

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 4

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.Караваяева (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.Щербаклова, докт. биол. наук
Т.Н.Щуковская, докт. мед. наук, профессор

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

С.В.Балахонков, докт. мед. наук, профессор (Иркутск)
В.Е.Безмертный, канд. мед. наук (Москва)
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 4

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 V.P., Doctor of Medical Science, Professor
Shcherbakova S.A., Doctor of Biological Science
Shchukovskaya T.N., Doctor of Medical Science, Professor

Editorial Council

Balakhonov S.V., Doctor of Medical Science, Professor (Irkutsk)
Bezsmertny V.E., Candidate of Medical Science (Moscow)
Bondarev V.P., Doctor of Medical Science, Professor (Moscow)
Borisevich S.V., Doctor of Biological Science, Professor (Sergiev Possad)
Gintsburg 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)
Toporkov A.V., Doctor of Medical Science (Volgograd)

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. 4. 1–108

Редакторы Е.С.Герасимова, Т.А.Поришкова. Технический редактор Т.К.Меркулова. Перевод на английский Т.Б.Караваяевой, А.П.Рыжовой

Подписано в печать 03.12.15. Формат 60×88 1/8. Бумага мелованная. Печать офсетная. Усл. печ. л. 13,2. Гарнитура Таймс. Заказ 954
Журнал отпечатан в типографии ООО «ИППОЛит-XXI век». 410012, Саратов, Б. Казачья, 79/85

Эпидемиология

- Арутюнов Ю.И., Москвитина Э.А., Ковалева Т.В.** Болезнь, вызванная вирусом Эбола, и развитие эпидемии в странах Западной Африки в 2014 г. (обзор) 5
- Бачинский А.Г., Низоленько Л.Ф.** Оценка влияния мер противодействия на последствия локальных эпидемий, вызываемых возбудителями особо опасных инфекций: коллективный иммунитет 10
- Зверева Т.В., Алленов А.В., Никитин А.Я.** Видовые особенности контактов иксодовых клещей с человеком на юге Приморского края 14
- Ибрагимов Э.Ш.** Неспецифическая профилактика в Тянь-Шанском высокогорном природном очаге чумы: прошлое и настоящее 18
- Кутырев В.В., Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Пакскина Н.Д., Безсмертный В.Е., Топорков В.П., Попов Н.В., Кабин В.В., Яшкуллов К.Б., Бамматов Д.М., Ковтунов А.И., Санджиев Д.Н., Зенкевич Е.С., Гражданов А.К., Матросов А.Н., Кузнецов А.А., Шарова И.Н., Лопатин А.А., Григорьев М.П., Куличенко А.Н.** Обеспечение эпидемиологического благополучия по чуме в условиях обострения эпизоотической обстановки в Прикаспийском песчаном природном очаге в 2014 г. 22
- Матросов А.Н., Синцов В.К., Манджиева В.С., Голосовский С.М., Ким Т.С., Лешук В.А., Кузнецов А.А., Поршаков А.М., Яковлев С.А., Удовиков А.И., Лейнерт А.Ю., Чекашов В.Н., Шилов М.М., Шарова И.Н., Куклев В.Е., Казорина Е.В., Гражданов А.К., Лопатин А.А., Скаленко С.Ю., Князева Т.В., Троицкая А.А., Давыдова Т.П., Агапов Б.Л., Кабин В.В., Санджиев В.Б.-Х., Яшкуллов К.Б., Халидов А.Х., Хасаев С.М., Бамматов Д.М., Попов Н.В., Кутырев В.В.** Условия активизации эпизоотий чумы в Прикаспийском песчаном природном очаге в 2014 г. 30
- Онищенко Г.Г., Пяташина М.А., Карнаухов И.Г., Зиятдинов В.Б.** Структура взаимодействия территориально закрепленных органов и учреждений и мобильных комплексов экстратерриториального назначения при предупреждении и ликвидации последствий ЧС санитарно-эпидемиологического характера (на примере Универсиады-2013) 36
- Полищук М.В., Данилина Л.Н., Болдырева В.В., Здольник Т.Д.** Характеристика заболеваемости населения Тульской области природно-очаговыми инфекционными болезнями 41
- Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Куличенко А.Н., Рязанова А.Г., Ефременко Д.В., Кузнецова И.В., Дикова С.П., Волынкина А.С., Лисицкая Я.В., Казакова Е.С., Портенко С.А., Красовская Т.Ю., Шарова И.Н., Куклев В.Е., Сафронов В.А., Раздорский А.С., Карнаухов И.Г.** Итоги работы СПЭБ Роспотребнадзора по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия в период летней оздоровительной кампании 2014 г. в Крымском федеральном округе 45
- Яковлев Э.А., Борисевич С.В., Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В.** Заболеваемость лихорадкой Ку в Российской Федерации и странах Европы: реалии и проблемы.... 49

Epidemiology

- Arutyunov Yu.I., Moskvitina E.A., Kovaleva T.V.** Ebola Virus Disease and Epidemic Development in the West-African Countries in 2014 (Review) 5
- Bachinsky A.G., Nizolenko L.F.** Assessment of the Impact of Response Activities to the Aftermaths of Local Epidemics, Caused by the Agents of Particularly Dangerous Infections: Community Immunity 10
- Zvereva T.V., Allenov A.V., Nikitin A.Ya.** Species Determined Peculiarities of the Tick-Man Contacts in the South of the Primorsky Territory 14
- Ibragimov E.Sh.** Non-Specific Prophylaxis in the Tien Shan High-Mountain Natural Plague Focus: Past and Present 18
- Kutyrev V.V., Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Pakskina N.D., Bezsmertny V.E., Toporkov V.P., Popov N.V., Kabin V.V., Yashkulov K.B., Bammатов D.M., Kovtunov A.I., Sandzhiev D.N., Zenkevich E.S., Grazhdanov A.K., Matrosov A.N., Kuznetsov A.A., Sharova I.N., Lopatin A.A., Grigor'ev M.P., Kulichenko A.N.** Provision of Epidemiological Welfare on Plague under Aggravation of Epizootic Situation in the Pre-Caspian Sandy Natural Plague Focus in 2014 22
- Matrosov A.N., Sintsov V.K., Mandzhieva V.S., Golosovsky S.M., Kim T.S., Leshchuk V.A., Kuznetsov A.A., Porshakov A.M., Yakovlev S.A., Udobikov A.I., Leinert A.Yu., Chekashov V.N., Shilov M.M., Sharova I.N., Kulev V.E., Kazorina E.V., Grazhdanov A.K., Lopatin A.A., Skalenko S.Yu., Knyazeva T.V., Troitskaya A.A., Davydova T.P., Agapov B.L., Kabin V.V., Sandzhiev V.B.-Kh., Yashkulov K.B., Khalidov A.Kh., Khasaev S.M., Bammатов D.M., Popov N.V., Kutyrev V.V.** Factors that Predetermined Activation of Plague Epizootics in the Pre-Caspian Sandy Natural Focus in 2014 30
- Onishchenko G.G., Patyashina M.A., Karnaukhov I.G., Ziatdinov V.B.** Structure of Interaction between the Territorial Agencies and Institutions and Extraterritorial Mobile Complexes in the Course of Prevention and Response to Emergency Situations of Sanitary-Epidemiological Character (by the Example of Universiade, 2013) 36
- Polishchuk M.V., Danilina L.N., Boldyreva V.V., Zdol'nik T.D.** Specification of Morbidity Rates among the Population of the Tula Region as Regards Natural-Focal Infectious Diseases 41
- Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Kulichenko A.N., Ryazanova A.G., Efremenko D.V., Kuznetsova I.V., Dikova S.P., Volynkina A.S., Lisitskaya Ya.V., Kazakova E.S., Portenko S.A., Krasovskaya T.Yu., Sharova I.N., Kulev V.E., Safronov V.A., Razdorsky A.S., Karnaukhov I.G.** Results of Work of the Rospotrebnadzor SAET on the Provision of Sanitary Epidemiological Welfare of the Population during the Summer Health-Promotion Campaign, 2014 in the Crimean Federal District 45
- Yakovlev E.A., Borisevich S.V., Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V.** Morbidity Rates of Q Fever in the Russian Federation and European Countries: Realities and Problems 49

Микробиология

- Евсеева В.В., Платонов М.Е., Дентовская С.В., Анисимов А.П. Типирование *Yersinia pseudotuberculosis* с помощью мультислокового анализа варибельного числа tandemных повторов 55
- Ерошенко Г.А., Краснов Я.М., Носов Н.Ю., Куклева Л.М., Никифоров К.А., Оглодин Е.Г., Кутырев В.В. Совершенствование подвидовой классификации *Yersinia pestis* на основе данных полногеномного секвенирования штаммов из России и сопредельных государств 58
- Заднова С.П., Кульшань Т.А., Челдышова Н.Б., Крицкий А.А., Плеханов Н.А., Смирнова Н.И. Сравнительный анализ выживаемости типичных штаммов и штаммов геновариантов *Vibrio cholerae* биовара эль тор *in vitro* и *in vivo* 65
- Казорина Е.В., Красовская Т.Ю., Найденова Е.В., Казанцев А.В., Калинина Е.Н., Федотов Э.А., Щербаклова С.А. Изучение возможности гемотрансфузионной передачи вируса Западного Нила на территории Саратовской области... 70
- Лукин Е.П. Вирус Нипа – возбудитель опасной инфекционной болезни 74
- Оглодин Е.Г., Ерошенко Г.А., Куклева Л.М., Одинокоев Г.Н., Гусева Н.П., Бугоркова С.А., Кутырев В.В. Структурно-функциональный анализ криптических плазмид штаммов *Yersinia pestis* из двух природных очагов чумы России 82
- Сергеев А.А., Кабанов А.С., Булычев Л.Е., Пьянков О.В., Сергеев А.А., Боднев С.А., Горбатовская Д.О., Замедьянская А.С., Шишкина Л.Н., Агафонов А.П., Сергеев А.Н. Диссеминация вируса оспы обезьян при интраназальном инфицировании мышей 86
- Соловьев Е.А., Саяпина Л.В., Осина Н.А., Давыдов Д.С., Бондарев В.П. Характеристика фенотипических и генетических свойств вакцинного штамма *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ с длительными сроками хранения 91
- Ульшина Д.В., Ковалев Д.А., Бобрышева О.В., Лямкин Г.И., Худолеев А.А., Сирица Ю.В., Куличенко А.Н. Разработка алгоритма идентификации культур возбудителя бруцеллеза методом MALDI-TOF масс-спектрометрии... 96

Биотехнология, иммунология

- Комиссаров А.В., Еремин С.А., Волох О.А., Громова О.В., Алешина Ю.А., Кузнецова Е.М., Авдеева Н.Г., Ливанова Л.Ф., Никифоров А.К. Совершенствование технологии получения В-субъединицы холерного токсина 100
- Шиленко И.В., Ярков С.П., Шаулина Е.К., Титов А.А., Бровкина А.Н., Храмов Е.Н. Разработка мультианалитного иммунохроматографического устройства для индикации токсинов 103

Рецензия

- Балахонков С.В. Рецензия на коллективную монографию под редакцией академика РАН Г.Г.Онищенко, профессора А.Н.Куличенко «XXII Олимпийские зимние игры и XI Паралимпийские зимние игры 2014 года в г. Сочи. Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия» 107

Памяти коллеги

- Памяти Валентины Евдокимовны Тарасовой 108

Microbiology

- Evseeva V.V., Platonov M.E., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P. *Yersinia pseudotuberculosis* Typing Using Multi-Locus Variable-Number Tandem Repeat Analysis

- Eroshenko G.A., Krasnov Ya.M., Nosov N.Yu., Kukleva L.M., Nikiforov K.A., Oglochin E.G., Kutyrev V.V. Updating of Intra-Specific *Yersinia pestis* Classification, Based on the Results of Whole-Genome Sequencing of the Strains from the Russian Federation and the Neighboring States

- Zadnova S.P., Kul'shan' T.A., Cheldyshova N.B., Kritsky A.A., Plekhanov N.A., Smirnova N.I. Comparative Analysis of Survival Capacity among Typical and Genovariant Strains of *Vibrio cholerae*, Biovar El Tor *in vivo* and *in vitro*

- Kazorina E.V., Krasovskaya T.Yu., Naidenova E.V., Kazantsev A.V., Kalinina E.N., Fedotov E.A., Shcherbakova S.A. Feasibility Study on Hemotransfusion Transmission of West Nile Fever Virus in the Territory of the Saratov Region

- Lukin E.P. Nipah Virus – Agent of Infectious Dangerous Disease

- Oglochin E.G., Eroshenko G.A., Kukleva L.M., Odiokov G.N., Guseva N.P., Bugorkova S.A., Kutyrev V.V. Structural-Functional Analysis of Cryptic Plasmids in *Yersinia pestis* Strains from Two Natural Plague Foci of Russia

- Sergeev A.A., Kabanov A.S., Bulychev L.E., P'yankov O.V., Sergeev A.A., Bodnev S.A., Gorbatskovskaya D.O., Zamedyanskaya A.S., Shishkina L.N., Agafonov A.P., Sergeev A.N. Monkeypox Virus Dissemination in Case of Intranasal Infection of Mice

- Solov'ev E.A., Sayapina L.V., Osina N.A., Davydov D.S., Bondarev V.P. Characteristics of Phenotypic and Genetic Properties of *Francisella tularensis* 15 NIEG Vaccine Strain with an Extended Storage Period

- Ul'shina D.V., Kovalev D.A., Bobrysheva O.V., Lyamkin G.I., Khudoleev A.A., Siritsa Yu.V., Kulichenko A.N. Development of Algorithm for Identification of Brucellosis Agent Cultures Using MALDI-TOF Mass-Spectrometry

Biotechnology, Immunology

- Komissarov A.V., Eremin S.A., Volokh O.A., Gromova O.V., Alechina Yu.A., Kuznetsova E.M., Avdeeva N.G., Livanova L.F., Nikiforov A.K. Improvement of Technology of Cholera Toxin B-Subunit Production

- Shilenko I.V., Yarkov S.P., Shaulina E.K., Titov A.A., Brovkina A.N., Khramov E.N. Development of Multi-Analytical Immune-Chromatographic Device for Toxin Indication

Book Review

- Balakhonov S.V. Book Review on collective monograph edited by RAS Academician G.G.Onishchenko, professor A.N.Kulichenko "XXII Olympic Winter Games and XI Paralympic Winter Games, 2014, in Sochi. Provision of Sanitary and Epidemiologic Well-Being"

Revering the Memory of the Colleague

- Of blessed memory of Valentina E. Tarasova

Ю.И.Арутюнов, Э.А.Москвитина, Т.В.Ковалева**БОЛЕЗНЬ, ВЫЗВАННАЯ ВИРУСОМ ЭБОЛА, И РАЗВИТИЕ ЭПИДЕМИИ
В СТРАНАХ ЗАПАДНОЙ АФРИКИ В 2014 г. (ОБЗОР)***ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт», Ростов-на-Дону,
Российская Федерация*

В обзоре отражено развитие эпидемии, вызванной вирусом Эбола, в странах Западной Африки – Либерия, Сьерра-Леоне, Нигерия, Сенегал, Мали. Рассмотрена также эпидемия в Демократической Республике Конго, не связанная с отмеченными вспышками. Прослежены пути распространения и завозные случаи (контролируемые и неконтролируемые) в страны Европы и Америки. Проанализированы причины осложнений, с которыми пришлось столкнуться при ликвидации эпидемий, и причины, способствующие широкому распространению инфекции.

Ключевые слова: лихорадка Эбола, эпидемиология, эпидемия лихорадки Эбола в Африке.

Yu.I.Arutyunov, E.A.Moskvitina, T.V.Kovaleva**Ebola Virus Disease and Epidemic Development in the West-African Countries in 2014 (Review)***Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation*

The review presents the data on the development of epidemic caused by Ebola virus in the West-African countries – Liberia, Sierra Leone, Nigeria, Senegal, and Mali. Analyzed is also an epidemic in the Democratic Republic of the Congo, unrelated to the mentioned above outbreaks. Traced have been the chains of transmission and import of the disease (under control and out-of-control) into European and American states. Assessed are the premises for complications faced in the course of epidemic response, and the factors contributing to the wide spread of the infection.

Key words: Ebola fever, epidemiology, epidemic of Ebola fever in Africa.

