 100 ловушко-суток (15,9 % за аналогичный период прошлого года). Численность ММ в лесокустарниковых станциях варьировала от 2,5 до 41,8 % попадания, в среднем по ДФО составила 14 % (за аналогичный период прошлого года – 19,6 %): более 15 % попадания определено в Хабаровском и Камчатском краях, Еврейской автономной области. В открытых луго-полевых станциях численность ММ варьировала от 4,8 до 29,6 % попадания, в среднем по ДФО составила 13 % (за аналогичный период прошлого года – 20,7 %). Численность ММ в околородных станциях варьировала от 2,2 до 28,7 % попадания, в среднем составила 11,5 % (за аналогичный период прошлого года –

14,3 %). Численность ММ в населенных пунктах исследовалась в Хабаровском крае, Магаданской и Амурской областях и составила 8,1, 50,1 и 3,6 % соответственно (в среднем за аналогичный период прошлого года – 6,9 %).

**Туляремия.** Активность очагов туляремии отмечена в 3 субъектах ДФО (за аналогичный период прошлого года – в 5). За 10 месяцев на территории ДФО больные туляремией не зарегистрированы (за аналогичный период прошлого года – 2 больных в 2 субъектах). В обзорном и аналогичном периодах прошлого года культуры туляремии не изолированы. Антитела к возбудителю туляремии у млекопитающих выявлены в Амурской области (полевая и восточноазиатская мыши, красно-серая и дальневосточная полевки, полевка Максимовича, бурозубка, азиатский бурундук), Камчатском крае (70 соболей). Молекулярно-генетическими методами инфицированные грызуны выявлены в Хабаровском крае (красно-серая полевка и восточноазиатская мышь). Антиген возбудителя обнаружен у клещей р. *Dermacentor* и *Ix. persulcatus*, а также слепней р. *Tabanus* в Амурской области. В Хабаровском крае антиген обнаружен при исследовании погадок хищных птиц и помета хищных млекопитающих, гнезд грызунов и проб ила, гидробионтов; в Амурской области – погадок хищных птиц и помета хищных млекопитающих.

В прогнозируемом периоде на отдельных территориях ДФО существует возможность возникновения локальных эпизоотий туляремии.

**Крымский федеральный округ.** Численность ММ в 2014 г. не исследовалась. Случаев заболеваний туляремией за этот период не отмечено. В ретроспективе в этом регионе люди болели в ноябре 1981 г. (3 случая), декабре 1989 и 1997 гг. (по 2 случая), марте 2000 г. (число случаев не указано).

В целом ситуация по туляремии в 2014 г. стабилизировалась. Уровень численности носителей как в 1-м полугодии (рис. 2), так и во 2-м был в пределах

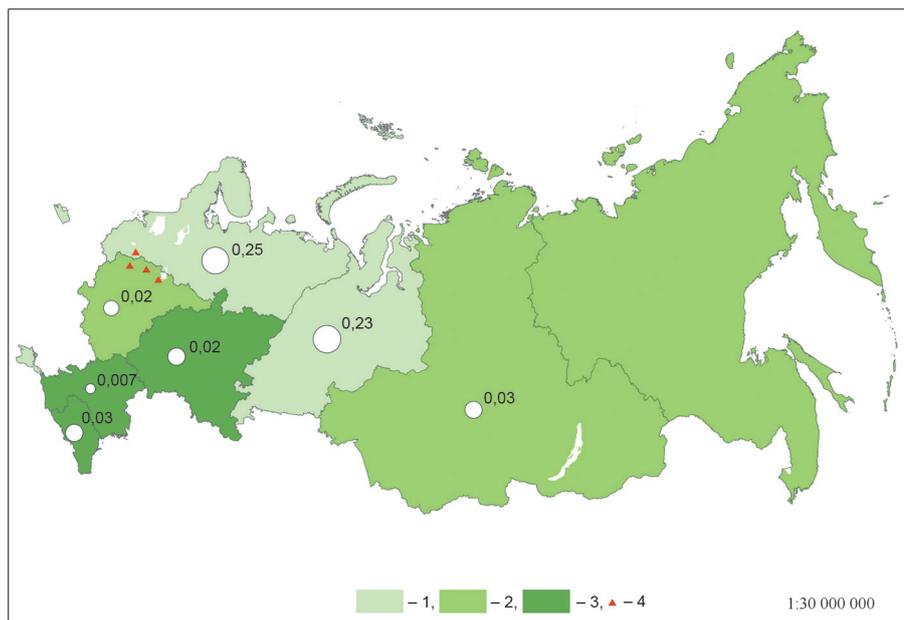


Рис. 2. Относительная численность носителей на 100 ловушко-суток (1 – до 4 %, 2 – 4–8 %, 3 – более 8 %), 4 – места выделения культур, числа – показатели заболеваемости туляремией на 100 тыс. населения по федеральным округам Российской Федерации в 2014 г.

средних многолетних. Интересен факт, что с течением времени так же, как и в природных очагах чумы, в очагах туляремии может происходить смена доминирующих носителей, к примеру в лесостепной части Ставропольского края до 70-х годов прошлого столетия основным носителем туляремии являлась обыкновенная полевка, а позже доминантом стала малая белозубка [3]. В 2015 г. ожидается повышение численности ММ в регионах с благоприятными условиями перезимовки (высокий снежный покров, отсутствие аномальных погодных условий и т.д.). Определенные климатические, в основном гидро-термические, показатели (сумма осадков, дата схода снежного покрова и др.) имеют достаточно надежное прогностическое значение [4].

Таким образом, можно констатировать, что природные очаги туляремии в 2014 г. находились в слабоактивном состоянии: наибольшие показатели заболеваемости в СЗФО – 0,25 и УФО – 0,23 на 100 тыс. населения (рис. 2). Как правило, после проявлений вспышечного характера (в частности 2013 г.) очаги туляремии стабилизируются. Поэтому в 2015 г. общая обстановка по данной инфекционной болезни ожидается благополучной. Однако следует учитывать, что нестабильность экосистем (в первую очередь, аномальные климатические факторы) может привести к дестабилизации паразитарных систем и как следствие к осложнению эпизоотической и эпидемиологической ситуаций. В этом плане особое внимание следует уделить территориям СЗФО, УФО, СФО и ПФО.

Прогноз касается также и других природно-очаговых болезней (ГЛПС, лептоспироз, Крымская геморрагическая лихорадка и др.), поскольку носителями в подавляющем большинстве случаев являются одни и те же виды млекопитающих.

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

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Безсмертный В.Е., Попов В.П. Эпизоотическая актив-

ность природных очагов туляремии на территории Центрального федерального округа РФ в 2010 году. *Журнал Регион-Надзор*. 2011; 2(38):48–50.

2. Кологоров А.И., Дмитриева Л.Н., Шиянова А.Е., Тарасов М.А., Поршаков А.М., Попов Н.В., Топорков В.П., Кутырев В.В. Эпидемиологическая ситуация по природно-очаговым и зоонозным инфекциям в Приволжском федеральном округе в 2000–2009 гг. и прогноз на 2010 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2010; 2(104):5–10.

3. Левченко Б.И., Дегтярева Л.В., Зайцев А.А., Григорьев М.П., Остапович В.В. Роль отдельных видов млекопитающих в поддержании природной очаговости на территории лесостепной части природного очага туляремии Ставропольского края. *Пробл. особо опасных инф.* 2014; 3:30–3.

4. Окулова Н.М., Сироткина Т.Т. Многолетняя динамика и прогноз заболеваемости для туляремии и псевдотуберкулеза в Ярославской области. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* 2001; 4:13–7.

#### References

1. Bezsmertny V.E., Popov V.P. [Epizootic activity of tularemia natural foci in the territory of RF Central Federal District in 2010]. *Zh. Region-Nadzor*. 2011; 2(38):48–50.

2. Kologorov A.I., Dmitrieva L.N., Shiyanova A.E., Tarasov M.A., Porshakov A.M., Popov N.V., Toporkov V.P., Toporkov A.V., Kutyrev V.V. [Epidemiologic situation on natural focal and zoonotic infections in Privolzhskiy Federal District in 2000–2009 and the prognosis for 2010]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2010; 2(104):5–10.

3. Levchenko B.I., Degtyareva L.V., Zaitsev A.A., Grigor'ev M.P., Ostapovich V.V. [The role of certain species of small mammals in the persistence of natural foci in the territory of forest-steppe zone of the natural tularemia focus of the Stavropol Region]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2014; 3:30–3.

4. Okulova N.M., Sirotkina T.T. [Long-term dynamics and morbidity forecast as regards tularemia and pseudotuberculosis in the Yaroslavl Region]. *Zh. Mikrobiol., Epidemiol. Immunobiol.* 2001; 4:13–7.

#### Authors:

*Trankvilevsky D.V.* Federal Center of Hygiene and Epidemiology. 19 a, Varshavskoe Highway. Moscow, 117105, Russian Federation. E-mail: gsen@fcgie.ru

*Udovikov A.I., Zakharov K.S., Popov N.V.* Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru

*Popov V.P., Bezsmertny V.E.* Plague Control Center. 4, Musorgskogo St., Moscow, 127490, Russian Federation. E-mail: protivochym@nln.ru

#### Об авторах:

*Транквилевский Д.В.* Федеральный центр гигиены и эпидемиологии. Российская Федерация, 117105, Москва, Варшавское шоссе д. 19 а. E-mail: gsen@fcgie.ru

*Удовиков А.И., Захаров К.С., Попов Н.В.* Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

*Попов В.П., Безсмертный В.Е.* Противочумный центр. Российская Федерация, 127490, Москва, ул. Мусоргского, 4. E-mail: protivochym@nln.ru

Поступила 12.02.15..

**Е.В.Путинцева<sup>1</sup>, В.П.Смелянский<sup>1</sup>, В.А.Пак<sup>1</sup>, Н.В.Бородай<sup>1</sup>, К.В.Жуков<sup>1</sup>, В.В.Мананков<sup>1</sup>,  
Н.И.Погасий<sup>1</sup>, Г.А.Ткаченко<sup>1</sup>, Л.В.Лемасова<sup>1</sup>, М.Л.Леденева<sup>1</sup>, Н.Д.Пакскина<sup>2</sup>, Д.В.Викторов<sup>1</sup>,  
В.А.Антонов<sup>1</sup>**

## **ЭПИДЕМИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО ЛИХОРАДКЕ ЗАПАДНОГО НИЛА В 2014 г. В МИРЕ И НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ И ПРОГНОЗ ЕЕ РАЗВИТИЯ В 2015 г.**

<sup>1</sup>ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт», Волгоград,  
Российская Федерация; <sup>2</sup>Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей  
и благополучия человека, Москва, Российская Федерация

Эпидемический сезон по ЛЗН в 2014 г. продолжался с мая по сентябрь, характеризовался низкой интенсивностью заболеваемости и ее проявлением только в старых очагах. Всего зарегистрировано 27 случаев заболевания населения лихорадкой Западного Нила в 8 субъектах Российской Федерации. Снижение интенсивности эпидемического процесса в сезон 2014 г. наблюдалось и в других регионах мира: США, Канаде, странах Европы и Средиземноморья. Продолжающаяся циркуляция 2-го генотипа ВЗН в эпидемический сезон 2014 г. на территории РФ (Волгоградская область) подтверждена секвенированием фрагментов геномных локусов 5'UTR-protC, ProtE, NS3 вирусной РНК из клинического материала и объектов внешней среды.

*Ключевые слова:* лихорадка Западного Нила, вирус Западного Нила, эпидемическая ситуация.

**E.V.Putintseva<sup>1</sup>, V.P.Smelyansky<sup>1</sup>, V.A.Pak<sup>1</sup>, N.V.Borodai<sup>1</sup>, K.V.Zhukov<sup>1</sup>, V.V.Manankov<sup>1</sup>, N.I.Pogasiy<sup>1</sup>,  
G.A.Tkachenko<sup>1</sup>, L.V.Lemasova<sup>1</sup>, M.L.Ledeneva<sup>1</sup>, N.D.Pakskina<sup>2</sup>, D.V.Viktorov<sup>1</sup>, V.A.Antonov<sup>1</sup>**

## **Epidemic Situation on West-Nile Fever in 2014 in the Territory of the Russian Federation and Around the World, and Prognosis for its Development in 2015**

<sup>1</sup>Volgograd Research Anti-Plague Institute, Volgograd, Russian Federation; <sup>2</sup>Federal Service for Surveillance  
in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Moscow, Russian Federation

West-Nile fever epidemic season lasted since May to September inclusively in 2014 in Russia. It was marked by the low morbidity intensity, which manifested itself in the old-established foci only. In total reported were 27 cases of West-Nile fever infection in 8 constituent entities of the Russian Federation. Decrease in epidemic process intensity was observed in other parts of the world too: the USA, Canada, European and Mediterranean countries. Sustained circulation of WNF virus of the second genotype in the territory of the Russian Federation (the Volgograd Region) was verified using sequencing of the fragments of the viral RNA genome locuses 5'UTR-protC, ProtE, NS3 obtained from clinical material and ambient environment objects.

*Key words:* West-Nile fever, West-Nile virus, epidemic situation.

По данным Европейского центра по профилактике и контролю за заболеваниями (European Centre for Disease Prevention and Control, ECDC), в 2014 г. интенсивность эпидемического процесса по ЛЗН в странах Европы и Средиземноморья была значительно ниже 2013 г. На 13.11.2014 г. всего было зарегистрировано 195 случаев заболевания (в 2013 г. – 606), в том числе в Австрии – 1, Греции – 15, Венгрии – 11, Италии – 24, Румынии – 23, Боснии и Герцоговине – 13, Сербии – 76, Израиле – 31, Палестине – 1. В сезон 2014 г. доля нейроинвазивных форм болезни составила 46,6 % (2013 г. – 2,6 %), а летальность – 6 % (в 2013 г. – 0,7 %) [2, 8]. Все летальные случаи ЛЗН в эпидемический сезон 2014 г. зарегистрированы в Сербии.

По данным Центра по контролю и профилактике заболеваний (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) на 01.11.2014 г. в США зарегистрировано 1935 случаев заболевания населения ЛЗН, что существенно ниже показателя 2013 г. (2374 случаев); при этом летальным исходом закончилось 3,8 % заболеваний (в 2013 г. – 4,0 %). Доля нейроинвазивных

форм ЛЗН составила 59,4 % от всех выявленных случаев (в 2013 г. – 51 %) [2, 6].

В Канаде, в сезон 2014 г., по сведениям Агентства общественного здравоохранения (Public Health Agency of Canada, PHAC), выявлено всего 19 случаев заболевания ЛЗН (в сезон 2013 г. – 108). Нейроинвазивные формы болезни составили 47,4 % (в 2013 г. – 42 %), летальность – 0 % (2013 г. – 3,6 %) [2, 9].

На территории Российской Федерации в 2014 г. зарегистрировано 27 (в 2013 г. – 191) случаев заболевания населения лихорадкой Западного Нила в 8 субъектах РФ (в 2013 г. – в 17 [2]). Сведения о числе зарегистрированных случаев ЛЗН в субъектах РФ приведены в таблице.

По данным эпидемиологического расследования специалистов ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» (далее ЦГиЭ) в субъектах РФ, в эпидемический сезон 2014 г. зарегистрировано заражение ЛЗН жителя Челябинской области при туристической поездке (Шри-Ланка) в феврале. Отмечен также случай завоза ЛЗН в Саратовскую область с заражением на территории Воронежской области.

**Количество зарегистрированных случаев заболевания ЛЗН  
в субъектах Российской Федерации в 2014 г.**

Наименование субъекта	Всего зарегистрированных случаев заболевания
Астраханская область	5
Белгородская область	1
Волгоградская область	5
Воронежская область	4
Ростовская область	1
Самарская область	9
Саратовская область	1
Челябинская область	1
<i>Итого:</i>	27

В целом, эпидемический процесс лихорадки Западного Нила в 2014 г. в Российской Федерации характеризовался значительным снижением общего количества случаев заболевания (с 191 в 2013 г. до 27 в 2014 г.), низкой интенсивностью и проявлением лишь на территориях старых очагов (Астраханская, Волгоградская, Ростовская, Воронежская, Саратовская, Белгородская, Самарская области). Эпидемический сезон 2014 г. продолжался с мая по сентябрь, как и в предыдущем году. В 2014 г. заболеваемость населения ЛЗН регистрировалась равномерно в летний период сезона (приблизительно по 26 % заболевших в июне, июле, августе), пик заболеваемости наблюдался в сентябре (41 % случаев). Следует отметить, что в сезон 2013 г. пик заболеваемости ЛЗН наблюдался в июле–августе (82 % случаев), при этом число случаев заболевания в июле составило 29, а в августе – 53 %, тогда как на другие месяцы сезона 2013 г. пришлось примерно по 3 % от всех зарегистрированных случаев.

Как и в предыдущие сезоны, в 2014 г. на территории РФ преобладали клинические формы ЛЗН без поражения центральной нервной системы (в среднем по России – 86 %, в сезон 2013 г. – 82 %). Доля нейроинвазивных форм ЛЗН в 2014 г. составила 14 % (в 2013 г. – 18 %). В данном отношении эпидемический процесс ЛЗН в России отличается от такового в США, Канаде и, на сегодняшний момент, в Европе. Так, в регионах Центральной Европы и Средиземноморья в 2014 г. доля заболеваний нейроинвазивными формами ЛЗН составляла в Греции – 93,3, Италии – 87,5, Сербии – 73,5 %, а в среднем по странам ЕС и граничащим с ним – 46,6 % [8]. Такая ситуация связана с позициями служб здравоохранения США, Канады и стран ЕС к легкому клиническому течению ЛЗН.

Наметившаяся в России в последние годы тенденция уменьшения доли заболеваний с легким клиническим течением (наиболее вероятно за счет регистрации) [1, 2, 3] продолжалась и в сезон 2014 г. Клинические формы ЛЗН со среднетяжелым течением болезни были преобладающими и составили в среднем по России 67 %, в том числе в Астраханской, Белгородской, Челябинской – 100, в Волгоградской – 80, Воронежской – 75 %. Симптомами проявления

ЛЗН в сезон 2014 г. являлись повышение температуры тела, головная и мышечные боли, общая слабость, сыпь. Доля заболеваний с тяжелым клиническим течением в 2014 г. составила 3 % (в 2013 г. – 10 %), летальных случаев не зарегистрировано (в 2013 г. – 1,5 %).

В 2014 г. число случаев ЛЗН, выявленных у городских жителей, было преобладающим и составило в среднем по России 74 % (в Волгоградской, Ростовской, Воронежской областях этот показатель составил 100 %, что свидетельствует о недостаточной работе по диагностике ЛЗН в лечебно-профилактических учреждениях сельской местности, особенно среди больных со средне-тяжелым течением заболевания). Показателем подготовленности врачей и организации эффективной диагностики ЛЗН в лечебно-профилактических учреждениях сельской местности может служить Астраханская область, где доля больных ЛЗН, выявленных среди жителей сельской местности, в 2014 г. составила 67 % (в 2013 г. – 61 %), при многолетней тенденции регистрации в основном средне-тяжелых форм заболевания.

Общероссийская тенденция выравнивания долей возрастных контингентов населения, затронутых ЛЗН [1, 3], продолжена и в эпидсезон 2014 г. Доли зарегистрированных случаев ЛЗН в 2014 г. практически одинаковы в группах «дети до 14 лет», «30–39 лет», «50–59 лет» и «60 и старше», при этом общая доля заболевших в возрасте до 49 лет составила 52 % (в 2013 г. – 48 %). Это может свидетельствовать о значительном риске заражения ЛЗН жителей любого возраста. Однако эпидемический процесс на разных территориях имеет свои особенности, которые необходимо учитывать при планировании конкретных профилактических мероприятий (например, в старом очаге Астраханской области среди заболевших преобладающей возрастной группой «30–39 лет» (60 %), тогда как на территории Самарской области наибольшее число заболевших выявлено среди детей (56 %)).

Среди заболевших ЛЗН в 2014 г. не наблюдалось различий по половой принадлежности, как и в среднем за весь период регистрации ЛЗН на территории РФ.

По результатам эпидемиологического расследования случаев заболевания ЛЗН в 2014 г. установлено, что 74 % заболевших заразились по месту проживания (как в городах, так и в сельских поселениях). Данный показатель в сезон 2013 г. составлял 48 %. Загородные места отдыха, включая территории уже сформировавшихся природных очагов ЛЗН на территории России, отмеченные как основные места заражения населения в 2013 г. (37 % случаев) [2], в 2014 г. дали 11 % случаев инфицирования.

Перечисленные особенности эпидемического процесса явились следствием климатических проявлений весеннего и летнего периодов 2014 г. На большей части территории Европейской части РФ весна и лето были более прохладными и значительно более засушливыми; осеннее похолодание на большей части территории страны наступило раньше, чем в

2013 г. Данные климатические особенности сезона 2014 г. определили среднесезонные показатели (ССП) численности кровососущих членистоногих (комаров родов *Culex* и *Anopheles*), которые на протяжении всего сезона не превышали среднесезонные показатели, а в регионах средней полосы России, Поволжья и юга России были значительно ниже среднесезонных. Так, ССП комаров вида *Culex pipiens* в Ростовской области составил в природных биотопах 0,1 экз./за 20 мин (среднесезонный – 2,2), в городских условиях – 0,2 (среднесезонный – 1,4). Численность комаров вида *Culex modestus* для этого региона была в среднем в 5 раз ниже среднесезонного показателя для городских локаций и в 14 раз – в природе. В Воронежской области в сезон 2014 г. в городских условиях на дневке ССП численности составил 2,1 экз./м<sup>2</sup>, (среднесезонный – 6 экз./м<sup>2</sup>), в природных биотопах – 3,8 экз./на 10 взмахов сачка (среднесезонный – 5,8). В городских условиях в Саратовской области в июне численность комаров рода *Culex* в 2,5 раза превышала среднесезонный показатель, однако с июля по сентябрь в сборах комары рода *Culex* отсутствовали.

На южных территориях Сибири, Забайкальского и Приморского краев лето было жарким и засушливым. Показатели численности *Culex* spp. в сезон 2014 г. были незначительно выше среднесезонных показателей. Так, в Приморском крае в августе 2014 г. среднемесячная численность имаго в городских условиях была в 2 раза выше среднесезонных значений, однако при этом среднесезонный показатель (2,5 экз./за 20 мин) лишь незначительно превышал среднесезонное значение (2,0 экз./за 20 мин).

Обозначенные климатические особенности прошедшего эпидсезона отчетливо проявились и на территории старого природного очага ЛЗН в Волгоградской области. Средняя температура лета 2014 г. в Волгоградской области была несколько выше среднесезонного показателя (22,3 °С) и составила 23,5 °С. Для лета 2014 г. характерны резкие колебания ночных и дневных температур. Так, в летний период наблюдалось 28 ночей с температурой воздуха ниже 15 °С (в 2013 г. – 34, в 2012 г., когда наблюдался эпидемический подъем заболеваемости ЛЗН – 19, при этом средняя температура лета была 24,6 °С). При резких колебаниях ночных и дневных температур вода в открытых водоемах и емкостях на приусадебных участках не прогревалась до температурных значений, оптимальных для развития личинок комаров рода *Culex*, что привело к низкой численности имаго. Кроме того, температурный фактор повлиял и на скорость репликации вируса в организме комара, температурный минимум для которого составляет 14,7 °С. Таким образом, численность переносчиков и уровень их зараженности не имели оптимальных значений для интенсивного проявления эпидемического процесса.

Учет численности основных переносчиков по методу Гуцевича (метод учета «на себе» за 20 мин,

МУ 3.1.3012-12 «Сбор, учет и подготовка к лабораторному исследованию кровососущих членистоногих в природных очагах опасных инфекционных болезней») связан с высоким риском заражения специалистов-энтомологов. Проведение отлова переносчиков – комаров – с использованием различных автоматических ловушек позволяет преодолеть данную проблему. В 2014 г. специалисты Референс-центра по мониторингу за возбудителем ЛЗН (на базе ФКУЗ Волгоградский НИПЧИ) проводили учет численности комаров рода *Culex* в Волгоградской области с использованием автоматических ловушек Mosquito Magnet Independence (Woodstream Corporation, США) и BG-Sentinel (BioGents AG, Германия). Ловушки применялись в период максимальной активности комаров (сумеречное и ночное время, с 20.00 вечера до 8.00 утра). В контрольных точках города ССП составил 47,8 экз. за 1 ловушку/ночь, в природных биотопах – 32,5 экз. за 1 ловушку/ночь.

Переходя к вопросам лабораторной диагностики ЛЗН, следует сказать, что наибольшая выявляемость ЛЗН в эпидемический сезон 2014 г. отмечалась среди больных, имеющих симптоматику тяжелого гриппоподобного синдрома и клинику клещевых лихорадок. Клинические проявления в виде кожных высыпаний (экзантемы) встречались у 18 % заболевших. Все больные в 2014 г. имели лабораторное подтверждение ЛЗН выявлением специфических IgM в диагностическом титре. У больных из Волгограда, Самары и Саратова выявлены РНК ВЗН методом ОТ-ПЦР. При исследовании РНК из материала от больного из Волгоградской области методом секвенирования 2 участков Ns3 был детектирован 2-ой генотип ВЗН.

По данным, представленным Референс-центру из субъектов РФ, диагностика ЛЗН проводилась наборами реагентов, имеющими государственную регистрацию. Для постановки ТИФА использовались тест-системы Euroimmun (Германия), «Вектор Бест» (Россия) и «Биосервис» (Россия), для генодиагностических исследований методом ОТ-ПЦР применялась тест-система «АмплиСенсWNV-FL» (ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора).

Активное выявление больных лихорадкой Западного Нила среди лихорадящих больных и больных, имеющие другие сходные с ЛЗН симптомы, проводилось в 2014 г. в 53 субъектах РФ (в 2013 г. – в 77, 2012 г. – в 51) [1, 2]. Необходимо отметить, что заметное снижение или отсутствие лабораторных исследований больных со сходной с ЛЗН клинической симптоматикой в лечебно-профилактических учреждениях на территориях, где найдены маркеры ВЗН в объектах внешней среды (прежде всего территории Кавказского региона, южные территории Сибири и европейской части РФ), может привести к социальным потерям в случае возникновения массовой заболеваемости, при этом негативные последствия будут обусловлены также отсутствием опыта врачей в проведении лабораторной диагностики, лечения и организации противоэпидемических мероприятий.

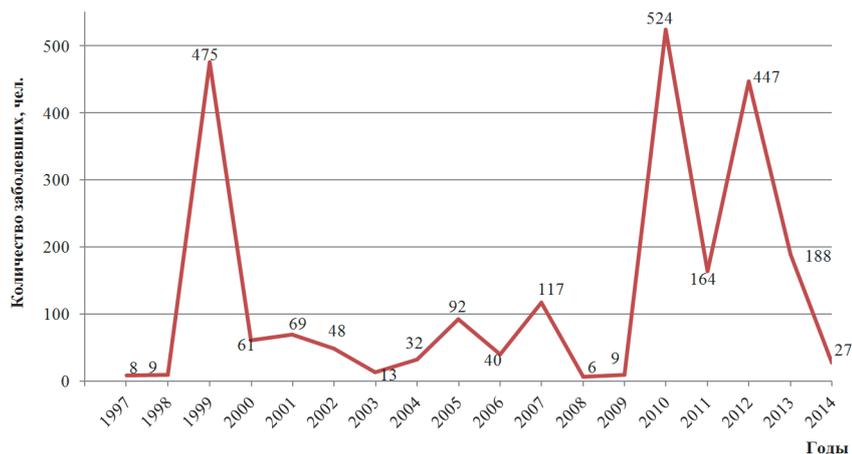


Рис. 1. Динамика заболеваемости ЛЗН населения Российской Федерации за период наблюдения 1997–2014 гг.

Исследования объектов внешней среды на наличие маркеров ВЗН проводили ЦГиЭ субъектов, противочумные станции и институты, ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор».

Маркеры ВЗН в носителях в 2014 г. обнаружены на территории 9 субъектов (в 2013 г. – 8 [2]). В Волгоградской области РНК ВЗН детектирована в комарах *Culex pipiens*, *Cx. modestus*, в Республике Калмыкия – в комарах *Cx. pipiens*, клещах (информация о видах отсутствует), Красноярском крае – в комарах *Cx. pipiens*, в Хабаровском крае – в материале от дикой перелетной утки, в Воронежской области – в комарах *Cx. pipiens*, в Нижегородской области – в комарах рода *Anopheles*, в Ростовской – в серой вороне, в Самарской – в лесной мыши и клещах *Dermacentor marginatus*, в Саратовской – в серой вороне, лесной мыши, комарах *Cx. pipiens*.

Исследование РНК ВЗН, обнаруженной в комарах видов *Cx. modestus* и *Cx. pipiens* из Волгоградской области методом секвенирования фрагментов генома вируса в локусах 5'UTR-protC, ProtE, NS3 показало принадлежность изолятов 2014 г. к 2-му генотипу ВЗН.

В эпидемический сезон 2014 г. антитела IgG к ВЗН найдены при обследовании различных групп населения в 25 субъектах РФ (в 2013 г. – в 22 субъектах [2]): в республиках Адыгея (2%), Алтай (64%), Удмуртия (17%), Хакасия (51%), Красноярском крае (31%), Астраханской (78%), Брянской (5%), Волгоградской (13%), Воронежской (8%), Ивановской (2%), Калужской (2%), Кемеровской (12%), Курганской (2%), Липецкой (2%), Мурманской (9%), Нижегородской (5%), Новгородской (1%), Ростовской (15%), Саратовской (9%), Смоленской (5%), Тверской (10%), Тюменской (34%), Ульяновской (4%), Челябинской (1%) областях и Санкт-Петербурге (1%).

Наличие IgG к ВЗН у здорового населения наиболее вероятно говорит о циркуляции ВЗН на территории субъектов, а следовательно, возможности проявления интенсивного эпидемического процесса (с тяжелыми клиническими формами) при наличии благоприятных климатических условий.

Показатель заболеваемости населения ЛЗН в офи-

циальные статистические формы включен с 1997 г. (Астраханская область). На сегодняшний день заболеваемость населения зарегистрирована в 29 субъектах.

В целом, за 16-летний период наблюдений наивысшие пики заболеваемости ЛЗН населения Российской Федерации наблюдались в 1999, 2010 и 2012 гг. с повторяемостью в 11-летнем интервале в виде двухволнового подъема (рис. 1). При этом, зарегистрированные пики солнечной активности пришлись на 2000 и 2012 гг. Наличие корреляции этих показателей требует дальнейшего изучения при увеличении периода наблюдения за заболеваемостью ЛЗН.

В результате анализа данных мониторинга возбудителя ЛЗН на территории РФ в период 1999–2014 гг. установлено, что маркеры ВЗН выявлялись в 60 субъектах Российской Федерации (рис. 2).

Эпидемический процесс ЛЗН в различных регионах мира обусловлен циркуляцией нескольких геновариантов ВЗН. В 2014 г. по информации Центра по изучению экзотических болезней (Италия, на 13.11.2014 г.), ВЗН 2-го генотипа (lineage 2) детектирован в диких, оседлых и домашних птицах (серой вороне, сороке, сойке, домашних курах) и комарах в 8 регионах Италии, тогда как в лошадях выявлен ВЗН 1-го генотипа (lineage 1) [7].

По данным Министерства продовольствия, сельского хозяйства и животноводства Турции и исследований Всемирной организации по охране здоровья животных, в 2014 г. в Турции выявлена РНК ВЗН в лошадях, генотипированная как lineage 2 и сходная с геновариантом вируса, выделенным в Греции в 2010 и 2012 гг. [8].

Согласно сведениям, опубликованным в периодическом издании Eurosurveillance (от 03.12.2014 г.), в Чешской Республике выделен штамм ВЗН lineage 2 из комаров *Cx. modestus*, который тесно связан с австрийскими, итальянскими и сербскими штаммами вируса, выделенными в 2008, 2011 и 2012 гг. [4].

Румынскими исследователями установлено, что на территории Румынии циркулирует ВЗН lineage 2, который был выделен из клещей *Hyalomma marginatum marginatum*, снятых с певчего дрозда (*Turdus philomelos*) в дельте Дуная. Штамм имел ге-



Рис. 2. Обнаружение вируса Западного Нила или его маркеров на территории Российской Федерации в 1999–2014 гг.

нетическое родство с волгоградским штаммом ВЗН 2007 г. [5].

По результатам исследований Референс-центра по мониторингу за возбудителем ЛЗН (Волгоград, Россия) в сезон 2014 г. установлено, что на территории Волгоградской области циркулировал 2-ой генотип ВЗН, выделенный из крови больного и комаров *Cx. modestus* и *Cx. pipiens*. Данный геновариант ВЗН циркулирует на обозначенной территории с 2007 г.

Таким образом, в эпидемический сезон 2014 г. на территории РФ зарегистрировано 27 случаев заболевания ЛЗН в 8 субъектах РФ, а эпидемический процесс, в сравнении с сезоном 2013 г., имел более низкую интенсивность и проявился в основном на территории старых очагов. Обнаружение антигенов или РНК вируса лихорадки Западного Нила в различных объектах внешней среды и наличие у здорового населения специфических IgG к ВЗН свидетельствуют о продолжающейся циркуляции ВЗН в регионах РФ, а следовательно, возможности эпидемических осложнений. Продолжающаяся циркуляция 2-го генотипа ВЗН в эпидемический сезон 2014 г. подтверждена генетическими исследованиями клинического материала и объектов внешней среды как на территории РФ (Волгоградская область), так и в странах Европы (Италия, Турция, Чехия, Румыния).

Несомненна важность мониторинговых исследований носителей и переносчиков ВЗН, но использование старых методических приемов учета численности векторов ЛЗН, очевидно, небезупречно с точки зрения биологической безопасности и связано с высоким риском заражения специалистов-энтомологов на эндемичных по ЛЗН территориях. Референс-центр считает целесообразным применение безопасных методов учета численности и отлова членистоногих, в частности, использование автоматических ловушек.

Говоря о прогнозе эпидемической ситуации по ЛЗН на 2015 г., необходимо отметить, что данные

Росгидромета, изложенные в стратегическом прогнозе изменений климата Российской Федерации на период до 2015 г., демонстрируют значительные изменения климатических условий на территории страны в настоящее время и сохранение тенденции этих изменений в ближайшие годы. Продолжительность весеннего сезона в средних широтах России по мере изменения климата постепенно сокращается, зима становится длиннее, а лето – жарче, наблюдается эффект смещения сезонов. В силу значительных природно-обусловленных различий климата на территории России изменения в регионах проявляются крайне неравномерно. Поэтому при проведении эпидемиологического мониторинга и прогноза крайне важен учет территориальных особенностей и конкретных региональных факторов, в том числе, климатических показателей, выявляемых в ходе изучения эндемичности территорий по ЛЗН.

При краткосрочном прогнозировании наибольшими территориями риска проявления эпидпроцесса ЛЗН среди населения, при оптимальных климатических проявлениях и численности эффективных переносчиков, будут территории с установленной циркуляцией ВЗН в носителях.

Исходя из анализа данных заболеваемости ЛЗН населения Российской Федерации за наблюдаемый период 1997–2014 гг. (рис. 1), когда наивысшие пики заболеваемости повторились с 11-летним интервалом, следующий пик выраженного подъема заболеваемости следует ожидать в 2021 г., однако для точного утверждения необходимо более длительный период наблюдений.

Референс-центр по мониторингу за возбудителем ЛЗН отмечает важность проведения комплексной работы по эпидемиологическому надзору за ЛЗН совместно с органами и учреждениями Россельхознадзора и Ветеринарной службы, а также других заинтересованных ведомств. Важным разде-

лом эпидемиологического мониторинга и прогноза остается слежение за эпизоотиями птиц и животных, массовый падеж которых может служить предвестником повышения заболеваемости ЛЗН населения на конкретной территории.

Референс-центр по мониторингу за возбудителем ЛЗН благодарит руководителей и сотрудников Управлений Роспотребнадзора, Центров гигиены и эпидемиологии субъектов Российской Федерации, а также противочумных институтов и противочумных станций, предоставивших данные для проведения эпидемиологического анализа, результаты которого изложены в настоящей работе.

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

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Антонов В.А., Смоленский В.Ю., Путинцева Е.В., Липницкий А.В., Смелянский В.П., Яковлев А.Т., Мананков В.В., Погасий Н.И., Красовская Т.Ю. Эпидемиологическая ситуация по лихорадке Западного Нила в 2011 году на территории Российской Федерации и прогноз ее развития. *Пробл. особо опасных инф.* 2012; 111(1):17–21.
2. Путинцева Е.В., Антонов В.А., Смелянский В.П., Пакскина Н.Д., Скударева О.Н., Викторов Д.В., Ткаченко Г.А., Пак В.А., Жуков К.В., Монастырский М.В., Бородай Н.В., Мананков В.В., Погасий Н.И., Шпак И.М., Савченко С.С., Лемасова Л.В., Бондарева О.С., Замарина Т.В., Баркова И.А. Особенности эпидемической ситуации по лихорадке Западного Нила в 2013 г. в мире и на территории Российской Федерации и прогноз ее развития в 2014 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2014; 2:33–9.
3. Путинцева Е.В., Антонов В.А., Викторов Д.В., Смелянский В.П., Жуков К.В., Мананков В.В., Погасий Н.И., Ткаченко Г.А., Шпак И.М., Снатенков Е.А. Особенности эпидемической ситуации по лихорадке Западного Нила в 2012 г. на территории Российской Федерации. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 1:25–9.
4. Rudolf I., Bakonyi T., Šebesta O., Mendel J., Peško J., Betášová L., Blažejová H., Venclíková K., Straková P., Nowotny N., Hubálek Z. West Nile virus lineage 2 isolated from *Culex modestus* mosquitoes in the Czech Republic, 2013: expansion of the European WNV endemic area to the North? *Eurosurveillance*. 2014; 19(31):pii=20867 [cited 03 Dec 2014] Available from: <http://www.edenext.eu/content/download/56009/500062/version/1/file/EDENext44.pdf>.
5. Kolodziejek J., Marinov M., Kiss B.J., Alexe V., Nowotny N. *PLoS ONE*. 2014; 9(10):e109905 [cited 03 Dec 2014] Available from: <http://www.edenext.eu/content/download/55269/492227/version/1/file/EDENext242.pdf>.
6. Preliminary Maps & Data for 2014 [Internet]. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), USA [cited 02 Dec 2014]. Available from: <http://www.cdc.gov/westnile/statsMaps/preliminaryMapsData/index.html>.
7. West Nile Disease in Italy in 2014 [Internet]. Epidemiological report WND 13<sup>th</sup> Novembre 2014, n. 13, Centro Studi Malattie Esotiche (CESME) [cited 14 Nov 2014]. Available from: [http://sorveglianza.izs.it/emergenze/west\\_nile/pdf/Bollettino%20\\_WND2014\\_13112014.pdf](http://sorveglianza.izs.it/emergenze/west_nile/pdf/Bollettino%20_WND2014_13112014.pdf).
8. West Nile virus – Multistate (Europe) – Monitoring season 2014 [Internet]. Communicable Disease Threats Report (CDTR), Week 47, 16–22 November 2014. P. 4–5. The European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) [cited 21 Nov 2014]. Available from: <http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/communicable-disease-threats-report-22-nov-2014.pdf>.
9. West Nile Virus and Other Mosquito-Borne Disease National Surveillance Report – October 19 to October 25, 2014 and October 26 to November 1, 2014 (Report Weeks 43 and 44) [Internet]. Public

Health Agency of Canada (PHAC) [cited 27 Nov 2014]. Available from: [http://www.phac-aspc.gc.ca/wnv-vwn/nsr-rms\\_2014/w43-44/assets/pdf/w43-44-eng.pdf](http://www.phac-aspc.gc.ca/wnv-vwn/nsr-rms_2014/w43-44/assets/pdf/w43-44-eng.pdf).

10. World Organisation for Animal Health (OIE) Summary of Immediate notifications and Follow-ups – 2014 (West Nile Fever). Available from: [http://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Immsummary](http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Immsummary).

### References

1. Antonov V.A., Smolensky V.Yu., Putintseva E.V., Lipnitsky A.V., Smelyansky V.P., Yakovlev A.T., Manankov V.V., Pogasy N.I., Krasovskaya T.Yu. [West Nile fever epidemic situation in the Russian Federation territory in 2011 and prognosis of its development]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2012; 111(1):17–21.
2. Putintseva E.V., Antonov V.A., Smelyanskiy V.P., Pakschina N.D., Skudareva O.N., Viktorov D.V., Tkachenko G.A., Pak V.A., Zhukov K.V., Monastirskiy M.V., Boroday N.V., Manankov V.V., Pogasiy N.I., Shpak I.M., Savchenko S.S., Lemasova L.V., Bondareva O.S., Zamarina T.V., Barkova I.A. [The features of West Nile fever epidemiological situation in the world and Russia in 2013 and prognosis of its development in 2014]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2014; 2:33–9.
3. Putintseva E.V., Antonov V.A., Viktorov D.V., Smelyansky V.P., Zhukov K.V., Manankov V.V., Pogasy N.I., Tkachenko G.A., Shpak I.M., Snatnikov E.A. [Peculiarities of epidemiological situation on the West Nile fever in 2012 in the territory of the Russian Federation]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 1:25–9.
4. Rudolf I., Bakonyi T., Šebesta O., Mendel J., Peško J., Betášová L., Blažejová H., Venclíková K., Straková P., Nowotny N., Hubálek Z. West Nile virus lineage 2 isolated from *Culex modestus* mosquitoes in the Czech Republic, 2013: expansion of the European WNV endemic area to the North? *Eurosurveillance*. 2014; 19(31):pii=20867 [cited 03 Dec 2014] Available from: <http://www.edenext.eu/content/download/56009/500062/version/1/file/EDENext44.pdf>.
5. Kolodziejek J., Marinov M., Kiss B.J., Alexe V., Nowotny N. *PLoS ONE*. 2014; 9(10):e109905 [cited 03 Dec 2014] Available from: <http://www.edenext.eu/content/download/55269/492227/version/1/file/EDENext242.pdf>.
6. Preliminary Maps & Data for 2014 [Internet]. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), USA [cited 02 Dec 2014]. Available from: <http://www.cdc.gov/westnile/statsMaps/preliminaryMapsData/index.html>.
7. West Nile Disease in Italy in 2014 [Internet]. Epidemiological report WND 13<sup>th</sup> Novembre 2014, n. 13, Centro Studi Malattie Esotiche (CESME) [cited 14 Nov 2014]. Available from: [http://sorveglianza.izs.it/emergenze/west\\_nile/pdf/Bollettino%20\\_WND2014\\_13112014.pdf](http://sorveglianza.izs.it/emergenze/west_nile/pdf/Bollettino%20_WND2014_13112014.pdf).
8. West Nile virus – Multistate (Europe) – Monitoring season 2014 [Internet]. Communicable Disease Threats Report (CDTR), Week 47, 16–22 November 2014. P. 4–5. The European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) [cited 21 Nov 2014]. Available from: <http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/communicable-disease-threats-report-22-nov-2014.pdf>.
9. West Nile Virus and Other Mosquito-Borne Disease National Surveillance Report – October 19 to October 25, 2014 and October 26 to November 1, 2014 (Report Weeks 43 and 44) [Internet]. Public

### Authors:

Putintseva E.V., Smelyansky V.P., Pak V.A., Boroday N.V., Zhukov K.V., Manankov V.V., Pogasiy N.I., Tkachenko G.A., Lemasova L.V., Ledeneva M.L., Viktorov D.V., Antonov V.A. Volgograd Research Anti-Plague Institute, 7, Golubinskaya St., Volgograd, 400131, Russian Federation. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru

Pakschina N.D. Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, 18, Bld. 5 and 7, Vadkovsky Pereulok, Moscow, 127994, Russian Federation.

### Об авторах:

Путинцева Е.В., Смелянский В.П., Пак В.А., Бородай Н.В., Жуков К.В., Мананков В.В., Погасий Н.И., Ткаченко Г.А., Лемасова Л.В., Леденева М.Л., Викторов Д.В., Антонов В.А. Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 400131, Волгоград, ул. Голубинская, 7. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru

Пакскина Н.Д. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Российская Федерация, 127994, Москва, Вадковский переулок, дом 18, строения 5 и 7.

Поступила 27.01.15.

А.С.Волынкина, Е.С.Котенев, Я.В.Лисицкая, О.В.Малецкая, Л.И.Шапошникова, А.Н.Куличенко

## КРЫМСКАЯ ГЕМОРРАГИЧЕСКАЯ ЛИХОРАДКА В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2014 г., ПРОГНОЗ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ ОБСТАНОВКИ НА 2015 г.

*ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт», Ставрополь, Российская Федерация*

Крымская геморрагическая лихорадка (КГЛ) – одна из актуальных инфекций для юга европейской части Российской Федерации. В течение последних пяти лет в ряде регионов сохраняется стабильно высокий уровень заболеваемости, с летальностью в среднем 4,3 %. В 2014 г. зарегистрирован 91 случай заболевания КГЛ. В работе представлен анализ эпидемиологической ситуации по КГЛ в России в 2014 г., обобщены результаты эпизоотологического обследования территории природного очага данной инфекции, приведены результаты генетического типирования вируса КГЛ, циркулировавшего в России в 2014 г. На основании данных эпизоотологического мониторинга составлен прогноз развития эпидемиологической ситуации по КГЛ на 2015 г.

*Ключевые слова:* Крымская геморрагическая лихорадка, эпидемиологическая ситуация, эпизоотологический мониторинг, заболеваемость, прогноз.

A.S.Volynkina, E.S.Kotenev, Ya.V.Lisitskaya, O.V.Maletskaya, L.I.Shaposhnikova, A.N.Kulichenko

## Crimean Hemorrhagic Fever in the Territory of the Russian Federation in 2014, Prognosis of Epidemiological Situation for 2015

*Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation*

Crimean hemorrhagic fever (CHF) is one of the priority infections in the south of the European part of the Russian Federation. Persistently high morbidity rates are retained within the past five year term, with case fatality amounting to 4.3 % on the average. In 2014 registered were 91 CHF cases. Therewith, displayed is the analysis of epidemiological situation on CHF in the territory of Russia in 2014, consolidated are the results of epizootiological surveillance of the CHF natural focus area, represented are the findings of genetic typing of CCHF virus which circulated in Russia in 2014. Using the data on epizootiological monitoring, made has been the forecast of CHF epidemiological situation development for 2015.

*Key words:* Crimean hemorrhagic fever, epidemiological situation, epizootiological monitoring, morbidity rates, prognosis.

Крымская геморрагическая лихорадка (КГЛ) – особо опасная природно-очаговая вирусная инфекция, встречающаяся в странах Африки, Азии и юго-восточной Европы и эндемичная для регионов юга европейской части России.

Случаи заболевания КГЛ в 2014 г. выявлены в странах Азии: Пакистан (провинция Карачи, Белуджистан, Пуньяб) – 50 случаев (6 летальных), Казахстан (Южно-Казахстанская область) – 24, Индия (провинция Гуджарат) – 2, Турция (провинция Синоп) – 1 летальный. Спорадическую заболеваемость регистрировали в странах Африки: Оман – 6 (1 летальный), Намибия – 1 летальный. Отмечены случаи заболевания КГЛ в Грузии (район Хашури) – 13 (2 летальных). В Великобритании зарегистрирован заносной случай КГЛ из Болгарии [5–12].

В Российской Федерации сохраняется эпидемически неблагоприятная обстановка по КГЛ [1, 3]. В период с 1999 по 2014 год в ЮФО и СКФО выявлено 1745 больных, у 75 из них (4,3 %) заболевание закончилось летальным исходом [1, 2, 3, 4]. Наибольшее количество случаев заболевания отмечено в Ставропольском крае – 631 (23 летальных), что составляет 36,2 % от общего числа больных, выявленных в ЮФО и СКФО за последние пять лет, в Ростовской области – 486, из них 21 ле-

тальный (27,9 % от всех случаев заболевания КГЛ), в Республике Калмыкия – 303, из них 8 летальных (17,4 % от всех случаев заболевания КГЛ) (таблица).

В 2014 г. эпидемические проявления КГЛ регистрировали в пяти субъектах ЮФО и СКФО. Зарегистрирован 91 случай заболевания (2 летальных), что на 13,2 % больше, чем в 2013 г. (79 случаев, 4 летальных). Наибольшее количество больных зарегистрировано в Ростовской области – 54 (2 летальных) и Ставропольском крае – 27. Кроме того, выявлено 6 больных КГЛ в Волгоградской области, по 2 – в Республиках Дагестан и Калмыкия.

Наиболее значительный рост заболеваемости отмечен в Ростовской области – количество зарегистрированных случаев КГЛ увеличилось на 29,6 % (38 случаев, 2 летальных в 2013 г.), что связано с высокой активностью и инфицированностью клещей (12,1 % пулов *Hyalomma marginatum* положительные на наличие РНК вируса КГЛ). В Ставропольском крае уровень заболеваемости снизился на 15,6 % (32 случая в 2013 г.). В Астраханской области больных КГЛ в 2014 г. не выявлено (1 случай в 2013 г.).

Наиболее высокий показатель заболеваемости на 100 тыс. населения в 2014 г. в Ростовской области – 1,88 и Ставропольском крае – 0,98.

Сезонность заболевания во всех субъектах ЮФО

Количество больных в субъектах ЮФО и СКФО в 1999–2014 гг.

Субъект РФ	2010		2011		2012		2013		2014		1999–2014	
	всего	летальных	всего	летальных								
Ставропольский край	30	0	26	0	24	0	32	0	27	0	631	23
Ростовская область	16	0	48	3	41	1	38	2	54	2	486	21
Республика Калмыкия	10	0	11	0	3	0	0	0	2	0	303	8
Астраханская область	7	1	10	0	6	0	1	0	0	0	148	5
Республика Дагестан	3	0	2	1	0	0	2	1	2	0	48	4
Волгоградская область	3	0	2	1	0	0	6	1	6	0	121	9
Республика Ингушетия	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	5
Карачаево-Черкесская республика	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
<i>Итого</i>	<b>69</b>	<b>1</b>	<b>99</b>	<b>5</b>	<b>74</b>	<b>1</b>	<b>79</b>	<b>4</b>	<b>91</b>	<b>2</b>	<b>1745</b>	<b>75</b>

и СКФО, эндемичных по КГЛ, соответствовала многолетней. Первый больной (по дате заболевания) был зарегистрирован в 1-й декаде апреля в Сальске Ростовской области. Уровень заболеваемости нарастал с апреля, пик пришелся на июнь (46,2 % от всех больных), спад – на август. Последний случай заболевания отмечен в 1-й декаде сентября в Ипатово Ставропольского края.

Заболеваемость регистрировали во всех возрастных группах, наиболее высокий ее уровень отмечен в возрастной группе 50–59 лет (27,4 % от всех случаев заболевания), имел место один случай заболевания ребенка до 14 лет (в Ростовской области).

В профессиональном составе больных КГЛ, как и в прошлые годы, преобладали безработные (37,4 %) и лица пенсионного возраста (20,9 %), как правило, являющиеся владельцами частного поголовья сельскохозяйственных животных, а также работники фермерских хозяйств: фермеры (9,8 %), механизаторы (4,4 %).

Инфицирование людей вирусом Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ) в 52,7 % случаев происходило при укусе клещом, в 17,6 – при уходе за сельскохозяйственными животными, в 7,7 – при выполнении полевых работ и 8,8 % – в природных биотопах. В 13,2 % случаев путь заражения не установлен. При этом был реализован трансмиссивный механизм передачи вируса ККГЛ. Случаев передачи вируса контактным механизмом в 2014 г. не выявлено.

Количество лиц, обратившихся в лечебно-профилактические организации по поводу укусов клещами в 2014 г. снизилось до 20974, в том числе 7513 детей (2013 г. – 22000 и 7734 соответственно), что связано с более поздней активизацией клещей. Наибольшее количество случаев обращения за медицинской помощью отмечено в Ставропольском крае – 5923 и Ростовской области – 5912, что, с одной стороны, подтверждается высокой численностью клещей на территории указанных субъектов Российской Федерации, а с другой – свидетельствует о качестве информационно-разъяснительной работы в этих регионах.

Анализ клинических проявлений КГЛ показал, что у 81,4 % больных заболевание протекало без геморрагических проявлений. Преобладающим было среднетяжелое течение заболевания (76,9 %), легкая форма болезни отмечена в 3,3, тяжелая – в 19,8 % (в 2013 г. – 7,6 %). Наибольшее количество случаев заболевания КГЛ с тяжелым течением болезни наблюдали в Ростовской области – 25,9 %.

На базе Референс-центра по мониторингу за возбудителем КГЛ проведено генетическое типирование вируса ККГЛ, выявленного в образцах клинического материала больных КГЛ и суспензий клещей, собранных на территории Ставропольского края, Ростовской и Волгоградской областей. Установлено, что на территории природного очага КГЛ в Ставропольском крае преимущественно циркулировали штаммы, относящиеся к варианту «Ставрополь-Ростов-Астрахань-1», в Ростовской и Волгоградской областях варианты «Волгоград-Ростов-Ставрополь» и «Ставрополь-Ростов-Астрахань-1» выявлены в равном соотношении. Заболевания людей в эпидсезон 2014 г. были вызваны вирусом ККГЛ типичного для юга России генотипа «Европа-1», только в одном случае в сыворотке крови больного из Ставропольского края обнаружен вирус ККГЛ, относящийся к варианту «Астрахань-2». Циркуляция подобных штаммов ранее выявлена только на территории Астраханской области.

В системе эпиднадзора за КГЛ большое значение принадлежит эпизоотологическому мониторингу территории ее природного очага, основной задачей которого является наблюдение за динамикой численности и распространения основного переносчика вируса ККГЛ – иксодового клеща *H. marginatum*. Проведение эколого-эпизоотологического мониторинга природного очага КГЛ на стационарных точках наблюдения (восточное Ставрополье) показало, что погодноклиматические условия зимы 2013–2014 г. были благоприятными для перезимовки иксодид. Среднемесячная температура воздуха в полупустынных ландшафтах в декабре 2013 г. составляла 0,8 °С, январе 2014 г. – минус 0,7 °С, феврале 2014 г. – 0,9 °С, марте – 8,2 °С. Среднесуточная температура во 2-й декаде марта колебалась от 4,5 до 14 °С, в 3-й

декаде марта – от 1,5 до 14 °С. Накопленной суммы положительных температур было достаточно для выхода имаго *H. marginatum* из зимней диапаузы во 2-й декаде марта 2014 г.

Активизация имаго *H. marginatum* в 2014 г. на территории ЮФО и СКФО в полупустынных ландшафтах зафиксирована в 3-й декаде марта (в 2013 г. во 2–3-й декадах марта), в степных несколько позже – в апреле. В этот период индекс обилия имаго *H. marginatum* на сельскохозяйственных животных (крупный и мелкий рогатый скот) варьировал от 0,8 до 1,2. Индекс встречаемости иксодид на КРС составил 70–100 %, на МРС – 45–70 %. Пик активности имаго клещей пришелся на май и постепенно снизился к середине лета.

Паразитирование первых личинок *H. marginatum* (индекс обилия – 4,8) в полупустынных ландшафтах установлено на птицах семейства врановых (грач) в 3-й декаде июня 2014 г. Максимальные индексы обилия личинок *H. marginatum* зафиксированы в 2-й декаде июля на диких птицах (врановые) – 83,1, что в 1,5 раза превышает показатели за аналогичный период 2013 г. На домашней птице (индейки) индекс обилия личинок *H. marginatum* составил 31,7 экз., что немного больше, чем в 2013 г. (27,8). Индекс обилия нимф *H. marginatum* на грачах в июле составил 20,4 (в 1,5 раза меньше, чем в 2013 г.), на индейках – 8,5 экз. (в 1,7 раза меньше, чем в 2013 г.), что свидетельствует о более позднем сроке паразитирования нимф.

На основании результатов эпизоотологического мониторинга с учетом показателей численности преимагинальных фаз на стационарных точках наблюдения можно прогнозировать незначительное увеличение численности имаго *H. marginatum* в ранневесенний период 2015 г. Благоприятным фактором для перезимовки клещей, увеличения их численности, а также более ранний выход имаго из зимней диапаузы являются мягкие погодные-климатические условия зимы 2014–2015 гг.

С целью профилактики КГЛ на энзоотичной территории ЮФО и СКФО проведены акарицидные обработки КРС и МРС, пастбищ, дезинсекционные, дератизационные и организационные мероприятия, разъяснительная работа с населением. В Ставропольском крае в сравнении с плановыми показателями акарицидными обработками охвачено 100 % КРС и МРС, в Ростовской области – 375 % КРС и 299 % МРС, в Республике Калмыкия – 87,2 % КРС и 85,3 % МРС, в Астраханской области – 98,9 % КРС и 17,8 % МРС, в Волгоградской области – 70,3 % КРС и 36,9 % МРС. В регионах ЮФО и СКФО по вопросам профилактики КГЛ проводились заседания санитарно-противоэпидемических комиссий (110 заседаний СПЭК в Ростовской области, 54 – в Ставропольском крае) и оперативных штабов (11 – в Ростовской области, 33 – в Ставропольском крае), велась информационно-разъяснительная работа с населением.

С начала эпидсезона КГЛ на базе лабораторий особо опасных инфекций ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъектах Российской Федерации и лабораторий ФКУЗ «Противочумная станция», расположенных в ЮФО и СКФО, исследованы методом ПЦР и ИФА на наличие антигена и РНК вируса КГЛ 4609 проб иксодовых клещей, выявлено 127 положительных (2,7 %), в 2013 г. – 6079 проб иксодовых клещей, выявлено 230 положительных (5,8 %). Уровень зараженности иксодовых клещей в 2014 г. составил: Ростовской области – 12,1 % (в 2013 г. – 11,7), Ставропольском крае – 6,0 (в 2013 г. – 5,7), Республике Калмыкия – 7,7 (в 2013 г. – 5,2), Волгоградской области – 1,5 (в 2013 г. – 1,3), Республике Дагестан – 1,5 (в 2013 г. – 13,3) и Астраханской области – 0,5 (в 2013 г. – 0,6).

Несмотря на наблюдающееся с 2008 г. снижение уровня заболеваемости, ежегодно в России регистрируется более 60 случаев заболевания КГЛ. Эпидемиологическая обстановка по КГЛ на территории ЮФО и СКФО остается напряженной. На основании данных эпизоотологического обследования можно предположить, что в случае благоприятных погодных-климатических условий зимы и несвоевременного проведения акарицидных обработок природных биотопов и сельскохозяйственных животных показатели численности клещей *H. marginatum* в 2015 г. в Центральном Предкавказье незначительно превысят показатели 2014 г., что приведет к росту заболеваемости людей КГЛ в 2015 г.

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

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Василенко Н.Ф., Смоленский В.Ю., Волынкина А.С., Варфоломеева Н.Г., Заикина И.Н., Малецкая О.В., Ашибоков У.М., Тохов Ю.М., Ермаков А.В., Куличенко А.Н. Особенности эпидемиологической обстановки по Крымской геморрагической лихорадке в Российской Федерации в 2011 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2012; 1(111):22–5.
2. Волынкина А.С., Котенев Е.С., Малецкая О.В., Заикина И.Н., Шапошникова Л.И., Куличенко А.Н. Эпидемиологическая ситуация по Крымской геморрагической лихорадке в Российской Федерации в 2012 г. и прогноз на 2013 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 1:30–3.
3. Куличенко А.Н., Малецкая О.В., Василенко Н.Ф., Бейер А.П., Санникова И.В., Пасечников В.Д., Ковальчук И.В., Ермаков А.В., Бутаев Т.М., Смирнова С.Е., Карань Л.С., Малеев В.В., Платонов А.Е. Крымская геморрагическая лихорадка в Евразии в XXI веке: эпидемиологические аспекты. *Эпидемиол. и инф. бол. Актуальные вопр.* 2012; 3:42–53.
4. Малецкая О.В., Куличенко А.Н., Бейер А.П., Харченко Т.В., Исмаилова Г.К., Чумакова И.В. Современные особенности эпиднадзора за Крымской геморрагической лихорадкой. *Дез. дело.* 2009; 2:40–4.
5. Crimean-Congo hemorrhagic fever – Pakistan (14): (PB) [Internet]. Published Date: 2014-12-15 [cited 15 Jan 2014]. ProMed-mail. Archive Number: 20141215.3033209. Available from: <http://www.promedmail.org>.
6. Crimean-Congo hem. fever – India (02): (GJ) [Internet]. Published Date: 2014-12-14 [cited 15 Jan 2014]. ProMed-mail. Archive Number: 20141214.3032081. Available from: <http://www.promedmail.org>.
7. Crimean-Congo hem. fever – Oman (02): fatal [Internet]. Published Date: 2014-12-15 [cited 15 Jan 2014]. ProMed-mail. Archive Number: 20141108.2939718. Available from: <http://www.promedmail.org>.
8. Crimean-Congo hem. fever – South Africa ex Namibia [Internet]. Published Date: 2014-09-19 [cited 15 Jan 2014]. ProMed-

mail. Archive Number: 20140919.2788764. Available from: <http://www.promedmail.org>.

9. Crimean-Congo hem. fever – Georgia (02) [Internet]. Published Date: 2014-08-18 [cited 15 Jan 2014]. ProMed-mail. Archive Number: 20140818.2701266. Available from: <http://www.promedmail.org>.

10. Crimean-Congo hem. fever – Kazakhstan (02) [Internet]. Published Date: 2014-08-07 [cited 15 Jan 2014]. ProMed-mail. Archive Number: 20140807.2669321. Available from: <http://www.promedmail.org>.

11. Crimean-Congo hem fever – Russia (02): UK ex Bulgaria [Internet]. Published Date: 2014-07-05 [cited 15 Jan 2014]. ProMed-mail. Archive Number: 20140705.2589487. Available from: <http://www.promedmail.org>.

12. Crimean-Congo hem fever – Turkey: (SP) [Internet]. Published Date: 2014-04-18 [cited 15 Jan 2014]. ProMed-mail. Archive Number: 20140418.2413017. Available from: <http://www.promedmail.org>.

#### References

1. Vasilenko N.F., Smolensky V.Yu., Volynkina A.S., Varfolomeeva N.G., Zaikina I.N., Maletskaya O.V., Ashibokov U.M., Tokhov Yu.M., Ermakov A.V., Kulichenko A.N. [Peculiar aspects of epidemiological situation on Crimean hemorrhagic fever in the Russian Federation in 2011]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2012; 1(111):22–5.
2. Volynkina A.S., Kotenev E.S., Maletskaya O.V., Zaikina I.N., Shaposhnikova L.I., Kulichenko A.N. [Epidemiological situation on Crimean-Congo hemorrhagic fever in the Russian Federation in 2012, and prognosis for 2013]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 1:30–3.
3. Kulichenko A.N., Maletskaya O.V., Vasilenko N.F., Beyer A.P., Sannikova I.V., Pasechnikov V.D., Koval'chuk I.V., Ermakov A.V., Butaev T.M., Smirnova S.E., Karan' L.S., Maleev V.V., Platonov A.E. [Crimean hemorrhagic fever in Eurasia in the XXI century: epidemiological aspects]. *Epidemiol. Infek. Bol. Aktual. Vopr.* 2012; 3:42–53.
4. Maletskaya O.V., Kulichenko A.N., Beyer A.P., Kharchenko T.V., Ismailova G.K., Chumakova I.V. [Current peculiarities of epidemiological surveillance over Crimean hemorrhagic fever]. *Dez. Delo.* 2009; 2:40–4.

5. Crimean-Congo hemorrhagic fever – Pakistan (14): (PB) [Internet]. Published Date: 2014-12-15 [cited 15 Jan 2014]. ProMed-mail. Archive Number: 20141215.3033209. Available from: <http://www.promedmail.org>.

6. Crimean-Congo hem. fever – India (02): (GJ) [Internet]. Published Date: 2014-12-14 [cited 15 Jan 2014]. ProMed-mail. Archive Number: 20141214.3032081. Available from: <http://www.promedmail.org>.

7. Crimean-Congo hem. fever – Oman (02): fatal [Internet]. Published Date: 2014-12-15 [cited 15 Jan 2014]. ProMed-mail. Archive Number: 20141108.2939718. Available from: <http://www.promedmail.org>.

8. Crimean-Congo hem. fever – South Africa ex Namibia [Internet]. Published Date: 2014-09-19 [cited 15 Jan 2014]. ProMed-mail. Archive Number: 20140919.2788764. Available from: <http://www.promedmail.org>.

9. Crimean-Congo hem. fever – Georgia (02) [Internet]. Published Date: 2014-08-18 [cited 15 Jan 2014]. ProMed-mail. Archive Number: 20140818.2701266. Available from: <http://www.promedmail.org>.

10. Crimean-Congo hem. fever – Kazakhstan (02) [Internet]. Published Date: 2014-08-07 [cited 15 Jan 2014]. ProMed-mail. Archive Number: 20140807.2669321. Available from: <http://www.promedmail.org>.

11. Crimean-Congo hem fever – Russia (02): UK ex Bulgaria [Internet]. Published Date: 2014-07-05 [cited 15 Jan 2014]. ProMed-mail. Archive Number: 20140705.2589487. Available from: <http://www.promedmail.org>.

12. Crimean-Congo hem fever – Turkey: (SP) [Internet]. Published Date: 2014-04-18 [cited 15 Jan 2014]. ProMed-mail. Archive Number: 20140418.2413017. Available from: <http://www.promedmail.org>.

#### Authors:

Volynkina A.S., Kotenev E.S., Lisitskaya Ya.V., Maletskaya O.V., Shaposhnikova L.I., Kulichenko A.N. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: [snipchi@mail.stv.ru](mailto:snipchi@mail.stv.ru)

#### Об авторах:

Волынкина А.С., Котенев Е.С., Лисицкая Я.В., Малецкая О.В., Шапошникова Л.И., Куличенко А.Н. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: [snipchi@mail.stv.ru](mailto:snipchi@mail.stv.ru)

Поступила 06.02.15..

А.К.Носков<sup>1</sup>, В.П.Ильин<sup>1</sup>, Е.И.Андаев<sup>1</sup>, Н.Д.Пакскина<sup>2</sup>, Е.В.Веригина<sup>3</sup>, С.В.Балахонов<sup>1</sup>

## ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ КЛЕЩЕВЫМ ВИРУСНЫМ ЭНЦЕФАЛИТОМ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ И ПО ФЕДЕРАЛЬНЫМ ОКРУГАМ В 2009–2013 гг., ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ В 2014 г. И ПРОГНОЗ НА 2015 г.

<sup>1</sup>ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт», Иркутск, Российская Федерация; <sup>2</sup>Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация; <sup>3</sup>ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, Российская Федерация

Проанализирована ретроспективная эпидемиологическая обстановка по клещевому вирусному энцефалиту (КВЭ) по федеральным округам Российской Федерации за 2009–2013 гг. и оперативная за 2014 г. Установлены субъекты с высокими, средними, умеренными и низкими многолетними показателями заболеваемости. Дана оценка динамики ситуации, мер специфической и неспецифической профилактики клещевого вирусного энцефалита на территории Российской Федерации. Проведена классификация субъектов по четырем группам, в трех из которых в 2015 г. прогнозируется заболеваемость по значениям среднего многолетнего показателя и оценкой 95 % доверительного интервала. В пятнадцати субъектах ожидается отсутствие случаев КВЭ; в 55 предполагается заболеваемость КВЭ со следующим распределением: в 73 % – заболеваемость до 6 на 100 тыс. населения ( $\text{‰}_{0000}$ ); в 21 % – до  $13,5 \text{‰}_{0000}$ ; в 5 % – более  $16 \text{‰}_{0000}$ . Первая группа наиболее многочисленна по числу субъектов с минимальными изменениями заболеваемости по годам. Вариабельность уровней заболеваемости во второй и третьей группах определяет основные изменения среднего многолетнего показателя заболеваемости КВЭ в Российской Федерации.

*Ключевые слова:* клещевой вирусный энцефалит, заболеваемость, профилактика, прогноз.

A.K.Noskov<sup>1</sup>, V.P.I'in<sup>1</sup>, E.I.Andaev<sup>1</sup>, N.D.Pakskina<sup>2</sup>, E.V.Verigina<sup>3</sup>, S.V.Balakhonov<sup>1</sup>

## Morbidity Rates as Regards Tick-Borne Viral Encephalitis in the Russian Federation and across Federal Districts in 2009-2013. Epidemiological Situation in 2014 and Prognosis for 2015

<sup>1</sup>Irkutsk Research Anti-Plague Institute, Irkutsk, Russian Federation; <sup>2</sup>Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Moscow, Russian Federation; <sup>3</sup>Rospotrebnadzor Federal Center of Hygiene and Epidemiology, Moscow, Russian Federation

Analyzed has been retrospective epidemiological situation on tick-borne viral encephalitis (TBVE) across Federal Districts of the Russian Federation over the period of 2009–2013 and current situation in 2014. Identified are the constituent entities with high, medium, moderate and low multiannual morbidity rates. Evaluated have been epidemiological trends, measures of the specific and non-specific prophylaxis of TBVE in the territory of Russia.

The entities have been classified into four groups, for three of which long-term annual average rates with 95 % confidence interval are forecasted in 2015. It is expected that there will be no TBVE cases in 15 entities; in 55 entities morbidity rates are assumed to be distributed in the following way: in 73 % – up to 6 cases per 100000 ( $\text{‰}_{0000}$ ); in 21% – up to  $13.5 \text{‰}_{0000}$ ; in 5 % – over  $16 \text{‰}_{0000}$ . The first group comprises the greatest number of entities with year on year minimal-change morbidity. Variability of morbidity rates in the second and third groups lays premises for the major changes of TBVE long-term annual average rate across the Russian Federation.

*Key words:* tick-borne viral encephalitis, morbidity, prophylaxis, forecast.

Несмотря на тенденцию к снижению заболеваемости клещевой вирусный энцефалит остается одной из актуальных инфекционных болезней человека в Российской Федерации (РФ). Ежегодно случаи КВЭ регистрируются во всех эндемичных федеральных округах (ФО) страны [1, 2, 3, 5]. Нередко тяжелые формы болезни заканчиваются летальным исходом [4, 6].

Целью работы является анализ заболеваемости населения КВЭ по федеральным округам Российской Федерации за пятилетний период (2009–2013 гг.), оценка эпидемиологической обстановки 2014 г. и прогноз вероятного развития ситуации на 2015 г.

Анализ заболеваемости КВЭ в субъектах Центрального (ЦФО), Северо-Западного (СЗФО), Приволжского (ПФО), Уральского (УФО), Си-

бирского (СФО) и Дальневосточного (ДФО) федеральных округов РФ за 2009–2013 гг. проведен на основании формы № 2 государственной статистической отчетности «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора. Изучение динамики процесса в 2014 г. основано на материалах еженедельного оперативного эпидемиологического мониторинга, осуществляемого учреждениями Роспотребнадзора в субъектах РФ, представляемых в Федеральную службу по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека и включающего данные по заболеваемости, летальности, числу лиц, обратившихся в лечебные профилактические организации (ЛПО) по поводу контакта с иксодовыми клещами, вируссофорности

Таблица 1

## Основные эпидемиологические показатели клещевого вирусного энцефалита по федеральным округам Российской Федерации

Регион	Средний многолетний уровень								
	Заболееваемость ( $\%_{0000} \pm m$ )			Летальность, %	Иммунная прослойка населения, %			Обращаемость населения с присасыванием клеща	
	все население	городское население	сельское население		все население	2011	2012	2013	абс.
ЦФО	0,22±0,02	0,15±0,02	0,55±0,09	3,31	0,31	0,31	0,33	78218,2	203,55±0,73
СЗФО	2,77±0,14	2,12±0,14	5,88±0,51	1,86	4,19	4,47	4,11	65815,4	483,37±1,88
ПФО	1,73±0,08	1,53±0,08	2,23±0,16	1,08	3,81	3,80	3,92	98173,6	328,34±1,05
УФО	4,22±0,19	3,93±0,20	5,48±0,48	1,87	25,36	25,93	25,74	76204,8	630,81±2,28
СФО	7,83±0,20	7,53±0,23	8,62±0,39	1,05	14,69	14,31	14,72	141378,6	734,19±1,95
ДФО	0,75±0,11	0,80±0,13	0,63±0,19	10,0	10,47	10,92	11,47	17044,6	270,84±2,07
РФ	2,15±0,04	1,97±0,04	2,62±0,08	1,49	5,86	5,91	5,97	476835,2	333,79±0,48

переносчика, объемам мероприятий по специфической и неспецифической профилактике. В работе использованы сведения, поступающие в Референс-центр по мониторингу за природно-очаговыми болезнями бактериальной и вирусной этиологии ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт». В анализ не вошли не эндемичные по КВЭ Южный и Северо-Кавказский ФО, а также Крымский федеральный округ в связи с отсутствием достоверной многолетней информации.

**Анализ заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом в Российской Федерации по федеральным округам за пятилетний период (2009–2013 гг.).** В 2009–2013 гг. на территории РФ прослеживалась тенденция к снижению заболеваемости КВЭ ( $T_{\text{сн}} = 40,5\%$ ). Средний многолетний показатель (СМП) составил  $(2,15 \pm 0,04) \%$ . Жители городов болели в 2,1 раза чаще, чем жители сельских поселений (10348 и 4951 случаев соответственно), однако средний показатель заболеваемости сельского населения превышал аналогичный у городских жителей и составлял  $(2,6 \pm 0,1)$  и  $(1,9 \pm 0,04) \%$  соответственно (табл. 1).

По годам заболеваемость регистрировалась в 46 (2013 г.) – 53 (2009 г.) субъектах Российской Федерации. Необходимо отметить, что за анализируемый период в 20 случаях КВЭ проявлялся на не эндемичных территориях семи субъектов РФ, наибольшее количество которых пришлось на Мурманскую область (семь случаев, 35 %) и Ямало-Ненецкий автономный округ (пять случаев, 25 %).

Несмотря на снижение количества летальных исходов от КВЭ (2009 г. – 62, 2010 г. – 44, 2011 г. – 39, 2012 г. – 47, 2013 г. – 37), показатель летальности в основном оставался на стабильном уровне и в среднем составлял  $(1,5 \pm 0,8) \%$ .

Напряженность эпидемиологической ситуации по КВЭ напрямую зависит от числа контактов людей с иксодовыми клещами, зараженности клещей вирусом и величины иммунной прослойки населения.

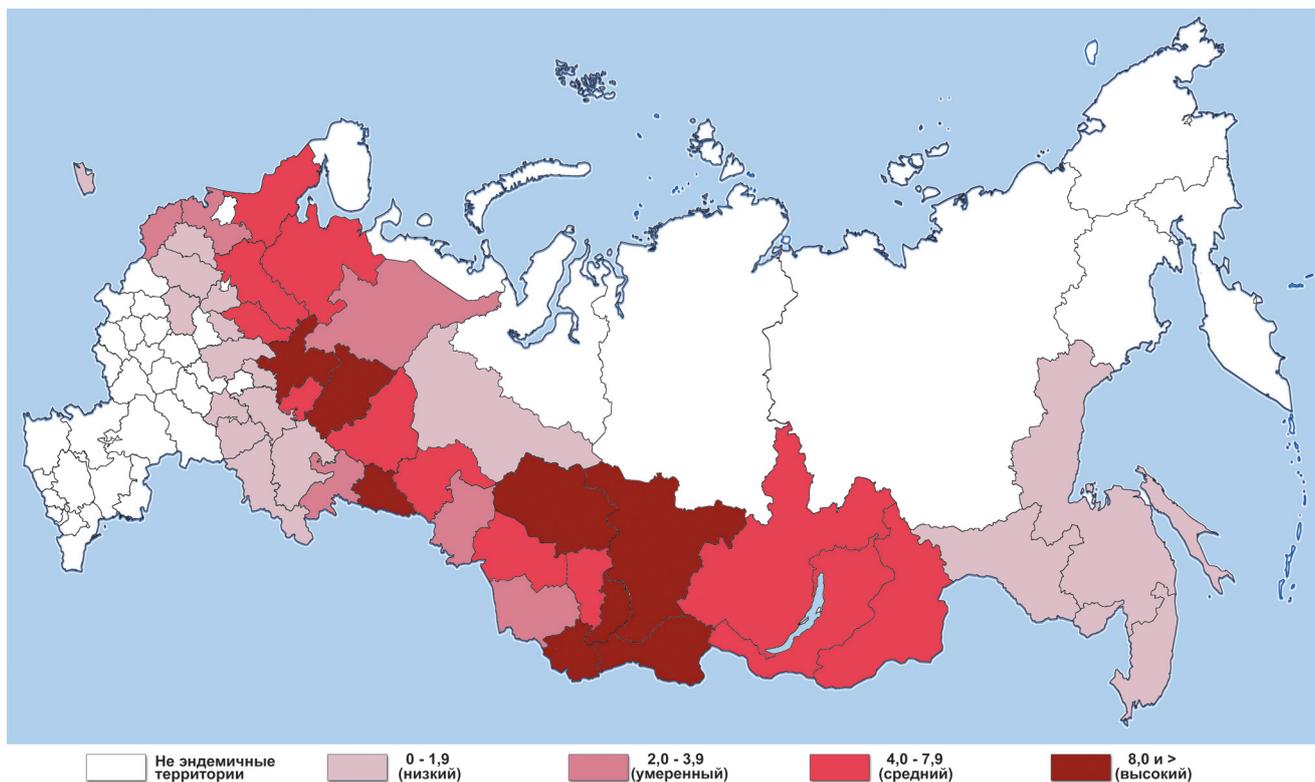
В течение 2009–2013 гг. в ЛПО по поводу присасывания клещей обратилось 2384176 человек. Максимум обращений пришлось на СФО

(706893), что составило  $(29,6 \pm 0,03) \%$  от всех обращений по РФ. В ПФО обратилось 490868 человек  $(20,6 \pm 0,03 \%)$ , ЦФО – 391091  $(16,4 \pm 0,02 \%)$ , УФО – 381024  $(16,0 \pm 0,02 \%)$ , СЗФО – 329077  $(13,8 \pm 0,02 \%)$  и ДФО – 85223  $(3,6 \pm 0,01 \%)$ .

Анализ мер специфической профилактики свидетельствует, что благодаря вакцинации против КВЭ иммунная прослойка населения страны постепенно увеличивалась с 5,86 % в 2011 г. до 5,97 в 2013 г., и ее рост соответствовал динамике роста по ФО (табл. 1). Экстренная специфическая серопротекция противоклещевым иммуноглобулином в РФ проводилась по эпидемиологическим показаниям с учетом вируссофорности присосавшихся клещей и составляла в 2009 г. – 37,1, 2010 г. – 39,2, 2011 г. – 38,5, 2012 г. – 34,4 и 2013 г. – 41,0 %.

В СФО зарегистрировано 7587 случаев КВЭ, что составило  $(49,6 \pm 0,4) \%$  от общего количества заболевших по РФ за пятилетний период. Заболевания регистрировались ежегодно во всех 12 субъектах. СМП заболеваемости составил  $(7,8 \pm 0,2) \%$ , что в 3,6 раза выше аналогичного по РФ. На округ пришлось 80 летальных исходов, летальность составила 1,1 %. Наиболее неблагоприятными субъектами СФО являлись Красноярский край  $(18,3 \pm 0,8 \%)$ , Республика Алтай  $(18,1 \pm 2,9 \%)$ , Томская область  $(17,03 \pm 1,3 \%)$ , республики Хакассия  $(12,4 \pm 1,5 \%)$  и Тыва  $(12,2 \pm 1,2 \%)$ . На долю этих пяти граничащих между собой субъектов, территория которых образует единый кластер с высоким уровнем заболеваемости (рисунок), приходится  $(55,6 \pm 1,6) \%$  от всех больных КВЭ в округе, со средним многолетним показателем  $(15,6 \pm 1,1) \%$ , в два раза превышающим показатель по Российской Федерации.

Следующие пять субъектов СФО, характеризующиеся средним уровнем заболеваемости КВЭ, образуют два самостоятельных кластера территорий. Первый – в Западной Сибири (Новосибирская  $(6,8 \pm 0,5 \%)$  и Кемеровская  $(6,1 \pm 0,2 \%)$  области). В совокупности по СФО на эти субъекты пришлось  $(23,2 \pm 0,2) \%$  больных (1763 случая), с СМП  $(6,5 \pm 0,4) \%$ . Ко второму кластеру в Восточной Сибири отнесены граничащие между собой



Средние многолетние уровни заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом по субъектам Российской Федерации (2009–2013 гг.)

Республика Бурятия ( $5,9 \pm 0,8$  ‰), Иркутская область ( $4,5 \pm 0,4$  ‰) и Забайкальский край ( $4,3 \pm 0,6$  ‰), где зарегистрировано 1075 случаев KBЭ ( $14,2 \pm 0,4$  %), СМП – ( $4,6 \pm 0,3$ ) ‰.

Заболеваемость KBЭ в Омской области ( $2,5 \pm 0,4$  ‰) и Алтайском крае ( $2,3 \pm 0,3$  ‰), несмотря на самые низкие показатели среди субъектов округа, превышает общероссийскую. Эти субъекты отнесены к территориям с умеренной заболеваемостью, в них выявлено 529 случаев KBЭ ( $6,9 \pm 0,1$  %), СМП – ( $2,4 \pm 0,2$ ) ‰.

За анализируемый период в УФО отмечено 2568 больных KBЭ ( $16,8 \pm 0,3$  % от всех по РФ). СМП заболеваемости по округу составил ( $4,2 \pm 0,2$ ) ‰ и превысил общероссийский почти в два раза. В УФО зарегистрировано 48 случаев KBЭ (20,9 %) закончившихся летально. К территориям с высоким уровнем заболеваемости KBЭ отнесена Курганская область, где за пятилетний период зарегистрировано 508 больных (СМП ( $10,9 \pm 1,1$ ) ‰).

В СЗФО СМП заболеваемости составил ( $2,8 \pm 0,1$ ) ‰ (1881 больных,  $12,3 \pm 0,3$  % от всех по РФ). В 35 случаях (15,3 %) тяжелые формы болезни закончились летально. Для СЗФО характерно отсутствие субъектов с высоким уровнем заболеваемости KBЭ. К территориям со средним уровнем заболеваемости отнесены Архангельская ( $7,9 \pm 0,8$  ‰), Вологодская ( $6,7 \pm 0,7$ ) области и Республика Карелия ( $5,1 \pm 0,9$ ).

На ПФО пришлось ( $17,0 \pm 0,3$ ) % больных KBЭ (2600 случаев), СМП заболеваемости составил ( $1,7 \pm 0,1$ ) ‰. Летальные исходы регистрировались

в 28 случаях (12,2 %). Единый кластер территорий с высоким уровнем заболеваемости KBЭ образуют граничащие между собой Кировская область ( $9,3 \pm 0,8$  ‰) и Пермский край ( $8,5 \pm 0,6$  ‰). На эти субъекты пришлось ( $68,04 \pm 0,9$ ) % от всех зарегистрированных в ПФО случаев (1769). СМП составил ( $8,9 \pm 0,5$ ) ‰ и превысил средний общероссийский в 4,1, а по ПФО – в 5,2 раза. Удмуртская Республика, граничащая с Кировской областью и Пермским краем, отнесена к территории со средним уровнем заболеваемости KBЭ (451 случай, СМП – ( $5,9 \pm 0,6$ ) ‰).

Наименьшее количество больных KBЭ (240 случаев, 1,6 % от всех по РФ) отмечено в ДФО. Средний показатель заболеваемости за пятилетний период составил ( $0,8 \pm 0,1$ ) ‰. В основном заболевания регистрировались среди жителей Приморского края (186 случаев,  $77,5 \pm 2,7$  % от всех по округу). Обращает на себя внимание высокий показатель летальности в этом регионе, превышающий аналогичный по стране в 6,7 раза. Так, в Еврейской автономной области за пятилетний период из семи случаев KBЭ в двух отмечен неблагоприятный исход, показатель летальности составил 28,6 %; в Хабаровском крае из 28 заболевших четверо умерли (14,3 %); в Приморском крае из 186 больных – 17 (9,1); в Амурской области из 17 – один (5,9).

**Анализ эпидемиологической обстановки по KBЭ в 2014 г.** По данным оперативного мониторинга, осуществляемого учреждениями Роспотребнадзора в субъектах РФ, в эпидемический сезон 2014 г. в стране зарегистрировано 1645 случаев KBЭ, показатель заболеваемости составил  $1,15$  ‰ (табл. 2). Больные

Таблица 2

## Основные эпидемиологические показатели клещевого вирусного энцефалита по федеральным округам Российской Федерации в 2014 г.

ФО	Больные КВЭ		Летальные случаи		Присасывание клещей		Объем вакцинации	Иммунная прослойка населения	Объем экстренной иммунопрофилактики		Площадь акарицидных обработок га
	абс.	‰	абс.	%	абс.	‰			абс.	%	
ЦФО	38	0,1	0	-	66067	171,9	36611	0,3	6430	15,1	21077,37
СЗФО	249	1,83	4	1,6	49235	361,6	212014	4,37	11240	22,9	8872,82
ПФО	295	0,99	2	0,7	87564	292,9	335662	3,81	13715	15,7	53438,04
УФО	270	2,24	4	1,5	88256	730,6	1024306	25,78	61260	69,4	35625,38
СФО	768	3,99	11	1,4	107938	560,5	911452	15,12	61718	57,2	29884,26
ДФО	25	0,4	2	8,0	15389	244,5	223446	11,28	3987	26,3	3798,31
РФ	1645	1,15	23	1,4	414449	290,1	2743491	6,01	158350	38,2	152696,18

выявлялись в 48 субъектах страны, в 18 из которых отмечена спорадическая заболеваемость. По одному случаю зарегистрировано на территории пяти не эндемичных по КВЭ субъектов (Курская, Липецкая, Мурманская области, Республика Мордовия и Ямало-Ненецкий АО); не исключено, что заражение произошло при нахождении этих лиц на эндемичных территориях других субъектов.

Традиционно основное количество больных отмечено в СФО, на который пришлось 768 случаев инфекции (46,7 % от всех зарегистрированных в стране), интенсивный показатель (4,0 ‰) превысил общероссийский в 3,5 раза. Как и в прошлые годы основная заболеваемость в округе наблюдалась в Красноярском крае (9,2 ‰), Республике Алтай (7,3), Томской области (7,0), Республике Тыва (6,2), Новосибирской области (5,1) и Республике Хакасия (4,3). Уровень заболеваемости ниже среднего по стране отмечен только в одном субъекте округа – Алтайском крае (1,1). Высокая заболеваемость зарегистрирована в УФО (2,2 ‰) и СЗФО (1,8), на эти округа пришлось 270 (16,4 %) и 249 (15,1 %) больных соответственно. Самая высокая заболеваемость зарегистрирована в Архангельской области (6,5 ‰), Республике Карелия (5,3), Вологодской (3,7), Свердловской (3,1) и Курганской (2,3) областях. В Центральном (0,1 ‰, 38 случаев, 2,3 % от всех по РФ) и Дальневосточном (0,4 ‰, 25 случаев, 1,5 %) федеральных округах уровень заболеваемости населения был ниже среднего по РФ. Из субъектов необходимо отметить Костромскую область с интенсивным показателем 3,8 ‰. В остальных субъектах этих округов уровень заболеваемости был ниже среднего по РФ. Таким образом, в 2014 г. определяющей для ФО являлась заболеваемость в субъектах, относящихся к территориям с высоким и средним уровнем многолетней заболеваемости КВЭ.

В 23 случаях (1,4 %) тяжелые формы болезни закончились летально. Самый большой показатель летальности зарегистрирован в Еврейской автономной области, где из двух больных КВЭ один умер (50,0 %), Забайкальском (11,4 %), Приморском (9,1) краях, Республике Бурятия (6,3) и Архангельской об-

ласти (3,8).

В течение 2014 г. в 68 субъектах РФ по поводу присасывания клещей в ЛПО обратилось 414449 человек (на 13,1 % ниже СМП), из которых 23753 обращений (5,7 %) пришлось на 18 не эндемичных по КВЭ субъектов. В сравнении со средним многолетним уровнем предшествующего пятилетнего периода рост количества обращений отмечен в УФО и ДФО, где зарегистрировано 88256 и 15389 случаев соответственно. В оставшихся округах этот показатель был ниже СМП и составлял: СФО – 107938, ПФО – 87564, ЦФО – 66067, СЗФО – 49235.

Зараженность переносчиков вируса КЭ – иксодовых клещей *Ixodes persulcatus* и *I. ricinus* – по РФ составила в среднем 4,8 % для снятых с людей и 4,1 – с объектов окружающей среды (при исследовании методами ИФА и ПЦР в лабораториях Роспотребнадзора и других учреждений). Вирусофорность клещей, снятых с людей, по данным Роспотребнадзора, составила 6,5 и 1,1 %, других учреждений – 6,4 и 1,2 % соответственно; с объектов окружающей среды – 5,4 и 0,9 % (учреждения Роспотребнадзора), 7,7 и 1,3 % (другие учреждения). Результаты исследований учреждений разных ведомств вполне сопоставимы. Высокая зараженность (по данным ИФА) клещей, снятых с людей, отмечена в СФО (9,7 %), УФО (7,7 %), ПФО (6,4 %); клещей с объектов окружающей среды – в СФО (8,1 %), УФО (6,6 %).

В целом по РФ иммунная прослойка населения увеличилась и достигла 6,01 % от совокупного населения страны (табл. 1, 2). Однако стабильное увеличение иммунной прослойки отмечалось лишь в СФО (республики Тыва, Хакасия, Алтайский край и Кемеровская область. В остальных субъектах СФО, равно как и других ФО этот показатель колебался – годы с регистрируемым ростом сменялись уменьшением. Исключением стала Республика Коми, где отмечено стабильное увеличение иммунной прослойки с 1,28 (2009 г.) до 4,21 (2014 г.).