Лихорадка Эбола – природно-очаговая инфекция, вызываемая вирусом семейства *Filoviridae* рода *Ebolavirus*, которое включает представителей нескольких видов.

До недавнего времени вирулентные для человека виды вируса Эбола не покидали пределов Африканского континента. Впервые патогенный вариант вируса был завезен больным в ЮАР из Габона. Подтип *Reston* обнаружен у обезьян Индонезии, Бангладеш, Филиппин, Папуа – Новая Гвинея [1].

Разразившаяся в 2014 г. эпидемия болезни, вызванной вирусом Эбола (БВВЭ), охватила ряд стран Западной Африки (Гвинея, Либерия, Сьерра-Леоне). Эпидемия началась в Гвинее в конце 2013 г., но о вспышке объявили лишь 23 марта 2014 г., когда лаборатория, сотрудничающая с ВОЗ, выделила и идентифицировала вирус [17]. Исследованы 12 проб от больных с подозрением с помощью ОТ-ПЦР, в 6 случаях установлено заражение вирусом Эбола. Секвенирование фрагмента L гена вируса показало сходство с подтипом *Zair*. В этот период в стране, помимо эпидемии, вызванной вирусом Эбола, зарегистрированы эпидемии холеры, кори и менингита. Источник инфекции не установлен, первые случаи болезни (декабрь 2013 г.) не проанализированы. Среди прочих мер предупреждения распространения БВВЭ введен запрет на продажу и потребление в пищу мяса летучих мышей, считающихся главным

источником вируса. В конце мая больные выявлены в Guekedu, Macenta, Конакри, Kissidougou, Dabda, Djinguiraye, Telimele, Boffa, Boko, Dubreka, а 20 сентября в новом районе – Kindia.

Проблема в борьбе с эпидемией состояла в том, что многие семьи не предоставляли сведений о больных, прятали их, лечили в соответствии с местными традициями. Для более действенной борьбы с эпидемией стали создавать комитеты наблюдения, в состав которых входили 5 человек: молодой человек, женщина, местный целитель, религиозный деятель, представитель службы здравоохранения [3].

Второй вовлеченной в эпидемию страной была Либерия, где случаи болезни отмечены в конце марта 2014 г. Из первых 8 больных с клиникой, похожей на БВВЭ, 2 подтвержденных случая были из округа Lofa. В Северной Либерии в Voinjama (округ Lofa) умерло 5 человек, приехавшие лечиться из Южной Гвинеи, т.к. медицинские учреждения Либерии были ближе и доступнее для гвинейцев, проживающих в приграничных районах [3]. Болезнь распространялась вдоль границы Гвинеи с Либерией, в поселках и городах, близких к гвинейским городам Guekedou, Nzerekore, Kissidougou, Macenta [4]. К 10 апреля МЗ Либерии сообщило о выявленных подозрительных, подтвержденных больных и умерших в округах Lofa, Bong, Nimba, Montserrado, Grand Cape Mount, Margibi, а к 19 октября все административные райо-

ны, кроме одного, уже сообщили хотя бы об одном случае БВВЭ [7, 8, 13].

В августе в Либерии заболел и умер 75-летний священник. Это был первый европеец, заразившийся и умерший от БВВЭ. Президент страны издала указ о кремации умерших от БВВЭ, что вызвало недовольство населения. Во-первых, кремация не в традициях страны; во-вторых, стали кремировать умерших от болезней, не связанных с вирусом Эбола. Это повлекло за собой тайные захоронения, сокрытие случаев болезни [16].

Оптимально реагировать на вспышку болезни, вызванной вирусом Эбола, в Либерии оказалось затруднительно из-за плохой координации действий и серьезных разногласий между официальными лицами страны, спонсорами и организациями, ведущими борьбу с эпидемией [4]. Тем не менее, отмечено, что либерийцы стали соблюдать меры предосторожности в общении с больными, меры безопасности при погребении, медработников обеспечили специальным защитными средствами.

В апреле 2014 г. в Сьерра-Леоне в одной семье умерли 2 человека с подозрением на БВВЭ. Больные скончались в Гвинее и их тела перевезли на родину. Неизвестно, обследовались ли скончавшиеся. Однако уже к 25 мая поступило уведомление в ВОЗ об одном подтвержденном и 5 случаях смерти от БВВЭ в Koindu, граничащем с пораженной территорией Gueckedou в Гвинее. Это был первый местный случай в стране, в отличие от двух завозных в апреле. Город Koindu (Восточная провинция) расположен в 70 км от пограничного населенного пункта Gueckedou (Гвинея). Однако прямого пути через границу нет, а Koindu гораздо ближе к границе с Фоуа (Либерия), где в начале апреля выявили смертельный случай БВВЭ. Расследование первого местного случая (апрель 2014 г.) установило, что больная заразилась на похоронах целительницы, лечившей больных, приезжавших из Гвинеи [3]. Это регион, где сходятся границы трех стран – Гвинеи, Либерии и Сьерра-Леоне. К концу октября из 8 районов Гвинеи и Либерии, граничащих с Кот д'Ивуаром, только в двух не зарегистрированы больные [7, 8].

Одна из причин непрекращающейся вспышки – тайные захоронения на кладбище Фритауна. Из-за этого реальное число умерших больше, чем официально сообщалось, а контактировавшие с усопшими оставались вне внимания медицинских работников. Как сообщил служитель кладбища, только за 8 дней было 110 захоронений. В Сьерра-Леоне 2/3 всех случаев происходили во время церемонии похорон (омовение, церемониальное прикосновение к усопшему). Всего одни похороны популярной целительницы в мае стали причиной смерти 365 человек. В трех западноафриканских странах в августе похороны стали причиной смерти в 60 % случаев. К концу октября все административные районы Сьерра-Леоне сообщили хотя бы об одном больном БВВЭ [13]. К 7 декабря Сьерра-Леоне, насчитывавшая приблизительно 50

национальных врачей, потеряла, в результате инфицирования вирусом Эбола, 10 человек [3]. После того, как в один день было подтверждено 8 новых больных БВВЭ на алмазной шахте Копо в Восточном регионе, шахту закрыли и ограничили перемещение жителей. В больнице, не пригодной для лечения БВВЭ, за 11 дней умерли 87 человек.

Нигерия стала четвертой страной, которую поразил вирус Эбола. На борту самолета, совершавшего рейс в Нигерию, у либерийца началась рвота, диарея, поднялась высокая температура. После прилета, 22 июля 2014 г., больного поместили в изолятор, а 25 июля он скончался. Это был первый случай в Нигерии [8]. К 7 сентября в стране зарегистрировано 20 случаев болезни, в т.ч. 8 со смертельным исходом. Четко прослеживалась связь всех инфицированных и контактировавших (более 400 человек) с первым больным. Вспышка лихорадки Эбола объявлена завершенной 19 октября с итоговым числом больных 20, 8 из них умерли (летальность 40 %) [5, 8]. В Сенегале единственный случай БВВЭ связывают с гвинейским студентом, которого изолировали 29 августа 2014 г. Диагноз лабораторно подтвержден 31 августа. Страна объявлена свободной от БВВЭ 17 октября.

Такое развитие эпидемии послужило основанием для того, чтобы 8 августа 2014 г., в соответствии с положением ММСП (2005), объявить вспышку чрезвычайной ситуацией в области общественного здравоохранения, имеющей международное значение.

Первый больной лихорадкой Эбола в Мали подтвержден 23 октября 2014 г. Мали стала шестой страной в Западной Африке, пораженной эпидемией. В г. Kayes, на западе страны, заболела 2-летняя девочка, которая приехала с бабушкой, 5-летней сестрой и дядей из г. Kissidougou (Гвинея). Мать девочки умерла несколько недель назад, и ребенка привезли в столицу Мали г. Бамако, где в течение 10 дней она оставалась в пригороде Bagdadji до отъезда в Kayes [13]. Девочка скончалась 24 октября. Первой заболевшей БВВЭ в Мали стала 25-летняя медсестра. Она работала в клинике, где ухаживала за больным имамом, приехавшим из пограничного г. Kouremale (Гвинея), который умер 27 октября. Диагноз у больной подтвержден 11 ноября, и в тот же день она скончалась. Имам лабораторно не обследовался. Его тело обмыли в мечети в г. Бамако (Мали) и отправили на погребение в Гвинею без соблюдения мер предосторожности, что послужило причиной инфицирования 8 контактировавших с 6 летальными исходами [18].

На фоне разворачивающихся событий в Западной Африке эпидемия в Демократической Республике Конго оказалась совершенно неожиданной из-за того, что ДРК не имеет границы ни с одним из государств, где разразилась эпидемия. ВОЗ получила уведомление о первом подтвержденном случае болезни 24 августа 2014 г. Последовавшая за этим вспышка локализовалась в деревне Inkanomongo отдаленного округа Jeera, вблизи г. Boende (Экваториальная про-

винция). Болезнь началась традиционно – беременная женщина разделывала тушку обезьяны, которую принес с охоты муж. Заболела 26 июля (высокая температура, диарея, кровотечение), умерла 11 августа. Врач и трое медиков, проводивших посмертное кесарево сечение, заразились и умерли. Инфицировано 9 медработников, 7 из них умерли. Инфекция проникла в деревни Watsi Kengo, Lokolia, Boende, Boende Muke. Все больные и контактировавшие связаны с первым случаем [9].

Проведенное исследование выделенного штамма вируса показало его принадлежность к подтипу *Zair*, однако генетически отличному от вируса Эбола, вызвавшего эпидемию в Западной Африке. Геном вируса из ДРК на 99,2 % идентичен вирусу, вызвавшему вспышку в 1995 г. в г. Kikwit, и только на 96,8 % – штамму из Западной Африки [6]. Пик вспышки пришелся на период с 17 по 24 августа. В период вспышки БВВЭ заболело 66 человек, 49 – умерли (летальность 74,2 %).

На фоне разразившейся в Африке эпидемии зарегистрированы завозы в другие страны мира. Одни из этих случаев были контролируемые (эвакуация заболевших граждан на лечение в страну их гражданства), не вызвавшие местных случаев болезни, другие сопровождались осложнениями, но были вовремя диагностированы, что позволило взять ситуацию под контроль.

Первым больным, у которого лихорадка Эбола проявилась за пределами Африки, был гражданин Д., вылетевший из Либерии 19 сентября 2014 г., прибыл в США 20 сентября без признаков болезни. Первые симптомы появились на 45-й день. Больного поместили в больницу Далласа (штат Техас). В период пребывания в Либерии, за 4 дня до вылета в США, 15 сентября, он сопровождал 19-летнюю больную (MW) вместе с ее родителями в больницу. Несмотря на то, что женщина была на восьмом месяце беременности и у нее были судороги, из-за отсутствия мест ей отказали в госпитализации. Семья забрала ее домой, Д. перенес ее на руках. Дома MW скончалась. У брата больной симптомы появились в то же время, что у Д. в США. В этом же районе умерли 5 человек, эпидемиологически связанные с MW. В Далласе больного Д. выписали из больницы 1 октября, посчитав его зараженным другим вирусом. Хотя он сообщил, что был в Либерии, до врачей не довели положительный результат анализа на БВВЭ. Больной скончался 8 октября [10, 14]. Выяснилось, что при вылете из Либерии, заполняя опросный лист, на вопрос о контактах с больным или трупом он ответил отрицательно [15]. Медицинская сестра, ухаживающая за больным Д., 12 октября оказалась положительной на БВВЭ. Первые симптомы у нее появились 10 октября. Несмотря на то, что она сообщила службе CDC о небольшой температуре, ей разрешили вылететь в Кливленд (штат Огайо).

Врачу-волонтеру, работавшему в Гвинее, 17 октября поставлен диагноз БВВЭ. Он прибыл в Нью-

Йорк и следил за своим самочувствием. Вскоре он сообщил, что в течение двух дней ощущает слабость и появилась небольшая температура. При лабораторном исследовании больной оказался положительным на БВВЭ [14].

Учитывая высокую эпидемиологическую опасность, связанную с потенциальным распространением вируса Эбола, губернаторы ряда штатов ввели активный мониторинг всех прибывающих из Западной Африки. В Нью-Йорке и штате Нью-Джерси введен карантин для медработников, возвращающихся из стран Западной Африки. Эта мера подверглась критике со стороны медиков и групп по защите прав человека. На 1 января 2015 г. США сообщили суммарно о 10 больных, проходивших лечение на территории страны, двое из которых умерли. Последний больной прибыл в США 15 ноября 2014 г. и скончался три дня спустя в медицинском центре Омаха [19].

После смерти испанского священника в Либерии Испания направила медицинский самолет в Сьерра-Леоне, чтобы вывезти заболевшего с подтвержденным диагнозом – миссионера, возглавлявшего больницу в г. Lansar. Священник MGV, 69 лет, скончался в мадридской клинике 25 сентября 2014 г. Он был первым европейцем, перевезенным на родину после инфицирования. Медицинская сестра мадридской клиники заразилась, ухаживая за MGV. Она стала первой заболевшей за пределами Африки. После смерти MGV у медсестры был отпуск. Она связалась с медицинским центром 30 сентября, когда появилась небольшая температура. Лабораторное исследование подтвердило диагноз БВВЭ. Медсестра сообщила, что во время ухода за больным была одета в защитную одежду. Причиной заражения считают нестандартное защитное оснащение [12].

Больная из Норвегии заразилась БВВЭ в Сьерра-Леоне и прошла лечение в клинике Осло препаратами (ZMapp из Канады, Avigan, ТКМ-Ebola), которые не были утверждены к применению в стране, но их использовали, учитывая остроту ситуации. Больная выздоровела [12, 15].

Имели место 3 случая завозов БВВЭ в Германию из Сьерра-Леоне и Либерии [11].

В 2014 г. в Великобритании было двое больных: первая – медсестра – в сентябре, вторая – медсестра, вернувшаяся из Сьерра-Леоне, – в декабре. Ей вводили иммунную сыворотку выздоровевшей первой больной и лечили препаратом «ZMapp» [20].

В странах Западной Африки предлагается мобилизовать выздоровевших для участия в борьбе с инфекцией. Для этого имеется ряд оснований: выздоровевшие устойчивы к вирусу; они ценные доноры крови/плазмы; переболевшие говорят на местном языке, наречии, помогая в общении с населением; излеченные способны организовать положительный отклик населения, могут быть «просветителями» и примером в борьбе с предрассудками [6].

По состоянию на 2 января 2015 г. в результате

эпидемии, вызванной вирусом Эбола, в трех наиболее пораженных странах Западной Африки (Гвинея, Либерия, Сьерра-Леоне) зарегистрировано 20381 больной, 7989 умерших. В этих странах заболело 660 медицинских работников, 375 из них умерло. Заболеваемость/смертность на 100 тыс. населения в Гвинее составила 25/16, Либерии – 203/86, Сьерра-Леоне – 164/48. Заболеваемость среди мужчин и женщин – 74 и 76 на 100 тыс. соответственно. Вероятность заражения вирусом Эбола среди возрастной группы от 15 до 44 лет в три раза выше, чем среди детей (96 и 33 на 100 тыс.); для возрастной группы от 45 лет и старше – в четыре раза выше, чем у детей (122 на 100 тыс.) [19].

Участие российских специалистов в ликвидации БВВЭ в Гвинее, помимо приобретенного опыта в борьбе с этой опасной болезнью, подняло авторитет отечественной науки. Установлено, что вирус, вызвавший эпидемию в Западной Африке, генетически представлен двумя подгруппами, отличающимися наличием четырех сцепленных точечных мутаций. Представители одной подгруппы циркулировали в городах Гекеду, Кисидугу (Гвинея), Кенема (Сьерра-Леоне), другой – в Кенема (Сьерра-Леоне) [2].

Анализируя причины возникновения и распространения эпидемии БВВЭ в странах Западной Африки, можно отметить следующие факторы:

1. Отсутствие настороженности на первых этапах развития эпидемии внутри стран и на приграничных территориях.
2. Беспрепятственный переход границ.
3. Местные традиции и национальные особенности способствовали прогрессирующему развитию эпидемии.
4. Отсутствие подготовленных специалистов.
5. Плохое оснащение клиник, в том числе гарантирующей безопасность защитной одеждой.
6. Отсутствие лечебных и профилактических препаратов.
7. Недостаточный обмен информацией между странами, что особенно проявилось в начале эпидемии.
8. Недостаточно энергичное проведение санитарно-просветительной работы среди населения, которое обращалось не к врачам, а к знахарям.
9. Слабое взаимодействие между государственными службами здравоохранения, правительствами и неправительственными медицинскими службами (ВОЗ, «Врачи без границ» и др.).
10. С самого начала эпидемии следовало перевести медицинский персонал на казарменное положение. Даже зная о высокой опасности вируса, в США это не сделали. Медицинские сестры, контактировавшие с больными, свободно покидали клинику и даже пределы штата.

Вместе с тем усилия ВОЗ, местных органов здравоохранения, неправительственных организаций и волонтеров стали давать свои плоды. Преодолено большинство разногласий, нестыковок и условно-

стей, мешающих проведению противоэпидемических мероприятий. Снижается число инфицированных больных и появилась надежда на то, что эпидемия, вызванная вирусом Эбола в Западной Африке, будет ликвидирована.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Львов Д.К. Геморрагическая лихорадка Эбола. В кн.: Руководство по вирусологии: Вирусы и вирусные инфекции человека и животных. М.: ООО «Изд-во «Медицинское информационное агентство»; 2013. С. 805–7.
2. Попова А.Ю., Сафронов В.А., Магасуба Н.Ф., Уткин Д.В., Одинокоев Г.Н., Пьянков О.В., Сергеев А.С., Боднев С.А., Кабанов А.С., Куклев В.Е., Лопатин А.А., Раздорский А.С., Никифоров К.А., Щербакова С.А., Терновой В.А., Агафонов А.П., Михеев В.Н., Кутырев В.В. Организация и проведение диагностических исследований на базе мобильного комплекса специализированной противоэпидемической бригады в Республике Гвинея в период эпидемии лихорадки Эбола в 2014 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2014; 4:5–8.
3. Baize S., Pannetier D., Oestereich L., Rieger T., Koivogui L., Magassouba N., Soropogui B., Sow M.S., Keita S., De Clerck H., Tiffany A., Dominguez G., Loua M., Thaore A., Kolié M., Malano E.R., Heleze E., Bocquin A., Mély S., Raoul H., Caro V., Cadar D., Gabriel M., Pahlmann M., Tappe D., Schmidt-Chanasit J., Impouma B., Diallo A.K., Formenty P., Van Herp M., Günther S. Emergence of Zaire Ebola virus disease in Guinea. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371(15):1418–25.
4. Chan M. Ebola virus disease in West Africa – No early end to the outbreak. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371(13):1183–5.
5. Del Rio C., Mehta A.K., Lyon G.M., Guarner J. Ebola hemorrhagic fever in 2014: The tale of an evolving epidemic. *Ann. Intern. Med.* 2014; 161(10):746–8.
6. Maganga G.D., Kapetshi J., Berthet N., Ilunga B.K., Kabange F., Kingebeni P.M., Mondonge V., Muyembe J.T., Bertherat E., Brand S., Cabore J., Epelboin A., Formenty P., Kobinger J., González-Angulo L., Labouba I., Manuguerra J., Okwo-Bele J., Dye C., Leroy E.M. Ebola virus disease in the Democratic Republic of Congo. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371(22):2083–91.
7. Ebola virus disease – West Africa (51): Sierra Leone update. Archive number: 20140529.2506848. <http://www.promedmail.org> (дата обращения 29.05.2014).
8. Ebola virus disease – West Africa (101): Nigeria ex Liberia, WHO, Sierra Leone. Archive number: 20140726.2636095. <http://www.promedmail.org> (дата обращения 26.07.2014).
9. Ebola virus disease – Congo DR (10). Archive Number: 20140911.2766072. <http://www.promedmail.org> (дата обращения 11.09.2014).
10. Ebola virus disease – ex Africa (01): USA ex Liberia, WHO. Archive number: 20141001.2823539. <http://www.promedmail.org> (дата обращения 01.10.2014).
11. Ebola virus disease – ex Africa (03): USA ex Liberia, Germany case ex S. Leone. Archive number: 20141003.2830392. <http://www.promedmail.org> (дата обращения 03.10.2014).
12. Ebola virus disease – ex Africa (07): Europe cases, USA quarantine stations. Archive number: 20141007.2840925. <http://www.promedmail.org> (дата обращения 07.10.2014).
13. Ebola virus disease – West Africa (196): WHO, Mali conf. case ex Guinea, Liberia. Archive number: 20141024.2894887. <http://www.promedmail.org> (дата обращения 24.10.2014).
14. Ebola virus disease – ex Africa (23): USA (NYV) MSF doctor ex Guinea. Archive number: 20141024.2895748. <http://www.promedmail.org> (дата обращения 24.10.2014).
15. Ebola virus disease – ex Africa (25): Norway doctor, USA quarantine, vaccines. Archive number: 20141026.2903377. <http://www.promedmail.org> (дата обращения 26.10.2014).
16. Ebola virus disease – West Africa (200): Mali, Liberia, cremation, case numbers. Archive number: 20141031.2920082. <http://www.promedmail.org> (дата обращения 31.10.2014).
17. Ebola virus disease – West Africa (206): Sierra Leone, Liberia, more. Archive Number: 20141111.2944063. <http://www.promedmail.org> (дата обращения 11.11.2014).
18. Ebola virus disease – West Africa (220): WHO, Mali imam, MSF. Archive number: 20141203.3009934. <http://www.promedmail.org> (дата обращения 03.12.2014).
19. Ebola update (02): Africa, world, WHO, IV therapy, USA, outbreaks, susp. Archive number: 20150102.3068060. <http://www.promedmail.org> (дата обращения 02.01.2015).
20. Ebola update (03): Africa, world, USA, UK, susp, drugs,

vaccines. Archive number: 20150103.3069311. <http://www.promedmail.org> (дата обращения 03.01.2015).

References

1. L'voy D.K. [Hemorrhagic Ebola fever]. In: [Guidelines on Virology: Viruses and Viral Infections in Humans and Animals]. M., 2013. P. 805–7.
2. Popova A.Yu., Safronov V.A., Magasuba N.F., Utkin D.V., Odinkov G.N., P'yankov O.V., Sergeev A.S., Bodnev, S.A., Kabanov A.S., Kuklev V.E., Lopatin A.A., Razdorsky A.S., Nikiforov K.A., Shcherbakova S.A., Ternovoy V.A., Agafonov A.P., Mikheev V.N., Kutyrev V.V. [Management and performance of diagnostic investigations on the platform of the specialized anti-epidemic team mobile complex during EVD epidemics in 2014 in the Republic of Guinea]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2014; 4:5–8.
3. Baize S., Pannetier D., Oestereich L., Rieger T., Koivogui L., Magassouba N., Soropogui B., Sow M.S., Keita S., De Clerck H., Tiffany A., Dominguez G., Loua M., Thaoré A., Kolié M., Malano E.R., Heleze E., Bocquin A., Mély S., Raoul H., Caro V., Cadar D., Gabriel M., Pahlmann M., Tappe D., Schmidt-Chanasit J., Impouma B., Diallo A.K., Formenty P., Van Herp M., Günther S. Emergence of Zaire Ebola virus disease in Guinea. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371(15):1418–25.
4. Chan M. Ebola virus disease in West Africa – No early end to the outbreak. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371(13):1183–5.
5. Del Rio C., Mehta A.K., Lyon G.M., Guarner J. Ebola hemorrhagic fever in 2014: The tale of an evolving epidemic. *Ann. Intern. Med.* 2014; 161(10):746–8.
6. Maganga G.D., Kapetshi J., Berthet N., Ilunga B.K., Kabange F., Kingebeni P.M., Mondonge V., Muyembe J.T., Bertherat E., Brand S., Cabore J., Epelboin A., Formenty P., Kobinger J., González-Angulo L., Labouba I., Manuguerra J., Okwo-Bele J., Dye C., Leroy E.M. Ebola virus disease in the Democratic Republic of Congo. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371(22):2083–91.
7. Ebola virus disease – West Africa (51): Sierra Leone update. [cited 29 May 2014]. Archive number: 20140529.2506848. Available from: <http://www.promedmail.org>.
8. Ebola virus disease – West Africa (101): Nigeria ex Liberia, WHO, Sierra Leone. [cited 26 Jul 2014]. Archive number: 20140726.2636095. Available from: <http://www.promedmail.org>.
9. Ebola virus disease – Congo DR (10). Archive Number: 20140911.2766072. [cited 11 Sep 2014]. Available from: <http://www.promedmail.org>.
10. Ebola virus disease – ex Africa (01): USA ex Liberia, WHO. [cited 01 Oct 2014]. Archive number: 20141001.2823539. Available from: <http://www.promedmail.org>.
11. Ebola virus disease – ex Africa (03): USA ex Liberia, Germany case ex S. Leone. [cited 03 Oct 2014]. Archive number: 20141003.2830392. Available from: <http://www.promedmail.org>.
12. Ebola virus disease – ex Africa (07): Europe cases, USA quarantine stations. [cited 07 Oct 2014]. Archive number: 20141007.2840925. Available from: <http://www.promedmail.org>.
13. Ebola virus disease – West Africa (196): WHO, Mali conf. case ex Guinea, Liberia. [cited 24 Oct 2014]. Archive Number: 20141024.2894887. Available from: <http://www.promedmail.org>.
14. Ebola virus disease – ex Africa (23): USA (NYV) MSF doctor ex Guinea. [cited 24 Oct 2014]. Archive number: 20141024.2895748. Available from: <http://www.promedmail.org>.
15. Ebola virus disease – ex Africa (25): Norway doctor, USA quarantine, vaccines. Archive number: 20141026.2903377. [cited 26 Oct 2014]. Available from: <http://www.promedmail.org>.
16. Ebola virus disease – West Africa (200): Mali, Liberia, cremation, case numbers. [cited 31 Oct 2014]. Archive number: 20141031.2920082. Available from: <http://www.promedmail.org>.
17. Ebola virus disease – West Africa (206): Sierra Leone, Liberia, more. [cited 11 Nov 2014]. Archive number: 20141111.2944063. Available from: <http://www.promedmail.org>.
18. Ebola virus disease – West Africa (220): WHO, Mali imam, MSF. [cited 03 Dec 2014]. Archive number: 20141203.3009934. Available from: <http://www.promedmail.org>.
19. Ebola update (02): Africa, world, WHO, IV therapy, USA, outbreaks, susp. [cited 02 Jan 2015]. Archive number: 20150102.3068060. Available from: <http://www.promedmail.org>.
20. Ebola update (03): Africa, world, USA, UK, susp, drugs, vaccines. [cited 03 Jan 2015]. Archive number: 20150103.3069311. Available from: <http://www.promedmail.org>.

Authors:

Arutyunov Yu.I., Moskvitina E.A., Kovaleva T.V. Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute. 117/40, M.Gor'kogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation. E-mail: plague@aanet.ru

Об авторах:

Арутюнов Ю.И., Москвитина Э.А., Ковалева Т.В. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 344002, Ростов-на-Дону, ул. М.Горького, 117/40. E-mail: plague@aanet.ru

Поступила 28.04.15.

А.Г.Бачинский, Л.Ф.Низоленко

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ МЕР ПРОТИВОДЕЙСТВИЯ НА ПОСЛЕДСТВИЯ ЛОКАЛЬНЫХ ЭПИДЕМИЙ, ВЫЗЫВАЕМЫХ ВОЗБУДИТЕЛЯМИ ОСОБО ОПАСНЫХ ИНФЕКЦИЙ: КОЛЛЕКТИВНЫЙ ИММУНИТЕТ

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

Цель данной работы – проиллюстрировать возможности исследования влияния коллективного иммунитета на последствия эпидемий с использованием универсальной модели локальных, то есть развивающихся в замкнутой популяции, эпидемий/высыпек особо опасных и социально значимых инфекций, разработанной в ГНЦ ВБ «Вектор». Результаты моделирования позволяют оценить эффективность предварительной и экстренной иммунизации для ликвидации эпидемии. Показано, что для моделируемых инфекций уровень коллективного иммунитета, формируемый до начала эпидемии, может играть существенную роль в минимизации ее последствий. Влияние массовой вакцинации, реализуемой параллельно с применением других мер противодействия при эпидемиях натуральной оспы и геморрагической лихорадки Крымской-Конго, гораздо менее заметно. Модель доступна по адресу <http://vector-epimod.ru>.

Ключевые слова: эпидемия, математическая модель, особо опасные инфекции, коллективный иммунитет.

A.G.Bachinsky, L.F.Nizolenko

Assessment of the Impact of Response Activities to the Aftermaths of Local Epidemics, Caused by the Agents of Particularly Dangerous Infections: Community Immunity

State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector", Kol'tovo, Russian Federation

Objective is to demonstrate the advantages of assessment of the community immunity impact on the epidemics aftermaths using universal computerized model of local, developing within the closed population, epidemics/outbreaks of particularly dangerous and socially-significant infections, designed at the premises of SSC VB "Vector". Modeling outcomes allow for evaluation of the efficacy of preliminary and emergency immunization for epidemic control. It is shown that for the modeled infections the level of community immunity, developed before the start of the outbreak, can play a significant role in minimization of implications. Effect of the mass vaccination, performed concurrently with the other response measures, is far less tangible. The model is available at <http://vector-epimod.ru>.

Key words: epidemic, mathematical model, particularly dangerous infections, community immunity.

Материалы и методы

Разработанная в ГНЦ ВБ «Вектор» детерминистическая модель типа SEmInRF описывает развитие вспышек и эпидемий, вызываемых возбудителями особо опасных и социально значимых инфекций. Она названа так по обозначению подклассов, на которые разделяется популяция во время эпидемии. Подробное описание модели и данные о ее верификации опубликованы ранее [1, 2, 6].

Для некоторых инфекций важным фактором, учитываемым в модели, является уровень коллективного иммунитета. Коллективный иммунитет может формироваться в результате перенесенных инфекций, предварительной массовой вакцинации населения и/или вакцинации групп риска уже в ходе эпидемии. Влияние иммунитета на динамику эпидемии реализуется, прежде всего, за счет изменения эффективной скорости трансмиссии R_e , которая определяется в модели как «среднее число инфицируемых от одного больного». Значение же параметра R_0 , задаваемого пользователем, обозначает число инфицируемых одним неиммунным больным, имеющим тяжелую форму болезни, в полностью чувствительной популяции,

состоящей из неиммунных лиц, при отсутствии мер противодействия. Уменьшение значения R_e по сравнению с R_0 достигается за счет влияния уровня коллективного иммунитета.

Во-первых, иммунные лица могут быть менее чувствительными к инфекции, во-вторых, у них может быть снижена заразность (инфекционность, заразительность, secondary attack rate), в-третьих, доля тяжелых форм для них может быть ниже, чем для неиммунных. Если долю иммунных лиц в популяции обозначить через P , то зависимость значения R_e от этой величины можно выразить следующей формулой:

$$R_e = R_0 \cdot [P \cdot S + (1-P)] \cdot [P \cdot (Q \cdot H + (1-Q) \cdot E) + (1-P) \cdot (q + (1-q) \cdot E)] \quad (1)$$

где выражение в первых квадратных скобках задает среднее по популяции снижение чувствительности к инфекции за счет наличия иммунных; $S \leq 1$ – коэффициент, задающий долю чувствительности к инфекции иммунных по отношению к чувствительности неиммунных; выражение во вторых квадратных скобках задает снижение напряженности

инфекционного фона, формируемого больными, который также может зависеть от уровня коллективного иммунитета хотя бы из-за разной вероятности проявления тяжелых и легких форм болезни среди иммунных и неиммунных. Q – доля тяжелых форм среди иммунных, q – среди неиммунных ($Q \leq q$); $E \leq 1$ – отношение заразности больного легкой формой к заразности больного тяжелой формой болезни; $H \leq 1$ – отношение заразности иммунных больных тяжелой формой заболевания к заразности больных тяжелой формой, неиммунных (значение заразности для тяжелой формы у не иммунных полагается равным единице). Значения этих параметров для моделируемых инфекций, используемые по умолчанию, приведены в табл. 1. Заметим, что значения параметров получены в основном из весьма неполных и часто не точных данных литературы, поэтому они могут служить лишь предварительными оценками для специалистов.