Как и в прошлые годы экстренная специфическая серопротекция проводилась по эпидемиологическим показаниям с учетом результатов оценки вирусофорности присосавшихся клещей. Всего в течение

эпидемического сезона 2014 г. противоклещевой иммуноглобулин получили 158350 человек, что составило 38,2 % от общего количества пострадавших людей. Максимальное количество получивших противоклещевой иммуноглобулин людей отмечалось в субъектах наиболее неблагополучных по КВЭ Сибирского (61718) и Уральского (61260) федеральных округов, на которые пришлось 77,7 % от всех по РФ.

**Прогноз на 2015 г.** Различия в активности природных очагов на территориях субъектов РФ, обрабатываемости по поводу присасывания клещей, их вирусифорности, иммунизации населения приводят к разнородным уровням заболеваемости КВЭ, что выражается наличием «асимметрии» функции распределения заболеваемости КВЭ. Подобные распределения теоретически невозможно описать одним значением среднего многолетнего показателя и, тем более, по одному параметру выполнить корректный прогноз. Одним из возможных вариантов является проведение классификации субъектов РФ в минимально возможное число групп, содержащих однородные субъекты по уровням заболеваемости КВЭ, и последующим прогнозированием в группах значений СМП с оценкой доверительного интервала (ДИ).

К нулевой группе отнесены 15 субъектов федерации, где на протяжении пяти лет не зарегистрировано случаев заболеваний КВЭ. Выделяются три группы с близкими значениями СМП в 55 эндемичных по КВЭ субъектах федерации. К первой группе отнесен 41 (73 %) субъект РФ с интервалом изменения СМП от 0,12 до 6,05 ‰; ко второй группе отнесены 11 (21 %) субъектов с интервалом от 6,06 до 13,5 ‰; к третьей отнесено 3 (5 %) субъекта со значениями выше 13,5 ‰. Первая группа наиболее многочисленна по числу субъектов. Существенные изменения СМП отмечаются во второй и третьей группах, которые и определяют ведущие изменения показателей заболеваемости КВЭ.

Таким образом, мы предполагаем, что в 2015 г. факторы и условия инфицирования людей значимо не изменятся, а эпидемиологическая ситуация будет следующей: отсутствие заболеваемости в 15 субъектах федерации; заболеваемость на уровне СМП = 1,75 ‰ в ДИ = (1,37–2,12) в 41 субъекте; СМП = 8,61 ‰ в ДИ = (5,87–11,35) 11 субъектах: ЦФО (Костромская область), СЗФО (Архангельская и Вологодская области), ПФО (Пермский край и Кировская область), УФО (Курганская и Тюменская области), СФО (Республики Тыва и Хакасия, Кемеровская и Новосибирская области); СМП = 17,81 ‰ в ДИ = (13,99–21,63) ‰ СФО (Томская область, Красноярский край, Республика Алтай).

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Балахонов С.В., Пакскина Н.Д., Никитин А.Я., Носков А.К., Андаев Е.И., Чеснокова М.В., Шашина Н.И., Германт О.М., Сидорова Е.А. Эпидемиологическая ситуация по клещевому вирусному энцефалиту в Российской Федерации в 2012 г. и прогноз на 2013 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 1:34–7.
2. Конькова-Рейдман А.Б., Тер-Багдасарян Л.В., Злобин В.И. Изучение генетической структуры природных популяций вируса и эпидемиология клинических форм клещевого энцефалита на Южном Урале. *Инф. бол.* 2013; 11 (приложение 1):204–5.
3. Коренберг Э.И. Природная очаговость инфекций: современные проблемы и перспективы исследований. *Зоол. журн.* 2010; 1(89):5–18.
4. Лучинина С.В., Степанова О.Н., Погодина В.В., Стенько Е.А., Чиркова Г.Г., Герасимов С.Г., Колесникова Л.И. Современная эпидемиологическая ситуация по клещевому вирусному энцефалиту в Челябинской области. *Эпидемиол. и инф. бол.* 2014; 2:32–7.
5. Носков А.К., Никитин А.Я., Пакскина Н.Д., Сидорова Е.А., Чеснокова М.В., Андаев Е.И. Эпидемиологическая ситуация по клещевому вирусному энцефалиту в Российской Федерации (2009–2011 гг.) и прогноз на 2012 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2012; 1:30–3.
6. Погодина В.В., Левина Л.С., Скрынник С.М., Травина Н.С., Карань Л.С., Колясникова Н.М., Кармышева В.Я., Герасимов С.Г., Маленко Г.В., Перминов Л.В., Попов М.А., Бочкова Н.Г. Клещевой энцефалит с молниеносным течением и летальным исходом у многократно вакцинированного пациента. *Вопр. вирусол.* 2013; 2:33–7.

## References

1. Balakhonov S.V., Pakschina N.D., Nikitin A.Ya., Noskov A.K., Andaev E.I., Chesnokova M.V., Shashina N.I., German O.M., Sidorova E.A. [Epidemiological situation on tick-borne viral encephalitis in the territory of the Russian Federation in 2012 and prognosis for 2013]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 1:34–7.
2. Kon'kova-Reidman A.B., Ter-Bagdaryan L.V., Zlobin V.I. [Studies of genetic structure in natural virus populations and epidemiology of tick-borne encephalitis clinical forms in the Southern Urals]. *Infek. Bol.* 2013; 11 (Appendix 1):204–5.
3. Korenberg E.I. [Natural foci of infections: current issues and prospects of investigations]. *Zool. Zh.* 2010; 1(89):5–18.
4. Luchinina S.V., Stepanova O.N., Pogodina V.V., Sten'ko E.A., Chirkova G.G., Gerasimov S.G., Kolesnikova L.I. [Current epidemiological situation on tick-borne viral encephalitis in the Chelyabinsk Region]. *Epidemiol. Infek. Bol.* 2014; 2:32–7.
5. Noskov A.K., Nikitin A.Ya., Pakschina N.D., Sidorova E.A., Chesnokova M.V., Andaev E.I. [Epidemiological situation on the tick-borne viral encephalitis in the Russian Federation in 2009–2011 and prognosis for 2012]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2012; 1:30–3.
6. Pogodina V.V., Levina L.S., Skrynnik S.M., Travina N.S., Karan' L.S., Kolyasnikova N.M., Karmysheva V.Ya., Gerasimov S.G., Malenko G.V., Perminov L.V., Popov M.A., Bochkova N.G. [Malignant fatal tick-borne encephalitis in a patient exposed to repeated vaccination]. *Vopr. Virusol.* 2013; 2:33–7.

## Authors:

Noskov A.K., Il'in V.P., Andaev E.I., Balakhonov S.V. Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East. 78, Trilissera St., Irkutsk, 664047, Russian Federation. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Pakschina N.D. Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare. 18, Bld. 5 and 7, Vadkovsky Pereulok, Moscow, 127994, Russian Federation.

Verigina E.V. Federal Center of Hygiene and Epidemiology. 19 a, Varshavskoe Highway. Moscow, 117105, Russian Federation. E-mail: gsen@fcgie.ru

## Об авторах:

Носков А.К., Ильин В.П., Андаев Е.И., Балахонов С.В. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока. Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Пакскина Н.Д. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Российская Федерация, 127994, Москва, Вадковский переулок, дом 18, строение 5 и 7.

Веригина Е.В. Федеральный центр гигиены и эпидемиологии. Российская Федерация, 117105, Москва, Варшавское шоссе д.19 а. E-mail: gsen@fcgie.ru

Поступила 14.01.15.

А.Г.Бачинский, Л.Ф.Низоленко

## УНИВЕРСАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ЛОКАЛЬНЫХ ЭПИДЕМИЙ, ВЫЗЫВАЕМЫХ ВОЗБУДИТЕЛЯМИ ОСОБО ОПАСНЫХ ИНФЕКЦИЙ: МОДЕЛИРОВАНИЕ НОВЫХ ИНФЕКЦИЙ

*ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», Кольцово, Российская Федерация*

Целью настоящей работы является иллюстрация того, как, используя интерфейс к разработанной в ГНЦ ВБ «Вектор» универсальной модели локальных эпидемий/вспышек, то есть развивающихся в замкнутой популяции, задать параметры интересующей пользователя инфекции, не включенной в список тех, к которым модель уже адаптирована. В модели задается спектр основных мер противодействия, включающих профилактическую вакцинацию и вакцинацию, проводимую уже в ходе эпидемии, поиск и изоляцию/наблюдение больных, контактных и лиц, подозрительных на заболевание, карантин. Специалистам, работающим с моделью удаленно, предоставлена возможность задавать параметры расчета эпидемий и рассчитывать различные сценарии их развития в зависимости от имеющихся ресурсов, необходимых для реализации мер противодействия. Модель доступна по адресу <http://vector-epimod.ru>.

*Ключевые слова:* эпидемия, математическая модель, меры противодействия, ресурсы.

**A.G.Bachinsky, L.F.Nizolenko**

### **Universal Model of Local Epidemics Caused by the Agents of Particularly Dangerous Infections: Simulation of New Infections**

*State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Kol'tsovo, Russian Federation*

The paper illustrates the process of setting up the parameters for simulation of the infection which is of interest to the consumer but is not included in the list of those the model is already adapted to, using the interface of the universal model of local epidemics, developing within a closed population, designed at the SRC VB "Vector". The user presets the specter of major countermeasures, including preventive vaccination and vaccination performed directly in the course of epidemic, detection and isolation/follow up of the patients, contact tracing, screening of the suspected ones, and quarantine. Specialists working with the model in a remote mode are provided with the possibility to set determination parameters for epidemics and predict various scenarios of their development depending upon available resources, necessary for realization of the countermeasures. The model is available at: <http://vector-epimod.ru>.

*Key words:* epidemic, mathematical model, countermeasures, resources.

### **Материалы и методы**

Разработанная в ГНЦ ВБ «Вектор» и реализованная в виде компьютерной программы универсальная модель эпидемий адаптирована к возбудителям таких особо опасных инфекций, как натуральная оспа, сибирская язва, чума (легочная и бубонная формы), геморрагические лихорадки Эбола, Марбург, Ласса, Крымская-Конго, грипп. Подробное описание модели и данные о ее верификации опубликованы ранее [1, 2, 5].

Модель установлена на сервере ГНЦ ВБ «Вектор», <http://vector-epimod.ru> (доступна также на сайте <http://vector-epimod.ru>) и снабжена Web-интерфейсом.

Пользователь, работающий с моделью, имеет доступ ко всем параметрам. Он может редактировать параметры, характеризующие ту или иную конкретную инфекцию: инфекционность (заразность) больных и чувствительность к инфекции, смертность на разных стадиях, чувствительность к лечению, параметры, задающие сроки и интенсивность реализации мер противодействия, характеристики региона, для которого моделируется эпидемия, в частности, обеспеченность ресурсами. Поскольку выставленная

для общего пользования модель рассчитана на широкого пользователя, в ней реализована опция задания параметров новых инфекций, отсутствующих в списке моделируемых.

### **Результаты и обсуждение**

Продемонстрируем процедуру задания параметров для новой инфекции на примере гриппа. Эта инфекция, хотя и не входит в список особо опасных, безусловно является социально значимой, а в случае появления новой пандемической разновидности, может привести к инфицированию и даже гибели большого количества людей.

Следует иметь в виду, что предложенные ниже оценки значений большинства параметров носят весьма условный характер. Дело в том, что в доступной литературе фактически отсутствуют точные количественные значения тех или иных показателей. В лучшем случае можно получить интервалы значений, иногда есть только вербальные описания. Поэтому на рисунке приведены значения, которые могут служить лишь основой для специалистов в области патогенеза и эпидемиологии гриппа, чтобы задать более адекватные с их точки зрения показатели.

Вы можете задать значения параметров, определяющих особенности инфекции

Введите название болезни (заменяйте пробелы подчеркиком)

Назовите каждую из трех стадий развития болезни

Стадия 1

Стадия 2

Стадия 3

Максимальная продолжительность каждой из трех стадий развития болезни

Продолжительность периода перехода из стадии в стадию:

Стадия 1 => Стадия 2

Стадия 2 => Стадия 3

Стадия 3 => выздоровление

Среднее число контактных на одного инфицируемого

Число подозрительных на одного выявленного больного в сутки

Продолжительность вакцинального периода

Доля инфекционной активности в финальной стадии, %

Отношение инфекционной активности иммуных, к инфекционной активности неиммуных, %

Отношение инфекционной активности малосимптомных (легкая форма) к инфекционной активности больных тяжелой формой, %

Доля тяжелых форм среди неиммуных, %

Доля тяжелых форм среди иммуных, %

Инфицируемость иммуных по отношению к неиммуным, %

Доля инфицируемых контактных в сутки, %

Смертность неиммуных (Стадия 2), %

Смертность иммуных (Стадия 2), %

Смертность неиммуных (Стадия 3, тяжелая форма), %

Смертность иммуных (Стадия 3, тяжелая форма), %

Смертность больных с легкой формой (Стадия 3), %

Снижение смертности у подвергавшихся лечению (% от смертности без лечения)

Продолжительность наблюдения контактных

Окно задания параметров для новой инфекции на примере гриппа (примерные значения параметров)

Необходимо сразу дать некоторые пояснения:

1. **Среднее число контактных на одного инфицируемого** зависит от характера заболевания. Если заболевание очень тяжелое с момента появления первых признаков, еще до начала инфекционного периода, если оно легко диагностируется, если инфекционность больного невелика, то число контактных должно быть относительно небольшим. У гриппа, для которого характерны наличие значительной доли малосимптомных случаев, относительно высокая подвижность больных и весьма пренебрежительное отношение к болезни многих окружающих, ожидаемое число контактных на одного реально инфицированного задается достаточно высоким, например, равным пяти.

2. **Продолжительность вакцинального периода** для гриппа принято обычно считать равным 14 сут [3]. Поскольку вакцинация против гриппа, проводится до начала эпидемии, формируя предварительный коллективный иммунитет, при моделировании этот показатель не играет роли. Для гриппа характерно использование профилактических лекарственных средств, что в прямом виде в модели не учитывается. Но поскольку характеристики лиц, обладающих иммунитетом, не слишком отличаются от таковых для лиц, принимающих лекарственные средства в профилактических целях [4, 8, 9], можно попытаться учесть возможность применения профилактических лекарственных средств, описав это как вакцинацию. При этом продолжительность вакцинального периода задается равной единице (действие наступает почти сразу после применения), а параметры, определяющие интенсивность вакцинации (запас вакцины, число пунктов вакцинации, число лиц, вакцинируемых на одном пункте), задаются большими (увеличены десятикратно), чтобы по ним не наступало ресурсных ограничений.

3. Параметр **«Доля инфекционной активности в финальной стадии»** задает распределение инфекционной активности между второй и третьей стадиями. В данном случае предполагается, что в финальной стадии уже стала ясна нозология заболевания,

получены рекомендации врача и принимаются меры семейной изоляции больных.

Для задания параметров новой инфекции в пункте «1. Выбор инфекции» главного окна следует выбрать «Новая инфекция». В открывшемся окне выбирается строка: «Параметры, задающие особенности инфекции».

Во вновь открывшемся окне задаются параметры, характерные для сезонных эпидемий гриппа. Задание параметров в других окнах не отличается от такового при их редактировании для возбудителей, попавших в круг моделируемых. Поскольку грипп не относится к числу особо опасных инфекций, ограничения по квалифицированному медперсоналу должны быть резко снижены (например, соответствующие ресурсы увеличены десятикратно).

После задания всех параметров можно приступить к расчетам, включая расчет стандартных сценариев для конкретного региона и продолжение расчетов с произвольного дня при изменившейся ситуации (см. «Руководство пользователя» на сайте).

В качестве примера приведем расчеты стандартных сценариев эпидемии сезонного и пандемического гриппа для Новосибирской области (таблица).

1. Оптимистический – контроль ресурсов отключен, меры противодействия реализуются в полном объеме в минимальные сроки (ПЭМ 1 с 20-го дня, последующие – с отставанием на 5 сут, вакцинация (профилактическое лечение) – с 25-го дня, 30 % карантин – с 30-го).

2. Умеренно-оптимистический – включен контроль ресурсов, меры противодействия задаются к реализации в те же сроки.

3. Реальный – включен контроль ресурсов, все меры противодействия задаются к реализации с запаздыванием на 5 дней по сравнению с предыдущим сценарием.

4. Пессимистический – ограничения интенсивности мер противодействия из-за серьезного дефицита ресурсов (все ресурсы, доступные в предыдущем сценарии уменьшаются на 40 %) при еще большем запаздывании в сроках реализации ПЭМ (на 5 дней

Результаты расчета четырех «типичных сценариев» сезонной эпидемии гриппа в Новосибирской области

Вариант гриппа	Показатель эпидемии	Сценарии			
		Оптимистический	Умеренно оптимистический	Реальный	Пессимистический
Сезонный	Число инфицированных	94064 (3.5%) <sup>(1)</sup>	116012 (4.4%) <sup>(1)</sup>	192757 (7.2%) <sup>(1)</sup>	322656 (12.1%) <sup>(1)</sup>
	Число умерших	278	346	579	972
Пандемический	Число инфицированных	1267643 (47.6%) <sup>(1)</sup>	1347144 (50.5%) <sup>(1)</sup>	1680208 (63%) <sup>(1)</sup>	2089203 (78.4%) <sup>(1)</sup>
	Число умерших	15887	17021	21934	29175

Примечание. <sup>(1)</sup> – от численности населения.

по сравнению с предыдущим сценарием).

При расчетах уровень «массовой вакцинации» (т.е. лекарственной профилактики) принимается равным 30 % и реализуется в течение 20 дней. Реализуется также профилактика контактных из расчета 10 % в сутки, что дает примерно 50 % получивших профилактический прием препаратов. Ресурсами этот параметр не ограничивается.

Пандемический вариант при расчетах отличается от сезонного сниженным уровнем коллективного иммунитета (с 20 до 5 %), повышенной скоростью трансмиссии ( $R_0$  1.5 → 2.5) и повышенной смертностью (в 5 раз) [6, 7, 10].

Для гриппа фактически отсутствуют ресурсные ограничения интенсивности мер противодействия (возможно, за исключением вакцины).

В данной статье предложена схема задания параметров на примере моделирования эпидемии «нового возбудителя» – сезонного гриппа, а приведенные на рисунке значения параметров, как и все значения параметров, используемые по умолчанию, могут служить лишь приблизительными оценками и корректироваться пользователями-экспертами. Изменяя их значения, можно рассчитывать различные сценарии развития эпидемий, например, зависимость результатов эпидемий от тех или иных ресурсных ограничений, сроков и интенсивности реализации мер противодействия.

Сравнительные расчеты эпидемий условных «сезонного» и «пандемического» вариантов гриппа показывают, что даже при относительно небольшом увеличении скорости трансмиссии ( $R_0$  1.5 → 2.5) пандемический вариант оказывается способен поражать почти половину населения, даже в отсутствие ресурсных ограничений, потери от эпидемии сильно зависят от скорости реакции общества на эпидемию.

При подготовке данной публикации не ставилась задача адаптации модели к гриппу. Задача состояла в демонстрации возможностей настройки модели к некоторому агенту. Грипп здесь используется только для примера. Квалифицированный пользователь, не имеющий опыта моделирования, руководствуясь приведенной процедурой, сможет настроить модель самостоятельно, используя имеющиеся в его распоряжении данные, в том числе и для гриппа.

Работа частично поддержана из средств ФЦП «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации (2009–2014 гг.)».

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бачинский А.Г. Математическая модель локальной эпидемии натуральной оспы с учетом мер противодействия и ресурсных ограничений. 30 лет после ликвидации оспы: исследования продолжаются. Кольцово: Информ-Экспресс; 2010. С. 253–80
2. Бачинский А.Г., Низоленко Л.Ф. Универсальная модель локальных эпидемий, вызываемых возбудителями особо опасных инфекций. *Пробл. особо опасных инф.* 2014;2:44–7
3. Вакцины против гриппа. Противопоказания. Особенности формирования иммунитета. Центр иммунологии и аллергологии ООО «Калери». [http://www.allergodoctor.ru/Gripp\\_overview.html](http://www.allergodoctor.ru/Gripp_overview.html) (дата обращения 30.10.2013 г.)
4. Грипп. Информационный бюллетень ВОЗ № 211; 2009. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs211/ru/index.html> (дата обращения 30.10.2013 г.)
5. Bachinsky A.G., Nizolenko L.Ph. A Universal Model for Predicting Dynamics of the Epidemics Caused by Special Pathogens. *BioMed Res. Int.* 2013; vol. 2013, Article ID 467078, 7 pages. doi:10.1155/2013/467078.
6. Cheng K.F., Leung P.C. What happened in China during the 1918 influenza pandemic? *Int. J. Infect. Dis.* 2007; 11:360–64.
7. Chowell G., Ammon C.E., Hengartner N.W., Hyman J.M. Transmission dynamics of the great influenza pandemic of 1918 in Geneva, Switzerland: Assessing the effects of hypothetical interventions. *J. Theor. Biol.* 2006; 241:193–204.
8. Longini I.M.Jr., Halloran M.E., Nizam A., Yang Y. Containing Pandemic Influenza with Antiviral Agents. *Am. J. Epidemiol.* 2004; 159(7):623–33.
9. Regoes R.R., Bonhoeffer S. Emergence of Drug-Resistant Influenza Virus: Population Dynamical Considerations. *Science.* 2006; 312(21):389–91.
10. Viboud C., Tam T., Fleming D., Handel A., Miller M.A., Simonsen L. Transmissibility and mortality impact of epidemic and pandemic influenza, with emphasis on the unusually deadly 1951 epidemic. *Vaccine.* 2006; 24:6701–7.

## References

1. Bachinsky A.G. [Mathematical model of smallpox local epidemic taking into account countermeasures and resource limitation. 30 years after smallpox eradication: investigations continue]. Kol'tsovo: Inform-Express; 2010. P. 253–80.
2. Bachinsky A.G., Nizolenko L.F. [Universal model of local epidemics development, caused by particularly dangerous infection agents]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2014; 2:44–7.
3. [Flu vaccines. Contraindications. Peculiarities of immunity development]. Center of Immunology and Allergy ООО «Kaleri» (cited 30.10.2013). Available from: [http://www.allergodoctor.ru/Gripp\\_overview.html](http://www.allergodoctor.ru/Gripp_overview.html)
4. Flu. WHO Information Bulletin No 211; 2009 (cited 30.10.2013). Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs211/ru/index.html>
5. Bachinsky A.G., Nizolenko L.Ph. A Universal Model for Predicting Dynamics of the Epidemics Caused by Special Pathogens. *BioMed Res. Int.* 2013; vol. 2013, Article ID 467078, 7 pages. doi:10.1155/2013/467078.
6. Cheng K.F., Leung P.C. What happened in China during the 1918 influenza pandemic? *Int. J. Infect. Dis.* 2007; 11:360–64.
7. Chowell G., Ammon C.E., Hengartner N.W., Hyman J.M. Transmission dynamics of the great influenza pandemic of 1918 in Geneva, Switzerland: Assessing the effects of hypothetical interventions. *J. Theor. Biol.* 2006; 241:193–204.
8. Longini I.M.Jr., Halloran M.E., Nizam A., Yang Y. Containing Pandemic Influenza with Antiviral Agents. *Am. J. Epidemiol.* 2004; 159(7):623–33.
9. Regoes R.R., Bonhoeffer S. Emergence of Drug-Resistant Influenza Virus: Population Dynamical Considerations. *Science.* 2006; 312(21):389–91.
10. Viboud C., Tam T., Fleming D., Handel A., Miller M.A., Simonsen L. Transmissibility and mortality impact of epidemic and pandemic influenza, with emphasis on the unusually deadly 1951 epidemic. *Vaccine.* 2006; 24:6701–7.

## Authors:

Bachinsky A.G., Nizolenko L.F. State Research Centre of Virology and Biotechnology "Vector". Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru

## Об авторах:

Бачинский А.Г., Низоленко Л.Ф. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл, п. Кольцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru

Поступила 10.06.14.

Б.П.Кузькин<sup>1</sup>, Е.Б.Ежлова<sup>1</sup>, А.Н.Куличенко<sup>2</sup>, О.В.Малецкая<sup>2</sup>, Ю.В.Демина<sup>1</sup>, Т.В.Таран<sup>2</sup>,  
Н.Д.Пакскина<sup>1</sup>, О.Н.Скударева<sup>1</sup>, Н.Ф.Василенко<sup>2</sup>, Т.В.Харченко<sup>2</sup>, Е.А.Манин<sup>2</sup>, Г.М.Грижебовский<sup>2</sup>,  
Ю.В.Юничева<sup>3</sup>, В.Е.Елдинова<sup>3</sup>, Л.Е.Василенко<sup>3</sup>, И.М.Медяник<sup>3</sup>, О.М.Пилюкова<sup>3</sup>, В.П.Клиндухов<sup>4</sup>,  
Т.В.Гречаная<sup>4</sup>, С.С.Тешева<sup>4</sup>, В.Г.Оробей<sup>5</sup>, Е.А.Беланова<sup>6</sup>

## АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ПО ПРИРОДНО-ОЧАГОВЫМ ИНФЕКЦИЯМ В ПЕРИОД ПРОВЕДЕНИЯ XXII ОЛИМПИЙСКИХ И XI ПАРАЛИМПИЙСКИХ ЗИМНИХ ИГР В СОЧИ

<sup>1</sup>Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация; <sup>2</sup>ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт», Ставрополь, Российская Федерация; <sup>3</sup>ФКУЗ «Причерноморская противочумная станция» Роспотребнадзора, Новороссийск, Российская Федерация; <sup>4</sup>Управление Роспотребнадзора по Краснодарскому краю, Краснодар, Российская Федерация; <sup>5</sup>Территориальный отдел Управления Роспотребнадзора по Краснодарскому краю в г.-к. Сочи, Сочи, Российская Федерация; <sup>6</sup>Сочинский филиал ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Краснодарском крае», Сочи, Российская Федерация

В статье приводятся данные о заболеваемости природно-очаговыми инфекционными болезнями и результатах эпизоотологического мониторинга в районе проведения XXII Олимпийских и XI Паралимпийских зимних игр 2014 г. в Сочи. Показано, что в инфекционной заболеваемости значимы: геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, иксодовые клещевые боррелиозы, псевдотуберкулез, кишечный иерсиниоз, лептоспирозы, бешенство, риккетсиозы, туляремия. Представлены сведения об особенностях ряда региональных штаммов-патогенов. Отмечено, что комплекс мероприятий, выполненный органами и учреждениями Роспотребнадзора, администрацией Краснодарского края и города-курорта Сочи, позволил стабилизировать ситуацию по природно-очаговым инфекциям.

*Ключевые слова:* природно-очаговые инфекции, олимпийские игры, биологические угрозы, эпидемиологический надзор, биологическая безопасность, эпизоотологический мониторинг.

B.P.Kuz'kin<sup>1</sup>, E.B.Ezhlova<sup>1</sup>, A.N.Kulichenko<sup>2</sup>, O.V.Maletskaaya<sup>2</sup>, Yu.V.Demina<sup>1</sup>, T.V.Taran<sup>2</sup>, N.D.Pakskina<sup>1</sup>,  
O.N.Skudareva<sup>1</sup>, N.F.Vasilenko<sup>2</sup>, T.V.Kharchenko<sup>2</sup>, E.A.Manin<sup>2</sup>, G.M.Grizhebovsky<sup>2</sup>, Yu.V.Yunicheva<sup>3</sup>,  
V.E.Eldinova<sup>3</sup>, L.E.Vasilenko<sup>3</sup>, I.M.Medyanik<sup>3</sup>, O.M.Pilikova<sup>3</sup>, V.P.Klindukhov<sup>4</sup>, T.V.Grechanaya<sup>4</sup>, S.Ch.  
Teshева<sup>4</sup>, V.G.Orobey<sup>5</sup>, E.A.Belanova<sup>6</sup>

## Relevant Issues of Epidemiological Safety Provision as Regards Natural-Focal Infections during the XXII Olympic and XI Paralympic Winter Games in Sochi

<sup>1</sup>Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Moscow, Russian Federation; <sup>2</sup>Stavropol Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation; <sup>3</sup>Black Sea Plague Control Station of the Rospotrebnadzor, Novorossiysk, Russian Federation; <sup>4</sup>Rospotrebnadzor Administration in the Krasnodar Territory, Krasnodar, Russian Federation; <sup>5</sup>Territorial Subdivision of the Rospotrebnadzor Administration in the Krasnodar Territory in the Resort Town of Sochi, Sochi, Russian Federation; <sup>6</sup>Sochi Branch of the Center of Hygiene and Epidemiology in the Krasnodar Territory, Sochi, Russian Federation

The paper contains the data on the morbidity rates as regards natural-focal infectious diseases and results of epizootiological monitoring in the locality of the XXII Olympic and XI Paralympic Winter Games-2014 in Sochi. It is demonstrated that the significant ones in the infectious disease incidence chart are hemorrhagic fever with renal syndrome, Ixodidae tick-borne borrelioses, pseudotuberculosis, intestinal yersiniosis, leptospiroses, rabies, rickettsiosis, and tularemia. Represented are the data on the peculiarities of a number of regional pathogenic strains. Noted is fact that complex activities, which were carried out by the agencies and institutions of the Rospotrebnadzor, Krasnodar Territory and Sochi resort-town Administration, allowed for the stabilization of the situation on natural-focal infections.

*Key words:* natural-focal infections, Olympic Games, biological hazards, epidemiological surveillance, biological safety, epizootiological monitoring.

Актуальность природно-очаговых инфекционных болезней определяется не только необходимостью повышения эффективности борьбы с их эндемичными очагами, но и готовностью противоэпидемических и медицинских служб противодействовать особо опасным и возвращающимся инфекциям. В условиях усиления антропогенного воздействия на окружающую среду урбанизированные биотопы отличаются своеобразием экологических условий, во многом обуславливающих состав синантропной фауны, адаптированной к городской среде [1]. Занос возбудителей таких

болезней на неэндемичную территорию может быть осуществлен как мигрирующими птицами, так и с экспортом животных, а также в результате растущего объема туризма и деловых путешествий.

Регион проведения XXII Олимпийских и XI Паралимпийских зимних игр 2014 г. в связи со своими уникальными природно-климатическими и ландшафтно-географическими особенностями вызывает интерес как у специалистов санэпиднадзора в плане мониторинга эндемичных природно-очаговых инфекций бактериальной и вирусной этиологии, так

и у ученых, изучающих биоценотическую структуру природных очагов, особенности эволюции возбудителей инфекционных болезней. Для специалистов практического здравоохранения важна информация об этих инфекциях с целью готовности к их клинической и лабораторной диагностике.

Город-курорт Сочи относится к субтропическому климатическому поясу (среднегодовая температура 14 °С), единственному на территории Российской Федерации. Природно-климатическими факторами здесь сформированы благоприятные условия для стойкой биоценотической структуры природных очагов опасных бактериальных и вирусных инфекций.

Стратегия использования уникальных природных факторов курорта направлена на максимальное сохранение экологии естественной среды обитания. Однако зоны урбанизации и рекреации захватывают территории природных очагов инфекций, создавая условия для заражения людей. Повышение контактов населения с компонентами паразитарных систем может способствовать активизации механизма передачи возбудителей инфекционных болезней [6]. При создании и эксплуатации нового международного спортивно-рекреационного комплекса неизбежно возрастает риск инфицирования приезжих возбудителями эндемичных природно-очаговых инфекционных болезней. К наиболее опасным из них в данном регионе относятся геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС), иксодовые клещевые боррелиозы (ИКБ), псевдотуберкулез, кишечный иерсиниоз, лептоспирозы, бешенство, риккетсиозы (Ку-лихорадка и марсельская лихорадка), туляремия.

Заболееваемость природно-очаговыми инфекциями в г.-к. Сочи с 2009 по 2013 год регистрировалась по следующим нозологическим формам: ГЛПС, ИКБ, псевдотуберкулез. В постолимпийский период 2014 г. (6 мес.) больных природно-очаговыми инфекционными болезнями не было.

Впервые в субтропической зоне Краснодарского края этиологическое подтверждение заболевания, сходного по клиническим проявлениям с ГЛПС, получено в 2000 г., когда был выявлен случай острого тяжелого заболевания, обусловленного вирусом Добрава [5]. С 2001 г. началось планомерное исследование данной территории. В результате молекулярно-генетических исследований крови больных ГЛПС и легочной ткани кавказских лесных мышей был обнаружен новый, ранее не описанный вирус «Сочи» – генотип хантавируса Добрава, который обуславливает в ряде случаев крайне тяжелое клиническое течение болезни. Установлена эпидемиологическая значимость кавказской лесной мыши *Apodemus (Sylvaemus) ponticus* как основного природного хозяина этого вируса и источника заражения людей.

Эпидемиологически интересна особенность данного природного очага, выявленная Н.М.Окуловой и соавт. [2]: в отличие от большинства лесных ландшафтов России, где численность лесных грызунов возрастает от весны к осени и падает от осени к весне, в Причерноморье их численность падает

от лета к осени и возрастает от осени к началу следующего лета. Пики численности кавказской лесной мыши могут наблюдаться в любой сезон в связи с чем вспышки ГЛПС возможны в любое время года. Наиболее активная циркуляция вируса «Сочи» и максимальная эпидемическая опасность, обусловленная скоплением населения и гостей курорта на побережье, отмечены на территории низкогорий.

Активность природного очага ГЛПС на причерноморском побережье подтверждается ежегодными эпизоотологическими исследованиями, проводимыми Сочинским противочумным отделением ФКУЗ «Причерноморская ПЧС». В сыворотках крови больных с лихорадками неясной этиологии (по направлениям ЛПО Сочи) в 2009 г. методом РНИФ выявлены антитела к хантавирусу Добрава-Белград (в 6,8 % от общего количества проб). При исследовании полевого материала из Адлерского и Лазаревского районов (261 грызун) в 2010 г. у 2 зверьков обнаружены антитела к хантавирусу Добрава-Белград, у 41 – поливалентные антитела к возбудителю ГЛПС. В 2011 г. антитела к хантавирусу выявлены у 72 мелких млекопитающих из 718.

Весной 2012 г. у 5,1 % грызунов из Адлерского, Хостинского и Лазаревского районов Сочи в МФА обнаружены антитела к возбудителю ГЛПС (44 положительные пробы из 862). Получены положительные результаты при исследовании проб грызунов, отловленных в окрестностях поселка Красная поляна Адлерского района. В 2013 г. при лабораторном анализе полевого материала от 690 экз. мелких млекопитающих в МФА обнаружены поливалентные антитела к возбудителю ГЛПС у 40 особей из Адлерского, Хостинского и Центрального районов Сочи. Антиген к хантавирусу в ИФА выявлен у 6 особей. Таким образом, 6,7 % исследованных зверьков были инфицированы возбудителем ГЛПС. Проведенные исследования подтвердили эпидемиологическую значимость *Ap. ponticus* как основного природного хозяина хантавируса Добрава, а маркеры хантавируса Тула/Пуумала преимущественно были выявлены у *Terricola (Microtus) majori*.

В последние пять лет в Сочи зарегистрировано 17 больных ГЛПС. В 2009 и 2011 гг. заболеваемость ГЛПС в Сочи в 6 и 8,6 раз была выше, чем в среднем по Краснодарскому краю. Так, в 2009 г. интенсивный показатель заболеваемости на 100 тыс. населения (ИП) составил 2,73 (0,45 – по Краснодарскому краю). В 2010 и 2012 гг. больные ГЛПС не регистрировались, а в 2013 г. выявлен один случай заболевания.

Одной из наиболее часто регистрируемых природно-очаговых инфекций на Юге России в последние годы стал иксодовый клещевой боррелиоз (болезнь Лайма). В ЮФО заболеваемость ИКБ преимущественно регистрируется в Краснодарском крае (74 больных в 2013 г.). Эта инфекция требует дальнейшего внимания в плане диагностики лихорадочных заболеваний неясной этиологии. В Сочи в период с 2010 по 2013 год болезнь Лайма у людей регистрировали ежегодно (3, 1, 9 и 4 случаев соответствен-

но). В 2012 г. ИП составил 2,16 (по Краснодарскому краю – 1,11).

В горно-лесных ландшафтах причерноморской зоны установлена циркуляция возбудителей клещевого боррелиоза. При выборочном исследовании клещей на ИКБ получены положительные результаты. В связи с сохраняющейся эпидемической опасностью требуется более пристальное внимание к обследованию и изучению природного очага ИКБ в этом регионе в будущем.

Мониторинг природного очага псевдотуберкулеза на территории Сочи проводится постоянно. Весной 2014 г. при исследовании 96 проб сывороток крови мелких млекопитающих выявлены антитела к возбудителю псевдотуберкулеза у 2 лесных мышей, отловленных в окрестностях поселка Барановка г.-к. Сочи. В регионе регистрируется заболеваемость псевдотуберкулезом; в отдельные годы – на высоком уровне. Так, в 2009 г. ИП составил 7,20 (в Краснодарском крае – 0,61, по России – 0,79). Однако в 2010 г. заболели всего 2 человека (ИП 0,49), в 2013 выявлен 1 случай заболевания (ИП 0,23). В 2011 и 2012 гг. больных псевдотуберкулезом не зарегистрировано.

Заболеваемость кишечным иерсиниозом в Сочи в последние годы не регистрировалась. Лишь в 2013 г. отмечено 3 случая ОКИ, обусловленной иерсиниями. Однако при исследовании сывороток крови людей с заболеваниями невыясненной этиологии в 2009 г. у 9,6 % больных обнаружены антитела к возбудителю кишечного иерсиниоза (83 положительные пробы из 867 исследованных), в 2010 г. – у 7,5 % (57 положительных из 760), в 2011 г. – у 6,9 % (11 положительных из 159). У грызунов, отловленных в открытых станциях Адлерского, Хостинского, Центрального и Лазаревского районов Сочи в 2009–2013 гг., маркеры возбудителя кишечного иерсиниоза не выявлены. В первом полугодии 2014 г. при лабораторном анализе проб материала грызунов из лесопарковых зон Сочи и Туапсинского района в сыворотках крови 4 особей мелких млекопитающих получены положительные результаты на наличие антител к возбудителю кишечного иерсиниоза.

Антитела к лептоспирам в сыворотках крови больных, постоянно проживающих в Сочи (находящихся на лечении различных заболеваний в стационарах), впервые выявлены в 2009 г. (18 положительных проб из 500 исследованных в РМА): 10 – к *Leptospira icterohaemorrhagiae*, 2 – к *L. pomona*, 1 – к *L. canicola*, 3 – к *L. javanica*, 2 – к *L. grippityphosa*. В 2010 г. серопозитивные на лептоспирозы сыворотки крови идентифицированы у 10 больных (388 исследовано): у 9 обнаружены антитела к *L. icterohaemorrhagiae*, у 1 – к *L. pomona*.

Циркуляция возбудителей лептоспирозов в природных биотопах Сочи подтверждена результатами мониторинга. Следует отметить, что наибольшее количество инфицированных лептоспирами грызунов добыто в Лазаревском и Адлерском районах Сочи. В 2013 г. выявлен 1 случай заболевания лептоспирозом, в 2011 г. – 2. Заболевшими были взрослые люди,

связывающие свое заболевание с посещением водоемов (купание, рыбалка). В 2013 г. специфическая профилактика лептоспироза контингентам риска выполнена на 100 % (190 человек).

В регионе Сочи в природных биотопах также установлена циркуляция ряда арбовирусов, опасных для человека: Западного Нила, Крымской-Конго геморрагической лихорадки, Синдбис, Укуниими, Батаи, вирусов серокомплекса Калифорнийского энцефалита (Тягиня, Инко), Дхори. На соседней территории Республики Абхазия также выявлена циркуляция возбудителей бактериальных, вирусных и риккетсиозных инфекционных болезней: туляремии, лептоспирозов, ГЛПС, ЛЗН, КГЛ, КЭ, Тягиня, Инко, Синдбис, Бханджа, Ку-лихорадки.

Следует отметить, что в настоящее время на территории всех районов Сочи распространены комары *Aedes aegypti* и *Ae. albapictus*, являющиеся в эндемичных районах мира переносчиками желтой лихорадки, лихорадки денге и других опасных арбовирусных инфекций [3], а в приграничных районах Абхазии, помимо имаго комаров, обнаружены личинки *Ae. aegypti* [4]. При мониторинговых исследованиях в Сочи доля *Ae. aegypti* в сборах комаров в 2012 г. составила 0,5 %, в 2013 г. – 5,5; *Ae. albapictus* – 4,3 %.

Ежегодно в Сочи регистрируется значительное число лиц, обратившихся за медицинской помощью вследствие укусов и повреждений, нанесенными животными. Так, в 2012 г. обратились 2521 человек, в 2013 г. – 2087 (из них дикими животными – 21). В пересчете на 100 тыс. населения показатель в два и более раз превышает аналогичный по Краснодарскому краю. Начиная с 2005 г. случаи бешенства среди людей не регистрируются. Однако заболевания бешенством среди животных продолжают выявляться: 2010 г. – 5 случаев заболевания у безнадзорных собак и кошек (33 % исследованных животных с подозрением на бешенство); 2011 г. – 3 случая среди безнадзорных собак (20 % от исследованных животных с подозрением на бешенство); 2012 г. – 1 случай у крысы, отловленной в жилище людей (5 % от исследованных животных). Санитарно-противоэпидемической комиссией Сочи разработан комплекс мер, направленных на стабилизацию обстановки по данной инфекции (Постановление администрации г.-к. Сочи № 7 от 26.07.2013 г.), к выполнению которых привлечены главы районных администраций и сельских округов, общество «Охотников и рыболовов», ГУ «Сочинский национальный парк», природный биосферный заповедник, ГУ КК «Ветуправление г. Сочи», ФБУЗ «Сочинская городская дезинфекционная станция» и другие организации дезинфекционного и дератизационного профилей, ТО Управления Роспотребнадзора по Краснодарскому краю в г.-к. Сочи, Управление внутренних дел города Сочи, Управление здравоохранением администрации г. Сочи.

Мерам по стабилизации эпидемиологической обстановки по природно-очаговым инфекциям в регионе проведения Олимпийских игр уделялось постоянное внимание, что отражено в распоряжении

главы администрации (губернатора) Краснодарского края № 867-р от 18.10.2013 г. «О мерах по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия в период подготовки и проведения XXII Олимпийских зимних игр и XI Паралимпийских зимних игр 2014 г. в городе Сочи», постановлении администрации города Сочи № 1292 от 24.06.2013 г. «Об усилении мероприятий по профилактике природно-очаговых инфекционных заболеваний».

С целью обеспечения готовности к чрезвычайным ситуациям эпидемического характера создана рабочая группа по взаимодействию Управления Роспотребнадзора по Краснодарскому краю с противочумными учреждениями Роспотребнадзора (совместный приказ Управления Роспотребнадзора по Краснодарскому краю и ФКУЗ Ставропольский противочумный институт № 81/98 от 25.04.2013 г.); на заключительном этапе подготовки и в период проведения Олимпийских игр был переработан действующий «Комплексный план мероприятий на 2013–2015 г. по санитарной охране территории г.-к. Сочи от заноса и распространения инфекционных болезней, представляющих потенциальную опасность для здоровья населения и международных сообщений (ассоциируемых с риском возникновения чрезвычайных ситуаций в области здравоохранения)». Были учтены все возможные риски, связанные с характером и особенностями проведения Олимпийских игр. Разработан и принят «Оперативный план действий при выявлении больного с подозрением на опасную инфекционную болезнь, групповые инфекционные и паразитарные болезни на период подготовки и проведения XXII Олимпийских зимних игр и XI Паралимпийских зимних игр в 2014 г.» (постановление СПЭК администрации г.-к. Сочи № 5 от 27.06.2013 г.). Разработан комплексный план мероприятий по защите населения от кровососущих насекомых на 2013 г. (постановление СПЭК администрации г.-к. Сочи № 6 от 26.07.2013 г.). Постановлением СПЭК администрации г.-к. Сочи (№ 9 от 26.07.2013 г.) регламентирован комплекс мероприятий, направленных на стабилизацию эпидемиологической ситуации по лихорадке Западного Нила и геморрагическим лихорадкам на территории г.-к. Сочи. Обеспечение готовности к возможному осложнению эпидемиологической ситуации по данным инфекциям и решение проблемных вопросов проводились в тесном взаимодействии ТО Управления Роспотребнадзора по Краснодарскому краю в г.-к. Сочи, ГУКК «Управление ветеринарии г. Сочи», Управлением здравоохранения администрации г. Сочи. Проведенный комплекс мер позволил обеспечить эпидемиологическое благополучие по природно-очаговым инфекциям в Сочи в период проведения XXII Олимпийских и XI Паралимпийских зимних игр 2014 г.

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

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Клауснитцер Б. Экология городской фауны. М.: Мир; 1990. 246 с.