Таким образом, R_e снижается по отношению к R_0 с увеличением P и, при некотором уровне коллективного иммунитета R_e , может стать меньше единицы, так что эпидемия будет затухать даже без других мер противодействия. Для каждой инфекции можно ввести некоторый показатель Re_{50} – значение среднего числа инфицированных при отсутствии мер противодействия и уровне коллективного иммунитета равном 50 %. Для натуральной оспы он составляет 2,8, а для чумы – 1,42 (если вообще возможно достичь такого уровня коллективного иммунитета). Этот же показатель может использоваться как оценка эффективности вакцин:

$$VE = (R_0 - Re_{50})/R_0, \quad (2)$$

Можно также дать оценку уровня коллективного иммунитета P_1 , при котором $R_e = 1$, т.е. достаточно-

го, чтобы эпидемия не развивалась. Для этого нужно решить относительно P уравнение (1) при $R_e = 1$. Не приводя довольно сложную формулу решения, дадим оценки P_1 для оспы и чумы, которые составляют 65 и 40 % соответственно, при условии корректности приведенных в табл. 1 параметров.

Естественный иммунитет к таким инфекциям, как натуральная оспа, сибирская язва, чума (легочная форма), туляремия, геморрагические лихорадки Эбола, Марбург, Ласса, Крымская-Конго в популяциях, для которых они не являются эндемичными, практически отсутствует. Для многих инфекций отсутствуют и эффективные вакцины, по крайней мере, пригодные для массовой вакцинации, то есть для формирования значимого уровня коллективного иммунитета (геморрагические лихорадки Эбола, Марбург, Ласса [8], легочная форма чумы [9]). Поскольку в модели задано, что сибирская язва (также легочная форма) и туляремия не передаются непосредственно от человека к человеку [10, 11], то массовая вакцинация в ходе эпидемии не имеет смысла, но и для них можно рассмотреть влияние предварительно сформированного коллективного иммунитета на динамику эпидемий. Таким образом, агентами, для которых возможна как предварительная массовая вакцинация, так и массовая вакцинация, реализуемая в ходе эпидемии, остаются натуральная оспа и геморрагическая лихорадка Крымская-Конго (ККГЛ), хотя и для них остаются сомнения в достаточных запасах эффективных вакцин или (при наличии вакцины) сроках их доставки [4, 8].

Результаты и обсуждение

В табл. 1 приводятся основные параметры модели, принятые по умолчанию, связанные с иммунным статусом чувствительных к инфекциям лиц.

Таблица 1

Некоторые параметры, характеризующие особенности моделируемых болезней

Параметры	Заболевание							
	Оспа	Чума	Туляремия	Сибирская язва	Геморрагические лихорадки			
					ККГЛ	Ласса	Марбург	Эбола
Продолжительность стадий болезни, сут*	15, 6, 20	6, 4, 40	7, 3, 25	4, 2, 14	14, 7, 10	16, 6, 18	16, 8, 28	14, 7, 16
Среднее число инфицируемых от одного больного (R_0)	8	3	0	0	1	10	10	3
Вакцинальный период, сут	6	нет**	20	10	14	нет	нет	нет
Доля инфекционной активности в финальной стадии	0,8	0,0	1,0	1,0	0,9	0,7	0,7	0,7
Отношение инфекционной активности иммунных к инфекционной активности неиммунных (H)	0,5	0,5	-***	-	0,5	0,5	0,5	0,5
Отношение инфекционной активности малосимптомных (легкая форма) к инфекционной активности больных тяжелой формой (E)	0,2	0,2	-	-	0,2	0,2	0,2	0,2
Доля тяжелых форм среди неиммунных (q)	0,7	0,9	0,8	0,8	0,7	0,3	0,8	0,9
Доля тяжелых форм среди иммунных (Q)	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Инфицируемость иммунных по отношению к неиммунным (S)	0,3	0,4	0,02	0,01	0,2	0,2	0,2	0,2

*Для всех инфекций моделируются три стадии развития болезни.

**Моделируется эпидемия легочной чумы, от которой существующая вакцина не защищает [8], для геморрагических лихорадок Эбола, Марбург, Ласса эффективные вакцины для массовой вакцинации отсутствуют [7].

***Для нетрансмиссивных инфекций параметр не имеет смысла.

Расчетное число инфицированных и число умерших для разных уровней коллективного иммунитета при профилактической массовой вакцинации

Возбудитель	Начальный уровень коллективного иммунитета, %					
	0	20	40	60	80	100
Натуральная оспа	$R_e = 4,4$	$R_e = 3,3$	$R_e = 2,4$	$R_e = 1,6$	$R_e = 1,0$	$R_e = 0,5$
	527261, 22838; 3388, 297	156744, 7473; 2422, 216	3000, 542; 1630, 148	1054, 156; 996, 91	585, 58; 578, 69	235, 12; 235, 12
Туляремия	$R_e = 0$	$R_e = 0$	$R_e = 0$	$R_e = 0$	$R_e = 0$	$R_e = 0$
	500, 22; 500, 22	402, 17; 402, 17	304, 13; 304, 13	206, 9; 206, 9	108, 5; 180, 5	10, 0; 10, 0
ККГЛ	$R_e = 0,8$	$R_e = 0,5$	$R_e = 0,4$	$R_e = 0,3$	$R_e = 0,2$	$R_e = 0,05$
	741, 167; 741, 167	582, 131; 582, 131	438, 96; 438, 96	323, 67; 323, 67	203, 34; 203, 34	104, 5; 104, 5

Для оценки влияния уровня коллективного иммунитета на динамику эпидемий спланирован и проведен следующий вычислительный эксперимент. Для натуральной оспы, туляремии и ККГЛ рассчитывается динамика эпидемий при массовом начальном инфицировании и разных уровнях коллективного иммунитета, при наличии или отсутствии ресурсных ограничений. Для натуральной оспы и ККГЛ рассчитывается динамика эпидемии в зависимости от сроков и охвата массовой вакцинацией и при наличии ресурсных ограничений.

В табл. 2 приведены результаты расчетов на соотв. день развития эпидемии. Начальное число инфицированных определяется дозой возбудителя соответствующей инфицированию 500 человек для неиммунной популяции. Потенциально инфицируемые лица также распределяются между иммунными и неиммунными пропорционально уровню коллективного иммунитета. Число инфицируемых снижается в классе иммунных в силу их меньшей чувствительности к инфекции (табл. 1). Внешний источник инфекции и массовая вакцинация в ходе эпидемии отсутствуют. Значения всех остальных параметров соответствуют ситуации в Новосибирской области [3, 5].

В первой строке каждой ячейки табл. 2 данные соответствуют наличию ресурсных ограничений, которые не снимаются ни при каких условиях, второй – их отсутствию. По данным таблицы, можно видеть, что по своей чувствительности к уровню коллективного иммунитета каждая инфекция имеет свои особенности. Для туляремии, в отсутствие вторично инфицированных, все ограничивается меньшей смертностью иммунных и изменением численности инфицированных первично, что определяется формулой

$$L = L_0 \cdot (P \cdot S + (1 - P)), \quad (3)$$

где L_0 – число первично инфицированных при уровне коллективного иммунитета P , равного нулю; $S \leq 1$ – чувствительность иммунных лиц к инфекции, которая для туляремии полагается равной 0,2. При этом в силу ограниченности вспышки ресурсные ограничения не реализуются и потому не играют роли.

Вспышка натуральной оспы оказывается наи-

более чувствительной к повышению уровня коллективного иммунитета. При этом реализуется как снижение численности первично инфицированных и снижение смертности иммунных, так и уменьшение числа вторично инфицируемых, в том числе за счет увеличения доли больных с легкой формой болезни. Уже при 60 % иммунных в популяции вспышка ограничивается настолько, что ресурсные ограничения проявляются незначительно.

Зависимость показателей вспышки ККГЛ носит промежуточный характер по сравнению с натуральной оспой и туляремией. Как и в случае с туляремией, масштабы эпидемии настолько малы, что эффективность мер противодействия не зависит от ресурсных ограничений ни при каких условиях этих сценариев. Оценки R_e для разных уровней коллективного иммунитета показывают, что при $R_0 = 1$ и наличии легких форм у неиммунных вспышка ККГЛ должна погаснуть даже при отсутствии других ПЭМ. Заметим, что на величину R_e оказывает влияние и тот фактор, что доля городского населения в Новосибирской области составляет менее 100 %, а значит снижена скорость трансмиссии по сравнению с городом.

Для исследования влияния массовой вакцинации, проводимой в ходе эпидемии, на динамику эпидемий натуральной оспы и ККГЛ начальный уровень коллективного иммунитета задавался равным 10 %. Для обеих инфекций эффект вакцинации, проводимой в ходе эпидемии, оказывается менее значительным (данные не приводятся). Разница в числе инфицированных при нулевой и стопроцентной вакцинации не превышает 20 %. Связано это, видимо, с ресурсными ограничениями и тем обстоятельством, что в случае вакцинации, реализуемой в ходе эпидемии, при расчетах остается постоянным число инфицированных первично, в то время как при предварительной вакцинации оно снижается из-за меньшей чувствительности к инфекции иммунных.

При оценке эффекта вакцинации групп риска для натуральной оспы изменялась ее интенсивность от 0 до 100 % в сутки, объем массовой вакцинации задавался равным нулю. Эффект также был незначительным.

Приведенные расчеты показывают, что для всех трех моделируемых инфекций (оспа, туляремия,

ККГЛ) уровень коллективного иммунитета, формируемый до начала эпидемии, может играть существенную роль в минимизации ее последствий. Этот эффект реализуется как за счет снижения числа инфицируемых из-за меньшей чувствительности иммунных для всех инфекций, так и из-за пониженной трансмиссивности инфекции в иммунной популяции для натуральной оспы и ККГЛ. Влияние массовой вакцинации, реализуемой параллельно с применением других мер противодействия, при эпидемиях натуральной оспы и ККГЛ гораздо менее заметно даже при уровне охвата в 100 %.

Работа частично поддержана из средств Федеральной целевой программы «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. В кн.: 30 лет после ликвидации оспы: исследования продолжаются. Кольцово: Информ-Экспресс; 2010. С. 253–80.
2. Бачинский А.Г., Низолenco Л.Ф. Универсальная модель локальных эпидемий, вызываемых возбудителями особо опасных инфекций. *Пробл. особо опасных инф.* 2014; 2:44–7.
3. Государственный доклад «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения Новосибирской области в 2012 году» URL: <http://54.rosпотребнадзор.ru/document/> (дата обращения 17.02.14).
4. Ликвидация оспы: уничтожение запасов вируса натуральной оспы. ВОЗ, Шестидесят третья сессия Всемирной Ассамблеи здравоохранения 25.03.2010. Доклад секретариата. URL: http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA63/A63_19-ru.pdf (дата обращения 17.02.14).
5. Окончательные итоги Всероссийской переписи населения 2010 года. URL: http://www.perepis-2010.ru/results_of_the_census/results-inform.php (дата обращения 23.11.12).
6. Bachinsky A.G., Nizolenco L.Ph. A universal model for predicting dynamics of the epidemics caused by special pathogens. *BioMed Res. Int.* 2013; 2013:467078. DOI: 10.1155/2013/467078.
7. Falzarano D., Geisbert T.W., Feldmann H. Progress in filovirus vaccine development: evaluating the potential for clinical use. *Expert Rev. Vaccines.* 2011; 10:63–77.

8. Keshtkar-Jahromi M., Kuhn J.H., Christova I., Bradfute S.B., Jahrling P.B., Bavari S. Crimean-Congo hemorrhagic fever: current and future prospects of vaccines and therapies. *Antiviral Res.* 2011; 90:85–92.
9. Kool J.L. Risk of person-to-person transmission of pneumonic plague. *Clin. Infect. Dis.* 2005; 40:1166–72.
10. Pechous R.D., McCarthy T.R., Zahrt T.C. Working toward the future: insights into *Francisella tularensis* pathogenesis and vaccine development. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2009; 73:684–711.
11. Thavaselvam D., Vijayaraghavan R. Biological warfare agents. *J. Pharm. Bioallied Sci.* 2010; 2:179–88.

References

1. Bachinsky A.G. [Mathematical model of local smallpox epidemic, taking into consideration response measures and resource limitations]. In: [30 Years after Smallpox Eradication: Investigations Continue]. Kol'tsovo: Inform-Express; 2010. P. 253–80.
2. Bachinsky A.G., Nizolenco L.F. [Universal model of local epidemics development, caused by particularly dangerous infection agents]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2014; 2:44–7.
3. [State Report “On the sanitary-epidemiological welfare of the population in the Novosibirsk Region in 2012”]. [cited 17 Feb 2014]. Available from: <http://54.rosпотребнадзор.ru/document/>.
4. [Smallpox eradication: destruction of smallpox virus stocks]. Report by the Secretariat to the 63th World Health Assembly, WHO. 25 Mar 2010 [cited 17 Feb 2014]. Available from: http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA63/A63_19-ru.pdf.
5. [Final Results of the National Population Census, 2010]. [cited 23 Nov 2012]. Available from: http://www.perepis-2010.ru/results_of_the_census/results-inform.php.
6. Bachinsky A.G., Nizolenco L.Ph. A universal model for predicting dynamics of the epidemics caused by special pathogens. *BioMed Res. Int.* 2013; 2013:467078. DOI: 10.1155/2013/467078.
7. Falzarano D., Geisbert T.W., Feldmann H. Progress in filovirus vaccine development: evaluating the potential for clinical use. *Expert Rev. Vaccines.* 2011; 10:63–77.
8. Keshtkar-Jahromi M., Kuhn J.H., Christova I., Bradfute S.B., Jahrling P.B., Bavari S. Crimean-Congo hemorrhagic fever: current and future prospects of vaccines and therapies. *Antiviral Res.* 2011; 90:85–92.
9. Kool J.L. Risk of person-to-person transmission of pneumonic plague. *Clin. Infect. Dis.* 2005; 40:1166–72.
10. Pechous R.D., McCarthy T.R., Zahrt T.C. Working toward the future: insights into *Francisella tularensis* pathogenesis and vaccine development. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2009; 73:684–711.
11. Thavaselvam D., Vijayaraghavan R. Biological warfare agents. *J. Pharm. Bioallied Sci.* 2010; 2:179–88.

Authors:

Bachinsky A.G., Nizolenco 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., Низолenco Л.Ф. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., п. Кольцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru

Поступила 25.03.15.

Т.В.Зверева¹, А.В.Алленов¹, А.Я.Никитин²**ВИДОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ КОНТАКТОВ ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕЙ С ЧЕЛОВЕКОМ
НА ЮГЕ ПРИМОРСКОГО КРАЯ**¹ФКУЗ «Приморская противочумная станция», Уссурийск, Российская Федерация; ²ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт», Иркутск, Российская Федерация

Важным показателем, влияющим на эпидемиологическую роль видов иксодовых клещей, является их способность присасываться к человеку (агрессивность). Цель сообщения – оценить агрессивность клещей, обитающих на юге Приморского края. Проанализирован материал с территории Партизанского района, собранный в 2012–2013 гг. Агрессивность клещей по отношению к человеку определяли путем сравнения структуры комплекса видов при сборе имаго на флаг с растений (изучено 3944 особи) и при удалении присосавшихся особей с людей (437 экз.). Выявлено пять видов: *Ixodes persulcatus*, *Haemaphysalis concinna*, *H. japonica douglasi*, *Dermacentor silvarum*, являющихся массовыми, и редкий в Партизанском районе – *I. pavlovskyi*. Присасывания фиксировали с апреля по октябрь–ноябрь: наибольший период активности у *I. persulcatus*, наименьший – у *H. concinna*. Доля *I. persulcatus* от суммы клещей, удаленных с людей, составила 86,3 %, а в сборах с растений – 44,9 %. Это наибольший показатель агрессивности. Высокая агрессивность наблюдается и у *I. pavlovskyi*, но так как он редко встречается, то не имеет эпидемиологической значимости в Партизанском районе. *H. japonica* присасывается чаще, чем *H. concinna*. Для оценки различий между ними по эпидемиологической значимости, нужны исследования индивидуальной зараженности возбудителями инфекций. Регистрация *D. silvarum* среди клещей, удаленных с людей, ниже, чем в сборах с растений, и эпидемиологическая роль вида в настоящее время на юге Приморья относительно низкая.

Ключевые слова: фауна иксодовых клещей, эпидемиологическая роль, Приморский край.

Т.В.Зверева¹, А.В.Алленов¹, А.Я.Никитин²**Species Determined Peculiarities of the Tick-Man Contacts in the South of the Primorsky Territory**¹Primorsk Plague Control Station of the Rospotrebnadzor, Ussuriysk, Russian Federation;²Irkutsk Research Anti-Plague Institute of the Rospotrebnadzor, Irkutsk, Russian Federation

Ticks' ability to attack man (aggressiveness) is an important characteristic impacting the ticks' epidemiological role. Objective of the study is to assess the aggressiveness of the ticks inhabiting the south of the Primorsky Territory. It is based on the materials collected in the territory of Partizansky Region in 2012–2013. Ticks' aggressiveness toward man has been defined by comparing the species' community structure when collecting imago specimens on a cloth from plants (3,944 specimens are examined) and when removing ticks from people (437). In total, five species are identified: *Ixodes persulcatus*, *Haemaphysalis concinna*, *H. japonica douglasi*, *Dermacentor silvarum* (being dominant species), and *I. pavlovskyi* (which is rarely found in Partizansky Region). Cases of tick attacks have been registered during April through October and November: this period being the peak of activity in *I. persulcatus*, and activity decay in *H. concinna*. The percentage of *I. persulcatus* against the total number of ticks, removed from people, has amounted to 86.3 %; the percentage of the same species collected from plants has amounted to 44.9 %. This is maximum index of aggressiveness. *I. pavlovskyi* also shows high level of aggressiveness, but as it is of rare occurrence it does not have any epidemiological weight in Partizansky Region. *H. japonica* attacks more often than *H. concinna*. In order to assess the difference in the epidemiological significance of these two species individual infection rate should be studied. As for *D. silvarum*, the percentage of this species removed from people is lower than that collected from plants, thus currently the epidemiological significance of this species in the south of Primorsky Territory is relatively low.

Key words: tick fauna, epidemiological significance, Primorsky Territory

В Приморском крае ежегодно наблюдается заболеваемость населения вирусным клещевым энцефалитом, клещевыми боррелиозами и риккетсиозами [3, 6, 9, 10], резервуарами и векторами для которых служат иксодовые клещи. За последние десятилетие в этих переносчиках выявлены возбудители и других зооантропонозов (например, эрлихиоза и гранулоцитарного анаплазмоза человека [1, 2, 6]), которые в краевой патологии занимают незначительное место или не регистрируются. Актуальность для здравоохранения проблемы заболеваемости человека инфекциями, передаваемыми иксодовыми клещами, требует изучения эпидемиологической роли отдель-

ных видов. Всего на территории края зарегистрировано 17 представителей отряда [1–6, 8, 9, 11–14]. К массовым относят: *Ixodes persulcatus* Schulze, 1930, *Haemaphysalis concinna* Koch, 1844, *H. japonica douglasi* Nuttall et Warbutron, 1915 и *Dermacentor silvarum* Olenov, 1931.

Эпидемиологическая значимость иксодид определяется факторами, связанными как с возбудителем, находящемся в организме клеща, так и с экологией переносчика. Одним из важных показателей, влияющим на эпидемиологическую роль отдельных видов, является их способность присасываться к человеку (агрессивность).

Сроки активности отдельных видов иксодовых клещей на юге Приморского края, по материалам об обрабатываемости пациентов с присосавшимися клещами

Вид иксодовых клещей	Активность в 2012 г.			Активность в 2013 г.		
	Начало	Окончание	Длительность (в днях)	Начало	Окончание	Длительность (в днях)
<i>I. persulcatus</i>	02.04	01.10	182	15.04	22.11	221
<i>H. concinna</i>	13.06	09.08	57	11.06	28.07	47
<i>H. japonica</i>	02.05	25.09	146	12.05	03.09	114
<i>D. silvarum</i>	23.04	08.07	76	04.05	19.10	168

Цель сообщения – оценить агрессивность по отношению к людям отдельных видов иксодовых клещей, обитающих на юге Приморского края.

Материалы и методы

Проанализирован материал, собранный на территории Партизанского района Приморского края в 2012–2013 гг. Агрессивность иксодовых клещей по отношению к человеку определяли путем сравнения структуры комплекса видов при сборе имаго на флаг с растений и при удалении присосавшихся особей с людей, обратившихся в Находкинское отделение ФКУЗ «Приморская противочумная станция» Роспотребнадзора.

Сбор клещей с растений проводили со второй декады марта по первую декаду июля. Данные о пострадавших от укусов анализировали за весенне-осенние периоды. Всего отработано 101 флаго-час и проведена видовая идентификация 4381 особи иксодовых клещей, которые собраны с растений (3944 экз.) или удалены с людей (437).

Определение видов проводили по работам Н.А. Филипповой [12, 13]. Статистическая обработка материалов выполнена с применением критерия χ^2 [7].

Результаты и обсуждение

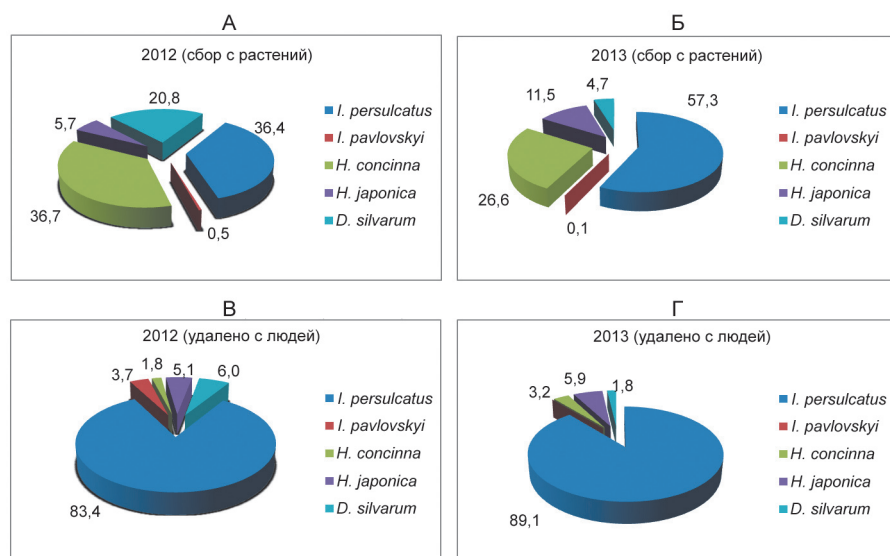
Всего в исследуемом районе выявлено пять видов иксодовых клещей, четыре из которых относятся к массовым видам, один (*I. pavlovskyi*) – к редким.

Исходя из суммарной численности собранных клещей и времени затраченного на это, относительное обилие в 2012 г. составило 40,2 особи на флаго-час, а в 2013 г. – 37,5, то есть, практически не изменилось.

Анализ хода сезонной активности массовых видов приведен в табл. 1. Из полученных данных следует, что присасывания клещей к людям в 2012–2013 гг. фиксировали с апреля по октябрь–ноябрь. Это соответствует обычному ходу сезонной активности иксодовых клещей на юге Приморского края [2]. На основе материалов по обрабатываемости пациентов с присосавшимися клещами в оба сезона наибольший период активности наблюдали у *I. persulcatus* (таежного клеща), наименьший – у *H. concinna*.

Если сравнить материалы по сборам клещей с растений за 2012 и 2013 гг. (рисунок, А и Б), то наблюдается сокращение встречаемости всех видов, кроме *I. persulcatus*, доля которого возросла с 36,7 до 57,3 %. В сборах 2012 г. преобладали представители рода *Haemaphysalis*, а в 2013 г. – *Ixodes*. Однако по полученным данным нельзя обсуждать влияние сезона на встречаемость отдельных видов, так как разная их биотопическая приуроченность требует рандомизации сборов, что не выполнялось в силу иных задач проводимых исследований.

В ходе изучения видовой принадлежности иксодовых клещей, удаленных с людей, зарегистрированы все массовые виды, а также восемь особей *I. pavlovskyi* (рисунок, В и Г). В оба сезона преобладает *I. persulcatus*, доля которого от суммы клещей за два года составила 86,3 %, то есть, значительно выше,



Анализ соотношения видов иксодовых клещей при сборах с травы на флаг (А и Б) и удалении с пострадавших людей (В и Г) в Находкинском отделении ФКУЗ «Приморская противочумная станция» Роспотребнадзора (Находка) за 2012–2013 гг.

чем представительство этого вида в сборах с растений – 44,9 % (рисунок). Это однозначно указывает на высокую агрессивность *I. persulcatus*. Учитывая зараженность таежного клеща возбудителями трансмиссивных болезней [1–3, 6, 9], в том числе в районе исследования, следует рассматривать его как наиболее эпидемиологически опасный среди иксодид. К подобному мнению приходят все, кто сравнивал эпидемиологическую роль отдельных видов иксодовых клещей на территории Дальнего Востока и Сибири [1, 3, 9, 11].

Высокая агрессивность наблюдается и у *I. pavlovskyi*, так как только у *Ixodes* доля особей при сборе с растений ниже, чем при удалении с пострадавших (рисунок, А и В). Однако эпидемиологическая роль других видов рода в районе проведения исследований не значительна, ввиду редкой встречаемости в природе. Это подтверждают данные 2013 г., когда доля *I. pavlovskyi* в природных станциях сократилась в пять раз (с 0,5 до 0,1 %, что соответствует уменьшению с 11 до одной особи). Вместе с тем в Приморском крае есть районы (южная часть западного склона Сихоте-Алинского хребта, ряд островов залива Петра Великого [1, 2, 5, 8, 14]), где численность особей *I. pavlovskyi* может быть достаточно высокой, соответственно требуются специальные исследования по оценке эпидемиологической и эпизоотологической значимости этого вида на этих территориях.

Доля представителей видов *Haemaphysalis* в сборах из природы выше, чем при удалении с людей (рисунок). Причем при сборах клещей с растений на флаг преобладает *H. concinna* (рисунок, А и Б), а среди присосавшихся особей – *H. japonica* (рисунок, В и Г). Данные опроса людей в отношении мест, где произошло нападение представителей рода *Haemaphysalis*, показали, что даже в антропогенно трансформированных биотопах, прилегающих к населенным пунктам, с преимущественной встречаемостью *H. concinna*, чаще регистрировали присасывание *H. japonica*, что свидетельствует о большей агрессивности этого вида. Но чтобы оценить различия между видами по эпидемиологической значимости, нужны исследования индивидуальной зараженности представителей *Haemaphysalis* возбудителями, патогенными для человека.

Регистрация *D. silvarum* среди клещей, удален-

ных с людей, ниже, чем в сборах из природных биотопов (рисунок). Его доля в комплексе видов иксодовых клещей в 2013 г., несмотря на удлинение сезона активности (табл. 1), значительно упала по сравнению с 2012 г. Пропорционально сократилось и число случаев присасывания.

Несомненно, на количество контактов населения с клещами влияет множество факторов, связанных с хозяйственными и социальными особенностями жизни населения, экологией переносчиков, погодными условиями, наличием лесных пожаров и т.д. Однако в первом приближении можно принять, что доля отдельных видов иксодовых клещей в природе и при удалении с людей должна статистически не различаться, то есть частота присасывания определяется обилием вида, а в случае обнаружения расхождения показателей их можно трактовать как проявление особенностей в агрессивности переносчика по отношению к человеку. Достоверность отклонения наблюдаемых значений присасывания клещей к людям от ожидаемых, исходя из их встречаемости в природе, оценивали по χ^2 (табл. 2).

Расчет критерия χ^2 однозначно свидетельствует ($\chi^2 = 320,4$; $P < 0,001$), что структура населения иксодовых клещей в природных биотопах отличается от наблюдаемой при изучении особей, присосавшихся к людям (рисунок). Причем для *Ixodes* отношение ожидаемого количества особей к регистрируемому на людях выше единицы, а для всех остальных видов – ниже.

Преобладание *H. concinna* в сборах с животных, по сравнению с частотой нападений на человека, выявлено еще в первых исследованиях иксодид Приморского края [11]. В ряде работ подчеркнуто, что морфологические особенности строения гипостомы *H. concinna* осложняют его присасывание к людям [3]. Кроме того, повышенная гигрофильность вида и приуроченность мест с высокой плотностью к небольшим переувлажненным участкам приводит к выраженной неравномерности распределения по территории, что уменьшает вероятность контакта с человеком. Таким образом, целый ряд причин вызывает снижение регистрации *H. concinna* на людях, что в любом случае обуславливает его относительно меньшую эпидемиологическую значимость в сравнении с *I. persulcatus*. Но выше подчеркнуто, что для

Таблица 2

Сравнение ожидаемого и фактического числа особей каждого из видов иксодовых клещей, удаленных с людей после их присасывания, на юге Приморского края

Вид	Ожидаемое число особей, исходя из доли вида в природных биотопах	Фактическое число особей	Значение критерия χ^2 (при $\chi^2 > 3,84$; $P < 0,05$)	Отношение фактического числа особей к ожидаемому (агрессивность)
<i>I. persulcatus</i>	196,2	377	166,5	1,9
<i>I. pavlovskyi</i>	1,3	8	—*	6,0
<i>H. concinna</i>	142,2	11	121,0	0,1
<i>H. japonica</i>	35,3	24	3,6	0,7
<i>D. silvarum</i>	61,9	17	32,6	0,3
Всего	437,0	437	320,4	1,0

Примечание: * величину критерия χ^2 нельзя оценивать при ожидаемых значениях меньше 5 [7].

дифференциации по этому показателю роли отдельных видов среди *Haemaphysalis* требуется проведение дополнительных исследований.

Одной из причин сниженной доли *D. silvarum* на людях, по сравнению с встречаемостью вида в комплексе иксодид из природы (табл. 2), могут быть крупные размеры особей и наличие у них светлого яркого эмалевого пигмента, что делает клещей более заметными на одежде. Учитывая ограниченную распространённость вида, приуроченного в основном к сельскохозяйственным районам, площади которых в течение трех последних десятилетий в Приморском крае сокращались, эпидемиологическая значимость *D. silvarum* претерпевает изменение в сторону уменьшения и сейчас может рассматриваться как относительно невысокая. Однако в населенных пунктах, расположенных вблизи сельскохозяйственных земель, высокотравных залежей, для людей, занятых выпасом скота и другими сельхозработами, вид потенциально опасен.

Выявленный характер различий агрессивности видов иксодовых клещей по отношению к людям необходимо учитывать при дифференциации территорий по степени эпидемиологического риска в отношении инфекций, передаваемых переносчиками. При этом следует принимать во внимание факт значительной пространственной неравномерности распределения отдельных видов, что характерно, например, для *I. pavlovskyi*: редкий на большинстве территорий, на некоторых он может быстро распространяться, достигая высокой численности и, являясь переносчиком почти всех известных в иксодовых клещах возбудителей трансмиссивных инфекций [1, 2], приобретать существенное медицинское значение.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Балахонov С.В., Никитин А.Я., Андаев Е.И., Алленов А.В., Борисенко Е.А., Гордейко Н.С., Зверева Т.В., Краснощеков В.Н., Адельшин Р.В., Борисова Т.И., Вержуцкая Ю.А., Вершинин Е.А., Сидорова Е.А. Особенности природных очагов инфекций, передаваемых иксодовыми клещами, на острове Русский (Приморский край). *Дальневосточный журн. инф. патол.* 2012; 20:12–7.
2. Балахонov С.В., Никитин А.Я., Зверева Т.В., Адельшин Р.В., Алленов А.В., Андаев Е.И., Борисенко Е.А., Борисова Т.И., Вержуцкая Ю.А., Вершинин Е.А., Гордейко Н.С., Климов В.Т., Краснощеков В.Н., Сидорова Е.А. Эпизоотологическое обследование острова Русский и меры, необходимые для предотвращения заболеваемости населения и участников Саммита АТЭС инфекциями, передающимися иксодовыми клещами. *Пробл. особо опасных инф.* 2012; 2(112):5–8.
3. Болотин Е.И., Бурухина Е.Г. Некоторые экологические особенности клещевых природно-очаговых инфекций в Приморском крае. *Паразитология.* 2009; 5(43):418–27.
4. Болотин Е.И., Колонин Г.В. Новые данные по фауне иксодовых клещей Приморского края. *Зоол. журн.* 1979; 3(58):435–6.
5. Болотин Е.И., Колонин Г.В., Киселев А.Н., Матюшин О.А. Распространение и экология *Ixodes pavlovskyi* (Ixodidae) в Сихотэ-Алине. *Паразитология.* 1977; 3(11):225–9.
6. Бурухина Е.Г., Жебровская Е.В., Петрова Н.К., Присянникова М.Н., Захарова Г.А., Симонов С.Б. Иксодовые клещи и их эпизоотологическое значение на острове Русский.