2. Окулова Н.М., Василенко Л.Е., Рябова Т.Е. Многолетняя динамика численности и размножения лесных мышей (п/род *Sylvaemus*) Северо-Западного Кавказа. Биоразнообразие и устойчивое развитие. Симферополь; 2012. С. 223–7.

3. Рябова Т.Е., Юничева Ю.В., Маркович Н.Я., Ганушкина Л.А., Оробей В.Г., Сергиев В.П. Обнаружение комаров *Aedes (Stegomyia) aegypti* L. в г. Сочи. *Мед. паразитол.* 2005; 3:3–5.

4. Сергиев В.П. Появление экзотических переносчиков арбовирусных лихорадок – новая недостаточная оцениваемая биологическая угроза южным регионам России. *Журн. инфектол.* 2011; 1(3):59–63.

5. Ткаченко Е.А., Окулова Н.М., Юничева Ю.В., Морзунов С.П., Хайбулина С.Ф., Рябова Т.Е., Василенко Л.Е., Башкирцев В.Н., Дзагурова Г.К., Горбачкова Е.А., Седова Н.С., Балакирев А.Е., Деконенко А.Е., Дроздов С.Г. Эпизоотологические и вирусологические характеристики природного очага хантавирусной инфекции в субтропической зоне Краснодарского края. *Вопр. вирусол.* 2005; 3:14–9.

6. Черкасский Б.Л. Руководство по общей эпидемиологии. М.: 2001. 558 с.

#### References

1. Klausnitter B. [Ecology of the Urban Fauna]. M.: Mir; 1990. 246 p.

2. Okulova N.M., Vasilenko L.E., Ryabova T.E. [Multiannual abundance and propagation dynamics in field mice (subgenus *Sylvaemus*) of North-Western Caucasus]. Proceedings of the Scientific-Practical Conference “Biodiversity and Sustainable Development”, Simferopol; 2012: 223–7.

3. Ryabova T.E., Yunicheva Yu.V., Markovich N.Ya., Ganushkina L.A., Orobey V.G., Sergiev V.P. [Detection of mosquitoes *Aedes (Stegomyia) aegypti* L. in Sochi City]. *Med. Parazitol. Parazit. Bol.* 2005; 3:3–5.

4. Sergiev V.P. [Occurrence of exotic vectors of arboviral fevers – new underestimated biological hazard to southern regions of Russia]. *Zh. Infektol.* 2011; 1(3):59–63.

5. Tkachenko E.A., Okulova N.M., Yunicheva Yu.V., Morzunov S.P., Khaibulina S.F., Ryabova T.E., Vasilenko L.E., Bashkirtsev V.N., Dzagurova G.K., Gorbachkova E.A., Sedova N.S., Balakirev A.E., Dekonenko A.E., Drozdov S.G. [Epizootiological and virological characteristics of natural hantavirus infection focus situated in subtropical zone of the Krasnodar Territory]. *Vopr. Virusol.* 2005; 3:14–9.

6. Cherkassky B.L. [Guidelines on General Epidemiology]. M.: Meditsina; 2001. 558 p.

#### Authors:

Kuz'kin B.P., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Paksina N.D., Skudareva O.N. Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare. 18, Bld. 5 and 7, Vadkovsky Pereulok, Moscow, 127994, Russian Federation.

Kulichenko A.N., Maletskaya O.V., Taran T.V., Vasilenko N.F., Kharchenko T.V., Manin E.A., Grizhebovsky G.M. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: snipchi@mail.stv.ru

Yunicheva Yu.V., Eldinova V.E., Vasilenko L.E., Medyanik I.M., Pilikova O.M. Black Sea Plague Control Station. 90, Kunikova St., Novorossiysk, 353919, Russian Federation. E-mail: novppchs@rambler.ru

Klindukhov V.P., Grechanaya T.V., Tesheva S.Ch. Rosпотребнадзор Administration in the Krasnodar Territory. 100, Rashpilevskaya St., Krasnodar, 350000, Russian Federation. E-mail: upravlenie@kubanrpn.ru

Orobey V.G. Territorial Subdivision of the Rosпотребнадзор Administration in the Krasnodar Territory in the Resort Town of Sochi. 27, Roz St., Sochi, 354000, Russian Federation.

Belanova E.A. Sochi Branch of the Center of Hygiene and Epidemiology in the Krasnodar Territory. 27, Roz St., Sochi, 354000, Russian Federation.

#### Об авторах:

Кузькин Б.П., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Паксина Н.Д., Скударева О.Н. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Российская Федерация, 127994, Москва, Вадковский переулок, дом 18, строение 5 и 7.

Куличенко А.Н., Малецкая О.В., Таран Т.В., Василенко Н.Ф., Харченко Т.В., Манин Е.А., Грижебовский Г.М. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: snipchi@mail.stv.ru

Юничева Ю.В., Елдинова В.Е., Василенко Л.Е., Медяник И.М., Пиликова О.М. Причерноморская противочумная станция. Российская Федерация, 353919, Краснодарский край, Новороссийск, ул. Куникова, 90. E-mail: novppchs@rambler.ru

Клиндухов В.П., Гречаная Т.В., Тешева С.Ч. Управление Роспотребнадзора по Краснодарскому краю. Российская Федерация, 350000, Краснодар, ул. Рашипилевская, 100. E-mail: upravlenie@kubanrpn.ru

Оробей В.Г. Территориальный отдел Управления Роспотребнадзора по Краснодарскому краю в г.-к. Сочи. Российская Федерация, 354000, Краснодарский край, Сочи, ул. Роз, 27.

Беланова Е.А. Сочинский филиал ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Краснодарском крае». Российская Федерация, 354000, Краснодарский край, Сочи, ул. Роз, 27.

Г.Г.Онищенко<sup>1</sup>, Б.П.Кузькин<sup>2</sup>, Ю.В.Демина<sup>2</sup>, А.Н.Куличенко<sup>3</sup>, О.В.Малецкая<sup>3</sup>, Д.В.Ефременко<sup>3</sup>, А.Г.Рязанова<sup>3</sup>, И.В.Кузнецова<sup>3</sup>, В.Н.Савельев<sup>3</sup>, Г.М.Грижебовский<sup>3</sup>, В.В.Кутырев<sup>4</sup>, И.А.Дятлов<sup>5</sup>, В.Е.Елдинова<sup>6</sup>, Ю.В.Юничева<sup>6</sup>, С.К.Дерлятко<sup>6</sup>, В.Г.Оробей<sup>7</sup>, В.П.Клиндухов<sup>8</sup>, А.Д.Антоненко<sup>9</sup>

## ОБЕСПЕЧЕНИЕ ГОТОВНОСТИ И ОРГАНИЗАЦИЯ РАБОТЫ СПЭБ ФКУЗ «СТАВРОПОЛЬСКИЙ ПРОТИВОЧУМНЫЙ ИНСТИТУТ» РОСПОТРЕБНАДЗОРА В ПЕРИОД ПРОВЕДЕНИЯ XXII ОЛИМПИЙСКИХ И XI ПАРАЛИМПИЙСКИХ ЗИМНИХ ИГР В СОЧИ

<sup>1</sup>Российская академия наук, Москва, Российская Федерация; <sup>2</sup>Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация; <sup>3</sup>ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт», Ставрополь, Российская Федерация; <sup>4</sup>ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация; <sup>5</sup>ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», п. Оболенск, Российская Федерация; <sup>6</sup>ФКУЗ «Причерноморская противочумная станция», Новороссийск, Российская Федерация; <sup>7</sup>Территориальный отдел Управления Роспотребнадзора по Краснодарскому краю в г.-к. Сочи, Российская Федерация; <sup>8</sup>Управление Роспотребнадзора по Краснодарскому краю, Краснодар, Российская Федерация; <sup>9</sup>ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ставрополь, Российская Федерация

В статье представлены сведения по организации работы специализированной противоэпидемической бригады ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» в период проведения XXII Олимпийских и XI Паралимпийских зимних игр 2014 г. в Сочи. Рассмотрены вопросы подготовки СПЭБ: укомплектование бригады кадрами, оснащение лабораторным оборудованием и диагностическими препаратами, обучение специалистов с учетом особенностей работы во время массовых мероприятий – участие в межведомственных учениях, проведение курсов, семинаров и тренировочных занятий. С целью решения поставленных задач впервые усиленный состав СПЭБ включал 60 специалистов из научно-исследовательских и других учреждений Роспотребнадзора. Была обеспечена готовность к лабораторной диагностике и индикации возбудителей 82 нозологических форм инфекций, в том числе экзотических для территории Российской Федерации. Работа бригады была организована на базе двух лабораторных баз и бактериологической лаборатории на автошасси.

**Ключевые слова:** Олимпийские игры, специализированная противоэпидемическая бригада, СПЭБ, лабораторная диагностика инфекционных болезней, индикация микроорганизмов.

G.G.Onishchenko<sup>1</sup>, B.P.Kuz'kin<sup>2</sup>, Yu.V.Demina<sup>2</sup>, A.N.Kulichenko<sup>3</sup>, O.V.Maletskaia<sup>3</sup>, D.V.Efremenko<sup>3</sup>, A.G.Ryazanova<sup>3</sup>, I.V.Kuznetsova<sup>3</sup>, V.N.Savel'ev<sup>3</sup>, G.M.Grizebovsky<sup>3</sup>, V.V.Kutyrev<sup>4</sup>, I.A.Dyatlov<sup>5</sup>, V.E.Eldinova<sup>6</sup>, Yu.V.Yunicheva<sup>6</sup>, S.K.Derlyatko<sup>6</sup>, V.G.Orobey<sup>7</sup>, V.P.Klindukhov<sup>8</sup>, A.D.Antonenko<sup>9</sup>

### Provision of the Preparedness and Management of Work of the Specialized Anti-Epidemic Team at the Premises of the Rospotrebnadzor Stavropol Anti-Plague Institute during the XXII Olympic and XI Paralympic Winter Games in Sochi

<sup>1</sup>Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation; <sup>2</sup>Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Moscow, Russian Federation; <sup>3</sup>Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation; <sup>4</sup>Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation; <sup>5</sup>State Research Center of Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russian Federation; <sup>6</sup>Black Sea Region Plague Control Station of the Rospotrebnadzor, Novorossiysk, Russian Federation; <sup>7</sup>Territorial Office of the Rospotrebnadzor Administration in the Krasnodar Territory in the Resort Town Sochi, Russian Federation; <sup>8</sup>Rospotrebnadzor Administration in the Krasnodar Territory, Krasnodar, Russian Federation; <sup>9</sup>Stavropol State Medical University of the RF Ministry of Health, Stavropol, Russian Federation

The paper contains the data on the management of work of the specialized anti-epidemic team (SAET) of the Stavropol Anti-Plague Institute during the XXII Olympic and XI Paralympic Winter Games (2014) in Sochi. Reviewed are the issues of SAET's preparedness provision: staffing of the team, facility equipping, fitting with diagnostic preparations, professional training and development in view of the mass event mission – participation in interagency exercises, educational courses, seminars, and response drills. For the first time ever, SAET's reinforced personnel comprised 60 specialists from research institutions and some other Rospotrebnadzor Organization. Provided was preparedness to perform laboratory diagnostics and indicate the agents of 82 nosological forms, including exotic ones. The team conducted investigations at the premises of the two facilities and bacteriological laboratory mounted on the trucks.

**Key words:** Olympic Games, specialized anti-epidemic team (SAET), laboratory diagnostics of infectious diseases, microorganism indication.

За последние годы на территории Российской Федерации проведен целый ряд крупных международных политических и культурно-спортивных мероприятий. Важное направление работы при их ор-

ганизации – обеспечение безопасности участников, гостей и местного населения. При этом охрана здоровья и, в частности, защита от инфекционных болезней – одна из главных задач [4].

В Российской Федерации на базе пяти противочумных институтов Роспотребнадзора функционируют специализированные противоэпидемические бригады (СПЭБ) – мобильные бригады экстренного реагирования на биологические угрозы различного характера. Одно из направлений работы бригад – усиление санитарно-эпидемиологического надзора и служб здравоохранения при массовых мероприятиях. СПЭБ принимали участие в обеспечении биологической безопасности во время Саммита АТЭС 2012 г. во Владивостоке, Универсиады 2013 г. в Казани, Саммита G-20 2013 г. в Санкт-Петербурге [1]. Основные задачи СПЭБ Роспотребнадзора в период проведения данных мероприятий:

- лабораторная диагностика и индикация возбудителей особо опасных инфекций в клиническом материале и объектах окружающей среды;

- лабораторная диагностика инфекционных заболеваний неясной этиологии с тяжелым и атипичным течением;

- индикация патогенных биологических агентов в случае совершения (подозрения на совершение) биотеррористического акта;

- идентификация и генотипирование возбудителей опасных инфекционных болезней;

- усиление лабораторной базы региона проведения мероприятия при больших объемах исследований;

- оказание консультативно-методической и практической помощи в организации и проведении профилактических и противоэпидемических мероприятий, в том числе при чрезвычайных ситуациях (ЧС).

В зависимости от поставленных задач и объемов работы СПЭБ может функционировать как в полном составе, так и в составе отдельных лабораторных модулей и групп специалистов. Развертывание и работа специалистов бригады происходит на базе мобильного комплекса на автошасси, либо палаточных модулей, или в приспособленных для этих целей стационарных помещениях [5].

Олимпийские игры – самое большое по количеству участвующих стран и массовое, с точки зрения зрительского интереса, спортивное событие. Учитывая имеющийся опыт организации крупных международных соревнований, с целью расширения диагностических возможностей и укрепления общей лабораторной сети при проведении XXII Олимпийских и XI Паралимпийских зимних игр 2014 г. в Сочи (Олимпийских игр) была привлечена СПЭБ ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт».

Целью данной работы является оценка эффективности мероприятий по обеспечению готовности СПЭБ, анализ организации и особенностей функционирования бригады в период Олимпийских игр.

На подготовительном этапе необходимо было решить ряд вопросов, касающихся функционирования СПЭБ в структуре общей лабораторной сети региона проведения Олимпийских игр:

- четкое определение задач СПЭБ;

- определение места дислокации бригады, порядка ее функционирования в системе лабораторной сети и взаимодействия с другими организациями;

- создание необходимых лабораторных мощностей в соответствии с поставленными задачами (укомплектование бригады кадрами, лабораторным оборудованием, диагностическими препаратами и другим имуществом);

- подготовка специалистов СПЭБ с учетом поставленных задач (проведение семинаров, учебных занятий, тренировок, участие в учениях).

**Задачи СПЭБ.** Учитывая накопленный опыт организации крупных международных (массовых) мероприятий, Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека совместно с учреждениями, задействованными в противоэпидемическом обеспечении населения в период подготовки и проведения Олимпийских игр, разработаны нормативно-методические документы, регламентирующие выполнение лабораторных исследований, взаимодействие между организациями, порядок реагирования на осложнения санитарно-эпидемиологической обстановки [6, 7, 8, 9, 10]. Согласно порядку лабораторного исследования клинического материала и проб из объектов окружающей среды, задачами СПЭБ были:

- исследование клинического материала и проб из объектов окружающей среды по эпидемическим показаниям;

- обследование объектов проживания и спортивных объектов на легионеллы;

- скрининговые исследования продуктов питания на наличие возбудителей особо опасных (ООИ), острых кишечных инфекций (ОКИ) и биологических токсинов;

- профилактическое обследование декретированных групп на возбудителей острых кишечных инфекций;

- исследование воды на группу кишечных вирусов и вибриофлору.

По эпидемическим показаниям в СПЭБ клинический материал и пробы из объектов окружающей среды должны направляться при подозрении на особо опасную, новую и атипичную инфекцию.

Помимо СПЭБ, в период проведения Олимпийских игр для выявления возбудителей инфекций в пробах от людей и из объектов окружающей среды были задействованы следующие лаборатории: ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Краснодарском крае» – отвечал за контроль объектов окружающей среды и продуктов питания на санитарно-гигиенические показатели, исследование материала от лиц, контактировавших с больными; ГБУЗ «Инфекционная больница № 2» Министерства здравоохранения Краснодарского края – исследование клинического материала от больных. В случае необходимости усиления лабораторий Сочи при больших объемах исследований (превышение максимального порогового объема исследований) задействовалась лабораторная база СПЭБ. В период Олимпийских

игр осуществлялось постоянное взаимодействие между диагностическими лабораториями.

Таким образом, подготовку необходимо было проводить с учетом поставленных перед СПЭБ задач, ориентированных на реагирование при ЧС санитарно-эпидемиологического характера и проведение плановых лабораторных исследований.

**Организация функционирования СПЭБ.** При выборе места дислокации бригады учитывали территориальную разобщенность Олимпийских объектов (прибрежный и горный кластеры), трех Олимпийских деревень, двух инфекционных стационаров, расположенных в Адлере и Дагомысе, объектов проживания гостей Олимпийских игр.

В Центральном районе Сочи находится Сочинское противочумное отделение ФКУЗ «Причерноморская противочумная станция» Роспотребнадзора, соответствующее уровню биологической безопасности BSL III. В 2013 г. противочумное отделение оснащено боксами микробиологической защиты и другим современным оборудованием. Следует отметить удачное расположение противочумного отделения: в Центральном и Адлерском районах находилась большая часть объектов, подлежащих обследованию на легионеллы, рядом расположены крупные транспортные объекты (ж/д и авто вокзалы, морской порт), на расстоянии 17 км расположен основной инфекционный стационар Сочи (ГБУЗ «Инфекционная больница № 2»). Учитывая вышесказанное, Сочинское противочумное отделение было выбрано в качестве основной стационарной лабораторной базы СПЭБ.

Отбор и исследование на санитарно-гигиенические показатели проб продуктов питания и пищевого сырья в период Олимпийских игр осуществлялся силами специалистов ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Краснодарском крае». Однако в связи с имеющимися эпидемиологическими рисками, в том числе возможностью совершения биотеррористических актов, СПЭБ проводила выборочный контроль пищевой продукции на возбудителей особо опасных инфекций (ООИ), острых кишечных инфекций (ОКИ) и биологические токсины. Необходимость проведения исследований определялась особенностью ситуации, характером клиентских групп и эпидемиологической обстановкой. Для оптимизации схем движения и исследования материала, сосредоточения пунктов приема и пробоподготовки продуктов питания в одном месте на базе Сочинского отделения ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Краснодарском крае» функционировала дополнительная лабораторная база СПЭБ (работа проводилась в стационарных лабораторных помещениях и бактериологической лаборатории на автошасси). Эту базу расположили в Центральном районе Сочи в 3,6 км от основной базы СПЭБ.

Таким образом, бригада в период Олимпийских игр функционировала на двух лабораторных базах – основной (стационарной), где находились штаб СПЭБ, лаборатории индикации, особо опасных инфекций, бактериологическая, поддержки бактериологических исследований и дополнительной, где рас-

полагалась лаборатория санитарно-гигиенических исследований. Между базами курсировал дежурный автотранспорт СПЭБ, на котором осуществлялась доставка сотрудников, проб для исследований, расходных материалов и другого имущества. Всего бригада располагала 8 единицами автотранспорта для решения оперативных задач.

В период Олимпийских игр в составе СПЭБ были созданы временные функциональные группы: отбора и доставки проб; регистрации, кодирования и выдачи протоколов; исследований на легионеллы; молекулярно-генетических исследований; иммунологических исследований. При необходимости сотрудники одних подразделений СПЭБ могли усиливать другие. Это осуществлялось за счет обучения персонала в подготовительный период различным методам лабораторной диагностики. Таким образом, реализовывался принцип взаимозаменяемости специалистов бригады.

На случай необходимости создания дополнительных лабораторных мощностей в п. Веселое, между прибрежным и горным кластерами, располагалась резервная база – мобильный комплекс СПЭБ на автошасси (4 лабораторных и штабной модули).

На период подготовки и проведения Олимпийских игр были заключены соглашения о сотрудничестве ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» с ведущими НИИ Роспотребнадзора (ФБУН ГНЦ ПМБ, ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», ФБУН ЦНИИЭ). В рамках действующих соглашений СПЭБ могла быть оказана консультативно-методическая и практическая помощь по идентификации и генотипированию возбудителей вирусных инфекций, в том числе экзотических для РФ, атипичных форм микроорганизмов, при подозрении на новый или искусственно модифицированный штамм, создавался резерв диагностических препаратов. Также был подписан план взаимодействия СПЭБ и специализированного формирования НИИ Минобороны России при возникновении ЧС санитарно-эпидемиологического характера.

Таким образом, в подготовительный период решались вопросы по организации функционирования бригады и взаимодействия с учреждениями, задействованными в противэпидемическом обеспечении Олимпийских игр.

**Укомплектование СПЭБ кадрами и имуществом.** Особенностями работы СПЭБ в период Олимпийских игр были ее продолжительность, с учетом подготовительного, меж- и постсоревновательных периодов – 61 сут (с 19.01. по 20.03.2014 г.), широкий спектр разноплановых задач по лабораторной диагностике, возможность поступления большого количества материала для исследования.

С учетом вышесказанного бригаду усилили за счет привлечения специалистов НИИ и других учреждений Роспотребнадзора, в том числе имеющих опыт работы во время массовых мероприятий. В период между Олимпийскими и Паралимпийскими играми осуществили замену личного состава. СПЭБ 1 ра-

ботал с 19.01. по 23.02.2014 г., СПЭБ 2 – с 24.02. по 20.03.2014 г. Каждый состав бригады включал 60 специалистов. Всего за весь период работу выполняли 106 человек, из них: 53 – из ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт», 6 – из ФБУН ГНЦ ПМБ (п. Оболенск), 6 – из ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» (Саратов), 32 – из ФКУЗ «Причерноморская противочумная станция» и Сочинское противочумное отделение, 9 – ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъектах Северо-Кавказского федерального округа.

Для решения поставленных задач бригаду оснастили современным высокотехнологичным диагностическим оборудованием (6 амплификаторов с детекцией результатов в реальном времени, 2 ИФА-ридера, 3 люминесцентных микроскопа, 4 автоматических анализатора для идентификации микроорганизмов и проведения санитарно-микробиологических исследований). Обеспечена готовность к проведению генотипирования и секвенирования патогенов. В процессе работы задействовали новую приборную базу, ранее не использовавшуюся в условиях СПЭБ: биочип-анализаторы «Диагем» и «ePaTOX II» для выявления биологических токсинов и возбудителей опасных инфекций, автоматизированная станция микрокапиллярного электрофореза «Experion System» для генотипирования штаммов. С целью реагирования на ЧС, связанные с возможным образованием биологического аэрозоля, в наличии имелись 2 детектора для мониторинга атмосферного воздуха на присутствие патогенных биологических агентов (ПБА) «IVAS» и 2 пробоотборника «Biocapture» [2, 3].

Оснащение бригады диагностическими препаратами позволяло проводить индикацию возбудителей 82 нозологических форм инфекций (в том числе тест-системы собственного производства). Диагностическая мощность по методам исследования у лабораторий СПЭБ в сутки составляла: ПЦР – 200 проб, иммуносерологические – 200–500, бактериологический (возбудители I–II групп патогенности) – 40, бактериологический (возбудители III–IV групп патогенности и холеры) – 300, санитарно-микробиологические исследования воды – 30, санитарно-микробиологические исследования продуктов питания – 45. Обеспечена готовность к бактериологическому исследованию 6 нозологий ООИ, 13 – ОКИ, 8 – воздушно-капельных инфекций. Запас диагностических препаратов рассчитан на выполнение анализов с помощью методов специфической индикации (ПЦР, иммунологические) – от 50 (экзотические для РФ инфекции) до 1500 (ОКИ) проб по каждой нозологии, на выявление биологических токсинов – 2000 проб, на определение санитарно-показательных микроорганизмов – 2000.

Укомплектованность бригады кадрами, оборудованием, созданный запас диагностических препаратов и другого имущества позволяли решать стоящие задачи, обеспечивали готовность к круглосуточной работе, проведению большого количества лабораторных исследований по различным направлениям.

**Подготовка специалистов СПЭБ.** Подготовка специалистов бригады построена с учетом опыта и особенностей работы по противоэпидемическому обеспечению массовых мероприятий [1]. Особое внимание уделялось методам специфической индикации, в первую очередь ПЦР, и использованию автоматических анализаторов, позволяющих сократить время анализа, обеспечить выдачу результатов в максимально короткие сроки и увеличить количество возможных исследований [7, 8].

За 2012–2013 гг. было проведено 4 учебных курса повышения квалификации, 8 семинаров и тренировочных занятий по тематикам: лабораторная диагностика и профилактика особо опасных и других инфекций, биологическая безопасность. В общей сложности прошли подготовку 270 сотрудников, в том числе специалисты Роспотребнадзора Краснодарского края, субъектов СКФО. Организовано обучение на рабочих местах методам ПЦР, иммунологии, бактериологии.

Специалисты СПЭБ приняли участие в 6 межведомственных учениях по вопросам санитарно-эпидемиологического обеспечения Олимпийских игр и реагирования на различные ЧС в области здравоохранения.

Специалисты учреждений Роспотребнадзора были подготовлены к выполнению поставленных задач и особенностям работы в период проведения массового мероприятия – Олимпийских игр.

Таким образом, на подготовительном этапе решен широкий спектр вопросов, касающихся функционирования СПЭБ в период проведения Олимпийских игр. Разработанная нормативно-методическая база определяла задачи учреждений, участвующих в противоэпидемическом обеспечении населения, направления работы СПЭБ, алгоритмы диагностических исследований в период проведения массовых мероприятий [6, 7, 8, 9, 10].

Использование двух лабораторных баз (основной и дополнительной) позволило сократить время доставки материала для исследований. Выбор в качестве основной стационарной базы Сочинского противочумного отделения ФКУЗ «Причерноморская противочумная станция» Роспотребнадзора обеспечил необходимое количество помещений для работы СПЭБ в усиленном составе и решения поставленных задач. На случай возникновения ЧС, необходимости создания дополнительных лабораторных мощностей подготовлена резервная лабораторная база (4 мобильных лаборатории и штабной модуль на автошасси).

Заключены и реализованы договоры о сотрудничестве с ведущими НИИ Роспотребнадзора и специализированным формированием НИИ Минобороны России, задействованными в противоэпидемическом обеспечении Олимпийских игр, предусматривающие совместные действия при возникновении различных осложнений санитарно-эпидемиологической обстановки.

Усиленный состав бригады составил 60 человек, помимо основного учреждения, формирующего СПЭБ, включал специалистов из других НИИ и ор-

ганизаций Роспотребнадзора. Привлечение опытных специалистов позволило укрепить бактериологическое и молекулярно-генетическое направления работы.

Оснащение СПЭБ новым оборудованием дало возможность использовать весь комплекс современных методов индикации, идентификации и генотипирования патогенов. Впервые была обеспечена готовность к лабораторной диагностике и индикации возбудителей 82 нозологических форм инфекций, в том числе экзотических для территории РФ.

Проводимые учения и программы подготовки специалистов бригады учитывали специфику работы при обеспечении биологической безопасности массовых мероприятий, а также возможные сценарии возникновения ЧС в области санитарно-эпидемиологического благополучия.

В целом, на подготовительном этапе было определено место СПЭБ в структуре общей лабораторной сети региона Олимпийских игр, обеспечена готовность к выполнению поставленных задач.

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

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. XXVII Всемирная летняя универсиада 2013 года в Казани. Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия. Тверь; 2013. 528 с.
2. Ефременко Д.В., Зайцева О.А., Кузнецова И.В., Куличенко А.Н. Пост контроля атмосферного воздуха на наличие патогенных биологических агентов и его значение в системе противодействия биологической угрозе. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* 2014, 1:80–5.
3. Куличенко А.Н., Ефременко Д.В., Кузнецова И.В., Зайцева О.А. Обеспечение готовности специализированных противозидемических бригад к работе при проведении массовых мероприятий. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* 2014, 1:76–80.
4. Онищенко Г.Г., Куличенко А.Н., Зайцева О.А., Ефременко Д.В. Опыт стран-организаторов Олимпиад по обеспечению защиты от биологической угрозы. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* 2014, 1: 70–5.
5. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., Топорков А.В., Карнаухов И.Г., Щербakov Д.А., Казакова Е.С., Щербакoва С.А. Обеспечение модернизации специализированных противозидемических бригад (СПЭБ) на современном этапе. *Пробл. особо опасных инф.* 2009, 3(101):10–8.
6. Организация и порядок лабораторной диагностики инфекционных болезней в период проведения XXII Олимпийских зимних игр и XI Паралимпийских зимних игр 2014 года в г. Сочи. Ставрополь, 2014. 96 с. <http://www.snipchi.ru/page.php?8> (дата обращения 15.09.2014 г.).
7. Организация лабораторной диагностики инфекционных болезней, лабораторного контроля объектов окружающей среды при проведении массовых мероприятий. МР 4.2.0070/1-13. М.; 2013.
8. Организация санитарно-противозидемического обеспечения массовых мероприятий с международным участием. МР 3.1.0079/2-13. М.; 2013.
9. Порядок лабораторного обеспечения диагностики инфекционных болезней в период проведения XXII Олимпийских зимних игр и XI Паралимпийских зимних игр 2014 г. в г. Сочи. Утвержден Руководителем Роспотребнадзора 08.09.2013 г. <http://www.snipchi.ru/page.php?8> (дата обращения 12.09.2014 г.).
10. Порядок лабораторного обеспечения исследований проб окружающей среды в период проведения XXII Олимпийских зимних игр и XI Паралимпийских зимних игр 2014 года в г. Сочи. Утвержден Руководителем Роспотребнадзора 08.09.2013 г. <http://www.snipchi.ru/page.php?8> (дата обращения 12.09.14).

#### References

1. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors [XXVII Worldwide Summer Universiade-2013 in Kazan. Provision of Sanitary-Epidemiological Welfare of the Population]. Tver; 2013. 528 p.

2. Efremenko D.V., Zaitseva O.A., Kuznetsova I.V., Kulichenko A.N. [Post of the air control for the presence of biological agents and its significance in biological terrorism threat countermeasures]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2014; 1:80–5.

3. Kulichenko A.N., Efremenko D.V., Kuznetsova I.V., Zaitseva O.A. [Provision of SAETs' preparedness for mass event mission]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2014; 1:76–80.

4. Onishchenko G.G., Kulichenko A.N., Zaitseva O.A., Efremenko D.V. [Experience of Olympic Games host countries in the provision of protection from biological threat]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2014; 1:70–5.

5. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., Toporkov A.V., Karnaukhov I.G., Scherbakov D.A., Kazakova E.S., Scherbakova S.A. [Provision of specialized anti-epidemic teams (SAET) modernization at the present stage]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2009; 3(101):10–8.

6. [Management of laboratory diagnostics of infectious diseases during the XXII Olympic and XI Paralympic Winter Games-2014 in Sochi]. Stavropol, 2014 (cited 15.09.2014). 96 p. Available from: <http://www.snipchi.ru/page.php?8>

7. [Management of laboratory diagnostics of infectious diseases, laboratory control of ambient environment objects while holding mass events]. МР 4.2.0070/1-13, М., 2013.

8. [Management of sanitary anti-epidemic provision of mass events with international participation]. МР 3.1.0079/2-13. М.; 2013.

9. [Procedure for the laboratory support of infectious disease diagnostics during the XXII Olympic and XI Paralympic Winter Games-2014 in Sochi]. Approved by the Head of the Rospotrebndadzor, 08.09.2013 (cited 12.09.2014). Available from: <http://www.snipchi.ru/page.php?8>.

10. [Procedure for the laboratory support of environmental samples control during the XXII Olympic and XI Paralympic Winter Games-2014 in Sochi]. Approved by the Head of the Rospotrebndadzor, 08.09.2013 (cited 12.09.2014). Available from: <http://www.snipchi.ru/page.php?8>

#### Authors:

*Onishchenko G.G.* Russian Academy of Sciences. Moscow, Russian Federation.

*Kuz'kin B.P., Demina Yu.V.* Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare. 18, Bld. 5 and 7, Vadkovsky Pereulok, Moscow, 127994, Russian Federation.

*Kulichenko A.N., Maletskaya O.V., Efremenko D.V., Ryazanova A.G., Kuznetsova I.V., Savel'ev V.N., Grizhebovsky G.M.* Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: [snipchi@mail.stv.ru](mailto:snipchi@mail.stv.ru)

*Kutyrev V.V.* Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: [rusrap@microbe.ru](mailto:rusrap@microbe.ru)

*Dyatlov I.A.* State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology. Obolensk, Moscow Region, 142279, Russian Federation. E-mail: [info@obolensk.org](mailto:info@obolensk.org)

*Eldinova V.E., Yunicheva Yu.V., Derlyatko S.K.* Black Sea Plague Control Station. 90, Kunikova St., Novorossiysk, 353919, Russian Federation. E-mail: [novppchs@rambler.ru](mailto:novppchs@rambler.ru)

*Orobev V.G.* Territorial Subdivision of the Rospotrebndadzor Administration in the Krasnodar Territory in the Resort Town of Sochi. 27, Roz St., Sochi, 354000, Russian Federation.

*Klindukhov V.P.* Rospotrebndadzor Administration in the Krasnodar Territory. 100, Rashpilevskaya St., Krasnodar, 350000, Russian Federation. E-mail: [upravlenie@kubanrpn.ru](mailto:upravlenie@kubanrpn.ru)

*Antonenko A.D.* Stavropol State Medical University. Stavropol, Russian Federation.

#### Об авторах:

*Онищенко Г.Г.* Российская академия наук. Москва, Российская Федерация.

*Кузькин Б.П., Демина Ю.В.* Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Российская Федерация, 127994, Москва, Вадковский переулок, дом 18, строение 5 и 7.

*Куличенко А.Н., Малецкая О.В., Ефременко Д.В., Рязанова А.Г., Кузнецова И.В., Савельев В.Н., Грижебовский Г.М.* Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: [snipchi@mail.stv.ru](mailto:snipchi@mail.stv.ru)

*Кутырев В.В.* Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: [rusrap@microbe.ru](mailto:rusrap@microbe.ru)

*Дятлов И.А.* Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии. Российская Федерация, 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, п. Оболensk. E-mail: [info@obolensk.org](mailto:info@obolensk.org)

*Елдинова В.Е., Юничева Ю.В., Дерлятко С.К.* Причерноморская противочумная станция. Российская Федерация, 353919, Краснодарский край, Новороссийский район, ул. Куникова, 90.

*Оробев В.Г.* Территориальный отдел Управления Роспотребнадзора по Краснодарскому краю в г.-к. Сочи. Российская Федерация, 354000, Краснодарский край, Сочи, ул. Роз, 27.

*Клиндухов В.П.* Управление Роспотребнадзора по Краснодарскому краю, Краснодар. Российская Федерация, 350000, Краснодар, ул. Рашпилевская, д. 100.

*Антоненко А.Д.* Ставропольский государственный медицинский университет. Ставрополь, Российская Федерация.

Поступила 09.12.14.

А.Н.Малахаева, О.Ю.Ляшова, О.П.Плотников, А.В.Осин

## ХРАНЕНИЕ ШТАММОВ *FRANCISELLA TULARENSIS* 15 НИИЭГ И *BRUCELLA ABORTUS* 19 ВА В ЖИЗНЕСПОСОБНОМ СОСТОЯНИИ ПУТЕМ ИХ ГЛУБОКОГО ЗАМОРАЖИВАНИЯ

ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация

В работе дана характеристика методов хранения микроорганизмов в различных условиях в жизнеспособном состоянии в течение двух лет. Проведено сравнение выживаемости тест-штаммов возбудителей туляремии и бруцеллеза (на примере *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ и *Brucella abortus* 19 ВА) при хранении на питательных средах при температурах от 0 до +8 °С и минус 70 °С в течение одного года наблюдения. Дана оценка жизнеспособности вакцинных штаммов при хранении при температуре минус 70 °С в течение двух лет наблюдения. Установлено, что наиболее оптимальными средами для хранения вышеуказанных микроорганизмов без изменения их морфологических признаков при температуре минус 70 °С являются СЖА и бульон Альбими с 10 % глицерином. Показано, что в рабочих коллекциях более эффективно консервировать микроорганизмы методом низкотемпературного замораживания.

**Ключевые слова:** патогенные биологические агенты (ПБА), *Francisella tularensis*, *Brucella abortus*, лиофилизация, криоконсервация, низкотемпературное замораживание.

A.N.Malakhaeva, O.Yu.Lyashova, O.P.Plotnikov, A.V.Osin

## Maintenance of *Francisella tularensis* 15 RIEH and *Brucella abortus* 19 BA Strains in a Viable State by Means of Deep Freezing

Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

Assessed are the methods for storage of microorganisms in a viable state under various technological conditions for a period of two years. Compared is the survivability of the test-strains of tularemia and brucellosis agents (exemplified by *Francisella tularensis* 15 RIEH and *Brucella abortus* 19 BA) when stored on the nutrient media at temperatures ranging 0 °C up +8 °C and at -70 °C for over a year. Made has been an estimate of survivability of the vaccine strains stored at -70 °C within two years term. It is determined that optimum media for storing the stated above microorganisms with no changes in their morphological characteristics at -70 °C are sucrose-gelatin agar and Albimi broth with 10 % glycerin. Demonstrated is the fact that it is more efficient to conserve microorganisms stored in working collections by way of deep freezing.

**Key words:** pathogenic biological agents (PBA), *Francisella tularensis*, *Brucella abortus*, liophilization, cryo-conservation, low-temperature freezing.

Как известно, туляремия и бруцеллез относятся к зоонозным инфекциям и остаются одной из основных проблем инфекционной патологии человека в России. Это подтверждается постоянным выделением штаммов из природных очагов и регистрацией спорадических или групповых случаев заболевания людей [1, 4]. Основными причинами заражения людей являются нарушения санитарно-гигиенических и ветеринарных правил, несвоевременное выявление больных людей и животных и их изоляция. Частота плановых обследований зависит от эпизоотической ситуации. Результаты обследования объекта доводят до администрации для принятия соответствующих мер.

Одним из обязательных этапов лабораторной диагностики туляремии и бруцеллеза является проведение бактериологического анализа. В соответствии с МУ 3.3.2.2124-06 «Контроль диагностических питательных сред по биологическим показателям для

возбудителей чумы, холеры, сибирской язвы, туляремии, бруцеллеза, легионеллеза» качество питательных сред, использующихся для исследования, должно быть проверено с помощью контрольных тест-штаммов [2]. При контроле диагностических питательных сред для возбудителей туляремии и бруцеллеза применяется ряд тест-штаммов, наиболее востребованными из которых являются *F. tularensis* 15 НИИЭГ и *B. abortus* 19 ВА, поскольку, в отличие от своих вирулентных аналогов, относятся к III группе патогенности и могут использоваться в бактериологических лабораториях различного уровня, при наличии соответствующего санитарно-эпидемиологического заключения.

Сохранение микроорганизмов в жизнеспособном состоянии в течение длительного времени является одной из важных проблем микробиологии. От умения культивировать и сохранять в жизнеспособном состоянии бактерии в лабораторных условиях в зна-

чительной степени зависят успехи микробиологов в изучении патогенных биологических агентов (ПБА).

В последние годы в большинстве коллекций микроорганизмов используют методы лиофилизации, криоконсервации и низкотемпературного замораживания [5]. Во всех случаях выбор способа консервирования конкретного объекта основывается на сохранении микроорганизмами жизнеспособности, морфологических признаков, физиологических характеристик, биохимической активности и генетической стабильности. При этом учитывается максимально возможное время хранения культуры, а также надежность реализации данного метода консервации и требования по обслуживанию в течение длительного времени. Культуры микроорганизмов, подготавливаемые к консервации, должны выращиваться в оптимальных условиях. Состав среды выращивания, температура, условия аэрации и другие факторы оказывают существенное влияние на устойчивость микроорганизма к стрессам, возникающим при длительном хранении (лиофилизации, криоконсервации или замораживании).

Сущность метода лиофилизации заключается в высушивании культур под вакуумом при низких температурах (минус 20 – минус 40 °С). Лиофилизированные культуры, если их хранить без доступа кислорода, влаги и света при пониженных температурах (от 0 до +8 °С), могут храниться в течение длительного времени – 50 лет наблюдения [3].

В настоящее время большое внимание уделяется методу криоконсервации (от греч. *κρύος* – холод и лат. *conservo* – сохраняю) – низкотемпературному хранению живых биологических объектов с возможностью восстановления их биологических функций после размораживания. Время хранения в жидком азоте криоконсервированных микроорганизмов и других биологических объектов в стабильном и жизнеспособном состоянии практически не ограничено [5].

Для криозащиты плохо переносящих замораживание микроорганизмов применяют различные криопротекторы: низкомолекулярные вещества (глицерин, димексид, сахарозу и др.), высокомолекулярные соединения (декстран, крахмал, полиэтиленгликоль, поливинилпирролидон и др.), компоненты растительного и животного происхождения (сыроватку крови, желатин, обезжиренное молоко и др.).

Метод криоконсервации, как и метод лиофилизации, требует специального оборудования, но менее трудоемкий. Во время работы с жидким азотом требуется большая осторожность.

Известны способы длительного хранения микроорганизмов при низких температурах от минус 20 до минус 130 °С. Многие микроорганизмы могут храниться в холодильниках при температуре ниже минус 60 °С с сохранением высокого титра жизнеспособных клеток. Однако в коллекциях микроорганизмов, в том числе международных, этот прием используется как один из этапов лиофилизации культур [5]. Метод низкотемпературного замораживания также использу-

ется на носителях, что позволяет увеличить срок хранения микроорганизмов до 5 и более лет.

Целью данной работы является создание оптимальных условий для длительного хранения и определения жизнеспособности штаммов возбудителей туляремии и бруцеллеза в условиях низкотемпературного замораживания на примере тест-штаммов *F. tularensis* 15 НИИЭГ и *B. abortus* 19 ВА.

## Материалы и методы

В работе использованы: штаммы *F. tularensis* 15 НИИЭГ и *B. abortus* 19 ВА; среды хранения: бульон Альбими с 10 % глицерином (рН 7,2), дистиллированная вода с 10 % глицерином (рН 7,2); сахарозо-желатиновый агар – СЖА – (рН 7,2); FT-агар (рН 7,2) и агар Альбими (рН 7,2).

Штаммы со средами хранения в криопробирках CRYO.S™ помещали в низкотемпературную морозильную камеру с температурой минус 70 °С. На каждый штамм брали по три криопробирки на каждую среду (всего 9 криопробирок на каждый штамм).

Штаммы на скошенном агаре (FT-агар и агар Альбими) в пробирках хранили при температуре от 0 до +8 °С.

Учет жизнеспособности (жизнеспособность – процент выросших колоний микроорганизмов от числа засеянных клеток) микроорганизмов проводили путем высева на соответствующие среды для каждого вида через 3, 6, 9, 12 и 24 месяцев из первых образцов. Другие образцы остались на более длительный срок без их вскрытия и подвержения процедуре замораживания-оттаивания. Контролем служили исходные штаммы *F. tularensis* 15 НИИЭГ и *B. abortus* 19 ВА до их глубокого замораживания.

Процент выживаемости микроорганизмов определяли по отношению числа сохранившихся клеток к первоначальному числу жизнеспособных клеток (до начала хранения), принятому за 100 %.

## Результаты и обсуждение

В соответствии с нормативными актами в научно-экспериментальной деятельности референтные штаммы *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ и *Bruceella abortus* 19 ВА широко востребованы при изучении возбудителей туляремии и бруцеллеза. В начале каждого года экспериментаторы должны получать ампулы с лиофилизированной культурой микроорганизмов или чашки с агаром и пробирки со скошенным агаром первой генерации микроорганизмов.

Чашки агаровой культуры выдаются для того, чтобы экспериментаторы оценивали морфологию данного микроорганизма. На питательных средах при температуре от 0 до +8 °С их жизнеспособность сохраняется в течение 3–4 месяцев (хранение на скошенном агаре I генерации). В течение года при пересевах через 2–3 месяца микроорганизмы сохраняют свою жизнеспособность, но все научно-

экспериментальные работы ведутся, как правило, со второй генерацией.

Поскольку в рабочих коллекциях у микробиологов в различных лабораториях, имеющих разрешения на работу с микроорганизмами I–IV групп патогенности, штаммы хранятся на питательных средах при температуре от 0 до +8 °С, нас интересовал вопрос сохранения жизнеспособных клеток в процессе низкотемпературного замораживания без изменения их культурально-морфологических свойств.

Поддержание культур микроорганизмов регулярными пересевами имеет ряд существенных недостатков: основной из них – возможная утрата ряда морфологических и филогенетических признаков. Кроме того, частые пересевы нередко снижают биохимическую активность культур, повышают опасность контаминирования ее посторонними микроорганизмами. При частых пересевах, особенно на жидких питательных средах, велика вероятность возникновения спонтанных мутантов и их селекция.

Штамм *F. tularensis* 15 НИИЭГ через 3 месяца хранения на скошенном Ft-агаре при температуре от 0 до +8 °С при высеве на соответствующие питательные среды имел единичные колонии. Через 6 месяцев хранения при таких же условиях штамм не сохранил свою жизнеспособность. Аналогичные результаты получены и у штамма *B. abortus* 19 ВА при хранении на скошенном агаре Альбими при температуре от 0 до +8 °С (таблица).