- Здоровье. Медицинская экология. Наука.* 2012; 3–4(49–50):187–90.
7. Елисеева И.И., Юзбашев М.М. Общая теория статистики: учебник. М.; 2006. 656 с.
8. Колонин Г.В. Материалы по фауне иксодовых клещей юга Приморского края. *Паразитология.* 1986; 1(20):15–8.
9. Леонова Г.Н. Клещевой энцефалит в Приморском крае: вирусологические и эколого-эпидемиологические аспекты. Владивосток; 1997. 190 с.
10. Никитин А.Я., Сидорова Е.А., Андаев Е.И., Чеснокова М.В. Заболеваемость населения Сибирского и Дальневосточного федеральных округов инфекциями, передающимися клещами, в 2009–2010 гг. и прогноз на 2011 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2011; 1(107):24–9.
11. Павловский Е.Н., редактор. *Паразитология Дальнего Востока.* Л.; 1947. 147 с.
12. Филиппова Н.А. Иксодовые клещи подсемейства Ixodinae. Фауна СССР. Паукообразные. Л.; 1977. 396 с.
13. Филиппова Н.А. Иксодовые клещи подсемейства Amblyomminae. Фауна России и сопредельных стран. Паукообразные. СПб.; 1997. 430 с.
14. Филиппова Н.А., Беляев В.Г. О видах группы *Ixodes persulcatus* (Parasitiformes Ixodidae). *V. I. pavlovskyi* Pom. и *I. nipponensis* Kitaoka et Saito в Приморье. *Паразитология.* 1970; 6(4):515–23.

References

1. Balakhonov S.V., Nikitin A.Ya., Andaev E.I., Allenov A.V., Borisenko E.A., Gordeiko N.S., Zvereva T.V., Krasnoshchekov V.N., Adel'shin R.V., Borisova T.I., Verzhutskaya Yu.A., Vershinin E.A., Sidorova E.A. [Peculiarities of natural foci of tick-borne infections in the Isle Russian (Primorsky Territory)]. *Dal'nevostoch. Zh. Infek. Patol.* 2012; 20:12–7.
2. Balakhonov S.V., Nikitin A.Ya., Zvereva T.V., Adel'shin R.V., Allenov A.V., Andaev E.I., Borisenko E.A., Borisova T.I., Verzhutskaya Yu.A., Vershinin E.A., Gordeiko N.S., Klimov V.T., Krasnoshchekov V.N., Sidorova E.A. [Epizootiological survey of the Isle Russian and measures necessary for the prophylaxis of tick-borne infections among population of the region and participants of APEC Summit]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2012; 2(112):5–8.
3. Bolotin E.I., Burukhina E.G. [Certain ecological peculiarities of tick-borne natural-focal infections in the Primorsky Territory]. *Parazitologia.* 2009; 5(43):418–27.
4. Bolotin E.I., Kolonin G.V. [Recent data on the fauna of Ixodidae ticks inhabiting Primorsky Territory]. *Zool. Zh.* 1979; 3(58):435–6.
5. Bolotin E.I., Kolonin G.V., Kiselev A.N., Matyushin O.A. [Dissemination and ecology of *Ixodes pavlovskyi* (Ixodidae) in Sikhote Alin]. *Parazitologia.* 1977; 3(11):225–9.
6. Burukhina E.G., Zhebrovskaya E.V., Petrova N.K., Prosyannikova M.N., Zakharova G.A., Simonov S.B. [Ixodidae ticks and their epizootiological role in the Isle Russian]. *Zdorovie. Med. Ekologiya. Nauka.* 2012; 3–4(49–50):187–90.
7. Eliseeva I.I., Yuzbashev M.M. [General Theory of Statistics: Educational Aids]. M.; 2006. 656 p.
8. Kolonin G.V. [Proceedings on fauna of Ixodidae ticks inhabiting the South of the Primorsky Territory]. *Parazitologia.* 1986; 1(20):15–8.
9. Leonova G.N. [Tick-Borne Encephalitis in the Primorsky Territory: Virological and Ecological-Epidemiological Aspects]. Vladivostok; 1997. 190 p.
10. Nikitin A.Ya., Sidorova E.A., Andaev E.I., Chesnokova M.V. [Tick-borne infections incidence among the population of Siberian and Far East Federal Districts in 2009 and 2010 and prognosis for 2011]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2011; 1(107):24–9.
11. Pavlovsky E.N., editor. [Parasitology of the Far East]. L.; 1947. 147 p.
12. Filippova N.A. [Ixodiade Ticks, Subfamily Ixodinae. USSR Fauna. Arachnida]. L.; 1977. 396 p.
13. Filippova N.A. [Ixodiade Ticks, Subfamily Amblyomminae. Fauna of the Russian Federation and Bordering Countries. Arachnida]. St. Petersburg; 1997. 430 p.
14. Filippova N.A., Belyaev V.G. [Concerning the species of *Ixodes persulcatus* group (Parasitiformes Ixodidae). *V. I. pavlovskyi* Pom. and *I. nipponensis* Kitaoka et Saito in Primorye]. *Parazitologia.* 1970; 6(4):515–23.

Authors:

Zvereva T.V., Allenov A.V. Primorsk Plague Control Station of the Rospotrebnadzor. 46, Dzerzhinskogo St., Ussuriysk, 692512, Russian Federation. E-mail: ppchsadm@mail.ru

Nikitin A.Ya. Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East. 78, Trilissera St., Irkutsk, 664047, Russian Federation. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Об авторах:

Зверева Т.В., Алленов А.В. Приморская противочумная станция. Российская Федерация, 692512, Уссурийск, ул. Дзержинского, 46. E-mail: ppchsadm@mail.ru

Никитин А.Я. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока. Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилисера, 78. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Поступила 06.01.15.

Э.Ш.Ибрагимов

НЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ ПРОФИЛАКТИКА В ТЯНЬ-ШАНЬСКОМ ВЫСОКОГОРНОМ ПРИРОДНОМ ОЧАГЕ ЧУМЫ: ПРОШЛОЕ И НАСТОЯЩЕЕ

Центр карантинных и особо опасных инфекций Департамента профилактики заболеваний и госсанэпиднадзора МЗ Кыргызской Республики, Бишкек

На территории Киргизии в Тянь-Шаньском высокогорном природном очаге чумы с 1943 г. разрабатывались методы и проводились мероприятия по неспецифической профилактике с целью истребления основных носителей – серых сурков – и уничтожения переносчиков – блох. Установлено, что более эффективной в плане длительного подавления эпизоотической активности очага оказалась глубинная dustация нор сурков для уничтожения блох, нежели истребление самих зверьков. В настоящее время для поддержания стадии эпизоотического покоя осуществляются локальные обработки современными экологически безопасными пестицидами на участках стойкого сохранения возбудителя чумы и местах активизации эпизоотий.

Ключевые слова: серый сурок, неспецифическая профилактика, мониторинг, противоэпизоотическая эффективность.

E.Sh.Ibragimov

Non-Specific Prophylaxis in the Tien Shan High-Mountain Natural Plague Focus: Past and Present

Center for Quarantine and Particularly Dangerous Infections at the Department for Disease Prevention and State Sanitary Epidemiological Surveillance, the Ministry of Health of Kyrgyz Republic, Bishkek, Kyrgyz Republic

Since 1943, in the territory of Kirgizia in the Tien Shan high-mountain natural plague focus, the methods and measures of non-specific prophylaxis, aimed at extermination of the main carriers, grey souslik, and elimination of vectors – the fleas, have been developed and implemented. Established has been the fact that subsurface application of pulicide inside the souslik holes is more efficient in the context of long-term suppression of focal epizootic activity, rather than the elimination of carriers themselves. Presently, for epizootic inter-phase (resting stage) maintaining local treatments with environmentally-safe pesticides in the areas of continuous plague agent persistence and epizooties activation are performed.

Key words: grey souslik, non-specific prophylaxis, monitoring, anti-epizootic efficiency.

Неспецифическая профилактика чумы в природных очагах по-прежнему остается актуальной проблемой, о чем убедительно свидетельствуют события 2013 г. в Республике, когда в Сарыджазском автономном очаге произошло заражение человека бубонной формой чумы в результате контакта с больным сурком.

Материалы и методы

Проанализированы архивные материалы Киргизской противочумной станции, начиная с сороковых годов прошлого века, о проведении неспецифической профилактики в группе Тянь-Шаньских высокогорных очагов чумы.

Разработка методов активного воздействия на очаги чумы в Тянь-Шане начата в 1943 г. Из большого количества испытанных способов борьбы с носителями и переносчиками чумы наиболее приемлемым оказался химический метод с использованием цианплава в борьбе с серыми сурками (*Marmota baibacina*) и применение дуста ДДТ против блох.

Оздоровление очагов путем проведения истребительных работ с применением цианплава против сурков начали в 1955 г. Глубокое сплошное разреживание поселений сурков привело к резкому снижению активности чумного эпизоотического процесса.

В Верхненарынском автономном очаге чумы (на примере которого в статье проведен анализ результатов неспецифической профилактики) начиная с 1942 г. исследовано 78873 сурка, 8600 прочих млекопитающих, 123751 блоха, 156820 иксодовых клещей и 15712 вшей, от которых выделено 838 культур чумного микроба (от сурков – 405, блох – 266, клещей – 147, вшей – 14). В целом по очагу зараженные сурки составили в среднем 0,5 % от числа исследованных.

Результаты и обсуждение

Тянь-Шаньский очаг до проведения в нем истребительных мероприятий характеризовался наличием взаимосвязанных поселений с высокой численностью сурков и относительно высокой численностью блох. В этих условиях эпизоотии чумы в популяции сурков регистрировали ежегодно. Зараженность зверьков в среднем составляла 0,5 % от числа исследованных, а в некоторые годы на отдельных участках достигали 10 %. Искусственное сокращение численности сурков привело к резкому снижению активности эпизоотий, но ликвидировать чуму в природном очаге таким образом не удалось. В период с 1971 по 1989 год для санации очаговой территории применили метод глубинной дезинсекции нор сурков дустом ДДТ, что позволило на длительное время снизить

эпизоотическую активность в их популяциях [2]. Гибель сурочьих блох – хранителей и переносчиков возбудителя чумы – обеспечила длительное отсутствие эпизоотий в популяциях сурка [1]. Первые эпизоотии среди сурков зарегистрированы на 23-м году после обработок [2]. Вместе с тем эпизоотии среди других видов грызунов на обработанных территориях обнаруживали гораздо раньше – на 7-й год. Тем не менее, основная цель неспецифической профилактики – прекращение эпизоотий среди основных источников заражения людей – серых сурков, была достигнута и длительность положительного эффекта составила почти четверть века.

Сегодня в противочумную практику Кыргызской Республики внедряются безопасные инсектициды из группы пиретроидов – нестабильные соединения 3 и 4 классов опасности, т.е. средства экологически безопасные для окружающей среды. Основным критерием при их использовании должна быть удовлетворительная противозооотическая эффективность. Краткосрочность воздействия действующих веществ, характерную для этого класса соединений, планируется компенсировать нацеленными и поэтому локальными поддерживающими обработками, ограничивая их участками стойкого сохранения возбудителя и местами активизации проявлений чумы. В связи с этим приобретает особую значимость вопрос о роли сопредельных неотработанных энзоотических территорий в восстановлении эпизоотической активности участков после проведения полевой дезинсекции в очагах чумы Тянь-Шаня.

Для изучения вопроса о роли сопредельных территорий проанализированы материалы оздоровительных мероприятий и эпизоотологических наблюдений по Верхненарынскому автономному очагу чумы и некоторым другим участкам Тянь-Шаньского природного очага.

Верхненарынский автономный очаг расположен в центральной части Тянь-Шаньского природного очага на площади в 7500 кв. км. На востоке он граничит с Сарыджазским автономным очагом, на западе – с Аксайским. Эпизоотологическое обследование Верхненарынского автономного очага чумы начато в 1942 г. Уже на следующий год был выделен возбудитель чумы от сурков. До активного воздействия на очаг путем проведения полевой дезинсекции нор сурков, эпизоотии чумы выявляли 30 лет, и только в 1942, 1945 и 1952 гг. чума не обнаружена. Это показатель устойчивого проявления эпизоотической

активности очага. Энзоотическая территория очага подразделена на 5 самостоятельных участков очаговости: Болгартский, Тарагай-Карасайский, Иштык-Акширакский, Учкульский и Узенгегушский. По экологическим связям участки, входящие в состав очага, представляют единую территорию, но по ландшафтно-климатическим условиям и, главное, по интенсивности проявления эпизоотий все они различны между собой (таблица).

Наиболее устойчивым природно-очаговым участком оказался Иштык-Акширакский, где эпизоотии чумы среди сурков обнаруживали ежегодно, а зараженность сурков заметно выше, чем на других участках (показатели зараженности сурков в Тарагай-Карасайском, Узенгегушском и Болгартском участках очаговости довольно близки). Определенный интерес представляет Учкульский участок. Здесь гораздо реже обнаруживали чуму, но в годы выявления эпизоотии протекали весьма интенсивно и за счет этого отмечен высокий средний показатель зараженности сурков, который в 1964 г. достиг 4,4 %. Такая высокая зараженность сурков на других участках этого автономного очага никогда не регистрировалась.

В целях подавления эпизоотической активности Иштык-Акширакского участка в 1955 г. проведены истребительные работы против сурков, однако площади, на которых ежегодно проводилась борьба с сурками, были небольшими (200–300 кв. км), не соблюдался принцип наращивания массива обработок. В итоге борьба с сурками в Верхненарынском очаге была проведена на площади 1300 кв. км, составив 17 % от общей энзоотической площади, а повторные обработки выполнены лишь на 700 кв. км. Это не обеспечило снижения эпизоотической активности, так как численность сурков восстанавливалась за счет их притока с прилегающих территорий.

Экспериментальные производственные работы по глубинной дезинсекции нор сурков 10 % дустом ДДТ, проведенные в 1965–1970 гг. в автономном очаге под руководством В.К.Попова, показали, что после однократной обработки численность блох на сурках и в их гнездах резко снижается, но противозооотическая эффективность недостаточна [3]. Этот вывод подтвердила проверка эффективности производственных работ 1970 г. на площади 1000 кв. км. в Тонских сыртах. Эти данные подтвердили вывод о необходимости при оздоровлении Тянь-Шаньского очага чумы двукратной дезинсекции нор сурков.

В 1971–1975 гг. такая обработка в Верхне-

Результаты исследования на чуму сурков в Верхненарынском автономном очаге до полевой дезинсекции

Участки	Число лет		Исследовано сурков	Выделено культур	Зараженность, %
	обследования	выявления эпизоотий			
Тарагай-Карасайский	25	15	31525	91	0,3
Узгенгегушский	4	2	7407	31	0,4
Болгартский	10	5	10341	35	0,3
Иштык-Акширакский	23	23	26914	217	0,8
Учкульский	5	2	2086	31	1,5
Всего	-	-	78873	405	0,5

нарынском автономном очаге была проведена на массиве 3985 кв. км. Остались не обработанными из-за пограничного режима территория бассейна реки Акширак (непосредственно примыкает к границе с КНР), Узенгегушский участок и западная сопредельная часть Тарагай-Карасайского участка очаговости, где впервые энзоотичность территории установили в 1982 г. в связи с заражением охотника-промысловика бубонной чумой при добыче сурков.

Болгартский участок был обработан в 1971 г., а в 1973 г. проведена повторная дезинсекция нор, так как разовая dustация не привела к прекращению эпизоотического процесса.

На территории Тарагай-Карасайского участка полевая дезинсекция была осуществлена в 1972–1973 гг., Арабельский массив обработан в 1974–1975 гг., Иштык-Акширакский и Учкульский мезоочаги – в 1974–1975 гг.

До выделения культур чумы в 1998 г. в Иштык-Акширакском мезоочаге с оздоровленных территорий было исследовано с отрицательным результатом 13005 сурков, 5426 мышевидных грызунов и прочих животных, 10142 блохи (преимущественно мелких грызунов), 16295 клещей, 9559 вшей. Эпизоотии чумы среди сурков были зарегистрированы только через 23 года.