Таким образом, микроорганизмы I генерации при температуре хранения от 0 до +8 °С на твердых питательных средах в течение 3 месяцев сохраняют небольшую жизнеспособность. Хранить штаммы в данных условиях более длительный период нецелесообразно.

Для широкого круга микроорганизмов лиофилизация обеспечивает большую стабильность, чем общеизвестные способы высушивания и периодические пересевы. Этот метод удобен для практических целей: во-первых, дает возможность иметь большое число образцов (ампул) каждого микроорганизма; во-вторых, лиофилизированные культуры некоторое время можно хранить при комнатной температуре без

изменений качества «таблетки». Пересылка штаммов микроорганизмов в лиофилизированном состоянии не требует дополнительных затрат и полностью соответствует требованиям СП 1.2.2.036-95 «Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I–IV групп патогенности». При сублимационной сушке влага перемещается в материале в виде пара, в результате чего удается в максимальной степени сохранить первоначальные специфические свойства микроорганизмов. Недостатком данного метода является то, что во время лиофилизации идет медленное удаление влаги из-за низкой температуры, узкого просвета в перешейках ампул, затруднения испарений из глубоких слоев биоматериала (дно и стенки ампул). Большим минусом процесса лиофилизации является его трудоемкость, длительность (до 12 ч), большой расход электроэнергии, использование дорогостоящего оборудования и квалифицированного персонала, что влечет за собой большие физические и материальные затраты.

Низкотемпературная консервация по сравнению с другими методами (лиофилизация и криоконсервация) для хранения микроорганизмов более универсальна в связи с наличием и доступностью низкотемпературных холодильников, способных надежно поддерживать необходимые температуры в течение длительного времени. Однако время хранения биоматериала при этих температурах также ограничено. По данным L.F.Gibson и J.T.Khoury [6], в холодильнике при температуре минус 70 °С время хранения разных видов бактерий колебалось в пределах 12–40 месяцев.

В процессе хранения при температуре минус 70 °С в течение всего времени наблюдения рост бактерий тестируемых штаммов *F. tularensis* 15 НИИЭГ и *B. abortus* 19 ВА на всех средах хранения не отличался от исходного. Однако наблюдалось снижение количества жизнеспособных клеток каждого штамма (таблица).

В результате проведенных исследований при глубоком замораживании жизнеспособность штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ в течение года хранения составила в среднем: на бульоне Альбими с 10 %

Жизнеспособность *F. tularensis* 15 НИИЭГ и *B. abortus* 19 ВА в течение 2 лет наблюдения

Время наблюдения, мес.	Среда хранения при температуре минус 70 °С						Среда хранения при температуре от 0 до +8 °С	
	Бульон Альбими с 10 % глицерином		Дистиллированная вода с 10 % глицерином		СЖА		Ft-агар	Агар Альбими
	<i>F. tularensis</i> 15 НИИЭГ, мк/мл	<i>B. abortus</i> 19 ВА, мк/мл	<i>F. tularensis</i> 15 НИИЭГ, мк/мл	<i>B. abortus</i> 19 ВА, мк/мл	<i>F. tularensis</i> 15 НИИЭГ, мк/мл	<i>B. abortus</i> 19 ВА, мк/мл	<i>F. tularensis</i> 15 НИИЭГ, мк/мл	<i>B. abortus</i> 19 ВА, мк/мл
0	25·10 <sup>10</sup>	38·10 <sup>10</sup>	12·10 <sup>10</sup>	20·10 <sup>10</sup>	23·10 <sup>10</sup>	56·10 <sup>10</sup>	25·10 <sup>10</sup>	38·10 <sup>10</sup>
3	23·10 <sup>10</sup>	34·10 <sup>10</sup>	10,5·10 <sup>10</sup>	12·10 <sup>10</sup>	21·10 <sup>10</sup>	48·10 <sup>10</sup>	2·10 <sup>3</sup>	4·10 <sup>2</sup>
6	20·10 <sup>10</sup>	32·10 <sup>10</sup>	8,6·10 <sup>10</sup>	10·10 <sup>10</sup>	20·10 <sup>10</sup>	43·10 <sup>10</sup>	0	0
9	17·10 <sup>10</sup>	27·10 <sup>10</sup>	5,4·10 <sup>10</sup>	5·10 <sup>10</sup>	18·10 <sup>10</sup>	10·10 <sup>10</sup>	–	–
12	12·10 <sup>10</sup>	25·10 <sup>10</sup>	1,5·10 <sup>10</sup>	3·10 <sup>10</sup>	18·10 <sup>10</sup>	21·10 <sup>10</sup>	–	–
24	8·10 <sup>10</sup>	13·10 <sup>10</sup>	1·10 <sup>10</sup>	1,8·10 <sup>10</sup>	16,3·10 <sup>10</sup>	12·10 <sup>10</sup>	–	–

Примечание. «–» – опыт не проводили.

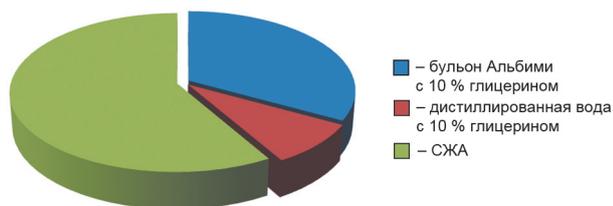


Рис. 1. Средний процент живых микробных клеток *F. tularensis* 15 НИИЭГ за 2 года наблюдения

глицерином – 48; дистиллированной воде с 10 % глицерином – 12,5; СЖА – 77,4 %. В течение двух лет хранения – на бульоне Альбими с 10 % глицерином – 32; дистиллированной воде с 10 % глицерином – 8,3; СЖА – 56,5 % (рис. 1).

Штамм *B. abortus* 19 ВА через год хранения в условиях низкотемпературного замораживания сохранял свою жизнеспособность в среднем: на бульоне Альбими с 10 % глицерином – 66; дистиллированной воде с 10 % глицерином – 15; СЖА – 64,3 %. В течение двух лет хранения – 34,2, 9 и 35,7 % соответственно (рис. 2).

Возможно, в других образцах концентрация клеток микроорганизмов будет идентична исходной, поскольку это связано с тем, что оставшиеся образцы не подвергались процедуре замораживания–оттаивания, тогда как первые были подвержены такой процедуре 4 раза за год.

Таким образом, в научно-экспериментальных отделах (лабораториях) при изучении возбудителей туляремии и бруцеллеза, выделенных из природных очагов и/или при диагностике заболеваний людей, при традиционных методах хранения на питательных средах жизнеспособность штаммов сохранялась в течение недолгого времени (I генерация – 3 месяца, при пересевах – максимально до 1 года). Нами показано на примере *F. tularensis* 15 НИИЭГ и *B. abortus* 19 ВА, что штаммы необходимо более эффективно консервировать в рабочих коллекциях методом низкотемпературного замораживания. Наиболее оптимальными средами для хранения данных микроорганизмов при температуре минус 70 °С являются СЖА и бульон Альбими с 10 % глицерином.

Предлагаемый метод длительного хранения штаммов (на примере *F. tularensis* 15 НИИЭГ и *B. abortus* 19 ВА) при низкой температуре (минус 70 °С) позволяет практически полностью сохранять их жизнеспособность и неизменность морфологических признаков на протяжении 2 лет с относительно небольшими физическими и материальными затратами в экспериментальных лабораториях, а также в специализированных коллекциях на случай непредвиденных ситуаций и невозможности проведения процесса лиофилизации.

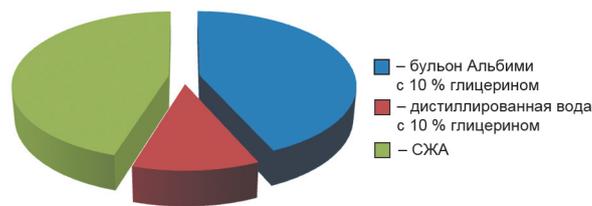


Рис. 2. Средний процент живых микробных клеток *B. abortus* 19 ВА за 2 года наблюдения

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

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Безсмертный В.Е., Попов В.П., Жуков В.И., Иванова С.М. Обзор эпизоотической ситуации по туляремии на территории Российской Федерации во втором полугодии 2008 г. и прогноз на первое полугодие 2009 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2009; 2(100):11–3.
2. Контроль диагностических питательных сред по биологическим показателям для возбудителей чумы, холеры, сибирской язвы, туляремии, бруцеллеза, легионеллеза. МУ 3.3.2.2124-06. М.; 2006. 29 с.
3. Куплетская М.Б., Нетрусов А.И. Жизнеспособность лиофилизированных микроорганизмов после 50 лет хранения. *Микробиология.* 2011; 80(6):842–6.
4. Лямкин Г.И., Тихенко Н.И., Манин Е.А., Русанова Д.В., Головнёва С.И., Вилинская С.В., Куличенко А.Н. Об эпидемической ситуации и заболеваемости бруцеллезом в Российской Федерации в 2011 г. и прогноз на 2012 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2012; 1(111):26–9.
5. Похиленко В.Д., Баранов А.М., Детушев К.В. Методы длительного хранения коллекционных культур микроорганизмов и тенденция развития. *Известия ВУЗов.* 2009; 4:99–121.
6. Gibson L.F., Khoury J.T. Storage and survival of bacteria by ultra-freeze. *Lett. Appl. Microbiol.* 1986; 3(6):127–9.

#### References

1. Bezsmertny V.E., Popov V.P., Zhukov V.I., Ivanova S.M. [Review of tularemia epizootic situation in the Russian Federation territory in the second half of 2008 and prognosis for the first half of 2009]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2009; 2(100):11–3.
2. [Diagnostic nutrient media control against biological parameters for agents of plague, cholera, anthrax, tularemia, brucellosis, and legionellosis]. MR 3.3.2.2124-06. M.; 2006. 29 p.
3. Kupletskaya M.B., Netrusov A.I. [Viability of lyophilized microorganisms after 50 years of storage]. *Mikrobiologia.* 2011; 80(6):842–6.
4. Lyamkin G.I., Tikhenko N.I., Manin E.A., Rusanova D.V., Golovneva S.I., Vilinskaya S.V., Kulichenko A.N. [Brucellosis epidemiological situation and its morbidity in the Russian Federation in 2011, and prognosis for 2012]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2012; 1(111):26–9.
5. Pokhilenko V.D., Baranov A.M., Detushev K.V. [Methods of long-term storage of microorganisms' collection cultures and development trends]. *Izvestiya VUZov.* 2009; 4:99–121.
6. Gibson L.F., Khoury J.T. Storage and survival of bacteria by ultra-freeze. *Lett. Appl. Microbiol.* 1986; 3(6):127–9.

#### Authors:

Malakhaeva A.N., Lyashova O.Yu., Plotnikov O.P., Osin A.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapl@microbe.ru

#### Об авторах:

Малахаева А.Н., Ляшова О.Ю., Плотников О.П., Осин А.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapl@microbe.ru

Поступила 04.02.15.

**О.В.Маркина, А.И.Шелохович, А.Н.Терентьев, О.А.Татаренко, С.О.Водопьянов, А.Б.Мазрухо,  
Л.Д.Македонова, Д.И.Каминский, И.С.Шестиалтынова**

### **СТАБИЛИЗИРОВАННЫЕ ФАЗОВЫЕ ВАРИАНТЫ *VIBRIO CHOLERAЕ* EL TOR P-18895**

*ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт», Ростов-на-Дону,  
Российская Федерация*

Получены стабилизированные фазовые варианты *V. cholerae* El Tor P-18895 (О- и ругозные колонии) с частотой ревертирования к исходному ST-фенотипу не более 10 %. Идентичность их происхождения подтверждена с помощью VNTR-анализа. Оценена их активность в некоторых диагностических тестах: реакция агглютинации, чувствительность к диагностическим бактериофагам, характер роста на плотных питательных средах. Стабилизированные варианты *V. cholerae* El Tor P-18895 могут использоваться в дальнейших исследованиях, касающихся особенностей формирования биопленок на различных поверхностях, изучения устойчивости бактерий к факторам окружающей среды, а также в совершенствовании методов выделения фазовых вариантов холерных вибрионов из внешней среды

*Ключевые слова:* *V. cholerae* El Tor, фазовые варианты, диагностика.

**O.V.Markina, A.I.Shelokhovich, A.N.Terent'ev, O.A.Tatarenko, S.O.Vodop'yarov, A.B.Mazrukho,  
L.D.Makedonova, D.I.Kaminsky, I.S.Shestialtynova**

### **Stabilized Phase Variants of *Vibrio cholerae* El Tor P-18895**

*Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation*

Produced have been stabilized phase variants of *V. cholerae* El Tor P-18895 (O- and rugose colonies). Frequency of reversion to initial ST-phenotype does not exceed 10 %. Identity of the origin is verified in VNTR. Evaluated has also been their activity by means of the following diagnostic tests: agglutination assay, sensitivity to diagnostic bacteriophages test, and studies of growth behavior in solid nutrient media. Stabilized variants of *V. cholerae* El Tor P-18895 can be deployed for further investigations of peculiarities of biofilm formation on various surfaces, bacterial resistance to environmental factors, and for the enhancement of methods for isolation of cholera vibrio variants from ambient environment.

*Key words:* *V. cholerae* El Tor, phase variants, diagnostics.

Способность к фазовым переходам является показателем адаптационного потенциала различных микроорганизмов, в том числе и холерных вибрионов. Фазовым вариациям могут подвергаться различные поверхностные структуры бактериальной клетки, и одним из примеров является формирование ругозного фенотипа за счет продукции экзополисахарида (ЭПС). Продуцируя его в большом количестве, холерные вибрионы образуют биопленки, в составе которых они устойчивы к ультрафиолету (УФ), тепловому, осмотическому или окислительному стрессу [2, 7, 8], а также к захвату простейшими [10]. Кроме того, установлено, что существует корреляция между способностью вибрионов к фазовым вариациям и их патогенностью [2, 3]. В то же время в отечественной литературе данные относительно характера роста таких штаммов на питательных средах, их чувствительности к антибактериальным препаратам, оценки способности взаимодействовать со специфическими антителами и диагностическими бактериофагами малочисленны [2, 6]. Однако они необходимы для проведения эффективной лабораторной диагностики холеры. Кроме того, до сих пор не установлено, какие факторы окружающей среды влияют на степень выраженности ругозного фенотипа. Таким образом, изучение атипичных штаммов холерных вибрионов может внести существенный вклад в повышение эф-

фективности мониторинга внешней среды. А наличие вариантов штаммов, отличающихся стабильной продукцией ЭПС, способствовало бы проведению данных исследований.

Целью настоящей работы явилось получение и изучение стабилизированных фазовых вариантов *V. cholerae* El Tor.

### **Материалы и методы**

В работе использованы токсигенные штаммы *V. cholerae* El Tor P-18895, P-4696, *V. cholerae classical* P-1391 (ctx<sup>+</sup>, tcp<sup>+</sup>, Hly<sup>-</sup>) и атоксигенные штаммы *V. cholerae* El Tor P-18943, P-18960 (ctx<sup>-</sup>, tcp<sup>-</sup>, Hly<sup>+</sup>) из музея Ростовского-на-Дону научно-исследовательского противочумного института, ранее охарактеризованные как продуценты ЭПС [6]. Для получения ругозных колоний использовали среду М9 (рН 9,0) следующего состава: Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 6 г/л, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 3 г/л, NaCl – 0,5 г/л, NH<sub>4</sub>Cl – 1 г/л, CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O – 0,01 г/л, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O – 0,49 г/л, LiCl – 0,01 г/л, казминовые кислоты – 5 г/л, глюкоза – 0,1 г/л, манноза – 1 г/л, вода дистиллированная. В 5 мл среды М9 готовили суспензию клеток холерных вибрионов до конечной концентрации 10<sup>6</sup> КОЕ/мл и инкубировали две недели при комнатной температуре (25 °С), после этого высевали на агар Мартена (рН 7,7). В качестве селективного агента при

получении ругозных колоний использовали гидрохинон (пара-дигидроксibenзол, бензол-1,4-диол) (Serva). Полученные гладкие прозрачные колонии нами были обозначены как ST-колонии (от англ. – smooth, translucent), гладкие мутные – О-колонии (от англ. opaque), а мутные складчатые – ругозные. Диссоциативный спектр бактериальной популяции определяли при рас­се­ве 0,1 мл культур на агаризованные среды. Индекс диссоциации популяции определяли как долю (%) колоний определенного морфотипа к общему числу колоний. Стабильность выделенных клонов определяли по сохранению ими фенотипических признаков не менее чем 3 последовательных пассажей на агаризованной среде.

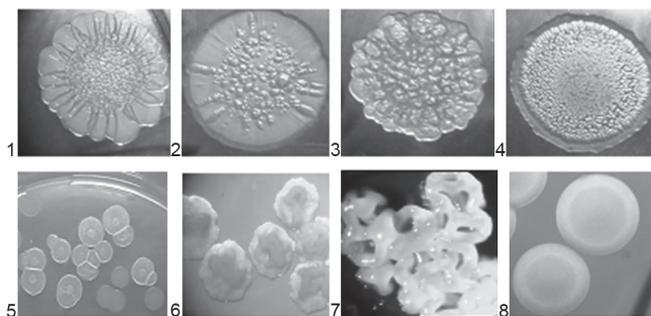
Для подтверждения идентичности происхождения ругозных, ST- и О-вариантов *V. cholerae* использовали ПЦР. ДНК хромосом выделяли путем кипячения в дистиллированной воде микробных взвесей культур, выращенных на агаре Мартена (pH 7,7) при 37 °С в течение 1 сут. Распределение вариабельных tandemных повторов в генетических локусах VcA (TGCTGT)<sub>n</sub>, VcB (ACAAGA)<sub>n</sub>, VcC (AACAGA)<sub>n</sub>, VcD (GACCCTA)<sub>n</sub>, VCG (GATAATCCA)<sub>n</sub>, VcI (TTAACA)<sub>n</sub>, VcL (GAAATCA)<sub>n</sub> изучали в VNTR-анализе с использованием локус-специфических праймеров [5]. Кроме того, у ругозных вариантов токсигенных штаммов определяли наличие генов *ctx*, *toxR*, *tcp* и *zot*. Окрашивание ЭПС проводили конго красным [11].

Постановку развернутой реакции агглютинации (РАО) и слайд-агглютинации на стекле проводили, используя сыворотки О1 (сер. 69, титр 1:3200, РосНИПЧИ «Микроб», Саратов) и RO (сер. 67, 1:800, РосНИПЧИ «Микроб», Саратов), а для оценки чувствительности к фагам применяли диагностические бактериофаги: classical, El Tor, *ctx*<sup>+</sup> и *ctx*<sup>-</sup> (РосНИПЧИ «Микроб», Саратов). Для изучения особенностей роста холерных вибрионов использовали стандартные плотные среды: LB (pH 7,3), Мартена (pH 7,7) и TCBS (pH 8,6).

Фотографирование колоний вибрионов проводили с помощью стереомикроскопа МБС-10 (Россия).

## Результаты и обсуждение

Ругозные варианты *Vibrio cholerae*, как правило, получают при длительном культивировании на среде LB, в пептонной воде с 0,05 % цитрата железа, на минимальной питательной среде М9 и др. [2, 6], поэтому клетки бактерий вносили в среду М9 (pH 9,0) и через 2 недели высевали на агар LB и Мартена (pH 7,7), рисунок. В качестве контроля эти же штаммы в течение 2 недель культивировали на тех же средах при 37 °С без предварительного выдерживания в среде М9. В результате эксперимента на агаре LB наблюдали формирование колоний только исходного ST-фенотипа, тогда как на агаре Мартена наблюдали расщепление популяции *V. cholerae* El Tor на два типа колоний: ST-колонии и ругозные, при этом частота появле-



Морфология колоний штаммов *V. cholerae* El Tor:

P-18895 (1), P-4696 (2), P-18960 (3), P-18943 (4), высеянных из среды М9 на агар Мартена (37 °С). Расщепление популяции *V. cholerae* El Tor P-18895 на два типа колоний: ST-вариант и ругозные (5). Вид ругозных колоний, выращенных при 23 °С (6, 7), О-колонии *V. cholerae* El Tor P-18895 (8)

ния ругозных колоний у штаммов *V. cholerae* El Tor P-18895 и P-18943 составила примерно (70±6,6) %, штаммов *V. cholerae* El Tor P-4696 и *V. cholerae* El Tor P-18960 – (95±3,3) и (55±3,3) % соответственно. У штамма *V. cholerae* classical P-1391 ругозный фенотип не формировался. Ревертирование штаммов *V. cholerae* El Tor к исходному гладкому фенотипу индуцировали путем добавления в агар Мартена сахарозы в концентрациях 0,5–1,0 % или путем их посева на стандартную плотную среду LB. В контрольных опытах на агаре LB (без выдерживания в среде М9) расщепления штаммов не наблюдали, в отличие от культивирования на агаре Мартена, где диссоциация штаммов составила около 20 %.

Наилучшей способностью формировать складчатые колонии характеризовался токсигенный штамм *V. cholerae* El Tor P-18895, который был использован в дальнейших экспериментах. Для селекции его ругозных вариантов использовали агар Мартена с добавлением гидрохинона в различных концентрациях – от 10 до 100 мкг/мл ( $\approx 10^{-4}$ – $10^{-3}$  моль/л), который, как известно, в концентрациях менее  $1 \cdot 10^{-2}$  моль/л обладает слабыми проокислительными свойствами [1]. Очевидно, что на этой питательной среде вырастали только вибрионы, способные защищаться от воздействия «мягкого» окислительного стресса. В результате через 2 месяца с начала культивирования были получены колонии *V. cholerae* El Tor P-18895 с выраженной складчатостью, которые при последующих пересевах на агаре Мартена уже без гидрохинона при 37 °С сохраняли свою морфологию. Понижение температуры до 19 и 23 °С (условия термостата) приводило к тому, что через 24 ч после посева колонии были мелкими и без складок. Однако уже через 48 ч они становились рельефными объемными. Таким образом, на морфологию ругозных колоний *V. cholerae* El Tor P-18895 критически влияла температура выращивания: при 37 °С формировались колонии с плотной складчатой поверхностью, тогда как колонии, выращенные при температурах 19 и 23 °С, имели объемную рельефную структуру. Возможно, такая морфология ругозных колоний связана с присутствием в них ЭПС, структурированно-

Характеристика стабилизированных вариантов *V. cholerae* El Tor P-18895

Фенотип колоний <i>V. cholerae</i> El Tor P-18895, выращенных на плотных средах			РАО с сыворотками		Чувствительность к бактериофагам		
Мартена	LB	TCBS	O1	RO	El Tor	Classical	ctx <sup>+</sup>
Гладкие мутные (О-колонии)	Гладкие прозрачные	Желтые гладкие	1:1600	-	+/+++	-	-
Складчатые мутные (ругозные)	Гладкие прозрачные	Желтые гладкие	1:400	-	+	-	-
Гладкие прозрачные (ST-колонии)	Гладкие прозрачные	Желтые гладкие	1:1600	-	+/+++	-	-

го различными белками [2]. В связи с этим клетки ругозной колонии были окрашены конго красным. В результате окрашивания карболовым фуксином вибрионы имели насыщенный пурпурно-красный цвет, а матрикс, окрашенный конго красным, – оранжево-розовый, таким образом, в колонии присутствовал экзополисахарид.

ST-вариант штамма *V. cholerae* El Tor P-18895, отобранный при первичном высеве из среды М9, сохранял свою морфологию при росте как при 37 °С, так и при 19 и 23 °С. Однако при пересевах на агар Мартена с гидрохиноном колонии становились плотными непрозрачными – О-колонии. Аналогично ругозным примерно через 5–7 дней роста вокруг О-колоний в 5–10 % случаев формировался прозрачный слой бактериальных клеток, при пересеве которых получали колонии только ST-фенотипа.

Полученные стабилизированные фазовые варианты *V. cholerae* El Tor P-18895 были испытаны в некоторых диагностических тестах, для сравнения использовали и другие штаммы холерных вибрионов. Как показали результаты, исходный штамм *V. cholerae* El Tor P-18895 оказался чувствительным к бактериофагам El Tor, при этом ругозные колонии были более устойчивыми к ним. В зоне лизиса ругозного варианта штамма *V. cholerae* El Tor P-18960 отмечено появление множества зон вторичного роста. Одновременно ругозный вариант штамма *V. cholerae* El Tor P-4696 был чувствителен к бактериофагам. Следовательно, нельзя однозначно сказать, что повышенная устойчивость ругозного варианта *V. cholerae* El Tor P-18895 к фагам может быть связана с наличием на поверхности клеток полисахаридного слоя. Часто фагорезистентность бактерий связывают с лизогенией, нарушением проникновения нуклеиновой кислоты фага в бактерию, возможно также присутствие в структуре ругозных колоний *V. cholerae* El Tor P-18895 соединений, непосредственно препятствующих связыванию фагов. Нельзя исключить и вероятность того, что фазовый переход в ругозное состояние сопровождается утратой специфических для фагов рецепторов, что, может быть, связано с изменением структуры бактериального липополисахарида [9].

Учитывая, что ругозные варианты обладают большей устойчивостью к действию сывороток, комплемента и других факторов, измененные и исходные ST-варианты *V. cholerae* El Tor P-18943, P-18960, P-18895, P-4696, P-1391, выращенные на агаре Мартена при 23 °С, были охарактеризованы в реакции агглютинации с диагностическими сыворотками O1 и RO. В результате все исходные вари-

анты *V. cholerae* агглютинировались сывороткой O1 и не вступали в реакцию с сывороткой RO в РАО. В то же время все ругозные варианты *V. cholerae* El Tor характеризовались более низкой активностью в РАО, чем исходные, возможно за счет ЭПС, находящегося на поверхности клеток.

Для оценки особенностей роста ругозные варианты *V. cholerae* El Tor высевали на селективно-дифференциальную среду TCBS [4]. Согласно полученным результатам ярко-желтые колонии холерных вибрионов появлялись уже через 18 ч, что свидетельствует о возможности их выявления на данной среде (таблица).

Для подтверждения идентичности происхождения ругозных, О- и ST-вариантов *V. cholerae* El Tor P-18895 был проведен VNTR-анализ с помощью локус-специфических праймеров. В результате все три варианта данного штамма показали идентичный VNTR-профиль: VcA 19, VcB 16, VcI10, VcD4, VcG5, VcLa. Кроме того, было установлено наличие генов *ctx*, *toxR*, *tcp* и *zot* у ругозного и О-вариантов штамма *V. cholerae* El Tor P-18895, что свидетельствует об их эпидемической опасности.

Таким образом, получены стабилизированные фазовые варианты штамма *V. cholerae* El Tor P-18895: ругозный, О- и ST-варианты. Частота ревертирования первых двух к исходному ST-фенотипу составила не более 5–10 %. Полученные варианты могут быть использованы в дальнейших исследованиях, касающихся особенностей формирования биопленок на различных поверхностях, для оценки устойчивости бактерий к факторам окружающей среды, в том числе и к антибиотикам, а также в совершенствовании методов выделения фазовых вариантов холерных вибрионов из внешней среды.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Волобой Н. Л., Зверев Я.Ф., Брюханов В.М., Талалаева О.С., Замятина С.В., Зяблова О.Н. Антиоксидантный и прооксидантные эффекты арбутина и гидрохинона в эксперименте *in vitro*. *Бюл. сибирской медицины*. 2011; 5:41–4
2. Заднова С.П., Смирнова Н.И. Роль внеклеточного экзополисахарида в адаптации возбудителя холеры во внешней среде. *Пробл. особо опасных инф.* 2010; 105:13–9.
3. Исаев Н.Д., Лозовский Ю.В., Заднова С.П., Смирнова Н.И. Популяционная неоднородность природных штаммов *Vibrio cholerae* классического биовара: координированное изменение морфологии колоний, подвижности, токсигенности и ферментативных свойств. *Пробл. особо опасных инф.* 2005; 1(89):43–6.
4. Лабораторная диагностика холеры. Методические указания. МУК 4.2.2218-07
5. Мишанькин Б.Н., Водопьянов А.С., Ломов Ю.М., Романова Л.В., Водопьянов С.О., Сучков И.Ю., Мишанькин

М.Б., Черепакхина И.Я., Дуванова О.В., Шишияну М.В. Ретроспективный VNTR-анализ генотипов штаммов *Vibrio cholerae* O1, выделенных на территории Ростовской области в годы VII пандемии холеры. *Мол. генет., микробиол. и вирусол.* 2004; 4:28–33.

6. Татаренко О.А., Алексеева Л.П., Телесманич Н.Р., Шестиалтынова И.С., Чемисова О.С., Маркина О.В. Влияние некоторых факторов на формирование биопленки токсигенными и атоксигенными холерными вибрионами эльтор. *Эпидемиол. и инф. бол.* 2012; 5:36–40.

7. Johnson L.R.: Microcolony and biofilm formation as a survival strategy for bacteria. *J. Theor. Biol.* 2008; 251(1):24–34.

8. van der Woude M.W., Bäuml A.J. Phase and antigenic variation in bacteria. *Clin. Microbiol. Rev.* 2004; 17(3):581–611.

9. Preston A., Maskell D.J. Molecular genetics and role in infection of environmentally regulated lipopolysaccharide expression. *Int. J. Med. Microbiol.* 2002; 292(1):7–15.

10. Sandstrom G., Saeed A., Abd H. *Acanthamoeba polyphaga* is a possible host for *Vibrio cholerae* in aquatic environments. *Exp. Parasitol.* 2010; 126(1):65–8.

11. Yi K., Rasmussen A.W., Gudlavalleti S.K., Stephens D.S., Stojiljkovic I. Biofilm Formation by *Neisseria meningitidis*. *Inf. Immun.* 2004; 72(10):6132–8.

#### References

1. Voloboy N.L., Zverev Ya.F., Bryukhanov V.M., Talalaeva O.S., Zamyatina S.V., Zyablova O.N. [Antioxidant and pro-oxidant effects of arbutin and hydroquinone *in vitro*]. *Byul. Sibir. Meditsiny.* 2011; 5:41–4.

2. Zadnova S.P., Smirnova N.I. [The role of extracellular exopolysaccharide in cholera agent adaptation in the environment]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2010; 105:13–9.

3. Issayev N.D., Lozovsky Yu.V., Zadnova S.P., Smirnova N.I. [Populational heterogeneity of natural *Vibrio cholerae* strains of classical biovariant: coordinated changes in colony morphology, motility, toxigenicity, and enzymatic characteristics]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2005; 89:43–6.

4. [Laboratory diagnostics of cholera. Methodological regulations]. MR 4.2.2218-07. М.; 2007.

5. Mishan'kin B.N., Vodop'yanov A.S., Lomov Yu.M., Romanova L.V., Vodop'yanov S.O., Suchkov I.Yu., Mishan'kin M.B., Cherepakchina I.Ya., Duvanova O.V., Shishiyanu M.V. [Retrospective VNTR-analysis of *Vibrio cholerae* O1 strain genotypes, isolated in the territory of the Rostov Region during the VII pandemic of cholera]. *Mol. Genet. Mikrobiol. Virusol.* 2004; 4:28–33.

6. Tatarenko O.A., Alekseeva L.P., Telesmanich N.R., Shestialtynova I.S., Chemisova O.S., Markina O.V. [Impact of certain factors on biofilm formation by toxigenic and atoxigenic cholera vibrios El Tor]. *Epidemiol. Infek. Bol.* 2012; 5:36–40.

7. Johnson L.R.: Microcolony and biofilm formation as a survival strategy for bacteria. *J. Theor. Biol.* 2008; 251(1):24–34.

8. van der Woude M.W., Bäuml A.J. Phase and antigenic variation in bacteria. *Clin. Microbiol. Rev.* 2004; 17(3):581–611.

9. Preston A., Maskell D.J. Molecular genetics and role in infection of environmentally regulated lipopolysaccharide expression. *Int. J. Med. Microbiol.* 2002; 292(1):7–15.

10. Sandstrom G., Saeed A., Abd H. *Acanthamoeba polyphaga* is a possible host for *Vibrio cholerae* in aquatic environments. *Exp. Parasitol.* 2010; 126(1):65–8.

11. Yi K., Rasmussen A.W., Gudlavalleti S.K., Stephens D.S., Stojiljkovic I. Biofilm Formation by *Neisseria meningitidis*. *Inf. Immun.* 2004; 72(10):6132–8.

#### Authors:

Markina O.V., Shelokhovich A.I., Terent'ev A.N., Tatarenko O.A., Vodop'yanov S.O., Mazrukho A.B., Makedonova L.D., Kaminsky D.I., Shestialtynova I.S. Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, 117/40, M.Gor'kogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation. E-mail: plague@aaanet.ru

#### Об авторах:

Маркина О.В., Шелохович А.И., Терентьев А.Н., Татаренко О.А., Водопьянов С.О., Мазрухо А.Б., Македонова Л.Д., Каминский Д.И., Шестиалтынова И.С. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 344002, Ростов-на-Дону, ул. М.Горького, 117/40. E-mail: plague@aaanet.ru

Поступила 07.07.14.

К.А.Никифоров, Г.Н.Одинок, Л.А.Новичкова, Г.А.Ерошенко

## ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ШТАММОВ *YERSINIA PESTIS* АЛТАЙСКО-ГИССАРСКОЙ ГРУППЫ НЕОСНОВНЫХ ПОДВИДОВ МЕТОДОМ ПЦР

ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация

На основе сравнения полногеномных последовательностей штаммов алтайского и гиссарского неосновных подвидов возбудителя чумы, штаммов из Таласского высокогорного очага чумы выявлены две новые ДНК-мишени, использование которых обеспечивает простое и быстрое разделение в ПЦР этих близкородственных штаммов неосновных подвидов, представляющих отдельную филогенетическую линию эволюции возбудителя чумы. Одна из мишеней расположена в межгенном участке между генами YPO3333 и YPO3332 и содержит у штаммов алтайского подвида делецию размером 122 п.н., а вторая является участком гена YPO2412 и включает у таласских штаммов делецию в 72 п.н. На эти ДНК мишени рассчитаны праймеры, и определены условия проведения реакции. Эффективность способа разделения штаммов алтайско-гиссарской группы неосновных подвидов подтверждена при изучении 97 штаммов *Y. pestis* разных подвидов.

*Ключевые слова:* возбудитель чумы, неосновные подвиды, дифференциация, ПЦР, ДНК-мишени.

K.A.Nikiforov, G.N.Odinokov, L.A.Novichkova, G.A.Eroshenko

## Differentiation between *Yersinia pestis* Strains of Altaic-Hissar Group of Non-Main Subspecies by Means of PCR

Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

On the basis of comparison between the genome-wide sequences of Altaic and Hissar strains of non-main subspecies and strains from Talas high-mountain plague focus, identified have been two novel DNA-targets, the usage of which provides for easy rapid subdivision of these closely-related strains of non-main subspecies that fall into separate phylogenetic branches of plague agent evolution, applying PCR assay. One of the targets is allocated to intergenic region between YPO3333 and YPO3332 genes. In strains of *altaica* ssp. it contains 122 bps deletion. The other target is YPO2412 gene region which contains 72 bps deletion in Talas strains. Special primers for DNA-targets have been designed. Established have also been test specifications. Efficacy of the method for differentiation between the strains of Altaic-Hissar group of non-main subspecies is validated on 97 *Y. pestis* strains of various ssp.

*Key words:* plague agent, non-main subspecies, differentiation, PCR, DNA-targets.

Штаммы возбудителя чумы *Yersinia pestis*, кроме высоковирулентных и эпидемически значимых штаммов основного подвида, широко распространенных в природных очагах чумы в Российской Федерации и за рубежом, включают четыре неосновных подвида – кавказский, алтайский, гиссарский и улегейский. Штаммы неосновных подвидов, несмотря на избирательную вирулентность и низкий эпидемический потенциал, также способны вызывать заболевание у людей. Неосновные подвиды имеют ограниченное распространение и циркулируют на эндемичных территориях: штаммы кавказского подвида – в очагах Кавказа и Закавказья, алтайского подвида – в Алтайском горном очаге и в Монголии, гиссарского – в Гиссарском высокогорном очаге, улегейского – в очагах Монголии. Дифференциацию штаммов разных подвидов проводят на основе их различий в биохимической активности. Штаммы основного подвида в отличие от штаммов всех неосновных подвидов не ферментируют рамнозу и мелибиозу, улегейского – не редуцируют нитраты, алтайского и гиссарского – не редуцируют нитраты и не ферментируют арабинозу, а штаммы кавказского подвида биохимически активны по всем этим признакам. В настоящее время эта длительная процедура определения подвидовой

принадлежности *Y. pestis* может быть заменена методами молекулярной идентификации на основе выявления отличий в структуре геномов штаммов с различной подвидовой принадлежностью. Метод ПЦР позволяет быстро и просто проводить молекулярную идентификацию штаммов *Y. pestis*, оценивать их эпидемическую значимость. Ранее нами был разработан способ дифференциации штаммов *Y. pestis* основного и неосновных подвидов и близкородственного псевдотуберкулезного микроба методом ПЦР, который обеспечивает их эффективное разделение и который включен в стандартный алгоритм молекулярного типирования штаммов возбудителя чумы [2].

Важной задачей является разработка способа ПЦР-дифференциации штаммов неосновных подвидов, который позволит быстро определить подвиговую принадлежность штамма и регион его географического происхождения. Штаммы кавказского подвида представляют отдельную филогенетическую линию на общем стволе эволюции возбудителя чумы, имеют ряд уникальных мутаций, например в генах факторов роста, и их дифференциация в ПЦР не составляет трудности [3]. Отдельную ветвь эволюции неосновных подвидов представляют и штаммы улегейского подвида, которые также имеют ряд

маркерных делеций в геноме. Наиболее сложной и до сих пор нерешенной задачей является разработка простого и эффективного способа разделения в ПЦР штаммов алтайского и гиссарского подвидов, ввиду высокого сходства их генетической организации и отсутствия выявленных ДНК мишеней для проведения этого разделения. Нами показано, что штаммы алтайского и гиссарского подвидов составляют единую филогенетическую линию на общем стволе эволюции возбудителя чумы [6].

Штаммы алтайского подвида по опубликованной схеме мирового генетического разнообразия отнесены к геноварианту 0.РЕ4, к которому также относятся штаммы *microtus*, циркулирующие в двух очагах чумы в Китае [5]. Данные по определению геновариантной принадлежности штаммов гиссарского подвида в литературе отсутствуют. Неясно также систематическое положение штаммов неосновного подвида, выделяемых в Таласском высокогорном очаге в Киргизии. По фенотипическим дифференциальным биохимическим характеристикам – отсутствию способности к редукции нитратов и ферментации арабинозы, все штаммы этих неосновных подвидов относятся к близкородственной группе штаммов, которую мы обозначили как алтайско-гиссарская группа геноварианта 0.РЕ4. Проведенное недавно секвенирование геномов ряда штаммов алтайского, гиссарского подвидов и штаммов из Таласского высокогорного очага в рамках выполняемой в РосНИПЧИ «Микроб» программы по полногеномному секвенированию штаммов из природных очагов России и других стран СНГ позволило нам провести сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей этих штаммов для выявления отличий в их генетической организации.

Целью исследования был поиск эффективных ДНК-мишеней и разработка способа дифференциации штаммов *Y. pestis* алтайского, гиссарского подвидов и родственных им таласских штаммов и штаммов *microtus* методом ПЦР.

### Материалы и методы

Использованные в работе штаммы приведены в табл. 1. Выделение ДНК штаммов проводили в соот-

ветствии с МУ 1.3.2569-09 «Организация работ лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности» [4].

ПЦР осуществляли с применением амплификатора с прогреваемой крышкой БИС Н (Кольцово, Россия). Для мишени «Alt(-122)» использовали программу амплификации: 1 цикл 94 °С в течение 5 мин, затем 35 циклов – 94 °С 45 с, 58 °С 1 мин, 72 °С 45 с и завершающий цикл 3 мин при 72 °С. Для мишени «Tal(-72)» использовали программу: 1 цикл 94 °С в течение 5 мин, затем 35 циклов – 94 °С 45 с, 60 °С 1 мин, 72 °С 45 с и завершающий цикл 3 мин при 72 °С. Для мишени «aRaCF1/aRaCR1» амплификацию фрагмента осуществляли по следующей схеме: 1 цикл 94 °С в течение 5 мин, затем 35 циклов при 94 °С 45 с, 56 °С 1 мин, 72 °С 45 с и завершающий цикл 3 мин при 72 °С.

Использованные в работе праймеры приведены в табл. 2. Учет результатов осуществляли методом электрофореза в 1,5 % агарозном геле. Определение размеров образуемых в ПЦР фрагментов проводили с помощью стандарта молекулярных масс (GenRuler™ 100 bp DNA Ladder Plus, MBI Fermentas, Литва) с размером от 100 до 1000 п.н.

Сравнение полногеномных последовательностей штаммов осуществляли с помощью программы MEGA5 и алгоритма BLAST. Расчет праймеров проводили в программе Vector NTI.

### Результаты и обсуждение

Всего в работе использовано 97 штаммов *Y. pestis* различных подвидов (табл. 1).

Ранее нами при сравнительном анализе геномов штаммов возбудителя чумы был выявлен вариабельный хромосомный локус, расположенный в межгенном участке между геном *wzyE* (общий антиген энтеробактерий) и геном *dapF* (диаминопимелат-эпимераза). У штаммов кавказского и улегейского подвидов этот локус находится в интактном состоянии, в то время как у штаммов *Y. pestis* основного подвида в нем содержится делеция размером 34 п.н., а у штаммов алтайского и гиссарского подвидов и штаммов *microtus* – вставка размером 17 п.н. Таким обра-

Таблица 1

Использованные в работе штаммы *Y. pestis* и определение их подвидовой принадлежности методом ПЦР

Штаммы, происхождение, количество	ДНК-мишени, размер амплификата в п.н.			Подвид (п/в), группа (гр.)
	Alt(-122)	Tal(-72)	aRaC(-112)	
Алтайский горный очаг – 32 штамма	90	165	814	алтайский п/в
Монголия – 2 штамма И-3085 И-3086	212	165	702	гр. <i>microtus</i> не определено
Гиссарский высокогорный очаг – 8 штаммов	212	165	814	гиссарский п/в
Таласский высокогорный очаг – 10 штаммов	212	93	814	гр. таласская
Очаги Кавказа и Закавказья – 20 штаммов	212	165	814	кавказский п/в
Очаги Прикаспия и Средней Азии – 25 штаммов	212	165	814	основной п/в

Таблица 2

Использованные в работе праймеры

ДНК мишень	Последовательность 5'–3'	Температура отжига	Ссылка
Alt(-122)	Alt(-122)-S CGCAGCTAACTGTTTATG Alt(-122)-As ATTCTAGTGGGTGAATG	58 °C	данная работа
Tal(-72)-	Tal (-72)-S CGCAAGAGTTAGGGCTGGA Tal (-72)-As CCTAACAAGATCCCACGGC	60 °C	«—»
aRaC(-112)	aRaCF1 CGGACGATATAAGGTTACG aRaCR1 TCC GGTAATAAATTGACAG	56 °C	Zhou <i>et al.</i> , 2004

зом, использование этого участка генома позволяет проводить отделение штаммов алтайско-гиссарской группы от других подвидов возбудителя чумы.

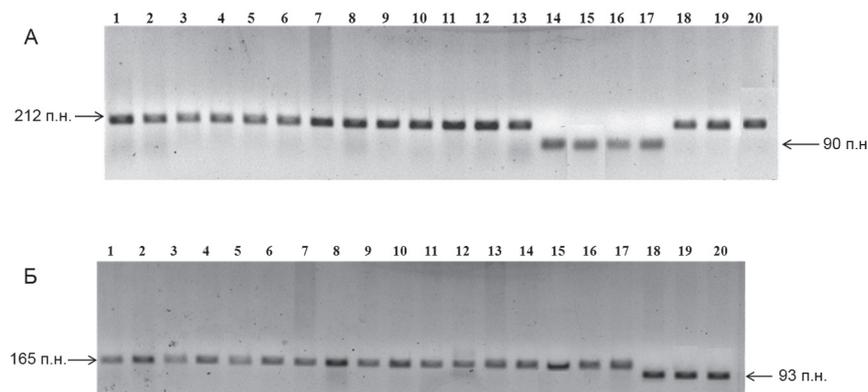
Для выявления в ПЦР штаммов алтайского подвида в этой работе нами проведен поиск эффективной ДНК-мишени на основе сравнения полученных в РосНИПЧИ «Микроб» полных нуклеотидных последовательностей штаммов неосновных подвидов с помощью программы MEGA и алгоритма BLAST. В результате удалось выявить новую перспективную ДНК-мишень, расположенную в межгенном участке между геном YPO3333 (кодирует L-ксилозо-5-фосфат-3-эпимеразу) и геном YPO3332 (кодирует предполагаемый ABC транспортный белок сахаров, белок пермеазы) и содержащую делецию размером 122 п.н. у штаммов алтайского подвида, которая отсутствует у штаммов гиссарского подвида, а также у других подвидов *Y. pestis*. Этот локус обозначен нами как «Alt(-122)» и использован для дифференциации штаммов алтайского подвида. На него рассчитаны праймеры, и определены оптимальные условия проведения реакции (табл. 2). Их эффективность проверена на 97 использованных в этой работе штаммах *Y. pestis* разных подвидов. Показано, что делеция размером 122 п.н. присутствовала только в геноме 32 исследованных штаммов из Алтайского горного очага и отсутствовала у штаммов других подвидов (рис. А). Исключение составили два имевшихся в нашей коллекции штамма алтайского подвида из Монголии – *Y. pestis* И-3085 и И-3086, у которых эта генетическая метка отсутствовала.

Для дифференциации штаммов *microtus* от других штаммов алтайско-гиссарской группы мы использовали праймеры на описанную ранее характерную генетическую метку штаммов *microtus* – делецию в 112 п.н. в регуляторном гене арабинозного оперона

*araC* (табл. 2) [1, 7]. Применение этих праймеров при изучении использованных штаммов показало ее отсутствие у всех штаммов алтайского и гиссарского подвидов, таласских штаммов, а также у штаммов основного и улегейского подвидов. Единственным штаммом, у которого эта делеция присутствовала оказался штамм *Y. pestis* И-3085 из Монголии, который по паспортным данным отнесен к алтайскому подвиду. Однако отсутствие у него выявленной нами генетической метки штаммов алтайского подвида из Алтайского горного очага чумы, наряду с наличием характерной мутации штаммов *microtus*, свидетельствует о том, что он относится к последним.

Для выявления ДНК мишени для дифференциации штаммов из Таласского высокогорного очага в Киргизии и их отделения от других штаммов алтайско-гиссарской группы нами проведен сравнительный анализ полногеномной последовательности секвенированного в РосНИПЧИ «Микроб» штамма из этого очага со штаммами алтайского и гиссарского подвидов. В результате выявлена новая ДНК-мишень «Tal(-72)», обеспечивающая их дифференциацию. Эта мишень представляет собой участок гена YPO2412 (кодирует гипотетический белок) и включает делецию в 72 п.н. На нее рассчитаны праймеры, и определены условия проведения ПЦР (табл. 2). На основе анализа использованных в этой работе штаммов показано, что обнаруженная мутация выявляется только у штаммов из Таласского высокогорного очага и отсутствует у других подвидов (рисунок, Б).

Применение двух новых выявленных ДНК-мишеней – «Alt(-122)» и «Tal(-72)», наряду с ранее использованной генетической меткой штаммов *microtus* – делеции в 112 п.н. в регуляторном гене арабинозного оперона *araC*, обеспечивает дифференциацию всех штаммов алтайско-гиссарской



Дифференциация штаммов *Y. pestis* алтайско-гиссарской группы неосновных подвидов с праймерами на участки «Alt(-122)» (А) и «Tal(-72)» (Б):

Штаммы *Y. pestis*, основной подвид: 1 – Sonche, 2 – А100; кавказский подвид: 3 – 400, 4 – 16Д; улегейский подвид: 5 – И-3130, 6 – И-3131; гиссарский подвид: 7 – А-1725, 8 – А-1726, 9 – А-1731, 10 – А-1729, 11 – А-1633, 12 – А-1627, 13 – А-1724; алтайский подвид: 14 – KM1205, 15 – И-2317, 16 – 6209, 17 – 4857; таласские штаммы: 18 – А-1818, 19 – А-1815, 20 – А-1817

группы штаммов. В ПЦР с праймерами на мишень «Alt(-122)» у штаммов алтайского подвида образуется фрагмент амплификации характерного размера в 90 п.н., в то время как у других штаммов алтайско-гиссарской группы, равно как и у штаммов основного и улегейского подвида, – размером 212 п.н. В ПЦР с праймерами на мишень «Tal(-72)» у всех штаммов *Y. pestis* образуется фрагмент размером 165 п.н., а у таласских штаммов – размером 93 п.н. С праймерами на мишень «aRaC(-112)» у всех штаммов *Y. pestis* амплифицируется фрагмент размером 814 п.н., а у штаммов *microtus* – 702 п.н. (табл. 2). Использование всех трех ДНК-мишеней обеспечивает быструю и простую дифференциацию близкородственных штаммов алтайского, гиссарского подвидов, штаммов *microtus* и таласских штаммов. Следует также отметить, что из двух штаммов алтайского подвида из Монголии, ни один не относился к этому подвиду. Один штамм принадлежал к штаммам *microtus*, а второй – к неизвестной группе. Это, возможно, свидетельствует о том, что штаммы алтайского подвида не имеют распространения на территории Монголии, а циркулируют преимущественно в Алтайском горном очаге чумы.

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

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ерошенко Г.А., Видяева Н.А., Одинокоев Г.Н., Куклева Л.М., Краснов Я.М., Гусева Н.П., Кутырев В.В. Структурно-функциональный анализ гена *araC* у штаммов *Yersinia pestis* различного происхождения. *Мол. генет.* 2009; 3:21–6.
2. Ерошенко Г.А., Одинокоев Г.Н., Куклева Л.М., Павлова А.И., Краснов Я.М., Шавина Н.Ю., Гусева Н.П., Виноградова Н.А., Кутырев В.В. Стандартный алгоритм молекулярного типирования штаммов *Yersinia pestis*. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* 2012; 3:25–35.
3. Одинокоев Г.Н., Ерошенко Г.А., Куклева Л.М., Шавина Н.Ю., Краснов Я.М., Кутырев В.В. Определение генетических основ аутотрофности штаммов *Yersinia pestis* кавказского подвида. *Генетика.* 2012; 48 (4):457–65.
4. Организация работ лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности. МУ 1.3.2569-09. М.; 2009.

5. Cui Y., Yu C., Yan Y., Li D., Li Y., Jombart T., Weinert L.A., Wang Z., Guo Z., Xu L., Zhang Y., Zheng H., Qin N., Xiao X., Wu M., Wang X., Zhou D., Qi Z., Du Z., Wu H., Yang X., Cao H., Wang H., Wang J., Yao S., Rakin A., Li Y., Falush D., Balloux F., Achtman M., Song Y., Wang J., Yang R. Historical variations in mutational rate in an epidemic pathogen *Yersinia pestis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2013; 110(2):577–82.

6. Eroshenko G.A., Kutyrev V.V. Biochemical and genetic peculiarities and the phylogenetic relationship of the non-main subspecies in the general scheme of the plague agent evolution. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2012; 954(1):45–51.

7. Zhou D., Tong Z., Song Y., Han Y., Pei D., Pang X., Zhai J., Li M., Cui B., Qi Z., Jin L., Dai R., Du Z., Wang J., Guo Z., Wang J., Huang P., Yang R. Genetics of metabolic variations between *Yersinia pestis* biovars and proposal of a new biovar, *microtus*. *J. Bacteriol.* 2004; 186:5147–62.

#### References

1. Eroshenko G.A., Vidyayeva N.A., Odinokov G.N., Kukleva L.M., Krasnov Ya.M., Guseva N.P., Kutyrev V.V. [Structural-functional analysis of *araC* gene in strains of *Yersinia pestis* of different origin]. *Mol. Genet. Mikrobiol. Virusol.* 2009; 3:21–6.
2. Eroshenko G.A., Odinokov G.N., Kukleva L.M., Pavlova A.I., Krasnov Ya.M., Shavina N.Yu., Guseva N.P., Vinogradova N.A., Kutyrev V.V. [Standard algorithm for molecular typing of *Yersinia pestis* strains]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunol.* 2012; 3:25–35.
3. Odinokov G.N., Eroshenko G.A., Kukleva L.M., Shavina N.Yu., Krasnov Ya.M., Kutyrev V.V. [Determination of genetic foundation for auxotrophy in *Y. pestis* strains, spp. *Caucasica*]. *Genetika.* 2012; 48(4):457–65.
4. [Management of the laboratories using methods of nucleic acids amplification when working with the material containing microorganisms of the I–IV groups of pathogenicity. Methodological regulations]. МУ 1.3.2569-09. М.; 2009.
5. Cui Y., Yu C., Yan Y., Li D., Li Y., Jombart T., Weinert L.A., Wang Z., Guo Z., Xu L., Zhang Y., Zheng H., Qin N., Xiao X., Wu M., Wang X., Zhou D., Qi Z., Du Z., Wu H., Yang X., Cao H., Wang H., Wang J., Yao S., Rakin A., Li Y., Falush D., Balloux F., Achtman M., Song Y., Wang J., Yang R. Historical variations in mutational rate in an epidemic pathogen *Yersinia pestis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2013; 110(2):577–82.
6. Eroshenko G.A., Kutyrev V.V. Biochemical and genetic peculiarities and the phylogenetic relationship of the non-main subspecies in the general scheme of the plague agent evolution. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2012; 954(1):45–51.
7. Zhou D., Tong Z., Song Y., Han Y., Pei D., Pang X., Zhai J., Li M., Cui B., Qi Z., Jin L., Dai R., Du Z., Wang J., Guo Z., Wang J., Huang P., Yang R. Genetics of metabolic variations between *Yersinia pestis* biovars and proposal of a new biovar, *microtus*. *J. Bacteriol.* 2004; 186:5147–62.

#### Authors:

Nikiforov K.A., Odinokov G.N., Novichkova L.A., Eroshenko G.A. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru

#### Об авторах:

Никифоров К.А., Одинокоев Г.Н., Новичкова Л.А., Ерошенко Г.А. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrap@microbe.ru

Поступила 09.07.14.

УДК 616.912:625.371

**О.С.Ермилова<sup>1</sup>, З.И.Гинько<sup>2</sup>, В.А.Белявская<sup>1</sup>, В.И.Кузубов<sup>2</sup>, Ар.А.Сергеев<sup>1</sup>, Д.О.Горбатовская<sup>1</sup>,  
М.Ш.Азаев<sup>1</sup>, А.П.Агафонов<sup>1</sup>, М.И.Воевода<sup>3</sup>, А.Н.Сергеев<sup>1</sup>****АНАЛИЗ ОСОБЕННОСТЕЙ ТЕЧЕНИЯ ВАКЦИНАЛЬНОГО ПРОЦЕССА У ЛИЦ, ПРИВИТЫХ  
ОСПЕННОЙ ЖИВОЙ ВАКЦИНОЙ, ПРИ ПЕРВИЧНОЙ И ПОВТОРНЫХ ВАКЦИНАЦИЯХ**

<sup>1</sup>ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», п. Кольцово, Российская Федерация; <sup>2</sup>МСЧ 163 ФМБА России, п. Кольцово, Российская Федерация; <sup>3</sup>НИИ терапии СО РАМН, Новосибирск, Российская Федерация

Иммунизация против вируса натуральной оспы может сопровождаться серьезными осложнениями. Причины различий в интенсивности поствакцинальных реакций до сих пор недостаточно изучены. В данной работе впервые за последние 30 лет рассматриваются особенности поствакцинального периода у лиц российской популяции, первично вакцинированных против натуральной оспы, в сравнении с ревакцинированными. Исследовали 217 чел., из них 82 – вакцинированы первично, 135 – повторно за период с 2000 по 2013 год. Средний возраст вакцинированных составил 40,0 лет (от 20 до 40 лет). Изучали тяжесть поствакцинального периода и кожные воспалительные вакцинальные элементы. При первичной вакцинации средняя степень тяжести поствакцинального периода встречалась в 2,1 раза чаще, чем легкая. При ревакцинации легкая степень поствакцинального периода наблюдалась в 17,7 раз чаще, чем средняя. При первичной вакцинации зона гиперемии в 2,2 раза, зона уплотнения в 1,9 раза, диаметр корочки в 1,3 раза больше, время отпадения корочки в 1,4 раза дольше, чем при ревакцинации. Таким образом, первичная вакцинация протекает тяжелее и сопровождается более выраженными местными реакциями по сравнению с ревакцинацией.

**Ключевые слова:** вакцинация, натуральная оспа, клинические признаки, накожная вакцинация, вакцинальные реакции.

**O.S.Ermilova<sup>1</sup>, Z.I.Gin'ko<sup>2</sup>, V.A.Belyavskaya<sup>1</sup>, V.I.Kuzubov<sup>2</sup>, Ar.A.Sergeev<sup>1</sup>, D.O.Gorbatovskaya<sup>1</sup>, M.Sh.Azaev<sup>1</sup>,  
A.P.Agafonov<sup>1</sup>, M.I.Voevoda<sup>3</sup>, A.N.Sergeev<sup>1</sup>****Analysis of Vaccinal Process Peculiarities in Persons Immunized with Smallpox Live Vaccine  
in Case of Primary Vaccination and Revaccination**

<sup>1</sup>State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Kol'tsovo, Russian Federation; <sup>2</sup>Health Facility No 163 of Federal Medical-Biological Agency of Russia, Kol'tsovo, Russian Federation; <sup>3</sup>Research Institute of Therapy, RAMS Siberian Branch, Novosibirsk, Russian Federation

Immunization against smallpox may be attended by serious complications. The premises for the differences in postvaccinal reaction intensity are underexplored. In this paper presented is the review of peculiarities of postvaccinal manifestations in members of the Russian population primarily immunized against smallpox as compared to the revaccinated ones. Examined has been the cohort of 217 people, of whom 82 are vaccinated initially, and 135 – repeatedly within the period from 2000 to 2013. Average age of the vaccinated is 40.0 years (ranged 20 to 40). Studied has been severity of vaccine-challenged condition and cutaneous inflammatory vaccinal elements. In case of initial vaccination medium severity has been observed 2.1 times oftener than low one. In case of revaccination – low level of severity has been registered 17.7 times more frequently than the medium one. Hyperemia zone is 2.2 times greater as regards primary vaccination compared to revaccination, zone of induration – 1.9 times. The diameter of the sore is 1.3 and its shedding time is 1.4 times greater and longer, respectively. Thus, initial vaccination follows more severe course and is attended by expressed response in comparison to booster one.

**Key words:** vaccination, smallpox, clinical signs, supracutaneous vaccination, vaccinal reactions.

Натуральная оспа – особо опасное, высоко-контагиозное заболевание – была ликвидирована в результате программы массового оспопрививания, инициированной ВОЗ в XX веке [3]. В настоящее время существует потенциальная опасность возрождения оспы в случае использования вируса натуральной оспы в качестве агента биотерроризма [1], и ряд стран проводит активную иммунизацию военнослужащих [10, 13]. Кроме того, возможно высвобождение вируса при проведении археологических раскопок в мерзлотных грунтах [5], а также пред-

ставляют угрозу регулярно появляющиеся вспышки других ортопоксвирусных инфекций среди людей [4, 12]. Ситуация осложняется тем, что после прекращения массовой иммунизации более 30 лет назад в настоящее время около 1/3 всего населения не имеют иммунитета против оспы [3, 13].

Вакцинация остается единственным эффективным способом профилактики натуральной оспы и других ортопоксвирусных инфекций [2, 3]. Некоторые страны разрабатывают и проводят клинические испытания вакцин 3-го поколения, создают

запасы противооспенных вакцин на случай повторного появления оспы [10, 13].

В России иммунизация проводится только лицам, относящимся к группе повышенного риска контактов с вирусом; разработаны схемы для первичной и повторной иммунизации. Как показал многолетний опыт, использование живых оспенных вакцин может сопровождаться тяжелым течением поствакцинального периода и развитием серьезных осложнений, особенно у лиц с экземой и дерматитами [7, 8]. Однако однозначные причины тяжести поствакцинального периода или возникающих осложнений до сих пор остаются недостаточно изученными.

Изучение вакцин против вирусных заболеваний показало, что различия в реактивности организма могут быть обусловлены полиморфизмом генов, связанных с формированием и функционированием иммунной системы, что послужило основой для возникновения нового научного направления – вакциномии [11]. Вакциномика изучает сложные молекулярно-генетические механизмы поствакцинальных реакций для последующей разработки новых, более безопасных вакцин и эффективных схем иммунизации.

Настоящая работа представляет начальный этап изучения вакциномии натуральной оспы, целью которого является анализ взаимосвязи местных кожных и общих клинических реакций, возникающих в ответ на прививание вакциной оспенной живой методом множественного накалывания.

### Материалы и методы

Исследование проводили в соответствии с протоколом, утвержденным Этическим комитетом ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор». Данные о течении вакцинального процесса у лиц, привитых против натуральной оспы в период с 2000 по 2013 год, были предоставлены МСЧ №163 ФМБА России. Были привиты 217 чел., из них 150 мужчин и 67 женщин. Средний возраст вакцинированных составил  $(40,0 \pm 8,8)$  лет, первично вакцинированных – 82 чел., повторно – 135 чел.

Вакцинацию проводили по двум схемам в соответствии с методическими указаниями по вакцинопрофилактике. Лиц с наличием поствакцинальных рубцов или имеющимися данными о предыдущих вакцинациях вакцинировали в один этап вакциной оспенной живой сухой (производства ФГУП «НПО Микроген» (НПО «Вирион»)) методом множественного накалывания с использованием бифуркационной иглы. Лиц, не имеющих сведений о предыдущих вакцинациях против оспы, прививали двухэтапным способом: на первом этапе подкожно вводили инактивированную оспенную вакцину «Оспавир» (производства ФГУП «НПО Микроген» (НПО «Вирион»)), после которой по истечении 7 дней проводили второй этап вакцинации с использованием бифуркационной иглы, методом множественного накалывания наносили вакцину оспенную живую сухую.

Поствакцинальный период оценивали по уровню

гипертермии и классифицировали по степени тяжести: легкое течение (температура тела до  $38,0^{\circ}\text{C}$ ), средней тяжести (температура тела от  $38,1$  до  $39,0^{\circ}\text{C}$ ), тяжелая степень (температура тела более  $39,1^{\circ}\text{C}$ ). Учитывались характеристики кожной реакции: степень выраженности местного воспаления в виде гиперемии и уплотнения (инфильтрации), а также формирующиеся кожные вакцинальные элементы (папула, везикула, пустула и корочка). При первичной вакцинации максимальный размер пустулы наблюдается к 8–10-м суткам, после чего происходит угасание местных реакций, образование корочки и последующее ее отпадение. Вакцинацию считают успешной при развитии пустулы, учет результатов проводят на 8-е сутки после прививки. При ревакцинации вакцинальные элементы максимально выражены на 4–5-е сутки, иногда появляются через 24–48 ч. Ревакцинацию считают успешной при развитии любого кожного элемента: пустулы, везикулы, папулы или гиперемии и уплотнения. Учет результатов ревакцинации производят на 2–4-е сутки.

Осмотр привитых лиц проводился каждые 3–5 сут до отпадения корочки. При каждом посещении фиксировались данные об общем состоянии здоровья, температуре тела и образующихся кожных элементах, с учетом их размера и длительности заживления.

Сравнение данных проводили с использованием таких методов сравнения, как t-критерий Стюдента при помощи пакета прикладных программ Statistika (StatSoft).

### Результаты и обсуждение

Распределение по возрасту среди вакцинированных было следующим: 24 % составили лица в возрасте 20–29 лет (52 чел.), 44,2 % – 30–39 лет (96 чел.), 23,5 % – 40–49 лет (51 чел.), 8,3 % – старше 50 лет (18 чел.).

Распределение степеней тяжести поствакцинального периода у первично вакцинированных и ревакцинированных представлено на рисунке. Среди первично вакцинируемых средняя степень тяжести поствакцинального периода встречается в 2,1 раза чаще, чем легкая степень ( $p < 0,05$ ). При ревакцинации



Количество первично и повторно вакцинированных лиц в абсолютных цифрах в период с 2010 по 2013 год

Таблица 1

**Характеристика кожной воспалительной реакции у людей, вакцинированных живой оспенной вакциной**

Компоненты кожной воспалительной реакции	Показатели кожной воспалительной реакции у вакцинированных, М±SD		
	Независимо от степени общей реакции, n	При легкой степени общей реакции на прививку, n	При средней степени общей реакции на прививку, n
Зона гиперемии, см	2,9±2,6 (212)	1,9±1,2 (151)	5,1±3,3* (61)
Зона уплотнения, см	1,7±8,5 (212)	1,4±0,9 (151)	2,4±1,1* (61)
Диаметр корочки, см	0,8±0,3 (189)	0,8±0,3 (129)	1,0±0,2* (60)
День отпадения корочки	16,5±7,2 (189)	14,6±5,3 (129)	21,3±8,9* (60)

Примечания: М – среднее значение показателя; SD – стандартное отклонение от среднего; \* – достоверное отличие от показателя при легкой степени общей реакции на прививку (p<0,01); n – количество вакцинированных, у которых проводилось измерение характеристики.

легкая степень поствакцинального периода наблюдается в 17,7 раз чаще, чем средняя степень (p<0,05). У ревакцинированных лиц в 2,9 раза чаще по сравнению с первично вакцинированными регистрировали течение поствакцинальных реакций легкой степени и в 9,2 раза реже средней степени (p<0,05). Статистически значимых различий по частоте встречаемости случаев вакцинации без развития каких-либо реакций на вакцинацию в группах первично вакцинированных и ревакцинированных лиц не наблюдалось. Полученные данные показывают, что при проведении первичной вакцинации наиболее вероятно развитие реакции средней степени тяжести, поствакцинальный период у ревакцинируемых лиц проходит в более мягкой форме по сравнению с первично вакцинируемыми людьми.

При анализе проявлений местной реакции имело место планомерное появление всех морфологических элементов: гиперемии, инфильтрации, папулы, везикулы и пустулы с разной степенью выраженности. У 5 человек (все женского пола, одна вакцинирована первично, четыре – повторно) не было выявлено ни одного кожного элемента после вакцинации.

Пустула была выявлена у 87,3 % лиц с легкой степенью и у 95 % – со средней степенью реакции на вакцинацию. Отсутствие пустулы наблюдали у ревакцинированных лиц с легкой степенью клинических проявлений. По мнению некоторых исследователей, это может быть обусловлено неэффективной предыдущей вакцинацией и/или отсутствием клеток иммунологической памяти [9, 11].

Интенсивность местной реакции может быть различной в зависимости от индивидуальных осо-

бенностей реактивности иммунной системы вакцинируемого человека [6]. Чтобы определить есть ли взаимосвязь между степенью тяжести поствакцинального периода и местным воспалением, было проведено сравнение зон местного воспаления вокруг кожных элементов у лиц с легкой и средней степенью тяжести вне зависимости от наличия или отсутствия предшествующей вакцинации. Как видно из табл. 1, наблюдается прямая корреляция между степенью тяжести поствакцинального периода и размерами местной воспалительной реакции (p<0,05): при средней степени диаметр гиперемии больше в 2,6 раза, уплотнения в 1,8 раза, диаметр корочки в 1,3 раза, сроки течения воспалительной реакции до момента отпадения корочки дольше в 1,5 раза по сравнению с легкой степенью. Полученные результаты можно интерпретировать как прямую взаимосвязь между степенью тяжести реакции на вакцинацию и характеристикой местной кожной реакции.

Для того, чтобы оценить влияние фактора предшествующей вакцинации на степень выраженности местной воспалительной реакции, образующейся вокруг формирующихся кожных элементов, было проведено сравнение величин гиперемии и уплотнения у первично и повторно вакцинированных вне зависимости от степени тяжести общего состояния (табл. 2). Было показано, что размеры зон гиперемии и уплотнения соответственно в 2,2 и 1,9 раза больше у первично вакцинированных (p<0,05), чем у ревакцинированных. Кроме того, у неиммунных лиц диаметр корочки был в 1,3 раза больше, а время ее отпадения в 1,4 раза дольше (p<0,05) по сравнению с ревакцинированными.

Таблица 2

**Характеристика кожной воспалительной реакции у людей, первично вакцинированных и ревакцинированных живой оспенной вакциной**

Компоненты кожной воспалительной реакции	Показатели кожной воспалительной реакции у первично и повторно вакцинированных, М±SD		
	Независимо от схемы вакцинации, n	При первичной вакцинации, n	При ревакцинации, n
Зона гиперемии, см	2,9±2,6 (212)	4,4±3,3 (81)	2,0±1,3* (131)
Зона уплотнения, см	1,7±8,5 (212)	2,3±1,2 (81)	1,2±0,6* (131)
Диаметр корочки, см	0,8±0,3 (189)	1,0±0,2 (80)	0,7±0,3* (109)
День отпадения корочки	16,5±7,2 (189)	20,2±8,1 (80)	14,2±5,4* (109)

Примечания: М – среднее значение показателя; SD – стандартное отклонение от среднего; \* – достоверное отличие от показателя у первично вакцинированных людей (p<0,01); n – количество вакцинированных, у которых проводилось измерение характеристики.

Таким образом, в результате проведенного исследования было показано, что при первичной вакцинации чаще наблюдается реакция средней степени тяжести, сопровождающаяся поэтапным образованием кожных элементов. При повторных вакцинациях чаще наблюдается состояние легкой степени, формируются не все кожные элементы. Степень тяжести поствакцинального периода прямо коррелирует со степенью выраженности местной кожной реакции: средняя степень тяжести сопровождается увеличением размеров гиперемии и инфильтрации, диаметра формирующейся корочки, а также более продолжительным сроком течения воспалительной реакции до момента отпадения корочки. Результаты показывают, что первичная вакцинация сопровождается более выраженными общими реакциями и интенсивным местным кожным воспалением у более чем 27 % вакцинированных. Принимая во внимание риски развития серьезных осложнений именно при первичной иммунизации и экстраполируя полученные нами данные на результаты возможной массовой вакцинации неиммунных лиц в случае угрозы вспышки эпидемии натуральной оспы, на первый план выступает необходимость оптимизации схем вакцинации и создания вакцин нового поколения. В дальнейшем планируется изучение эффективности поствакцинального иммунитета против натуральной оспы, а также поиск молекулярно-генетических маркеров, в частности, однонуклеотидных полиморфных вариантов генов иммунитета, вовлеченных в формирование баланса между эффективностью адаптивных иммунных и неспецифических воспалительных реакций.

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

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ладный И.Д. Ликвидация оспы и предупреждение ее возврата. М.: Медицина; 1985. 230 с.
2. Маренникова С.С. К 30-летию юбилею ликвидации натуральной оспы в мире. *Журн. микробиол., эпидемиол и иммунобиол.* 2011; 3:121-4.
3. Научный обзор исследований вируса натуральной оспы 1999–2010 гг. ВОЗ. 2011.
4. Онищенко Г.Г., Дроздов И.Г., редакторы. 30 лет после ликвидации оспы: исследования продолжаются. Новосибирск; 2010. 283 с.
5. Щелкунов С.Н. Преодоление ортопоксвирусами защитных систем организма млекопитающих. *Мол. биол.* 2011; 45(1):30-43
6. Biagini Ph., Thives C., Balaesque P., Graut A., Cannet C., Keyser C., Nikolaeva D., Crubzy E., Alekseev A. Variola Virus in a 300-Year-Old Siberian Mummy. *J. Med.* 2012; 367:2057-9.
7. Elizaga M.L., Vasan S., Marovich M.A., Sato A.H., Lawrence D.N., Chaitman B.R., Frey S.E., Keefer M.C. Prospective Surveillance for Cardiac Adverse Events in Healthy Adults Receiving Modified Vaccinia Ankara Vaccines: A Systematic Review. *PLoS One.* 2013; 8:1-8.
8. Fulginiti V.A., Papier A., Lane J.M., Neff J.M., Henderson D.A. Smallpox Vaccination: A Review, Part I. Background, Vaccination Technique, Normal Downloaded from Vaccination and Revaccination, and Expected Normal Reactions. *Clin. Infect. Dis.* 2003; 37:241-50.
9. Keckler M.S., Reynolds M.G., Damon I.K., Kalem K.L. The effects of post-exposure smallpox vaccination on clinical disease presentation: Addressing the data gaps between historical epidemiology and modern surrogate model data. *Vaccine.* 2013; 31(45):5192-201.

10. Nak-Hyun Kima, Yu Min Kanga, Gayeon Kima, Pyoeng Gyun Choea, Jin Su Songa, Kwang Hee Leeb, Baik-Lin Seongb, Wan Beom Parka, Nam Joong Kima, Myoung-don Oha. An open-label, single arm, phase III clinical study to evaluate the efficacy and safety of CJ smallpox vaccine in previously vaccinated healthy adults. *Vaccine.* 2013; 31:5239-42.
11. Ovsyannikova I.G., Poland G.A. Vaccinomics: Current Findings, Challenges and Novel Approaches for Vaccine Development. *AAPS J.* 2011; 13 (3):438-45.
12. Reed K.D., Melski J.W., Graham M.B., Regnery R.L., Sotir M.J., Wegner M.V., Kazmierczak J.J., Stratman E.J., Li Y., Fairley J.A. The detection of monkeypox in humans in the Western Hemisphere. *N. Engl. J. Med.* 2004; 350:342-50.
13. Von Krempelhuber A., Vollmar J., Pokorny R., Rapp P., Wulff N., Petzold B., Handley A., Mateo L., Siersbol H., Kollaritsch H., Chaplin P. A randomized, double-blind, dose-finding Phase II study to evaluate immunogenicity and safety of the third generation smallpox vaccine candidate IMVAMUNE. *Vaccine.* 2010; 28(5):1209-16.

#### References

1. Ladny I.D. [Smallpox Eradication and Prevention of Its Reemergence]. М.: Meditsina; 1985. 230 p.
2. Marennikova S.S. [To the 30<sup>th</sup> anniversary of smallpox eradication worldwide]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2011; 3:121-4.
3. [Scientific review of variola virus research, 1999–2010]. WHO. 2011.
4. Onishchenko G.G., Drozdov I.G., editors [30 Years after Smallpox Eradication: Investigations Continue]. Novosibirsk; 2010. 283 p.
5. Shchelkunov S.N. [Penetration of orthopoxviruses to the protective systems of mammalian organism]. *Mol. Biol.* 2011; 45(1):30-43.
6. Biagini Ph., Thives C., Balaesque P., Graut A., Cannet C., Keyser C., Nikolaeva D., Crubzy E., Alekseev A. Variola Virus in a 300-Year-Old Siberian Mummy. *J. Med.* 2012; 367:2057-9.
7. Elizaga M.L., Vasan S., Marovich M.A., Sato A.H., Lawrence D.N., Chaitman B.R., Frey S.E., Keefer M.C. Prospective Surveillance for Cardiac Adverse Events in Healthy Adults Receiving Modified Vaccinia Ankara Vaccines: A Systematic Review. *PLoS One.* 2013; 8:1-8.
8. Fulginiti V.A., Papier A., Lane J.M., Neff J.M., Henderson D.A. Smallpox Vaccination: A Review, Part I. Background, Vaccination Technique, Normal Downloaded from Vaccination and Revaccination, and Expected Normal Reactions. *Clin. Infect. Dis.* 2003; 37:241-50.
9. Keckler M.S., Reynolds M.G., Damon I.K., Kalem K.L. The effects of post-exposure smallpox vaccination on clinical disease presentation: Addressing the data gaps between historical epidemiology and modern surrogate model data. *Vaccine.* 2013; 31(45):5192-201.
10. Nak-Hyun Kima, Yu Min Kanga, Gayeon Kima, Pyoeng Gyun Choea, Jin Su Songa, Kwang Hee Leeb, Baik-Lin Seongb, Wan Beom Parka, Nam Joong Kima, Myoung-don Oha. An open-label, single arm, phase III clinical study to evaluate the efficacy and safety of CJ smallpox vaccine in previously vaccinated healthy adults. *Vaccine.* 2013; 31:5239-42.
11. Ovsyannikova I.G., Poland G.A. Vaccinomics: Current Findings, Challenges and Novel Approaches for Vaccine Development. *AAPS J.* 2011; 13 (3):438-45.
12. Reed K.D., Melski J.W., Graham M.B., Regnery R.L., Sotir M.J., Wegner M.V., Kazmierczak J.J., Stratman E.J., Li Y., Fairley J.A. The detection of monkeypox in humans in the Western Hemisphere. *N. Engl. J. Med.* 2004; 350:342-50.
13. Von Krempelhuber A., Vollmar J., Pokorny R., Rapp P., Wulff N., Petzold B., Handley A., Mateo L., Siersbol H., Kollaritsch H., Chaplin P. A randomized, double-blind, dose-finding Phase II study to evaluate immunogenicity and safety of the third generation smallpox vaccine candidate IMVAMUNE. *Vaccine.* 2010; 28(5):1209-16.

#### Authors:

*Ermilova O.S., Belyavskaya V.A., Sergeev Ar.A., Gorbatovskaya D.O., Azaev M.Sh., Agafonov A.P., Sergeev A.N.* State Research Centre of Virology and Biotechnology "Vector". Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru  
*Gin'ko Z.I., Kuzubov V.I.* Health Facility No 163 of Federal Medical-Biological Agency of Russia. Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: msch163@fmbamail.ru  
*Voievoda M.I.* Research Institute of Therapy, RAMS Siberian Branch. 175/1, Borisa Bogatkova St., Novosibirsk, 630089, Russian Federation.

#### Об авторах:

*Ермилова О.С., Белявская В.А., Сергеев Ар.А., Горбатовская Д.О., Азаев М.Ш., Агафонов А.П., Сергеев А.Н.* Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., п. Кольцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru  
*Гинько З.И., Кузубов В.И.* МСЧ № 163 ФМБА России. Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., п. Кольцово. E-mail: msch163@fmbamail.ru  
*Воиевода М.И.* Научно-исследовательский институт терапии СО РАМН. Российская Федерация, 630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1.

Поступила 08.07.14.

**А.В.Комиссаров, Ю.А.Алешина, О.В.Громова, А.К.Никифоров, С.А.Еремин, О.А.Волох,  
О.А.Лобовикова, А.И.Перепелица**

## **ПРИМЕНЕНИЕ УЛЬТРАФИЛЬТРАЦИИ ДЛЯ КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ И ОЧИСТКИ АНТИГЕНОВ**

*ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов,  
Российская Федерация*

Представлен обзор отечественной и зарубежной литературы, посвященный вопросам использования ультрафильтрации для концентрирования и очистки антигенов. Рассмотрено применение различных методов ультрафильтрации. Установлено, что одним из перспективных является фильтрация в тангенциальном режиме на установках с плоскорамными фильтрующими элементами. Показано влияние таких технологических параметров данного процесса, как степень концентрирования, давление, температура, номинальная отсечка по молекулярной массе ультрафильтрационных мембран на качество целевых продуктов, время проведения и уменьшение (увеличение) потерь препаратов. Проведенный анализ данных литературы позволяет выбрать способ проведения процесса концентрирования и очистки протективных антигенов бактериальной и вирусной природы и учесть влияние описанных в обзоре параметров при разработке технологии производства диагностических и профилактических медицинских иммунобиологических препаратов.

*Ключевые слова:* ультрафильтрация, антигены, концентрирование, очистка.

**A.V.Komissarov, Yu.A.Aleshina, O.V.Gromova, A.K.Nikiforov, S.A.Eremin, O.A.Volokh, O.A.Lobovikova,  
A.I.Perepelitsa**

## **Deployment of Ultrafiltration for Concentrating and Purification of Antigens**

*Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation*

Represented is domestic and foreign literature review dedicated to usage of ultrafiltration for concentrating and purification of antigens. Discussed are the issues of deployment of various ultrafiltration techniques. It is determined that filtering in the tangential mode by means of modules with flat-frame filtering elements is among the prospective ones. Demonstrated is the impact of such technological specifications as concentration rate, pressure, temperature, and membrane nominal cut-off on molecular mass on the quality of target products, the time elapsed, and preparation losses decrease (increase). Literature data analysis proves to be useful for the selection of the proper procedure for concentrating and purification of protective antigens of bacterial and viral origins. In addition, it allows for taking into account the parameters under discussion when developing specific manufacturing technologies for diagnostic and preventive medical immunobiological preparation production.

*Key words:* ultrafiltration, antigens, concentrating, purification.

Ультрафильтрация – это процесс мембранного разделения, при котором из раствора отделяются молекулы и частицы размером от 10 до 200 ангстрем. Молекулярная масса таких частиц лежит в пределах от 1000 до 1000000 дальтон. В результате ультрафильтрации увеличивается концентрация макромолекул в растворе после частичного удаления растворителя [2, 5, 27].

При традиционной статической фильтрации под давлением среда протекает перпендикулярно поверхности мембраны со стороны подачи исходного потока. Направления подачи среды и фильтрации совпадают. Частицы задерживаются на поверхности мембраны и образуют на ней слой, что приводит к снижению скорости потока и разделения частиц. При тангенциальной ультрафильтрации направления подачи среды и фильтрации не совпадают: они перпендикулярны друг другу. В результате часть фильтруемой среды проходит через мембраны как фильтрат, а основная часть потока выходит из системы в рабочую емкость, а затем вновь поступает в фильтрующий контур. При таком режиме имеет место самоочищение фильтрационного модуля, что значительно увеличивает продолжительность его эксплуатации [4].

В настоящее время можно выделить несколько

типов фильтрующих элементов для систем тангенциальной фильтрации: плоскорамный (кассетный), рулонный, трубчатый, полволоконный, керамический [4, 31]. Большое разнообразие высокоэффективных фильтрующих элементов предполагает соответствующее разнообразие конструктивных решений в виде фильтрационных установок. В фармацевтической промышленности широкое распространение получили установки с плоскорамными фильтрующими элементами. В частности, они используются для получения растворов альбумина и иммуноглобулина более чем на 20 станциях переливания крови; при получении иммунопрепаратов в ФГУП «НПО «Микроген»; в производстве бифидумбактерина (ЗАО «Партнер») и интерферона (ЗАО «Биокад»); в технологиях приготовления вакцин и сывороток для животных на Армавирской, Ставропольской, Щелковской биофабриках и Федеральном центре токсикологической и радиационной безопасности ГУ «ФЦТРБВНИВИ» и многих других. Такие фильтрационные установки имеют минимальный «мертвый» объем системы. Это связано также и с тем, что многие жидкие препараты имеют достаточно высокую цену, такие как, например, альбумин, иммуноглобулин, некоторые вакцины и сыворотки. Преимуществом плоскорамных филь-

традиционных элементов является возможность их линейного масштабирования: отработав технологию на лабораторной установке, полученные данные можно использовать для расчета пилотной и промышленной установок [4].

Ультрафильтрация достаточно широко применяется для очистки и концентрирования целевых препаратов. Так вакцина для защиты животных против клостридиальных заболеваний, вызванных *Clostridia perfringens*, содержит в качестве одного из компонентов *C. perfringens* типа С, концентрированный путем ультрафильтрации [11]. Согласно способу изготовления вакцины для профилактики и лечения некробактериоза животных, концентрирование экзотоксина осуществляют ультрафильтрацией на полых волокнах с номинальной отсечкой по молекулярной массе (НОММ) 1,5 кДа до содержания белка 5,5–6,0 мг/мл. Получают экзотоксин *Fusobacterium necrophorum* с молекулярной массой 18000–20000 Да [17]. Имеются сведения о наборе для иммунизации и способе его получения, согласно которому используемые антигены вируса гепатита А, а также дифтерийный и столбнячный анатоксины очищают и концентрируют ультрафильтрацией [3].

При изготовлении вакцины гриппозной хроматографической инактивированной жидкой ультрафильтрация используется на этапе концентрирования вирусосодержащей аллантоисной жидкости (ВАЖ), при этом мембранная поверхность собирается из расчета 1 м<sup>2</sup> на 100 дм<sup>3</sup> ВАЖ. Степень концентрирования определяют, исходя из гемагглютинирующей активности ВАЖ. Время концентрирования составляет 6–7 ч (<http://e-vaccine.ru/articles/46.html>, 10.08.2012).

Описано применение тангенциальной ультрафильтрации с динамическим режимом концентрирования в производстве препарата «Вакцина гриппа культуральная очищенная концентрированная сухая» («ГРИПП – А/В-ВАК») для получения концентрата вирусосодержащей культуральной жидкости. Линейная скорость подачи вирусосодержащей культуральной жидкости 1,0–1,5 дм<sup>3</sup>/мин. Давление на входе не должно превышать давление на выходе более, чем на 0,5 кгс/см<sup>2</sup> (<http://e-vaccine.ru/articles/46.html>, 10.08.2012).

Концентрирование и очистка антигенов ультрафильтрацией применяется в технологиях производства вакцины против бешенства инактивированной сухой концентрированной ([http://www.vidal.ru/poisk\\_preparatov/lact\\_534.htm](http://www.vidal.ru/poisk_preparatov/lact_534.htm), 11.06.2011) и вакцины «Хаврикс», предназначенной для активной иммунопрофилактики гепатита А (<http://pharmabook.net/immunotropnye-sredstva/vakciny-syvorotki-fagi/havriks>, 10.03.2011).

В технологии производства вакцины клещевого энцефалита Энцевир, разработанной в «НПО «Вирион» (Томск) одним из этапов является концентрирование нативного антигена ультрафильтрацией в тангенциальном потоке. При этом авторы подчеркивают, что выбранные технологические приемы получения протективного антигена, его выделения и очистки позволяют проводить процесс стандартно и

достаточно экономично [16, 37].

Описана технология получения комбинированной бивалентной, культуральной, инактивированной, концентрированной, очищенной вакцины для профилактики геморрагической лихорадки с почечным синдромом, согласно которой инактивированный объединенный сбор (антигенсодержащая культуральная жидкость инактивированного вируса геморрагической лихорадки) подвергают концентрированию путем ультрафильтрации в тангенциальном потоке, используя систему с пределом отсечения 100 кДа и площадью фильтрации от 0,1 до 0,5 м<sup>2</sup>. Процесс ультрафильтрации ведут до уменьшения первоначального объема антигенсодержащей культуральной жидкости в 70–100 раз [30].

Технология получения протективного антигена сибирезвеного микроба предусматривает концентрирование ультрафильтрацией культуральной жидкости, освобожденной от клеток микрофильтрацией [32]. Одной из стадий процесса получения поливалентной вакцины против лептоспироза животных является концентрирование ультрафильтрацией на полых волокнах в 20–30 раз инактивированных формалином культур микроорганизмов [26].

В изготовлении поликомпонентной вакцины для иммунопрофилактики и иммунотерапии заболеваний, вызываемых условно-патогенными микроорганизмами, содержащей смесь антигенов, выделенных из штаммов *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* на этапах концентрирования и очистки антигенов применяется ультрафильтрация и диафильтрация. При этом подчеркивается, что введение в процесс получения антигенов мембранных методов разделения упрощает технологию производства препарата, снижает энерго- и трудозатраты, и обеспечивает высокое качество (высокую степень чистоты) целевых продуктов за счет эффективного освобождения от балластных примесей питательной среды и низкомолекулярных бактериальных компонентов, не обладающих иммуногенной активностью [13].

В диссертации Т.А.Скотниковой, посвященной отработке технологии получения вакцин против ньюкаслской болезни, было показано, что более технологичным методом концентрирования антигенов является ультрафильтрация с применением мембран с НОММ 15 кДа, характеризующаяся низкими энергоемкостью и эксплуатационными затратами. Его применение позволяет работать с большими объемами вирусного материала, сохранить структуру биологически активного вещества, обеспечить герметичность и асептические условия процесса. Очистка и концентрирование проводились практически в одну стадию. Установлены следующие параметры концентрирования вируса: рабочее давление – 0,8–1,2 кгс/см<sup>2</sup>, линейная скорость потока жидкости – 0,1–0,8 м/с.

На Курской биофабрике с применением мембранных методов концентрирования и очистки разработана промышленная технология производства туберкулина, очищенного для млекопитающих, представляющего собой обогащенную белками фракцию культуральной

жидкости (КЖ) микобактерий. Предложенные технологические решения: очистка КЖ проточной микрофильтрацией «кросс-флоу» с использованием микрофильтрационных мембран с размером пор 0,1 мкм; концентрирование очищенной КЖ (фильтрата) на ультрафильтрационных модулях с мембранами НОММ 3 кДа; обессоливание концентрата методом диафильтрации с использованием ультрафильтрационных мембран с НОММ 3 кДа; ультрафильтрационное фракционирование концентрата белка на мембранах с НОММ 300 кДа позволили повысить выход продукта и специфичность препарата [19, 33, 34].

В литературе имеются сведения о концентрировании ультрафильтрацией фиксированного вируса бешенства. Так, для получения гетерологичной антирабической сыворотки в качестве антигена используют вирус бешенства штамма Внуково-32, полученный на культуре перевиваемых клеток Vero и/или на первичной культуре клеток ПСХ и концентрированный ультрафильтрацией [25]. Однако авторами не раскрыт ни способ концентрирования ультрафильтрацией, ни НОММ используемых устройств. Показано использование метода тангенциальной фильтрации для концентрирования фиксированного вируса бешенства при приготовлении вакцины от бешенства на основе вируса, выращенного на культуре клеток Vero в бессывороточной среде [39], с использованием мембраны с НОММ 10 кДа, что, на наш взгляд, не является эффективным за счет увеличения времени технологического процесса.