Вместе с тем шло выделение культур возбудителя чумы от сурков на неотработанных сопредельных территориях: в 1978 г. на Иштык-Акширакском участке с выделением 24 культур возбудителя чумы, 7 из которых выделено непосредственно от сурков, 16 – от их блох и 1 – от вши (без определения); в 1975 и 1978 гг. на прилегающей к этому мезоочагу не оздоровленной территории Малого Узенгегуша выделили 45 культур: 23 – от сурков, 9 – от блох и 12 – от клещей. В 1990 г. с не оздоровленной юго-западной части этого же автономного очага в бассейне реки Большой Узенгегуш изолирована культура от серого сурка. В 1983 г. в западной части Иштык-Акширакского мезоочага, в зоне альпийских лугов с примесью кустарников, на площади 800 кв. км выделили 30 культур чумного микроба от серых сурков, их блох и клещей. Обследование в 1984 г. этого же участка в лесолуговом поясе на высотах 2200–2600 м. привело к обнаружению фракции 1 в костных остатках серых сурков и барсука.

На территориях, где выявили остропротекающие эпизоотии, поселения сурков взаимосвязаны между собой. Из Узенгегушского участка очаговости поселения сурков переходят в урочище Бедель через водораздел Боз-Жалпак на территорию Иштык-Акширакского мезоочага. Граница отработанной и не отработанной территории этого же мезоочага урочища Пикертык, где в 1978 г. выявили эпизоотию среди сурков, проходит через сплошные поселения сурков. Западная часть Тарагай-Карасайского мезоочага является естественным продолжением этой территории.

Опасения заноса инфекции на оздоровленные

участки побудили к продолжению оздоровительных мероприятий методом глубинной дезинсекции нор сурков. В результате с 1984 по 1989 год полевой дезинсекции подверглась ранее необработанная территория площадью 3074 кв. км. Не охваченным полевой дезинсекцией остался лишь бассейн реки Большой Узенгегуш на границе с КНР.

Выделения культур чумы на неотработанных сопредельных территориях в 1975, 1978, 1983, 1990 гг. от сурков, не приведшие к возобновлению эпизоотической активности оздоровленной части, на наш взгляд, вызваны следующими объективными факторами. Это глубокие изменения, произошедшие на территории Тянь-Шаньского природного очага, обусловленные нарушением пространственной структуры и снижением численности, вызванные истреблением сурков в целях подавления эпизоотической активности, промысел и браконьерство, а также интенсивное хозяйственное использование территории очага. С середины 50-х годов до 1972 г. в Тянь-Шаньском очаге провели истребление сурков на территории 10000 кв. км. На отработанных массивах Верхненарынского автономного очага численность составляла от 10 до 70 особей на 1 кв. км. Переход на более эффективный метод – полевую дезинсекцию – и официальное разрешение на промысел сурков позволило добывать ежегодно до 10 тыс. особей. Только с 1975 по 1985 год с оздоровленной территории Тянь-Шаньского очага было сдано 200 тыс. шкур сурков, что составляет 50 % всех заготовок в Республике за эти годы.

В итоге численность сурков в автономном очаге к концу 90-х годов колебалась в пределах 5–15 особей на 1 кв. км. По материалам обследования 2010 г., на Узенгегушском участке очаговости средняя численность сурков по территории обследования составила 21,4 зверьков, на Болгартском в 2011 г. – 26,7 особей, на Тарагай-Карасайском в 2013 г. – 8,2. Численность сурка продолжает оставаться в 3,5 раза, а некоторых участках и в 10 раз ниже естественной плотности поселений серых сурков (около 100 особей на 1 кв. км).

Имеют место нарушения значительной части поселений сурков в результате строительства горно-рудного предприятия «Кумтор».

Длительность восстановления численности сурков составляет около 10 лет и колеблется в зависимости от того, каким был исходный тип поселений сурков. В местах преобладания ленточных поселений структура популяций восстанавливалась через 7–8 лет, а в диффузных поселениях этот процесс длился около 15, что при прочих равных условиях обусловлено различиями в емкости биотопов и скорости расселения. Ожидать в ближайшие годы резкого увеличения численности сурков не приходится.

Другим фактором, связанным с ролью сопредельных территорий в восстановлении эпизоотической активности участков, подвергшихся полевой дезинсекции, служат, на наш взгляд, свойства возбудителя, лежащие в основе устойчивого существо-

вания Тянь-Шаньского природного очага, которые позволяют ему в условиях депрессии численности доминирующих носителей – сурков – циркулировать в популяциях мышевидных грызунов.

Подтверждениями этого вывода могут служить факты выделения культур чумы от узкочерепной полевки и снятых с нее блох *Rhadinopsylla angusta* и *Ceratophyllus penicilliger* в 1968 г. в Центральном Аксае, от трупа серого хомячка и снятой с него блохи *Amphipsylla primaris* в верховьях реки Тарагай в Верхненарынском автономном очаге в 1971 г., а в 1983–1984 гг. выявление локальной автохтонной эпизоотии среди серых хомячков в Западном Аксае. Так, в 1983 г. выделен штамм возбудителя чумы от серого хомячка и 3 штамма от его блох *A. primaris*. У двух серых хомячков и одного хорька обнаружены антитела к фракции 1 чумного микроба в РНГА. В 1984 г. вновь выделен штамм возбудителя чумы от серого хомячка, добытого на том же участке. В 1993 г. выделены 3 культуры чумы на Болгартском участке очаговости: 1 – от серебристой полевки и 2 – от серого хомячка. Необходимо подчеркнуть, что выделение культур возбудителя чумы от мышевидных грызунов проходило при отсутствии эпизоотий среди сурков.

С началом выделения культур чумы от сурков, через 23 года после отработок на Иштык-Акширакском участке очаговости Верхненарынского автономного очага, одновременно продолжилось выделение возбудителя от мышевидных грызунов (из 9 культур возбудителя чумы 6 выделены от сурков, 2 – от узкочерепной полевки и 1 – от серебристой полевки). В 2012 г. на Иныльчек Каиндинском участке очаговости Сарыджазского автономного очага выявлено 6 культур чумного микроба: 5 – от сурков и 1 – от серого хомячка.

Таким образом, если при дератизации сопредельные территории играли существенную роль в восстановлении численности и эпизоотической активности,

то на участках, подвергшихся полевой дезинсекции, такого влияния не ощущается. Основной причиной этого является неспособность блох к активным самостоятельным миграциям.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ибрагимов Э.Ш., Бахвалов В.Ф., Михайлюта А.А., Коченков В.Г. Длительность остаточного действия ДДТ и пулцидного эффекта дезинсекции нор сурков в природных очагах чумы Киргизии. В кн.: Вопросы паразитологии и неспецифической профилактики зоонозов. Саратов; 1988. С. 40–4.
2. Ибрагимов Э.Ш., Гаврилова О.Н., Кастюсова В.А., Литвак Я.И., Казакбаева Р.А. К реставрации эпизоотического процесса на Иштык-Акширакском участке очаговости Верхненарынского автономного очага чумы. *Карантинные и зоонозные инф. в Казахстане*. 2001; 3:110–3.
3. Попов В.К. Результаты опытно-производственных работ по борьбе с блохами сурков в Верхненарынском автономном очаге чумы. В кн.: Профилактика чумы в природных очагах. Саратов: Изд-во Саратов. гос. ун-та; 1973. С. 206–10.

References

1. Ibragimov E.Sh., Bakhvalov V.F., Mikhailyuta A.A., Kochenkov V.G. [Duration of the DDT residual benefit and pulicide effect of disinsection of souslik holes in natural plague foci of Kirgizia]. In: [Proceedings of the USSR Plague Control Institutions. Problems of Parasitology and Non-Specific Prophylaxis of Zoonotic Infections]. Saratov; 1988. P. 40–4.
2. Ibragimov E.Sh., Gavrilova O.N., Kastousova V.A., Litvak Ya.I., Kazakbaeva R.A. [Concerning the restoration of epizootic process in Ishtyk-Akshikarsky focal zone of the Verkhnenarynskiy autonomous plague focus]. *Karantin. Zoonoz. Infek. v Kazakhstane*. 2001; 3:110–3.
3. Popov V.K. [Results of development-and-production works on the souslik flea numbers control in the Verkhnenarynskiy autonomous plague focus]. In: [Plague Prophylaxis in Natural Foci]. Saratov; 1973. P. 206–10.

Authors:

Ibragimov E.Sh. Center for Quarantine and Particularly Dangerous Infections at the Department for Disease Prevention and State Sanitary Epidemiological Surveillance, the Ministry of Health of Kyrgyz Republic. 535, Frunze St., Bishkek, 720033, Kyrgyz Republic. E-mail: dgsn@elcat.kg

Об авторах:

Ибрагимов Э.Ш. Центр карантинных и особо опасных инфекций Департамента профилактики заболеваний и госсанэпиднадзора МЗ Кыргызской Республики. Кыргызская Республика, 720033, г. Бишкек, ул. Фрунзе, 535. E-mail: dgsn@elcat.kg

Поступила 20.05.15.

В.В.Кутырев¹, А.Ю.Попова^{2,3}, Е.Б.Ежлова², Ю.В.Демина², Н.Д.Пакскина², В.Е.Безсмертный⁴,
В.П.Топорков¹, Н.В.Попов¹, В.В.Кабин⁵, К.Б.Яшкулов⁶, Д.М.Бамматов⁷, А.И.Ковтунов⁸,
Д.Н.Санджиев⁹, Е.С.Зенкевич², А.К.Гражданов¹, А.Н.Матросов¹, А.А.Кузнецов¹, И.Н.Шарова¹,
А.А.Лопатин¹, М.П.Григорьев¹⁰, А.Н.Куличенко¹⁰

ОБЕСПЕЧЕНИЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО БЛАГОПОЛУЧИЯ ПО ЧУМЕ В УСЛОВИЯХ ОБОСТРЕНИЯ ЭПИЗООТИЧЕСКОЙ ОБСТАНОВКИ В ПРИКАСПИЙСКОМ ПЕСЧАНОМ ПРИРОДНОМ ОЧАГЕ В 2014 г.

¹ ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация; ² Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация; ³ Российская медицинская академия последипломного образования, Москва, Российская Федерация; ⁴ ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора, Москва, Российская Федерация; ⁵ ФКУЗ «Астраханская противочумная станция», Астрахань, Российская Федерация; ⁶ ФКУЗ «Элистинская противочумная станция», Элиста, Российская Федерация; ⁷ ФКУЗ «Дагестанская противочумная станция», Махачкала, Российская Федерация; ⁸ Управление Роспотребнадзора по Астраханской области, Астрахань, Российская Федерация; ⁹ Управление Роспотребнадзора по Республике Калмыкия, Элиста, Российская Федерация; ¹⁰ ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт», Ставрополь, Российская Федерация

Обобщен опыт взаимодействия учреждений Роспотребнадзора по обеспечению эпидемиологического благополучия по чуме в условиях обострения эпизоотической обстановки на территории Прикаспийского песчаного природного очага чумы в 2014 г. Комплекс противочумных мероприятий включал проведение эпизоотологического и эпидемиологического мониторинга, мер специфической и неспецифической профилактики, подготовку медицинских и ветеринарных работников, подготовку медицинских организаций (МО) по вопросам профилактики болезней, информационно-разъяснительную работу с населением. Для обеспечения эпидемиологического благополучия привито против чумы 4460 человек, проведена полевая дезинсекция на площади 50,5 км², полевая дератизация – 89,4 км², поселковая дезинсекция – 257,3 тыс. м², поселковая дератизация – 329,1 тыс. м². Финансовые затраты на проведение профилактических (противоэпидемических) мероприятий составили 23265,8 тыс. руб. Отмечена перспективность упреждающего планирования и проведения профилактических мероприятий на участках прогнозируемого обострения эпизоотической обстановки в природных очагах чумы Российской Федерации.

Ключевые слова: взаимодействие учреждений Роспотребнадзора, обеспечение эпидемиологического благополучия по чуме, эпизоотологический прогноз, профилактические (противоэпидемические) мероприятия, финансовые затраты.

V.V.Kutyrev¹, A.Yu.Popova^{2,3}, E.B.Ezhlova², Yu.V.Demina², N.D.Pakskina², V.E.Bezsmertny³, V.P.Toporkov¹,
N.V.Popov¹, V.V.Kabin⁴, K.B.Yashkulov⁵, D.M.Bammatov⁶, A.I.Kovtunov⁷, D.N.Sandzhiev⁸, E.S.Zenkevich²,
A.K.Grazhdanov¹, A.N.Matrosov¹, A.A.Kuznetsov¹, I.N.Sharova¹, A.A.Lopatin¹, M.P.Grigor'ev⁹,
A.N.Kulichenko⁹

Provision of Epidemiological Welfare on Plague under Aggravation of Epizootic Situation in the Pre-Caspian Sandy Natural Plague Focus in 2014

¹Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation; ²Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Moscow, Russian Federation; ³Russian Medical Academy for Post-Graduate Training, Moscow, Russian Federation; ⁴Plague Control Center, Moscow, Russian Federation; ⁵Astrakhan Plague Control Station, Astrakhan, Russian Federation; ⁶Elista Plague Control Station, Elista, Russian Federation; ⁷Dagestan Plague Control Station, Makhachkala, Russian Federation; ⁸Rospotrebnadzor Administration in the Astrakhan Region, Astrakhan, Russian Federation; ⁹Rospotrebnadzor Administration in the Republic of Kalmykia, Elista, Russian Federation; ¹⁰Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Reviewed are the lessons learned from cooperation between Rospotrebnadzor institutions in the provision of epidemiological welfare on plague under aggravation of epizootic situation in the territory of the Pre-Caspian sandy natural plague focus in 2014. Plague control measures combined epizootiological and epidemiological monitoring, specific and non-specific prophylaxis, training activities for medical and veterinary officers, instructional advice for medical facilities on matters of infection prevention, and sensitization campaign. Furthermore, vaccinated against plague were 4460 people, field disinsection over 50.5 km² area was performed, as well as field deratization – 89.4 km², township disinsection – 257.3 thous. m², and township deratization – 329.1 thous. m². Financial expenses on prophylactic (anti-epidemic) activities amounted to 23265.8 thousand rubles. Outlined was viability of preventive planning and prophylactic measures in the territories with forecasted aggravation of epizootic situation in natural plague foci of the Russian Federation.

Key words: cooperation between Rospotrebnadzor institutions, provision of welfare on plague, epizootiological forecasting, prophylactic (anti-epidemic) measures, financial expenses.

Эпизоотии чумы в поселениях грызунов на территории Прикаспийского песчаного природного очага регистрируют с определенной периодичностью [4]. «Взрывной» характер массового появления зараженных чумой фоновых видов блох и грызунов, после длительных межэпизоотических перерывов, отмечен здесь в 1946, 1979 и 2014 гг. Существенно, что в прошлом столетии резкие обострения эпизоотической обстановки на территории Прикаспийского песчаного очага неизменно сопровождались эпидемиологическими осложнениями [5]. Единичные случаи заболевания чумой отмечались в Лиманском районе Астраханской области в 1947 г. (6-й разъезд), в 1948 г. (с. Промысловка), в Черноземельском районе Республики Калмыкия в 1979 г. (п. Артезиан). В 2014 г. при возникновении здесь новой очередной «взрывной волны» эпизоотий вследствие оперативного и адекватного реагирования (специфическая и неспецифическая профилактика) на рост эпидемической опасности обеспечено эпидемиологическое благополучие по чуме [3, 4]. При этом основой для своевременного планирования и проведения всего комплекса профилактических (противоэпидемических) мероприятий послужил эпизоотологический прогноз на активизацию Прикаспийского песчаного природного очага чумы в весенний и осенний сезоны 2014 г. [7, 8]. Проведение этих мероприятий осуществлялось в тесном взаимодействии противочумных учреждений с органами и организациями Роспотребнадзора, Министерствами здравоохранения и органами исполнительной власти на территории Астраханской области, Республик Калмыкия и Дагестан. Целью данной работы явилось обобщение этого опыта, а анализ эффективности проведенных работ может помочь при планировании и организации таких мероприятий в других природных очагах чумы.