В РосНИПЧИ «Микроб» впервые при концентрировании инактивированной суспензии культурального фиксированного вируса бешенства «Москва 3253» с применением метода тангенциальной ультрафильтрации определен оптимальный вариант касетного модуля, обеспечивающий минимальные потери вируса и высокую степень чистоты суспензии. Установлено, что наиболее целесообразно использовать мембраны с НОММ 300 кДа и проводить технологический процесс при давлении равном 2,4–2,6 кгс/см<sup>2</sup>. Полученные данным способом концентраты представляли собой культуральный рабический антиген – инактивированную концентрированную суспензию фиксированного вируса бешенства «Москва 3253», пригодную для получения антирабической сыворотки от животных-продуцентов [8].

Исследователями ГОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» показана целесообразность и отработаны методические аспекты выделения низкомолекулярных метаболитов в ходе концентрирования бактериальной взвеси лактобактерий штамма *Lactobacillus plantarum* 8P-A3 ультрафильтрацией. Данный технологический процесс являлся безотходным и позволял получать два самостоятельных полуфабриката: бесклеточный ультрафильтрат и концентрат бактериальной взвеси производственного штамма [23].

И.В.Нынь [24] в ходе разработки технологии получения генно-инженерной вакцины против гепатита В на основе рекомбинантного антигена этого вируса (rHBsAg) с использованием в качестве продук-

цента специального штамма дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* показал использование ультрафильтрации в технологическом процессе. Им выявлено, что после концентрирования на мембране предельная молекулярная масса пропускаемой фракции антигена составляла 100 кДа и содержала компоненты с массой 23 и 46 кДа. Эти компоненты были идентифицированы как белковые составляющие rHBsAg.

Другими исследователями [6, 7] с использованием методов ультра-, микрофильтрации и высаливания сульфатом аммония был получен препарат Б-антигена из культуральной жидкости псевдотуберкулезного микроба. При этом ультрафильтрация применяется при концентрировании культуральной жидкости отделенной от клеток центрифугированием с использованием мембран с НОММ 10 кДа.

Имеются сведения о способе выделения экзотоксина А *Pseudomonas aeruginosa* с применением фильтрационных технологий. Полученную после культивирования токсинсодержащую культуральную жидкость осветляют методом микрофильтрации на плоскокамерных разделительных аппаратах, заправленных микропористыми капроновыми мембранами с диаметром пор 0,2 мкм. Осветленную токсинсодержащую жидкость концентрируют на полых волокнах с порогом пропускания 15 кДа, при этом рабочее давление не должно превышать 0,2 МПа, полученный пермеат отбрасывают, а концентрат подвергают диафильтрации на этих же волокнах. Степень очистки экзотоксина от балластных примесей питательной среды составляет 99,9 %, а выход целевого продукта – 84,2 % от исходного [22].

Описан способ получения протективной белоксодержащей фракции бактерий, согласно которому концентрирование антигенов секретлируемых *K. pneumoniae* K2 и *Streptococcus pneumoniae* типа 3 осуществляют методом ультрафильтрации с порогом отсека белка 30 кДа и колоночной хроматографии с помощью гель-фильтрации на сефадексе G-75 [18].

С целью концентрирования и очистки протективного внеклеточного антигена бруцелл используют метод ультрафильтрации культуральной среды через фильтры с размером пор 30 кДа [15].

В научно-производственном объединении «Вектор» разработан способ получения концентратов вирусов, вызывающих геморрагические лихорадки [1]. Одной из особенностей данного способа является концентрирование и очистка антигенов посредством ультрафильтрации на мембранах с размерами пор 80–100 нм. При этом авторы обосновали ряд технологических параметров. Процесс ультрафильтрации проводили при разности давления на входе и выходе из ультрафильтрационного модуля не более 0,5 кгс/см<sup>2</sup>. Давление на входе в ультрафильтрационный модуль составляло 3,5 кгс/см<sup>2</sup>, а на выходе 3,0 кгс/см<sup>2</sup>. Концентрирование осуществляли до уменьшения объема исходного продукта в 20 раз. Обоснованные режимы позволили сократить потери препаратов и уменьшить время проведения процесса фильтрации. Исследования показали, что предлагаемый способ может быть применен для получения

препаратов, обладающих протективной активностью в отношении вирусов Марбург, Мачупо и Эбола.

При получении протективного комплекса *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ его концентрирование осуществляли ультрафильтрацией на волоконном аппарате марки УВА-ПС-17-1040 (предел исключения 17 кДа). Скорость фильтрации составила 240 мл/мин при давлении 1,0 кгс/см<sup>2</sup>. Использование данного метода позволило за короткое время получать 10-кратный концентрат культуральной жидкости, что упрощает дальнейшее выделение антигенного препарата [14, 36]. Аналогичные данные были получены при выделении препарата Ф1, продуцируемого штаммами *Yersinia pestis* EV *Y. pestis* KM277 [14, 36].

Ультрафильтрационная технология также широко используется в лабораторной практике при выделении антигенов *Salmonella typhi* [38, 42].

В разработке и производстве пилотной серии вакцины против гриппа H5N1 Фонда исследований микробных болезней университета Осаки, Япония, применялось осветление и концентрирование собранного урожая вируса и очистка от овальбумина и бактериального эндотоксина с помощью ультрацентрифугирования в градиенте плотности сахарозы и ультрафильтрации. В экспериментальных исследованиях и разработке пандемической гриппозной вакцины PanFluTM компаний Sinovac Biotech Ltd, Chinese CDC (2005) применялось концентрирование инактивированного материала ультрафильтрацией. Промышленная платформа для очистки вируса гриппа (IBIA Separations, Ljubljana, Slovenia and Wilmington, DE USA. 2Avir Green Hills Biotechnology, Vienna, Austria, 2009 г.) предусматривает: осветление низкоскоростным ультрацентрифугированием, концентрирование в 10 раз тангенциальной ультрафильтрацией и очистка анионообменной хроматографией (<http://e-vaccine.ru/articles/45.html>, 10.08.2012).

Одним из способов очистки полисахаридов *Haemophilus influenzae*, используемых в качестве компонентов вакцины, предложенным учеными из института Бразилии (Centro de Biologia, Instituto Butantan, Sao Paulo, Brazil), является использование тангенциальной ультрафильтрации, которая в значительной степени уменьшает количество этанола при осаждении [41].

Повышенное внимание в данной статье нами было уделено применению ультрафильтрации для концентрирования и очистки антигенов холерного вибриона. В конце 70-х – начале 80-х годов прошлого столетия в институте «Микроб» проводились исследования по применению мембранной технологии в изготовлении холерного токсина. Исследователями были обоснованы типы мембран, обеспечивающие гарантированное разделение О-антигена от холерного токсина, и выбраны параметры проведения процесса. Было показано, что О-антиген на 98 % задерживался мембранами с размером пор 0,05 мкм, а экзотоксин на 100 % мембранами с размером пор 0,01 мкм. Также было выявлено, что проведение процесса ультрафильтрации при давлении 2,0 кгс/см<sup>2</sup> увеличивает производительность процесса [28, 29]. В продолже-

ние этих исследований в 10-х годах нашего столетия была показана возможность применения ультрафильтрационных технологий при выделении холерного токсина в производственных условиях. Применение методов ультрафильтрации позволило снизить потери на этапах выделения и очистки антигенных препаратов, концентрирование сырья или полуфабриката и уменьшить трудозатраты. При этом для отделения О-антигена использовались ядерные мембраны 500 Å, а концентрирование полученного фильтрата проводили на ультрафильтрационной колонке с полисульфоновыми волокнами с НОММ от 0 до 20 кДа [35].

В РосНИПЧИ «Микроб» разработана технология концентрирования протективных антигенов штамма *V. cholerae* 569В серовара Инаба методом тангенциальной ультрафильтрации и обоснованы предложения по ее внедрению в производство бивалентной химической таблетированной холерной вакцины. Установлено, что наиболее целесообразно проведение технологического процесса концентрирования О-антигена и холерогена-анатоксина *V. cholerae* 569В серовара Инаба с использованием ультрафильтрационных мембран с НОММ 50 кДа. Также было показано, что для интенсификации процесса мембранного концентрирования необходимо его проведение при следующих параметрах: температура – (37±2) °С, давления на входе и выходе фильтрационной установки – (2,5±0,1) и (0,5±0,1) кгс/см<sup>2</sup> соответственно. При этом свойства вакцины холерной химической бивалентной таблетированной, полученной по новой технологии, соответствовали требованиям нормативной документации и не уступали по качеству препарату, производимому традиционным способом [20].

В 90-х годах прошлого столетия была показана возможность концентрирования и очистки О-антигена холерных вибрионов с использованием ультрафильтрации на полых волокнах с применением мембран с НОММ 300 кДа для дальнейшего получения диагностических препаратов [9]. Была разработана и внедрена в производство масштабируемая технология концентрирования одного из компонентов холерной химической таблетированной вакцины – О-антигена холерного вибриона штамма М41 серовара Огава с использованием ультрафильтрационных модулей на полых волокнах УВА-ПС-20-1040. Проведенные исследования позволили снизить количество сульфата аммония, применяемого для очистки О-антигена, проточной воды и электроэнергии, существенно уменьшить трудозатраты на осуществление данного этапа производства, а также повысить качество конечного продукта за счет получения более очищенной фракции О-антигена, при этом препараты, полученные по данной технологии, соответствовали требованиям действующей нормативной документации [12]. Технология концентрирования протективных антигенов апробирована на штаммах *V. cholerae* O139 серогруппы MO45 и KM137 при изготовлении трех серий экспериментальной вакцины против холеры, вызванной возбудителем O139 серогруппы [10]. В дальнейшем эта технология была усовершенствована

на и внедрена в производство вакцины оральной холерной бивалентной химической таблетированной. Данный способ отличался тем, что концентрирование осуществляют через мембраны с номинальной отсечкой по молекулярной массе 500 кДа в режиме проточной (тангенциальной) фильтрации с давлением 0,24–0,26 МПа, средней удельной скоростью фильтрации  $(79 \pm 2) \text{ дм}^3/\text{м}^2/\text{ч}$  со степенью концентрирования 10 раз. Применение описанного выше метода позволяет увеличить производительность процесса почти в 4 раза и снизить потери О-антигена, с сохранением показателей качества препарата [21].

Учеными из Южной Кореи метод тангенциальной ультрафильтрации с использованием мембран с НОММ 30 кДа успешно применялся для концентрирования холерного токсина [40].

Таким образом, при анализе данных литературы по применению ультрафильтрации для концентрирования и очистки бактериальных и вирусных антигенов установлено, что одним из перспективных является метод фильтрации в тангенциальном режиме на установках с плоскосторонними фильтрующими элементами с использованием мембран, оптимально соответствующих молекулярной массе получаемого продукта. Для увеличения скорости и уменьшения времени проведения фильтрации необходимо оптимизировать режимы температуры и давления, создаваемого фильтрационной установкой.

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

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Агафонов А.П., Стрельцова М.А., Игнатьев Г.М., Твердохлебов А.В., Чепурнов А.А., Калиберов С.А., Кузьмин В.А., Черный Н.Б. Способ получения концентратов вирусов, вызывающих геморрагические лихорадки и обладающих иммуногенной и протективной активностью. Патент 2029561 РФ, опубл. 27.02.1995. Бюл. № 6.
- Бирюков В.В. Основы промышленной биотехнологии. М.: КолосС; 2004. 296 с.
- Борковски А. Множественная вакцинация, включающая менингококки серогруппы С. Патент 2457858 РФ, опубл. 10.08.2012. Бюл. № 22.
- Брахт К., Каталевский Е.Е., Савельева С.П. Фильтрация кросс-флоу. *Фармацевтические технологии и упаковка*. 2009; 6: 47–51.
- Брок Т. Мембранная фильтрация. М.: Мир; 1987. 462 с.
- Бывалов А.А., Евстигнеев В.И., Дармов И.В., Пименов Е.В. Антигенный состав чумной химической вакцины. Патент 2190424 РФ, опубл. 10.10.2002. Бюл. № 28.
- Бывалов А.А., Евстигнеев В.И., Дармов И.В., Пименов Е.В. Идентификация и выделение антигена, защищающего морских свинок от экспериментальной чумы. *Пробл. особо опасных инф.* 2005; 1(89):54–8.
- Генералов С.В., Абрамова Е.Г., Матвеева Ж.В., Жулидов И.М., Никифоров А.К., Лобовикова О.А., Савицкая Л.В., Минаева Л.Н., Галкина М.В., Михеева Т.А., Комиссаров А.В., Киреев М.Н. Опыт получения кроличьего антирабического иммуноглобулина с применением культурального антигена. *Пробл. особо опасных инф.* 2012; 2(112):78–81.
- Громова О.В., Джапаридзе М.Н., Дятлов И.А., Киреев М.Н., Федорова В.А., Аленкина Т.В., Абрамова Е.Г. Новый способ получения О-антигена холерного очищенного с целью создания холерных диагностических препаратов. *Биотехнология*. 2002; 2:42–6.
- Громова О.В., Нижегородцев С.А., Дятлов И.А., Кутырев В.В. Оптимизация процесса производства холерной химической таблетированной вакцины с помощью технологии ультрафильтрации. *Пробл. особо опасных инф.* 2011; 109:71–4.
- Джаяппа Х., О'Коннелл К. Вакцина АЛЬФА ТОКСОИДА C. *perfringens*. Патент 2434638 РФ, опубл. 27.11.2011. Бюл. № 33.
- Дятлов И.А., Нижегородцев С.А., Громова О.В., Васин Ю.Г., Бутов А.С., Клокова О.Д., Белякова Н.И. Разработка ультрафильтрационной технологии получения О-антигена холерного вибриона для производства вакцин. *Пробл. особо опасных*

*инф.* 2001; 2(82):133–9.

- Егорова Н.Б., Семенов Б.Ф., Курбатова Е.А., Ефремова В.Н., Каверина К.Г., Михайлова Н.А. Поликомпонентная вакцина для иммунопрофилактики и иммунотерапии заболеваний, вызываемых условно-патогенными микроорганизмами. Патент 2209081 РФ, опубл. 27.07.2003. Бюл. № 21.
- Еремин С.А., Волох О.А., Шепелев И.А., Дальвадянц С.М., Дятлов И.А. Разработка новых технологических схем и масштабирование процессов получения антигенов чумного и туляремийного микробов. *Пробл. особо опасных инф.* 2006; 2(92):58–61.
- Игнатов П.Е., Федоров А.И. Способ получения протективного вневклеточного антигена бруцелл, обладающего способностью провоцировать хронические формы бруцеллеза. Патент 2199340 РФ, опубл. 27.02.2003. Бюл. № 6.
- Ильченко Т.Э., Билалова Г.П., Ставицкая Н.Х., Соляник Р.Г., Быстрицкий Л.Д., Красильников И.В. Вакцина «Энцевир» – современный препарат для профилактики клещевого энцефалита. *Сибирский мед. журн.* 2009; 2(2):50–5.
- Караваев Ю.Д., Семенова И.Н., Мельник Н.В., Плохова А.А. Способ изготовления вакцины для профилактики и лечения некробактериоза животных, вакцина для профилактики и лечения некробактериоза животных и способ профилактики и лечения некробактериоза животных. Патент 2329828 РФ, опубл. 27.07.2008. Бюл. № 21.
- Киселевский М.В., Доненко Ф.В., Воюшин К.Е., Тришин А.В., Курбатова Е.А., Егорова Н.Б., Грубер И.М., Ахматова Н.К., Семенова И.Б., Семенов Б.Ф. Способ получения протективной белоксодержащей фракции бактерий. Патент 2311197 РФ, опубл. 27.11.2007. Бюл. № 33.
- Козлов В.Е., Ничеева Л.Д., Гречкина Н.Т., Шевырев Н.С., Азарова Н.А., Шаров А.Н., Безгин В.М., Солодов Е.Н., Букова Н.К. Способ получения туберкулина. Патент 2113233 РФ, опубл. 20.06.1998. Бюл. № 17.
- Комиссаров А.В., Еремин С.А., Ульянов А.Ю., Алешина Ю.А., Никифоров А.К., Васин Ю.Г., Клокова О.Д., Белякова Н.И. Разработка экспериментальной технологии концентрирования протективных антигенов штамма *Vibrio cholerae* 569В Инаба методом тангенциальной ультрафильтрации. *Пробл. особо опасных инф.* 2011; 3(109):75–7.
- Комиссаров А.В., Еремин С.А., Алешина Ю.А., Васин Ю.Г., Клокова О.Д., Белякова Н.И. Экспериментальная оценка использования метода ультрафильтрации по принципу «кросс-флоу» для концентрирования О-антигена в производстве холерной бивалентной химической вакцины. *Пробл. особо опасных инф.* 2011; 2(108):83–6.
- Михайлова Н.А., Шаймухаметов Ф.А., Кузнецова Т.Н. Способ получения экзотоксина А *Pseudomonas aeruginosa*. Патент 1596770 РФ, опубл. 09.06.1995. Бюл. № 16.
- Несчислав В.А., Молохова Е.И., Чистохина Л.П., Сорокина Ю.В., Белова И.В. Комплексное использование биологически активных метаболитов лакто- и бифидобактерий в производстве пробиотиков. *Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова*. 2006; 2(4):29–30.
- Нынь И.В. Биотехнология как основной подход в производстве иммунобиологических профилактических препаратов. *Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова*. 2006; 2(4):62–3.
- Ситник Н.П., Загидуллин Н.В., Исрафилов А.Г., Еникеева Л.Ф., Мухачева А.В., Шафеева Р.С., Кунцевич Ю.Г., Петрова И.И. Способ получения высокоспецифичной гетерологичной антирабической сыворотки. Патент 2322503 РФ, опубл. 20.04.2008. Бюл. № 11.
- Ситыков В.И., Сурмило А.П., Лемешко В.Н., Соболева Г.Л., Панин А.Н. Способ получения поливалентной вакцины против лептоспироза животных. Патент 2096042 РФ, опубл. 20.11.1997. Бюл. № 32.
- Скоупс Р. Методы очистки белков. М.: Мир; 1985. 237 с.
- Строганов В.В., Космаенко О.М., Попов А.А., Никитина Г.П., Джапаридзе М.Н., Коткина Т.А. Применение метода ультрафильтрации на отечественных полупроницаемых мембранах УАМ для отделения соматического О-антигена от экзотоксина холерного вибриона. *Пробл. особо опасных инф.* 1978; 4(68):50–67.
- Строганов В.В., Космаенко О.М., Тихонов Н.Г., Адамов А.К., Васин Ю.Г., Никитина Г.П., Маторина Н.А. Экспериментальное изучение ультрафильтрационной установки для получения очищенного холерного экзотоксина. В кн.: Профилактика особо опасных инфекций. 1980. С. 50–7.
- Ткаченко Е.А., Дзагурова Т.К., Набатников П.А., Михайлов М.И. Способ получения комбинированной бивалентной, культуральной, инактивированной, концентрированной, очищенной вакцины для профилактики геморрагической лихорадки с почечным синдромом. Патент 2445117 РФ, опубл. 20.03.2012. Бюл. № 8.
- Черкасов А.Н., Пасечник В.А. Мембраны и сорбенты в биотехнологии. Л.: Химия; 1991. 239 с.
- Шевцов А.Н., Лобастов В.С., Боровской Д.В., Меновников В.А., Хапаев Н.Г. Способ получения сибирязевого протективного антигена. Патент 2340356 РФ, опубл. 10.12.2008. Бюл. № 34.
- Шевырев Н.С., Безгин В.М., Козлов В.Е., Ничеева Л.Д., Солодов Е.Н., Шаров А.Н., Букова Н.К., Тырина В.С. Аллерген

для диагностики туберкулеза и способ его получения. Патент 2045959 РФ, опублик. 20.10.1995. Бюл. № 29.

34. Шейверев Н.С., Безгин В.М., Ничвеева Л.Д., Козлов В.Е., Солодов Е.Н., Козлов В.Е., Гринев А.А., Сорокина А.А., Алехин В.А., Шаров А.Н., Тырина В.С., Букова Н.К. Способ получения туберкулина. Патент 2035914 РФ, опублик. 27.05.1995. Бюл. № 15.  
 35. Шепелев И.А., Еремин С.А., Васин Ю.Г., Волох О.А., Аленкина Т.В., Белякова Н.И., Кузнецова Е.М. Перспективы применения процессов ультрафильтрации для масштабированного получения основных антигенов чумного микроба и холерного вибриона. *Пробл. особо опасных инф.* 2011; 3(109):84–7.  
 36. Шепелев И.А., Волох О.А., Еремин С.А., Дятлов И.А. Оптимизация способа получения протективного «С»-комплекса туляремийного микроба. *Пробл. особо опасных инф.* 2006; 2(92):61–4.  
 37. Эльберт Л.Б., Красильников И.В., Дроздов С.Г., Терлецкая Е.Н., Тимофеев А.В. Концентрированная очищенная вакцина клещевого энцефалита, изготовленная методом ультрафильтрации и хроматографии. *Вопр. вирусол.* 1985; 1:90–3.  
 38. Arockiasamy A., Krishnaswamy S. Purification of integral outer-membrane protein OmpC, a surface antigen from *Salmonella typhi* for structure-function studies: a method applicable to enterobacterial major outer-membrane protein. *Anal. Biochem.* 2000; 283(1):64–70.  
 39. Barrett P., Mundt W., Kistner O., Howard M. Vero cell platform in vaccine production: moving towards cell culture-based viral vaccines. *Expert. Rev. Vaccines.* 2009; 8:607–18.  
 40. Jang H., Hyo S.K., Jeong A.K. Improved Purification Process for Cholera Toxin and its Application to the Quantification of Residual Toxin in Cholera Vaccines. *J. Microbiol. Biotechnol.* 2009; 19(1):108–12.  
 41. Takagi M., Barbosa R. Purification of capsular polysaccharide produced by *Haemophilus influenzae* type b through a simple, efficient and suitable method for scale-up. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2008; 35:1217–22.  
 42. Zydney A.L., Kuriyel R. Protein concentration and buffer exchange using ultrafiltration. *Methods in Biotechnology.* 2000; 9:35–46.

References

1. Agafonov A.P., Strel'tsova M.A., Ignat'ev G.M., Tverdokhlebov A.V., Chepurnov A.A., Kaliberov S.A., Kuz'min V.A., Cherny N.B. [Method for the production of concentrates from the viruses inducing hemorrhagic fevers and possessing immunogenic and protective activity]. RF Patent 2029561, 27.02.1995.  
 2. Biryukov V.V. [Fundamental Principles of Industrial Biotechnology]. M.; 2004. 296 p.  
 3. Borkovski A. [Multiple vaccination including *Neisseria meningitidis* serogroup C]. RF Patent 2457858, 10.08.2012.  
 4. Brakht K., Katalovsky E.E., Savel'eva S.P. [Cross-flow filtration]. *Farmatsevt. Tekhnol. Upakovka.* 2009; 6:47–51.  
 5. Brok T. [Membrane Filtration]. M.: Mir; 1987. 462 p.  
 6. Byvalov A.A., Evstigneev V.I., Darmov I.V., Pimenov E.V. [Antigen composition of chemical plague vaccine]. RF Patent 2190424, 10.10.2002.  
 7. Byvalov A.A., Evstigneev V.I., Darmov I.V., Pimenov E.V. [Identification and isolation of the antigen, protecting guinea pigs from experimental plague infection]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2005; 1(89):54–8.  
 8. Generalov S.V., Abramova E.G., Matveeva Zh.V., Zhulidov I.M., Lobovikova O.A., Savitskaya L.V., Minaeva L.N., Galkina M.V., Mikheeva T.A., Komissarov A.V., Kireev M.N., Nikiforov A.K. [Production of rabbit anti-rabies immunoglobulin using cultural antigen]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2012; 2(112):78–81.  
 9. Gromova O.V., Dzhaparidze M.N., Dyatlov I.A., Kireev M.N., Fedorova V.A., Alenkina T.V., Abramova E.G. [New method for the production of purified cholera O-antigen with a view to obtain cholera diagnostic preparations]. *Biotechnologia.* 2002; 2:42–6.  
 10. Gromova O.V., Nizhegorodtsev S.A., Dyatlov I.A., Kutryev V.V. [Optimization of the process of cholera chemical pelleted vaccine production using ultrafiltration technology]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2011; 109:71–4.  
 11. Dzhayappa Kh., O'Connell K. [Vaccine ALFA TAXOIDA C. perfringens]. RF Patent 2434638, 27.11.2011.  
 12. Dyatlov I.A., Nizhegorodtsev S.A., Gromova O.V., Vasin Yu.G., Butov A.S., Klokov O.D., Belyakova N.I. [Development of ultrafiltration technology for the production of cholera vibrio O-antigen with a view to vaccine manufacturing]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2001; 2(82):133–9.  
 13. Egorova N.B., Semenov B.F., Kurbatova E.A., Efremova V.N., Kaverina K.G., Mikhailova N.A. [Poly-component vaccine for immunoprophylaxis and immunotherapy of the diseases caused by opportunistic (potentially) pathogenic microorganisms]. RF Patent 2209081, 27.07.2003.  
 14. Yeregin S.A., Volokh O.A., Shepelev I.A., Dalvadyants S.M., Dyatlov I.A. [Designation of new technological patterns and ranging the processes of deriving the antigens from the plague and tularemia microbial agents]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2006; 2(92):58–61.  
 15. Ignatov P.E., Fedorov A.I. [Method for the production of protective extracellular antigen of *Brucella*, which can induce chronic brucellosis]. RF Patent 2199340, 27.02.2003.  
 16. Il'chenko T.E., Bilalova G.P., Stavitskaya N.Kh., Solyanik R.G., Bystritsky L.D., Krasil'nikov I.V. [Vaccine "ENCEVIR" – state-of-the-art medical preparation for tick-borne encephalitis prophylaxis]. *Sibir. Med. Zh.* 2009; 2(2): 50–5.  
 17. Karavaev Yu.D., Semenova I.N., Mel'nik N.V., Plokhova A.A. [Method for the production of the vaccine for animal necrobacillosis prevention and treatment]. RF Patent 2329828, 27.07.2008.  
 18. Kisilevsky M.V., Donenko F.V., Voyushin K.E., Trishin A.V., Kurbatova E.A., Egorova N.B., Gruber I.M., Akhmatova N.K., Semanova I.B., Semenov B.F. [Method for the production of protective protein-bearing

fraction of bacteria]. RF Patent 2311197, 27.11.2007.

19. Kozlov V.E., Nicheveva L.D., Grechkina N.T., Shevyrev N.S., Azarova N.A., Sharov A.N., Bezgin V.M., Solodov E.N., Bukova N.K. [Method for the production of tuberculin]. RF Patent 2113233, 20.06.1998.  
 20. Komissarov A.V., Eremin S.A., Ul'yanov A.Yu., Aleshina Yu.A., Nikiforov A.K., Vasin Yu.G., Klokov O.D., Belyakova N.I. [Development of the experimental technology for protective antigens of *Vibrio cholerae* 569B Inaba concentration by means of tangential ultrafiltration]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2011; 3(109):75–7.  
 21. Komissarov A.V., Eremin S.A., Aleshina Yu.A., Vasin Yu.G., Klokov O.D., Belyakova N.I. [Experimental evaluation of application of "cross-flow" ultrafiltration method for O-antigen concentrating in cholera chemical bivalent vaccine production]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2011; 2(108):83–6.  
 22. Mikhailova N.A., Shaimukhametov F.A., Kuznetsova T.N. [Method for the production of *A. Pseudomonas aeruginosa* exotoxin]. RF Patent 1596770, 09.06.1995.  
 23. Neschislyayev V.A., Molokhova E.I., Chistokhina L.P., Sorokina Yu.V., Belova I.V. [Multiple use of biologically active metabolites of Lacto- and Bifidobacteria in probiotics manufacturing]. *Vestnik Biotechnol. Fizikokhim. Biol. imeni Y.A. Ovchinnikova.* 2006; 2(4):29–30.  
 24. Nyn'I.V. [Biotechnology as a basic approach to manufacturing of immunobiological preventive preparations]. *Vestnik Biotechnol. Fizikokhim. Biol. imeni Y.A. Ovchinnikova.* 2006; 2(4):62–3.  
 25. Sitnik N.P., Zagidullin N.V., Israfilov A.G., Enikeeva L.F., Mukhacheva A.V., Shafeeva R.S., Kuntsevich Yu.G., Petrova I.I. [Method for the production of highly specific heterologous anti-rabies serum]. RF Patent 2322503, 20.04.2008.  
 26. Sit'kov V.I., Surmilo A.P., Lemeshko V.N., Soboleva G.L., Panin A.N. [Method for the production of polyvalent vaccine against animal leptospirosis]. RF Patent 2096042, 20.11.1997.  
 27. Scopus R. [Methods of Protein Purification]. M.: Mir; 1985. 237 p.  
 28. Stroganov V.V., Kosmaenko O.M., Popov A.A., Nikitina G.P., Dzhaparidze M.N., Kotkina T.A. [Application of ultrafiltration performed on the home-produced semi-permeable membranes UAM for separation of somatic O-antigen from cholera vibrio exotoxin]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 1978; 4(68):50–67.  
 29. Stroganov V.V., Kosmaenko O.M., Tikhonov N.G., Adamov A.K., Vasin Yu.G., Nikitina G.P., Matorina N.A. [Experimental studies of ultrafiltration module for manufacturing purified cholera exotoxin]. In: [Prophylaxis of Particularly Dangerous Infections]. 1980. P. 50–67.  
 30. Tkachenko E.A., Dzagurova T.K., Nabatnikov P.A., Mikhailov M.I. [Method for the production of the mixed bivalent, cultural, inactivated, concentrated, purified vaccine for HFRS (hemorrhagic fever with renal syndrome) prophylaxis]. RF Patent 2445117, 20.03.2012.  
 31. Cherkasov A.N., Pasechnik V.A. [Membranes and Sorbents in Biotechnology]. L.: Khimiya; 1991. 239 p.  
 32. Shevtsov A.N., Lobastov V.S., Borovskoy D.V., Menovshchikov V.A., Khapaev N.G. [Method for the production of anthrax protective antigen]. RF Patent 2340356, 10.12.2008.  
 33. Shevyrev N.S., Bezgin V.M., Kozlov V.E., Nicheveva L.D., Solodov E.N., Sharov A.N., Bukova N.K., Tyrina V.S. [Allergen for diagnostics of tuberculosis and method for its production]. RF Patent 2045959, 20.10.1995.  
 34. Shevyrev N.S., Bezgin V.M., Nicheveva L.D., Kozlov V.E., Solodov E.N., Grinev A.A., Sorokina A.A., Alekhin V.A., Sharov A.N., Tyrina V.S., Bukova N.K. [Method for the production of tuberculin]. RF Patent 2035914, 27.05.1995.  
 35. Shepelev I.A., Eremin S.A., Vasin Yu.G., Volokh O.A., Alenkina T.V., Belyakova N.I., Kuznetsova E.M., Nikiforov A.K. [Prospects for application of ultrafiltration technology for the scaled preparation of plague microbe and cholera vibrio major antigens]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2011; 3(109):84–7.  
 36. Shepelev I.A., Volokh O.A., Yeregin S.A., Dyatlov I.A. [Optimization of the techniques for deriving the protective "C" complex of the tularemia pathogen]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2006; 2(92):61–4.  
 37. El'bert L.B., Krasil'nikov I.V., Dроздов С.Г., Терлецкая Е.Н., Тимофеев А.В. [Concentrated purified vaccine against tick-borne encephalitis produced using ultrafiltration and chromatography]. *Vopr. Virusol.* 1985; 1:90–3.  
 38. Arockiasamy A., Krishnaswamy S. Purification of integral outer-membrane protein OmpC, a surface antigen from *Salmonella typhi* for structure-function studies: a method applicable to enterobacterial major outer-membrane protein. *Anal. Biochem.* 2000; 283(1):64–70.  
 39. Barrett P., Mundt W., Kistner O., Howard M. Vero cell platform in vaccine production: moving towards cell culture-based viral vaccines. *Expert. Rev. Vaccines.* 2009; 8:607–18.  
 40. Jang H., Hyo S.K., Jeong A.K. Improved Purification Process for Cholera Toxin and its Application to the Quantification of Residual Toxin in Cholera Vaccines. *J. Microbiol. Biotechnol.* 2009; 19(1):108–12.  
 41. Takagi M., Barbosa R. Purification of capsular polysaccharide produced by *Haemophilus influenzae* type b through a simple, efficient and suitable method for scale-up. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2008; 35:1217–22.  
 42. Zydney A.L., Kuriyel R. Protein concentration and buffer exchange using ultrafiltration. *Methods in Biotechnology.* 2000; 9:35–46.

Authors:

Komissarov A.V., Aleshina Yu.A., Gromova O.V., Nikiforov A.K., Eremin S.A., Volokh O.A., Lobovikova O.A., Perepelitsa A.I. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru

Об авторах:

Комиссаров А.В., Алейшина Ю.А., Громова О.В., Никифоров А.К., Еремин С.А., Волох О.А., Лобовикова О.А., Перепелитса А.И. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrap@microbe.ru

Поступила 25.09.14.

**А.К.Никифоров, М.В.Антонычева, О.А.Волох, С.А.Еремин, М.Н.Киреев, И.М.Жулидов,  
Ю.А.Алешина, Н.Г.Авдеева, Н.И.Вахрушина, К.И.Холматов**

## **РАЗРАБОТКА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД НА ОСНОВЕ НЕПИЩЕВОГО СЫРЬЯ ДЛЯ ГЛУБИННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ШТАММОВ ХОЛЕРНОГО ВИБРИОНА**

*ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов,  
Российская Федерация*

Проведено сравнение эффективности жидких питательных сред на основе панкреатического перевара фибрина и автолизата пекарских дрожжей и сред, традиционно используемых в производстве холерной вакцины для глубинного культивирования штаммов *Vibrio cholerae* 569 В и *V. cholerae* М-41. Результаты исследования биологических показателей качества сред (стабильность морфологических и биохимических свойств, эффективность по накоплению биомассы и протективных антигенов) из гидролизата фибрина и автолизата пекарских дрожжей позволяют сделать вывод о возможности использования этих сред в производстве холерной вакцины. Применение сред из непищевого сырья в производстве холерной вакцины перспективно с точки зрения снижения себестоимости лечебно-профилактического препарата, кроме этого позволяет комплексно решать проблему утилизации белкового отхода, образующегося при производстве антирабического иммуноглобулина, снижая экологическую нагрузку на внешнюю среду.

*Ключевые слова:* питательная среда, гидролизат фибрина, автолизат пекарских дрожжей, вакцина холерная, глубинное культивирование.

**A.K.Nikiforov, M.V.Antonycheva, O.A.Volokh, S.A.Eremin, M.N.Kireev, I.M.Zhulidov, Yu.A.Aleshina,  
N.G.Avdeeva, N.I.Vakhrushina, K.I.Kholmato**

## **Development of Food-Raw-Material-Based Nutrient Media for Submerged Cultivation of Cholera Vibrio Strains**

*Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation*

Carried out has been comparative assessment between the performances of liquid nutrient pancreatic fibrin overcook-based and bakery yeast autolyzate-based media and conventionally used in manufacturing of cholera vaccine media for submerged cultivation of *Vibrio cholerae* 569B and *V. cholerae* M-41 strains. Results of investigation of media quality biological predictors (morphological and biochemical property stability, efficacy of biomass and protective antigen accumulation), which are fibrin hydrolyzate and bakery yeast autolyzate-based, suggest the possibility of using them for the production of cholera vaccine. Deployment of inedible raw material-based media in manufacturing of cholera vaccine is a prospective technology in view of reduction of medical-prophylactic preparation costs. Moreover it allows for solving the problem of protein waste-product disposal, which is generated in the process of anti-rabies immunoglobulin manufacturing, thus decreasing ecological impact on the environment.

*Key words:* nutrient medium, fibrin hydrolyzate, bakery yeast autolyzate, cholera vaccine, submerged cultivation.

Важным фактором технологического процесса в производстве многих иммунобиологических препаратов является выбор питательной среды, обеспечивающей рост микроорганизмов и синтез целевого продукта. При этом следует учитывать, с одной стороны, энергетические и материальные потребности микробной клетки, а с другой – экономичность сырья и его доступность. Из обзора литературы ясно, что для производства холерной вакцины (ХВ) используют ограниченное количество сред [3]. Эти среды содержат в качестве основы животный белок – гидролизат по Хоттингеру, пептон Мартена, гидролизат казеина, что в значительной мере обуславливает высокую стоимость выпускаемого препарата.

Ранее в РосНИПЧИ «Микроб» был предложен способ получения автолизата пекарских дрожжей и доказана эффективность его использования в качестве основы сред для культивирования чумного микроба и холерных вибрионов [6]. Продолжением этой работы стала разработка жидких сред на основе дрожжевого автолизата с целью получения посевных культур штаммов, используемых в производстве ХВ [2].

Имеются данные литературы об использовании комплекса диагностических питательных сред на основе гидролизата пекарских дрожжей для выделения и накопления холерных вибрионов [5, 7, 8]. Однако в доступной нам литературе нет сведений о возможности применения сред на основе автолизата или гидролизата дрожжей при глубинном культивировании штаммов, используемых в производстве ХВ.

Другой ценной белковой основой при изготовлении сред является гидролизат фибрина – панкреатический перевар фибриллярного белка крови лошадей. С целью внедрения малоотходных технологий в РосНИПЧИ «Микроб» разработан способ приготовления панкреатического гидролизата фибрина и запатентована питательная среда на его основе для глубинного культивирования холерных вибрионов [1, 4].

Учитывая стоимость традиционно используемых в производстве ХВ питательных сред, ожидаемый эффект от внедрения новых сред на основе непищевого белка заключается в снижении себестоимости ХВ и повышении выхода синтезируемых холерными вибрионами протективных антигенов – О-антигена

(О-АГ) и холерного токсина (ХТ).

Цель работы – сравнение эффективности жидких питательных сред на основе панкреатического перевара фибрина и автолизата пекарских дрожжей и сред, традиционно используемых для производственного культивирования штаммов холерного вибриона.

### Материалы и методы

В работе использованы штаммы холерных вибрионов *Vibrio cholerae* O1 М-41 и *V. cholerae* 569 В, полученные из Госколлекции патогенных бактерий РосНИПЧИ «Микроб».

В качестве контрольных питательных сред (ПС) использованы жидкие среды лабораторного изготовления (РосНИПЧИ «Микроб») с рН (7,7±0,1): среда на основе гидролизата по Хоттингеру (ГХ) и среда на основе панкреатического гидролизата казеина (ГК), соответствующие требованиям МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред» и МУ 3.3.2.2124-06 «Контроль диагностических питательных сред по биологическим показателям для возбудителей чумы, холеры, сибирской язвы, туляремии, бруцеллеза, легионеллеза».

Экспериментальными ПС являлись среды на основе гидролизата фибрина (ГФ), на основе автолизата пекарских дрожжей (АПД) и комбинированная среда (КС) с основой из ГФ с добавлением АПД до 1%. Физико-химические показатели используемых питательных основ соответствовали требованиям МУК 4.2.2316-08 [1, 2, 4, 6]. Все среды в процессе приготовления осветляли и очищали по единой технологии с использованием активированного угля и глубокой фильтрации. Стерилизацию сред осуществляли в реакторе-ферментере при 120 °С в течение 30 мин.

Для глубинного культивирования штаммов *V. cholerae* использовали термостатируемый шейкер-инкубатор RC-ТК (USA) и реактор-ферментер с рабочим объемом 500 дм<sup>3</sup> (Фастов, Украина), используемый в производстве холерной вакцины.

Концентрирование формализированной биомассы перед выделением антигена (АГ) осуществляли на центрифуге Beckman (Германия) при 15000 g.

Качество питательных сред оценивали по биологическим показателям согласно МУ 3.3.2.2124-06. Эффективность экспериментальных питательных сред при глубинном культивировании штаммов *V. cholerae* определяли как по выходу микробных клеток с 1 мл питательной среды, учитывая концентрацию микробных клеток в осадке после центрифугирования культуральной среды, так и по количеству продуцируемого вибрионами О-антигена (О-АГ) и холерного токсина (ХТ) на 1 мл среды. Материалом для выделения холерных антигенов служили обработанные формалином центрифугаты бульонной культуры указанных штаммов холерного вибриона.

Для количественной оценки О-АГ в центрифугате бульонной культуры *V. cholerae* М-41 применяли регламентированный тест – реакцию диффузионной

преципитации (РДП) в агаровом геле по Оухтерлони со специфическими агглютинирующими сыворотками производства РосНИПЧИ «Микроб» и иммуноферментный анализ (ИФА) с конъюгатом. Продукцию ХТ токсин-продуцирующим штаммом *V. cholerae* 569 В определяли в ИФА с GM1-ганглиозидами и антитоксической холерной сывороткой или в до-иммуноанализе с стафилококковым белком А, меченным наночастицами коллоидного золота.

Для определения концентрации холерных вибрионов использовали отраслевой стандартный образец (ОСО) мутности 42-28-85-П ФГБУ НЦЭСМП (Москва).

Статистическую обработку результатов проводили общепринятыми методами с использованием t-критерия Стьюдента.

### Результаты и обсуждение

В условиях малообъемного (125 мл) глубинного культивирования в термостатируемом шейкер-инкубаторе RC-ТК штаммы холерных вибрионов выращивали на экспериментальных и контрольных ПС в течение 9–10 ч при температуре (36±1) °С для *V. cholerae* М-41 и (30±1) °С для *V. cholerae* 569 В. Посевная доза, приготовленная по ОСО мутности, составляла 1 млрд м.к.

Морфологические и биохимические свойства штаммов холерного вибриона, выращенных на экспериментальных ПС, были типичными и не отличались от свойств штаммов, культивированных на контрольных средах, что свидетельствует о стабильности основных свойств штаммов холерного вибриона и оптимальном составе сред.

В таблице представлены результаты малообъемного глубинного культивирования штаммов *V. cholerae* O1 М-41 и *V. cholerae* O1 569 В в термостатируемом шейкере-инкубаторе RC-ТК на экспериментальных и контрольных ПС. В каждом эксперименте были использованы по три экспериментальные серии ПС, приготовленные из трех серий питательных основ. Анализ эффективности ПС по выходу биомассы холерных вибрионов и синтезу антигенного продукта (О-АГ и ХТ) выявил индивидуальную чувствительность каждого штамма к составу среды, что согласуется с литературными данными по оптимальным условиям для синтеза АГ штаммами-продуцентами [11].

Отмечено, что для накопления биомассы и синтеза О-АГ при культивировании штамма *V. cholerae* М41 оптимальной являлась среда на основе АПД, которая обеспечила выход биомассы культивируемого штамма на уровне (48,0±0,7) мг/мл и продукцию холерным вибрионом О-АГ в количестве (1,2±0,03) мг/мл ( $t_{cr} < 2$ ,  $p < 0,05$ ). Традиционная среда на основе ГХ уступала дрожжевым экспериментальным средам по количеству выхода биомассы штамма *V. cholerae* М41 – (32,8±0,4) мг/мл, однако превосходила экспериментальные среды по способ-

Накопление биомассы и продукция О-антигена и холерного токсина штаммами *V. cholerae* O1 при малообъемном глубинном культивировании на экспериментальных и традиционной питательных средах

Штамм	Питательная среда	N амин., %	Накопление биомассы, мг/мл среды	Продукция АГ			
				О-АГ, обратный титр в РДП	О-АГ, мг/мл в ИФА	ХТ, обратный титр в РДП	ХТ, мкг/мл в ИФА
<i>V. cholerae</i> M41	ГФ	0,1	30,8±0,8	32	1,28±0,05	-	-
	КС (ГФ+1% АПД)	0,12	34,8±0,5	16	0,7±0,08	-	-
	АПД	0,03	48,0±0,7	1	1,2±0,03	-	-
	ГХ	0,12	32,8±0,4	32	1,6±0,02	-	-
<i>V. cholerae</i> 569В	ГФ	0,1	38,2±0,8	8	2,4±0,04	32	8,73±0,08
	КС (ГФ+1% АПД)	0,12	39,1±0,7	8	1,6±0,03	8	6,95±0,06
	АПД	0,03	20,1±0,7	4	2,5±0,05	16	7,18±0,03
	ГХ	0,12	40,0±0,4	8	1,28±0,09	4	8,75±0,06

Примечание. «-» – не проводили измерений.

ности продукцировать на ней О-АГ – (1,6±0,02) мг/мл. Среда на основе ГФ по эффективности оказалась близка к контрольной среде при культивировании на ней *V. cholerae* M41 и обеспечила выход биомассы в количестве (30,8±0,8) мг/мл, а синтез культивируемым штаммом О-АГ – (1,28±0,05) мг/мл.

При малообъемном культивировании штамма *V. cholerae* 569 В на экспериментальных и контрольной ПС не отмечено достоверной разницы при накоплении биомассы на средах из ГФ, КС и ГХ – (40,0±0,4), (38,2±0,8) и (39,1±0,7) мг/мл соответственно, но по этому показателю все они были значительно эффективнее среды на основе АПД – (20,1±0,7) мг/мл. При культивировании на ПС, содержащих АПД, *V. cholerae* 569 В синтезировал ХТ в количестве (6,95±0,06) мкг/мл на КС и (7,18±0,03) мкг/мл на среде из АПД, уступая по данному показателю холерным вибрионам, культивированным на среде из ГФ и контрольной среде, – (8,73±0,08) и (8,75±0,06) мкг/мл соответственно.

При проведении сравнительного иммунохимического анализа выявлено, что *V. cholerae* 569 В при глубинном культивировании на среде из ГФ синтезировал О-АГ в количестве 2,4 мкг/мл, на среде из АПД – 2,5 мкг/мл, и эти результаты значительно превышали количество О-АГ, полученного после культивирования штамма на контрольной среде – (1,28±0,09) мкг/мл ( $t_{cr} < 2, p < 0,05$ ). На комбинированной среде штамм *V. cholerae* 569 В синтезировал О-АГ достоверно меньше – (1,6±0,03) мкг/мл, чем на средах ГФ и АПД, однако превосходил результат, полученный с контрольной среды, – (1,28±0,09) мкг/мл ( $t_{cr} < 2, p < 0,05$ ).

Таким образом, в экспериментах по малообъемному культивированию производственных штаммов холерного вибриона в шейкере-инкубаторе РС-ТК показана эффективность разработанных ПС на основе АПД и ГФ, данные среды по выходу биомассы и способности культивируемых на них штаммов продукцировать О-АГ и ХТ, в целом, не уступали традиционной среде из ГХ.

На основании результатов, полученных при малообъемном культивировании производственных штаммов холерного вибриона в шейкере-инкубаторе РС-ТК, представлялось целесообраз-

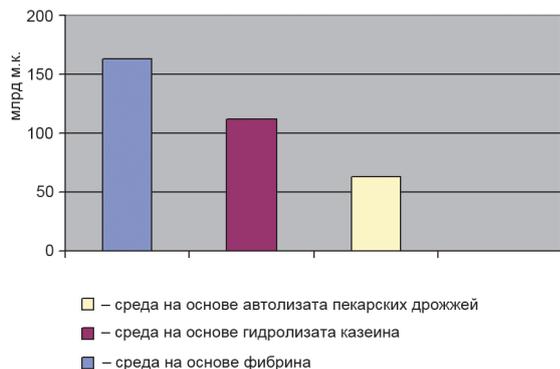
ным проведение экспериментального выращивания штамма *V. cholerae* М-41 в условиях глубинного культивирования в реакторе-ферментере объемом 500 дм<sup>3</sup> на ПС из ГФ и АПД и на контрольной среде из гидролизата казеина (ГК). Среда на основе гидролизата казеина с добавлением 1 % пептона выбрана в качестве контрольной, так как используется для производственного культивирования штаммов холерного вибриона в соответствии с ПР 01898109-39-12 «Вакцина холерная бивалентная химическая, таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой».

Все ПС имели реакцию рН (7,8±0,2), содержание аминного азота составляло 0,2 % для ПС на основе ГФ и ГК и 0,05 % для ПС на основе АПД. Дополнительно в состав среды были включены соли NaCl в концентрации 0,5 % и Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·x12H<sub>2</sub>O в концентрации 0,006 %.

При глубинном культивировании *V. cholerae* М-41 в условиях ферментера при температуре (37±1) °С с автоматической подкормкой 40 % глюкозой и коррекцией рН аммиаком наиболее эффективной оказалась среда на основе ГФ – через 10 ч культивирования концентрация холерных вибрионов составила 158 млрд м.к./мл, в то время как на традиционной среде из ГК – 111,4 млрд м.к./мл. Наименее эффективной оказалась среда на основе АПД – через 10 ч культивирования зарегистрирована концентрация 64 млрд м.к./мл (рисунок).

В условиях масштабированного культивирования *V. cholerae* М-41 в реакторе-ферментере на среде с основой АПД выявлена тенденция быстрого закисления культуральной жидкости после трех часов культивирования, что создало проблему с поддержанием оптимального уровня рН. Возможно, проблема связана с неоптимальным режимом подкормки раствором 40 % глюкозы, поскольку среда на основе АПД уже имеет в своем составе глюкозу. В ряде работ установлено, что избыточное добавление глюкозы в культуральную жидкость в ходе периодического глубинного культивирования холерных вибрионов приводит к закислению, уменьшению скорости роста микроорганизмов и, соответственно, уменьшению накопления антигенов [10, 12].

При определении количества О-АГ в центрифугатах формализированной культуры *V. cholerae*



Эффективность жидких питательных сред по накоплению биомассы *V. cholerae* O1 M-41 в условиях глубинного культивирования в реакторе-ферментере

M-41, выращенной на экспериментальных средах из ГФ и АПД и контрольной ПС на основе ГК регистрировали положительную РДП в разведении 1/16, 1/4 и 1/8 соответственно.

Таким образом, сравнивая эффективность питательных сред на основе ферментативного гидролизата фибрина и автолизата пекарских дрожжей при глубинном культивировании *V. cholerae* M41 в условиях ферментера, можно сделать вывод о перспективности использования данных сред в производстве холерной вакцины. Применение среды на основе гидролизата фибрина позволит комплексно решить проблему утилизации белкового отхода, образующегося при производстве антирабического иммуноглобулина, снизить экологическую нагрузку на внешнюю среду и получить благоприятный экономический эффект.

Работа выполнена в рамках плановых НИР 40-2-09 «Оптимизация технологических этапов производства МИБП и разработка новых препаратов для диагностики особо опасных инфекций», № государственной регистрации 0120.0853923 и НИР 48-2-14 «Разработка и внедрение в производство МИБП новых решений, направленных на повышение качества препаратов и эффективности технологических процессов» (2014-2016), № государственной регистрации 01201457722.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Антонычева М.В., Нижегородцев С.А., Еремин С.А., Аленкина Т.А., Шульгина И.В., Белоусов А.Д., Жулидов И.М., Никифоров А.К. Питательная среда для глубинного культивирования холерного вибриона. Патент № 2425866 РФ, опубл. 10.08.11 г. Бюл. № 22.
2. Базлов Г.В., Авдеева Н.Г., Никифоров А.К., Еремин С.А., Волох О.А., Самохвалова Ю.И., Антонычева М.В., Белоусов А.Д., Комиссаров А.В., Сергеева И.В. Конструирование питательных сред на основе дрожжевого автолизата пекарских дрожжей для культивирования холерного вибриона в производстве вакцины холерной бивалентной химической таблетированной. *Вестник Саратовского государственного университета им. Вавилова*. 2012; 3:7–11.
3. Еремин С.А., Аleshina Ю.А., Комиссаров А.В., Громова О.В., Васин Ю.Г., Никифоров А.К., Ливанова Л.Ф., Волох О.А., Лобовикова О.А., Бронникова В.С. Методы и технологии культивирования холерного вибриона (обзор). *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 4:95–101.
4. Жулидов И.М., Абрамова Е.Г., Никифоров А.К., Антонычева М.В., Шульгина И.В., Лобовикова О.А., Вахрушина Н.И., Белоусов А.Д., Еремин С.А., Киреев М.Н., Шарипова Н.А., Савицкая Л.В., Михеева Т.А., Минаева Л.Н., Галкина М.В., Свинцов Р.А., Аленкина Т.В., Васин Ю.Г., Базлов Г.В. Безотходные технологии в производстве гетерологичного антирабического иммуноглобулина. *Пробл. особо опасных инф.* 2011; 4:80–4.
5. Каминский Д.И., Мазрухо А.Б., Ломов Ю.М., Рожков К.И., Криваченко И.Б., Овсова Л.М., Монахова Е.В., Кругликов В.Д., Долгова А.Б., Авдеева Е.П., Булахова О.Г., Киреев Е.Г., Ершанко К.В. Оценка жидкой накопительной питательной среды ХДС-Н для культивирования и выделения холерного вибриона. *Биотехнология*. 2003; 4:70.

6. Кузьмиченко И.А., Громова О.В., Киреев М.Н., Плотников О.П., Грачева И.В., Виноградова Н.А., Солодовников Н.С., Нижегородцев С.А., Антонычева М.В. Способ получения питательной основы и питательная среда для культивирования микроорганизмов рода *Yersinia* и *Vibrio*. Патент № 2360962 РФ, опубл. 10.07.09 г. Бюл. № 19.
7. Мазрухо А.Б., Каминский Д.И., Ломов Ю.М., Телесманич Н.Р., Рожков К.К., Кругликов В.Д., Гончаренко Е.В., Тришина А.В., Пухов Ю.М., Прометный В.И., Пичурина Н.Л. Результаты использования нового комплекса питательных сред для диагностики холерного вибриона в ходе тактико-специального учения специализированной противочумной бригады. *Пробл. особо опасных инф.* 2011; 3:54–7.
8. Мазрухо А.Б., Шелохович А.И., Харабаджакян Г.Д., Карбышев Г.Л., Терентьев А.Н., Кругликов В.Д. и др. Оценка биологических показателей новой электроно-дифференциальной среды для выделения холерных вибрионов (СЭДХ-М) по результатам лабораторных испытаний. *Пробл. особо опасных инф.* 2011; 2:64–7.
9. Рекус И.Г., Шорина О.С. Основы экологии и рационального природопользования. М.: МГУП; 2001. 146 с.
10. De Mary L., Andersson L., Hagander P. Probing control of glucose feeding in *Vibrio cholerae* cultivation. *Bioprocess Biosyst. Eng.* 2004; 25(4):221–8.
11. Evans D.J., Richardson S.H. In vitro production of cholera toxin and the vascular permeability factor by *Vibrio cholerae*. *J. Bacteriol.* 1968; 96(1):126–30.
12. Suzuki H., Kishimoto M., Kamoshita T. On-line control of feeding of medium components to attain high cell density. *Bioprocess Eng.* 2000; 22:433–40.

#### References

1. Antonycheva M.V., Nizhegorodtsev S.A., Eremin S.A., Alenkina T.A., Shul'gina I.V., Belousov A.D., Zhulidov I.M., Nikiforov A.K. [Nutrient medium for cholera vibrio submerged cultivation]. RF Patent No 2425866, 10.08.2011.
2. Bazlov G.V., Avdeeva N.G., Nikiforov A.K., Eremin S.A., Volokh O.A., Samokhvalova Yu.I., Antonycheva M.V., Belousov A.D., Komissarov A.V., Sergeeva I.V. [Construction of bakery yeast autolyzate-based nutrient media for cholera vibrio cultivation in manufacturing bivalent chemical tableted cholera vaccine]. *Bul. Saratov Gos. Agrar. Univer.* 2012; 3:7–11.
3. Eremin S.A., Aleshina Yu.A., Komissarov A.V., Gromova O.V., Vasin Yu.G., Nikiforov A.K., Livanova L.F., Volokh O.A., Lobovikova O.A., Bronnikova V.S. [Methods and technologies of cholera vibrio cultivation (Scientific Review)]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 4:95–101.
4. Zhulidov I.M., Abramova E.G., Nikiforov A.K., Antonycheva M.V., Shul'gina I.V., Lobovikova O.A., Vakhrushina N.I., Belousov A.D., Eremin S.A., Kireev M.N., Sharapova N.A., Savitskaya L.V., Mikheeva T.A., Minaeva L.N., Galkina M.V., Svintsov R.A., Alenkina T.V., Vasin Yu.G., Bazlov G.V. [Non-waste alternative technologies in the production of heterologous antibodies immunoglobulin]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2011; 4:80–4.
5. Kaminsky D.I., Mazrukho A.B., Lomov Yu.M., Rozhkov K.I., Krivachenko I.B., Ovsova L.M., Monakhova E.V., Sokirina O.G., Bulakhova B.L., Avdeeva E.P., Bulakhova O.G., Kireev E.G., Dolgova A.B., Eroshenko K.V. [Evaluation of liquid accumulative nutrient medium, CDM-A, for cholera vibrio cultivation and extraction]. *Biotehnologiya*. 2003; 4:70.
6. Kuz'michenko I.A., Gromova O.V., Kireev M.N., Plotnikov O.P., Gracheva I.V., Vinogradova N.A., Solodovnikov N.S., Nizhegorodtsev S.A., Antonycheva M.V. [Method for the production of nutrient substrate and nutrient media for cultivation of microorganisms, genus *Yersinia* and *Vibrio*]. RF Patent No 2360962, 10.07.09.
7. Mazrukho A.B., Kaminsky D.I., Lomov Yu.M., Telesmanich N.R., Rozhkov K.K., Kругликов V.D., Goncharenko E.V., Trishina A.V., Pukhov Yu.M., Prometny V.I., Pichurina N.L. [Results of application of the new nutrient media set for cholera diagnostics within the frames of the special tactical training exercises for specialized anti-epidemic team]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2011; 3:54–7.
8. Mazrukho A.B., Shelokhovich A.I., Harabadzhakian G.D., Karbyshhev G.L., Terent'ev A.N., Kругликов V.D., Grigorenko L.V., Agapohova V.V., Savel'eva I.K., Simakova D.I., Sokirina O.G., Bulakhova O.G., Gorenkova I.S. [Evaluation of biological properties of new selective differential medium for cholera vibrios isolation based on the results of laboratory trials]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2011; 2:64–7.
9. Rekus I.G., Shorina O.S. [Basic Principles of Ecology and Rational Environmental Management]. M.; 2001. 146 p.
10. De Mary L., Andersson L., Hagander P. Probing control of glucose feeding in *Vibrio cholerae* cultivation. *Bioprocess Biosyst. Eng.* 2004; 25(4):221–8.
11. Evans D.J., Richardson S.H. In vitro production of cholera toxin and the vascular permeability factor by *Vibrio cholerae*. *J. Bacteriol.* 1968; 96(1):126–30.
12. Suzuki H., Kishimoto M., Kamoshita T. On-line control of feeding of medium components to attain high cell density. *Bioprocess Eng.* 2000; 22:433–40.

#### Authors:

Nikiforov A.K., Antonycheva M.V., Volokh O.A., S.A. Eremin, Kireev M.N., Zhulidov I.M., Aleshina Yu.A., Avdeeva N.G., Vakhrushina N.I., Kholmatov K.I. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru

#### Об авторах:

Никифоров А.К., Антонычева М.В., Волох О.А., Еремин С.А., Киреев М.Н., Жулидов И.М., Аleshina Ю.А., Авдеева Н.Г., Вахрушина Н.И., Холматов К.И. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Поступила 04.12.14.

Н.П.Храпова<sup>1</sup>, В.А.Антонов<sup>1</sup>, Т.В.Булатова<sup>1</sup>, Е.В.Пименова<sup>1</sup>, И.И.Корсакова<sup>1</sup>, Ю.А.Голосеев<sup>1</sup>,  
О.В.Пьянков<sup>2</sup>, С.А.Пьянков<sup>2</sup>, С.В.Серегин<sup>2</sup>, И.В.Плясунов<sup>2</sup>, П.Ф.Сафронов<sup>2</sup>, В.С.Петров<sup>2</sup>,  
А.П.Агафонов<sup>2</sup>, А.Н.Сергеев<sup>2</sup>, И.А.Дятлов<sup>3</sup>, И.Г.Шемякин<sup>3</sup>, Е.В.Белова<sup>3</sup>

## ПОЛУЧЕНИЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В КАЧЕСТВЕ ОСНОВЫ ИММУНОДИАГНОСТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ ОБНАРУЖЕНИЯ ВИРУСА КРЫМ-КОНГО ГЕМОРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ

<sup>1</sup>ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт», Волгоград, Российская Федерация; <sup>2</sup>ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», п. Кольцово, Российская Федерация; <sup>3</sup>ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» п. Оболensk, Российская Федерация

Целью работы явилось получение моноклональных антител к вирусу Крым-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ), изучение их специфической активности в иммуноферментном анализе и при использовании метода флуоресцирующих антител. Мышей BALB/c иммунизировали инактивированным вирусом штамма 6757. При проведении скрининговых исследований в иммуноферментном анализе использовали рекомбинантный белок, состоящий из N-концевого фрагмента β-галактозидазы *E. coli* и полного N-белка вируса ККГЛ. Получена коллекция из 9 клонов гибридом-продуцентов моноклональных антител к антигенам вируса Крым-Конго геморрагической лихорадки. На их основе сконструирована экспериментальная диагностическая биотин-стрептоvidиновая иммуноферментная тест-система и получены лабораторные серии диагностических флуоресцирующих иммуноглобулинов с целью обнаружения антигенов возбудителя Крым-Конго геморрагической лихорадки. Доказана эффективность применения трех вариантов моноклональных антител (4G<sub>4</sub>, 1E<sub>2</sub> и 3H<sub>6</sub>) в качестве основы для изготовления средств обнаружения и идентификации вируса Крым-Конго геморрагической лихорадки в искусственно контаминированных образцах и клиническом материале, содержащих антигены ККГЛ.

**Ключевые слова:** вирус Крым-Конго геморрагической лихорадки, моноклональные антитела, коллекция гибридом, депонирование.

N.P.Khrapova<sup>1</sup>, V.A.Antonov<sup>1</sup>, T.V.Bulatova<sup>1</sup>, E.V.Pimenova<sup>1</sup>, I.I.Korsakova<sup>1</sup>, Yu.A.Gloseev<sup>1</sup>, O.V.P'yankov<sup>2</sup>,  
S.A.P'yankov<sup>2</sup>, S.V.Seregin<sup>2</sup>, I.V.Plyasunov<sup>2</sup>, P.F.Safronov<sup>2</sup>, V.S.Petrov<sup>2</sup>, A.P.Agafonov<sup>2</sup>, A.N.Sergeev<sup>2</sup>,  
I.A.Dyatlov<sup>3</sup>, I.G.Shemyakin<sup>3</sup>, E.V.Belova<sup>3</sup>

### Obtainment of Monoclonal Antibodies and Prospects of Their Application as Basis for Immunodiagnostic Aids for Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus Detection

<sup>1</sup>Volgograd Research Anti-Plague Institute, Volgograd, Russian Federation; <sup>2</sup>State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Kol'tsovo, Russian Federation; <sup>3</sup>State Research Center of Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russian Federation

Objective of the investigation was to obtain monoclonal antibodies to Crimean-Congo hemorrhagic fever virus (CCHF) and to test their specific activity in enzyme-linked immunoassay as well as by deploying fluorescent antibodies technique. BALB/c mice were challenged with inactivated viral strain 6757. To perform screening investigations in enzyme-linked immunoassay applied was recombinant protein composed of N-terminal fragment of *E. coli* β-galactosidase and complete N-protein of CCHF virus. Collected were 9 clones of hybridomas – producers of monoclonal antibodies to CCHF virus antigens. Further on, on the basis of the hybridomas constructed was experimental diagnostic biotin-streptavidin immuno-enzyme test-system, obtained were laboratory series of diagnostic fluorescent immunoglobulins for the detection of CCHF agent antigens. Usage of three variants of monoclonal antibodies (4G<sub>4</sub>, 1E<sub>2</sub>, and 3H<sub>6</sub>) as framework for the production of tools for CCHF virus detection and identification in artificially contaminated samples and clinical specimens containing CCHF antigens was proven efficient.

**Key words:** Crimean-Congo hemorrhagic fever virus, monoclonal antibodies, hybridomas collection, depositing.

Вирус Крым-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ) – возбудитель особо опасного трансмиссивного природно-очагового заболевания человека, входящего в перечень инфекционных (паразитарных) болезней, требующих проведения мероприятий по санитарной охране территории Российской Федерации [5, 10].

Границы ареала этой инфекции тесно связаны с регионами распространения клещей-переносчиков вируса ККГЛ. Возбудитель инфекции выявлен в 38 странах Азии, Африки и Европы [11]. В России стой-

кий природный очаг Крымской геморрагической лихорадки сформировался на территории Северо-Кавказского и Южного федеральных округов, где с 1999 по 2012 год зарегистрировано 1575 случаев заболевания [1, 3].

Регламентированными иммунодиагностическими методами обнаружения вируса ККГЛ являются сэндвич-вариант твердофазного иммуноферментного анализа (ТИФМ) и метод флуоресцирующих антител (МФА) [6, 8, 9]

В настоящее время для практического исполь-

зования доступен только набор на основе поликлональных антител для иммуноферментного анализа (ИФА) «Вектор Крым-КГЛ-антиген» производства ЗАО «Вектор Бест». Ввиду отсутствия стандартных препаратов для контроля качества лабораторной диагностики Крымской геморрагической лихорадки относительная чувствительность и специфичность этого набора неизвестна.

В последние годы доля стандартизированных иммунодиагностических препаратов на основе моноклональных антител (МКА), отвечающих требованиям, предъявляемым к средствам экспресс-обнаружения и идентификации микроорганизмов, становится все более весомой. Отечественными и зарубежными учеными были получены и апробированы в лабораторных условиях экспериментальные образцы моноклональных препаратов [2, 13, 14, 15]. Однако данные о внедрении в практику таких препаратов отсутствуют.

Реализация современного подхода к созданию иммунодиагностических средств обнаружения вируса на основе МКА имеет ряд преимуществ, обусловленных возможностью работы с паспортизированными производственными штаммами гибридом-продуцентов целевого продукта с подтвержденными полезными свойствами, стабильно сохраняющими антителопродукцию в течение длительного периода времени при условии их хранения в криоконсервированном состоянии, что является существенным технологическим преимуществом по сравнению с работой с поликлональными антителами.

Целью настоящей работы явилось получение панели моноклональных антител (МКА) к вирусу Крым-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ), изучение их специфической активности в ИФА и МФА.

## Материалы и методы

**Антигены.** Иммунизацию мышей для получения МКА проводили инактивированным антигеном вируса ККГЛ штамм 6757. Вирус получали интрацеребральным заражением мышей-сосунков линии BALB/c. Концентрация белка по Бредфорду в препарате составляла 1 мг/мл.

В качестве антигена при проведении ИФА использовали рекомбинантный белок, состоящий из N-концевого фрагмента  $\beta$ -галактозидазы *E. coli* (около 40 кДа) и полного N-белка вируса ККГЛ, экспрессируемого в составе модифицированного вектора pUBEX. Для создания рекомбинантных белков использовали генетический материал вируса ККГЛ штамм С68031 [15] и изолированный от больного штамм STV/HU29223.

Получение рекомбинантных белков вируса ККГЛ осуществляли в клетках *E. coli* RRI, трансформированных плазмидой, кодирующей полный N-белок вируса ККГЛ, путем активации термоиндуцибельного промотора P(R) фага  $\lambda$  сдвигом температуры культивирования с 30 до 42 °С.

**Животные и схема иммунизации.** Инбредных мышей линии BALB/c получали из питомника экспериментальных биомоделей ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора. Донорами иммунных спленоцитов в опытах по гибридизации клеточных линий являлись особи 8-недельного возраста, массой 16–18 г. В работе использовали схему дробного введения минимальных доз антигена в течение относительно короткого периода времени (5 недель). Суммарная нагрузка антигенного материала на каждую мышью линии BALB/c составляла 80 мкг белка антигена по Бредфорду.

**Миеломная клеточная линия.** Перевиваемая линия клеток мышшиной миеломы Sp 2/0 была получена из Российской коллекции клеточных культур (Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург). Подготовку клеток миеломы начинали за 4 недели до опыта по гибридизации, соблюдая общепринятые требования [12].

**Питательные среды и условия культивирования перевиваемых клеточных культур.** Основной средой культивирования клеточных линий являлась среда RPMI-1640 производства ФГУП «Предприятие по производству бактериальных и вирусных препаратов института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П.Чумакова РАМН», дополненная необходимыми ингредиентами, соответствующими каждому конкретному этапу технологии. Культивирование перевиваемых клеточных линий выполняли в условиях CO<sub>2</sub>-инкубатора при 37 °С, 5–7 % CO<sub>2</sub> и 70–80 % влажности. Для выращивания клеток использовали пластиковую посуду различного формата («Costar», США).

**Метод скрининга МКА.** Для скрининга МКА заданной специфичности в среде выращивания гибридом применяли непрямой вариант ТИФМ. В работе использовали коммерческий антивидовой конъюгат: антитела диагностические против IgG (H+L) мыши, меченные пероксидазой хрена, сухие (производства ФГБУ «НИИЭМ им. Н.Ф.Гамалеи»). Оптимальная доза антигена для сорбции составила 7 мкг/мл белка антигена в карбонатно-бикарбонатном буфере, pH 9,5. Положительным контролем служили сыворотки мышей, иммунизированных антигеном вируса ККГЛ, отрицательным – сыворотки интактных животных. Все остальные условия выполнения ТИФМ соответствовали общепринятым требованиям [4].

**Получение гибридом и выделение МКА.** Гибридизацию клеточных линий производили через 3 сут после бустирующей инъекции антигена [12]. В качестве конъюгирующего агента использовали PEG-4000 («Merck», Германия). Для селекции гибридом клетки выращивали в НАТ-среде (две недели) и НТ-среде (одну неделю). Затем их переводили на полную питательную среду для культивирования клеточных линий. Гибридомы, продуцирующие специфические иммуноглобулины, клонировали методом предельных разведений. Тиражирование отобран-

ных клонов-продуцентов МКА проводили *in vitro* и *in vivo*. Моноклональные иммуноглобулины из среды культивирования и асцитической жидкости осаждали сульфатом аммония при 50 % его насыщения [12]. Специфическую активность целевого продукта оценивали по результатам ТИФМ. Полученные образцы МКА ампулировали небольшими квотами и хранили при  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  до момента исследования.

**Изготовление флуоресцирующих МКА.** Для оценки перспектив использования МКА к антигенам вируса ККГЛ в прямом МФА были приготовлены экспериментальные образцы меченных флуоресцеинизотиоцианатом моноклональных иммуноглобулинов. Очистку конъюгата от немеченого белка и не связавшегося красителя проводили на колонке с сефадексом G-25. При расчете показателей концентрации белка и молярного соотношения  $M_{\text{ФитЦ}}/M_{\text{белок}}$  использовали методику Т.Н.Тей и Т.Е.В.Фелткамп [12]. Готовые конъюгаты ампулировали и хранили при  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

### Результаты и обсуждение

В рабочую коллекцию из 9 продуцентов МКА к антигенам вируса ККГЛ вошли гибридомы с наиболее высокими показателями продукции специфических иммуноглобулинов. Продуктивность гибридом *in vitro* в среднем находилась в диапазоне концентраций от 0,51 до 0,64 мкг/мл, объем асцитической жидкости, как правило, соответствовал средним показателям асцитобразования (3–4 мл), при этом продуктивность *in vivo* составляла от 7 до 12 мг/мл иммуноглобулинов.

Для оценки целесообразности использования полученных МКА при создании диагностической иммуноферментной тест-системы была изучена специфическая активность МКА  $4G_4/V_6$ ,  $1E_2/E_5$  и  $3H_6/F_2$ . В качестве референс-панели использованы слабые разведения трех образцов, содержащих антигена ККГЛ (1-й и 2-й образцы – разные изоляты рекомбинантного белка, 3-й образец – природный неочищенный вирус ККГЛ) и один образец, содержащий антигена вируса ККГЛ (смесь лизатных белков перевиваемой линии клеток аденокарциномы надпочечников человека SV-13 и *E. coli*, вероятные примеси образцов № 1–3).

Диагностическая конструкция была построена по схеме прямого твердофазного трехстадийного иммуноферментного анализа (ИФА) разновидности «сэндвич». Ее основу составили два компонента: планшет-иммуносорбент с иммобилизованными на поверхности лунок МКА к белкам вируса ККГЛ и выявляющий образованные антителами с антигенами вируса ККГЛ комплексы конъюгат МКА-фермент. Для увеличения чувствительности на разных стадиях использовали два конъюгата: биотинилированные МКА и стрептавидин-полипероксидаза хрена – СПХ («STDGmbH», Германия). Визуализацию результатов анализа достигали добавлением к об-

разовавшимся иммунным комплексам раствора хромогена 3,3',5,5'-тетраметилбензидина («MossInc», США) с последующей фиксацией окраски раствором серной кислоты. Регистрацию результатов в единицах оптической плотности (ОП) выполняли на планшетном фотометре.

Для активации иммуносорбента (96-луночный планшет из модифицированного полистирола, международная классификация «Maxisorp») наиболее эффективным оказалось использование карбонатного буферного раствора с последующей блокировкой свободных участков пластика на поверхности лунок планшета раствором казеина и сахарозы. При получении конъюгата МКА-биотин применена рутинная процедура биотинилирования [13]. Для подбора оптимальной концентрации МКА в иммуносорбенте и в биотинилированном конъюгате с целью выявления специфичного сигнала при низких концентрациях антигена вируса ККГЛ для каждого из трех вариантов МКА  $3H_6/F_2$ ,  $1E_2/E_5$ ,  $4G_4/V_6$  были приготовлены по четыре 10-кратных разведения.

На первой стадии ИФА исходные образцы референс-панели разводили в 100 раз раствором Трис-ЭДТА с добавлением Тритона X-100 и инкубировали 1 ч при  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ . После пятикратной отмывки фосфатно-солевым буферным раствором с добавлением Твин-20 в лунки планшета вносили биотинилированный конъюгат и инкубировали 1 ч при  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Затем после аналогичной отмывки в лунки планшета вносили раствор СПХ и инкубировали 1 ч при  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ . На стадии визуализации иммунных комплексов в лунки планшета вносили раствор хромогена и инкубировали 15 мин при  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Результаты учитывали при длине волны поглощения 450 нм. Для каждого значения ОП положительных образцов (№ 1–3) определяли коэффициент позитивности (Кпоз) как отношение ОП (положительного образца) к ОП (отрицательного контроля № 4) в каждой точке разведения МКА иммуносорбента и биотинилированного конъюгата. Эффективность выявления антигенов вируса ККГЛ оценивали по максимальному Кпоз.

Как видно из таблицы, максимально эффективное выявление для трех исследованных образцов антигенов возможно при использовании МКА  $3H_6/F_2$  в качестве антител первого порядка, осуществляющих функцию захвата искомого антигена при условии внесения в каждую лунку планшета по 0,15 мкг этого образца и применения МКА  $4G_4/V_6$  в качестве биотинилированного детектирующего антитела в конечной концентрации 1,5 мкг/мл. Перспективным следует считать также использование биотинилированного МКА  $1E_2/E_5$  ввиду его потенциального сродства с эпитопами антигена № 1.

Полученные данные явились основанием для подготовки пакета нормативной документации на медицинское изделие – набор реагентов для иммуноферментного выявления антигенов вируса ККГЛ.

Сырьем для изготовления экспериментальных препаратов для МФА служили образцы четырех ва-

Оценка эффективности выявления антигенов ККГЛ в ИФА

МКА, сорбированные на пластике	Разведение, кг/мл	Результаты ИФА, выраженные в единицах коэффициента позитивности (Кпоз), равного отношению ОП положительных образцов (№ 1–3) к ОП отрицательного контроля (№ 4)								
		Конъюгаты детектирующих биотинилированных МКА *								
		1E2/E5			3H6/F2			4G4/B6		
		Номера антигенов								
		1	2	3	1	2	3	1	2	3
1E2/E5	150	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,9	1,0	1,1	1,0
	15	1,3	1,1	0,8	1,0	1,0	0,9	1,0	0,8	1,0
	1,5	<b>3,0</b>	0,3	0,7	1,2	0,8	1,0	0,8	1,0	1,0
	0,15	<b>4,1</b>	1,9	0,2	0,9	0,8	0,7	0,4	0,7	0,7
3H6/F2	150	1,1	1,1	1,1	1,0	1,1	0,9	1,1	1,1	1,1
	15	1,2	0,9	0,9	1,0	1,1	0,9	0,9	1,0	0,9
	1,5	<b>2,7</b>	0,9	1,0	1,2	0,9	0,9	<b>12,9</b>	<b>13,0</b>	<b>13,0</b>
	0,15	1,5	1,0	0,9	0,9	0,9	0,8	0,5	0,9	1,2
4G4/B6	150	1,2	1,1	1,1	1,1	1,0	1,0	1,1	1,0	1,0
	15	1,5	1,1	1,1	1,4	1,1	1,2	1,2	1,1	1,0
	1,5	<b>3,8</b>	0,6	1,1	1,1	0,7	0,8	0,9	1,1	1,0
	0,15	<b>3,3</b>	1,6	1,6	1,2	1,1	0,9	0,5	0,8	0,9

\*Концентрация биотинилированных МКА 1,5 мкг/мл.

Примечания: антиген № 1 – рекомбинантный белок, содержащий аминокислотные последовательности, аналогичные белкам вируса ККГЛ изолят «1–2»; антиген № 2 – рекомбинантный белок, содержащий аминокислотные последовательности, аналогичные белкам вируса ККГЛ изолят «3»; антиген № 3 – природный неочищенный вирус ККГЛ.

риантов МКА (2G<sub>1</sub>/B<sub>3</sub>, 4G<sub>4</sub>/D<sub>1</sub>, 4F10/C<sub>10</sub> и 5E<sub>4</sub>/G<sub>6</sub>), накопленных *in vivo*. Параметры качества конъюгатов, приготовленных на их основе (концентрация белка – 4–6 мг/мл, показатель M<sub>ФИТЦ</sub>/M<sub>белок</sub> – 4–5), соответствовали требованиям, предъявляемым к препаратам, изготавливаемым на основе моноклональных иммуноглобулинов. Наибольшей специфической активностью при окрашивании контрольных мазков обладал образец иммуноглобулинов флуоресцирующих моноклональных 4G<sub>4</sub>/D<sub>1</sub> с рабочим разведением 1:16.

Для проверки диагностических возможностей экспериментального препарата были изучены обеззараженные парные мазки-отпечатки кусочков органов шести умерших пациентов (легкое, печень, селезенка, почка, головной мозг), приготовленные из проб биологического материала, поступавшего на исследование методом ПЦР и подтверждение диагноза КГЛ. Отпечатки, расположенные на стекле слева, окрашивали смесью конъюгата 4G<sub>4</sub>/D<sub>1</sub> и БСА, меченного родамином, справа – только БСА, меченного родамином. Положительные результаты были получены при просмотре мазков-отпечатков пяти пациентов, отрицательные – при просмотре биологического материала одного умершего пациента. Следует отметить, что полученный результат полностью совпал с результатами ПЦР. Эти данные свидетельствовали о том, что моноклональные иммуноглобулины 4G<sub>4</sub>/D<sub>1</sub> пригодны для изготовления на их основе диагностического препарата для МФА, а также о возможности эффективного использования данного метода при работе с пробами биологического материала лихорадящих больных, умерших пациентов и лиц с неустановленным диагнозом, предположительно заболевших КГЛ.

Таким образом, получена коллекция гибридом-продуцентов специфических иммуноглобулинов, взаимодействующих с антигенами вируса ККГЛ, изучены диагностические возможности девяти вариантов МКА. Получены доказательства эффективности применения трех вариантов МКА (4G<sub>4</sub>, 3H<sub>6</sub> и 1E<sub>2</sub>) в качестве основы для изготовления иммунодиагностических средств обнаружения и идентификации вируса ККГЛ в исследуемом материале.

Штаммы гибридных культивируемых клеток животных *Mus musculus* ССНФVd-1 (4G<sub>4</sub>/B<sub>6</sub>), ССНФVd-2 (1E<sub>2</sub>/E<sub>3</sub>), ССНФVd-3 (3H<sub>6</sub>/F<sub>2</sub>) депонированы в Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболensk». В 2013 г. на них поданы три заявки на изобретения. Кроме того, подготовлен пакет нормативной документации на медицинское изделие «набор реагентов для иммуноферментного выявления антигенов вируса ККГЛ в жидкостях».

Работа выполнена по государственным контрактам № 42-Д/3 от 11.07.2012 г. и № 23-Д/5 от 04.09.2013 г. в рамках реализации федеральной целевой программы «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации (2009–2014 годы)» в 2012–2013 гг.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Волынкина А.С., Котенев Е.С., Малецкая О.В., Заикина И.Н., Шапошникова Л.И., Куличенко А.Н. Эпидемиологическая ситуация по Крымской геморрагической лихорадке в Российской Федерации в 2012 г. и прогноз на 2013 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 1:30–3.
2. Гайдамович С.Я., Мельникова Е.Э., Шуткова Т.М.,

Новохатский А.С., Турчинская А.Л. Характеристика моноклональных антител, индуцированных вирусом Крымской геморрагической лихорадки. *Вопр. вирусол.* 1989; 34(2):201–4.

3. Куличенко А.Н., Малецкая О.В., Василенко Н.Ф., Бейер А.П., Санникова И.В., Пасечников В.Д., Ковальчук И.В., Ермаков А.В., Бутаев Т.М., Смирнова С.Е., Карань Л.С., Малеев В.В., Платонов А.Е. Крымская геморрагическая лихорадка в Евразии в XXI веке: эпидемиологические аспекты. *Эпидемиол. и инф. бол. Акт. вopr.* 2012; 3:42–53.

4. Кэйти Д., редактор. Антитела. Методы. Кн. 2. М.: Мир; 1991. 384 с.

5. Международные медико-санитарные правила (2005 г.). 2-изд. ВОЗ. 2008. 90 с.

6. Онищенко Г.Г., редактор. Специфическая индикация патогенных биологических агентов. Практическое руководство. М.: 2006. 288 с.

7. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней. Практическое руководство. М.: Медицина, Шико; 2009. 472 с.

8. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики Крымской геморрагической лихорадки для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней. МУК 4.2.3007-12. М.; 2012.

9. Санитарная охрана территории Российской Федерации. СП 3.4.2318-08. М.; 2008.

10. Смирнова С.Е. Мировой ареал вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки. *Бюл. сибирской медицины.* 2006; Приложение 1:79–87.

11. Blackburn N.K., Besselaar T.G., Shepherd A.J., Swanepoel R. Preparation and use of monoclonal antibodies for identifying Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1987; 37(2):392–7.

12. Goding J.W. Monoclonal antibodies: principles and practice. 2nd ed. London: Acad. Press Inc.; 1986. P. 59–103.

13. Liu V., Green A. A. Monoclonal-antibody enzyme immunoassay for detection of hepatitis B surface antigen with use of a biotin-avidin system. *Clin. Chemistry.* 1985; 31(2):202–5.

14. Marriott A.C., Polyzoni T., Antoniadis A., Nuttall P.A. Detection of human antibodies to Crimean-Congo haemorrhagic fever virus using expressed viral nucleocapsid protein. *J. Gen. Virol.* 1994; 75:2157–61.

15. Saijo M., Tang Q., Shimay B., Han L., Zhang Y., Asiguma M., Tianshu D., Maeda A., Kurane I., Morikawa S. Antigen-capture enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of crimean-congo hemorrhagic fever using a novel monoclonal antibody. *J. Med. Virol.* 2005; 77(1):83–8.

#### References

1. Volynkina A.S., Kotenev E.S., Maletskaya O.V., Zaikina I.N., Shaposhnikova L.I., Kulichenko A.N. [Epidemiological situation on Crimean-Congo hemorrhagic fever in the Russian Federation in 2012 and prognosis for 2013]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 1:30–3.

2. Gaidamovich S.Ya., Mel'nikova E.E., Shutkova T.M., Novokhatsky A.S., Turchinskaya A.L. [Characterization of monoclonal antibodies induced by Crimean hemorrhagic fever virus]. *Vopr. Virusol.* 1989; 34(2):201–4.

3. Kulichenko A.N., Maletskaya O.V., Vasilenko N.F., Beyer A.P., Sannikova I.V., Pasechnikov V.D., Koval'chuk I.V., Ermakov A.V., Butaev T.M., Smirnova S.E., Karan' L.S., Maleev V.V., Platonov A.E. [Crimean hemorrhagic fever in Eurasia in the XXI century: epidemiological aspects]. *Epidemiol. Infek. Bol. Actualn. Vopr.* 2012; 3:42–53.

4. Katty D., editor. [Antibodies. Methods]. Vol. 2. M.: Mir; 1991. 384 p.

5. [International Health Regulations (2005)]. 2-nd edition. WHO; 2008. 90 p.

6. Onishchenko G.G., editor. [Specific Indication of Pathogenic Biological Agents. Practical Guidelines]. M.: 2006. 288 p.

7. Onishchenko G.G., Kuttyrev V.V., editors. [Laboratory Diagnostics of Dangerous Infectious Diseases. Practical Guidelines]. M.: Meditsina. Shiko; 2009. 472 p.

8. [Order for organizing and conducting laboratory diagnostics of Crimean hemorrhagic fever in the laboratories of territorial, regional, and federal level. Methodological Regulations]. MR 4.2.3007-12. M.; 2012.

9. [Sanitary Protection of the Territory of the Russian Federation]. SR 3.4.2318-08. M.; 2008.

10. Smirnova S.E. [Global area of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus]. *Byul. Sibir. Meditsiny.* 2006; (Appendix 1):79–87.

11. Blackburn N.K., Besselaar T.G., Shepherd A.J., Swanepoel R. Preparation and use of monoclonal antibodies for identifying Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1987; 37(2):392–7.

12. Goding J.W. Monoclonal antibodies: principles and practice. 2nd ed. London: Acad. Press Inc.; 1986. P. 59–103.

13. Liu V., Green A. A. Monoclonal-antibody enzyme immunoassay for detection of hepatitis B surface antigen with use of a biotin-avidin system. *Clin. Chemistry.* 1985; 31(2):202–5.

14. Marriott A.C., Polyzoni T., Antoniadis A., Nuttall P.A. Detection of human antibodies to Crimean-Congo haemorrhagic fever virus using expressed viral nucleocapsid protein. *J. Gen. Virol.* 1994; 75:2157–61.

15. Saijo M., Tang Q., Shimay B., Han L., Zhang Y., Asiguma M., Tianshu D., Maeda A., Kurane I., Morikawa S. Antigen-capture enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of crimean-congo hemorrhagic fever using a novel monoclonal antibody. *J. Med. Virol.* 2005; 77(1):83–8.

#### Authors:

Khrapova N.P., Antonov V.A., Bulatova T.V., Pimenova E.V., Korsakova I.I., Gloseev Yu.A. Volgograd Research Anti-Plague Institute, 7, Golubinskaya St., Volgograd, 400131, Russian Federation. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru

P'yankov O.V., P'yankov S.A., Seregin S.V., Plyasunov I.V., Safronov P.F., Petrov V.S., Agafonov A.P., Sergeev A.N. State Research Centre of Virology and Biotechnology "Vector". Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru

Dyatlov I.A., Shemyakin I.G., Belova E.V. State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology. Obolensk, Moscow Region, 142279, Russian Federation. E-mail: info@obolensk.org

#### Об авторах:

Храпова Н.П., Антонов В.А., Булатова Т.В., Пименова Е.В., Корсакова И.И., Голосеев Ю.А. Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 400131, Волгоград, ул. Голубинская, 7. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru

Пьянков О.В., Пьянков С.А., Серегин С.В., Плясунов И.В., Сафронов П.Ф., Петров В.С., Агафонов А.П., Сергеев А.Н. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., п. Кольцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru

Дятлов И.А., Шемякин И.Г., Белова Е.В. Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии. Российская Федерация, 142279, Московская обл., п. Оболensk. E-mail: info@obolensk.org

Поступила 04.09.14.

### ПАМЯТИ ВЛАДИМИРА ИВАНОВИЧА ИЛЮХИНА



26 января 2015 г. на 74-м году жизни скончался Илюхин Владимир Иванович – известный ученый-микробиолог, профессор, доктор медицинских наук, Заслуженный деятель науки Российской Федерации. Свыше 40 лет своей жизни Владимир Иванович проработал в Волгоградском научно-исследовательском противочумном институте. Он был высококвалифицированным специалистом в области микробиологии и иммунологии особо опасных инфекций – сапа и мелиоидоза. Владимир Иванович защитил докторскую диссертацию, ему было присвоено ученое звание профессора, почетное звание «Заслуженный деятель науки Российской Федерации». Им было опубликовано свыше 200 научных работ и подготовлено 30 патентов на изобретения.

Высокий профессионализм, уникальная трудо-

способность, принципиальность и порядочность в отношениях с людьми принесли Владимиру Ивановичу заслуженную известность и уважение медицинской и научной общественности как в нашей стране, так и за рубежом. Под его руководством подготовлено 18 диссертаций (в том числе 3 докторских), и мы верим, что его научные достижения найдут свое развитие в работах его многочисленных учеников и последователей.

За трудовые и научные достижения Владимир Иванович Илюхин награжден орденом «Знак Почета» и нагрудным знаком «Почетный работник госанэпидслужбы Российской Федерации».

В лице Владимира Ивановича Илюхина противочумная служба страны потеряла прекрасного ученого, талантливого организатора, обаятельного, интеллигентного человека.

Редакционная коллегия и редакционный совет журнала выражают искреннее соболезнование семье и близким покойного, его друзьям и соратникам. В нашей памяти Владимира Ивановича навсегда останется талантливым ученым, мудрым педагогом и прекрасным человеком.