В данном сообщении использованы оперативные данные Астраханской, Элистинской и Дагестанской противочумных станций о результатах эпидемиологического надзора в Прикаспийском песчаном природном очаге чумы в 2013–2015 гг. Для анализа привлекались материалы Банка унифицированных данных ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» за 1977–1993 гг., архивные сведения и литературные источники. В работе использованы материалы Базы данных ведомственной геоинформационной аналитической «Системы поддержки принятия управленческих решений» Роспотребнадзора (СППР) и картографические данные, полученные в результате внедрения в практику ГИС-технологий [1, 2].

Прикаспийский песчаный природный очаг чумы занимает восточную часть Северо-Западного Прикаспия от низовьев Волги на северо-востоке до низовьев Терека на юге. Восточной границей очага является береговая линия Каспийского моря. Общая площадь очага составляет 63276 км² [5]. Ежегодный контроль за эпизоотической и эпидемиологической обстановкой в Прикаспийском песчаном при-

родном очаге чумы осуществляют Астраханская, Элистинская и Дагестанская противочумные станции. Зона деятельности Астраханской ПЧС включает территорию площадью 21210 км², Элистинской ПЧС – 15120 км², Дагестанской ПЧС – 26946 км². Эпидемиологический надзор проводится в тесном взаимодействии с территориальными управлениями Роспотребнадзора, ФБУЗ ЦГиЭ, учреждениями общей медицинской сети Республик Дагестан и Калмыкия, Астраханской области.

В современных границах Прикаспийского песчаного природного очага эпизоотии чумы начали регистрировать с 1923 г. За период с 1923 по 2014 год (91 год) эпизоотическими были 45 лет, т.е. индекс эпизоотичности территории очага равняется 0,50. Наиболее крупные обострения эпизоотической обстановки, когда площадь эпизоотии превышала 1 тыс. км² зарегистрированы в 1948, 1979, 1982–1992, 1994–1995, 2001 и 2014 гг. Периоды высокой эпизоотической активности сменялись межэпизоотическими периодами, которые имели здесь место в 1939–1945, 1955–1978, 1997, 2007–2008 и 2011–2012 гг. В условиях циклического характера проявлений эпизоотий чумы на территории Прикаспийского песчаного очага наиболее напряженная эпидемиологическая обстановка складывалась здесь во времена его выхода из межэпизоотического периода и в последующие годы высокой эпизоотической активности. Эпидемические осложнения в прошлом столетии имели место в 1924 г. (Юста), 1929 (Астрахань), 1935 (Цикерта, 10-й разъезд), 1937 (Нарын-Худук), 1947–1948 (6-й разъезд, Промысловка) и 1979 г. (Артезиан). Именно поэтому для оперативного повышения настороженности учреждений Роспотребнадзора, ответственных за обеспечение эпидемиологического благополучия по чуме, современные стратегия и тактика эпидемиологического надзора опираются, в первую очередь, на результаты долгосрочного и краткосрочного (на сезон, год) эпизоотологических прогнозов [9]. Подчеркнем, что ежегодные прогнозы эпизоотической активности природных очагов чумы позволяют провести упреждающие профилактические (противоэпидемические) мероприятия, что значительно снижает риск заражения людей в периоды резкой активизации проявлений чумы. Алгоритм взаимодействия учреждений Роспотребнадзора по обеспечению эпидемиологического благополучия по чуме в период прогнозируемого обострения эпизоотической обстановки на территории Прикаспийского песчаного природного очага в 2014 г. приведен ниже.

Активизация Прикаспийского песчаного очага в 2013–2014 гг. произошла после кратковременного межэпизоотического периода 2011–2012 гг., в течение которого, несмотря на ежегодное эпизоотологическое обследование, зараженных животных на территории очага не обнаружено. В 2012 г. отмечено формирование условий для выхода из состояния межэпизоотического периода Прикаспийского песчаного природного очага чумы в 2013 г. [7]. В соот-

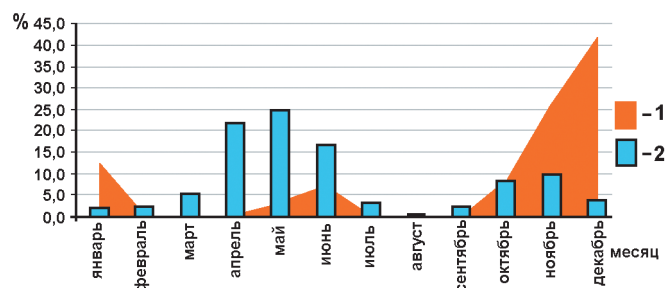


Рис. 1. Сезонная эпизоотическая и эпидемическая активность Прикаспийского песчаного природного очага чумы:

1 – помесечное распределение эпидемических вспышек чумы (в %) за период с 1907 по 1979 год; 2 – помесечное распределение выделенных культур чумного микроба от носителей и переносчиков (в %) за период с 1923 по 2014 год

ветствии с эпизоотологическим прогнозом на 2013 г. единичные находки зараженных чумой животных (3 штамма чумного микроба) были зарегистрированы здесь в первой декаде ноября на территории Лаганского района Республики Калмыкия. ФКУЗ «Астраханская противочумная станция» в оперативном порядке приступила к проведению профилактических (противоэпидемических) мероприятий и привела в состояние повышенной противоэпидемической готовности учреждения здравоохранения Лаганского района Республики Калмыкия. В результате вакцинации контингентов риска, полевой

и поселковой дератизации и дезинсекции удалось значительно снизить риск заражения и избежать эпидемиологических осложнений в осенне-зимний период 2013–2014 гг. Подчеркнем, что максимальная эпидемическая активность Прикаспийского песчаного природного очага чумы в прошлом столетии отмечена именно в осенне-зимний период (рис. 1).

Весной и осенью 2014 г. отмечен взрывной характер обострения эпизоотической обстановки в центральной приморской части Прикаспийского песчаного природного очага чумы [4]. Эпизоотии выявлены на территории Лиманского района Астраханской области, Лаганского и Черноземельского районов Республики Калмыкия, Тарумовского района Республики Дагестан (рис. 2). Общая эпизоотическая площадь составила 2300 км². Выделено 53 штамма возбудителя чумы. В эпизоотический процесс вовлечен широкий спектр фоновых видов грызунов и их эктопаразитов, в том числе 17 культур изолировано от грызунов (9 – от полуденной и 4 – от гребенщиковой песчанок, 2 – от домового мыши, по одному – от общественной полевки и малого тушканчика), 36 культур от их блох (17 – от *Nosopsyllus laeviceps*, 5 – от *Xenopsylla conformis*, 8 – от *Nosopsyllus mokrzeckyi*, 3 – от *Nosopsyllus consimilis* и 3 штамма от блох без определения вида). Методами ПЦР и ИФА подтверждена циркуляция *Y. pestis* на территории Яшкульского

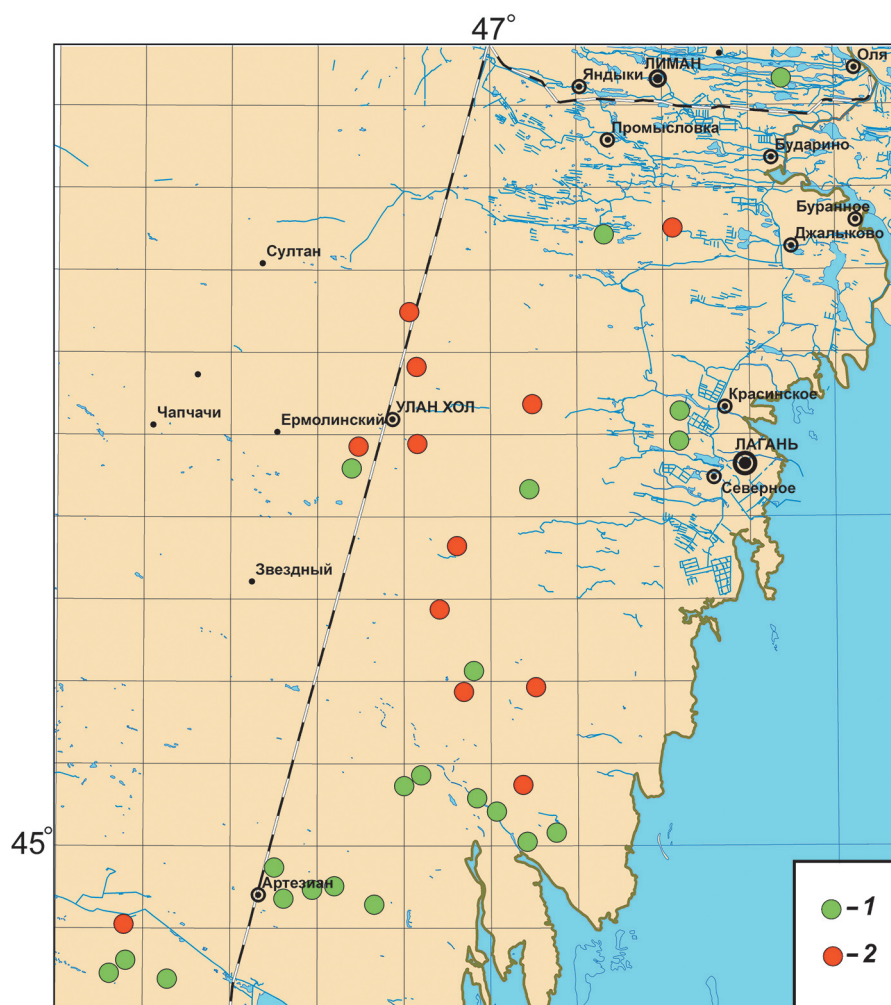


Рис. 2. Места регистрации зараженных возбудителем чумы носителей и переносчиков на территории Прикаспийского песчаного природного очага в 2014 г.:

1 – весной, 2 – осенью

и Черноземельского районов Республики Калмыкии, Курского района Ставропольского края.

Противочумные учреждения проводят постоянное наблюдение за численностью, распределением и характером пребывания населения в природных очагах чумы. По этим данным в зоне эпизоотии проживает около 20 тыс. постоянного и 1,0 тыс. временного населения. В границах эпизоотической территории расположены многочисленные промышленные и сельскохозяйственные объекты, газонефтепроводы, железнодорожные и автомобильные магистрали, морской порт. Временное население в настоящее время представлено газовиками и нефтяниками, строителями автодорог, сотрудниками портовых объектов, специалистами таможенной и пограничной служб. Большая часть этого контингента работает вахтовым методом, выезжая для отдыха по месту постоянной регистрации в другие административные субъекты страны. В теплое время года ситуация усугубляется пребыванием на приморской и ильменно-дельтовой территориях большого числа туристов и рыбаков, приезжающих сюда из других регионов европейской части России.

Вся деятельность учреждений Роспотребнадзора Астраханской области, Республик Калмыкия и Дагестан по профилактике заболеваний чумой на территории природного очага осуществляется в тесном взаимодействии противочумных станций, региональных управлений и центров гигиены и эпидемиологии. Эпизоотологический мониторинг чумы ведется противочумными станциями и отделениями круглогодично, а в периоды возможных эпизоотических обострений разворачивается работа сезонных противочумных отрядов. Своевременное оповещение об эпизоотической обстановке, составление и использование прогнозов по динамике ситуации позволяет планировать и проводить необходимые профилактические мероприятия. Составление и корректировка комплексных планов по профилактике чумы осуществляются ежегодно, а при необходимости и чаще.

Неблагоприятный эпизоотологический прогноз по чуме на 2014 г., данные оперативного обследования потребовали усиления организационной работы по обеспечению эпидемиологического благополучия по этой опасной инфекции. В соответствии с постановлениями медицинского штаба СПК МО «Лиманский район» от 21.03.2014 г. «О выделении культуры чумного микроба», Главного государственного санитарного врача по Астраханской области от 24.03.14 «О проведении профилактических мероприятий в природном очаге чумы в Лиманском районе Астраханской области», от 22.03.2014 г. «Об утверждении Комплексного плана мероприятий по санитарной охране территории Астраханской области по предупреждению заноса на территорию и распространения среди населения Астраханской области особо опасных и природно-очаговых инфекционных болезней (2015–2019

годы)», от 08.04.2014 г. «О проведении экстренных профилактических противочумных мероприятий в Лиманском районе», от 08.04.2014 г. «О проведении профилактических мероприятий в природном очаге чумы в Лиманском районе Астраханской области», от 17.06.14 № 5 «О профилактических противочумных мероприятиях в Лиманском районе Астраханской области», решениями санитарно-противоэпидемической комиссии при Правительстве Астраханской области от 23.12.2014 г., постановлениями санитарно-противоэпидемической комиссии при Правительстве Республики Калмыкия № 1 от 16.04.2014 г. «О проведении экстренных профилактических противочумных мероприятий в Лаганском районе», № 2 от 30.04.2014 г. «О проведении экстренных профилактических противочумных мероприятий в Лаганском районе в связи с выделением 29.04.2014 г. новых культур чумного микроба около населенных пунктов с. Красинское, с. Северное, г. Лагань», постановлением Главного государственного санитарного врача по Республике Калмыкия № 07 от 19.05.2014 г. «О проведении экстренных профилактических мероприятий в природном очаге чумы на территории Лаганского и Черноземельского районов Республики Калмыкия» для обеспечения эпидемиологического благополучия по чуме оперативно проведены заседания СПК при главах администрации районов, где выявлены зараженные чумой животные. Управлениями Роспотребнадзора направлены соответствующие предписания в адреса Минздравов Республики Калмыкия, Республики Дагестан, Астраханской области, главам районных муниципальных образований (РМО) об организации и проведении профилактических противочумных мероприятий.

При Управлениях Роспотребнадзора разработаны планы профилактических и противоэпидемических мероприятий на энзоотичных по чуме территориях Республик Калмыкия и Дагестан, Астраханской области. Проведены расчеты обеспечения учреждений лабораторной базы питательными средами, МИБП, дезсредствами и лабораторными животными. При организации деятельности иммунологических бригад определялись режимы и графики работы, порядок учета и отчетности. Проведены тотальные проверки готовности госпитальной базы МО на случай появления больного чумой и проведения первичных противочумных мероприятий. В связи с напряженной эпизоотической обстановкой увеличено число зоологических бригад, осуществляющих эпизоотологическое обследование, дезинсекционные и дератизационные обработки в Прикаспийском песчаном очаге чумы. В процессе проверки противоэпидемической готовности МО на территории Астраханской области, Республик Калмыкия и Дагестан определены или уточнены контингенты риска, подлежащие противочумной вакцинации, проведены семинары и занятия с работниками МО на готовность к приему подозрительного на чуму больного. В создавшейся обстанов-

ке усилено информационное взаимодействие ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», ФКУЗ «Противочумный центр», Управлений Роспотребнадзора по Республикам Дагестан, Калмыкия, Астраханской области, Астраханской, Дагестанской и Элистинской противочумных станций, Ставропольского НИПЧИ по вопросам профилактики чумы и обеспечения эпидемиологического благополучия. В этой связи осуществлялись оперативное информирование, подготовка рекомендаций, оказание практической и методической помощи органам и учреждениям Роспотребнадзора и РМО Астраханской области, Республик Дагестан и Калмыкия, органам местного самоуправления по вопросам организации эпидемиологического наблюдения и профилактики чумы. Астраханская противочумная станция совместно с представителями Министерства здравоохранения Астраханской области провела областную врачебную конференцию по вопросам эпидемиологии, клиники, диагностики, лечения и профилактики чумы.

Большое значение придавалось вопросам подготовки общей медицинской сети на эпизоотических территориях по профилактике, диагностике и лечению чумы, проведению первичных противоэпидемических мероприятий на случай заболевания среди людей, а также информационно-разъяснительной работе с местным и приезжим населением. Проведены 1 учение (апрель, 2014 г., п. Комсомольский, Черноземельского района), 24 проверки готовности медучреждений, 28 тренировочных занятий, 27 семинаров по чуме, прочитано 26 лекций для населения, проведено 90 бесед с населением, роздано 2890 листовок. Подготовлено по чуме 682 медработника (в т.ч. 177 врачей) и 20 ветеринарных работников. Охвачено всеми видами работ около 5900 человек постоянного и временного населения.

В целях повышения эффективности мониторинга эпизоотической обстановки в практику работы Астраханской и Элистинской противочумных станций внедрена оперативная система сбора эпизоотологических данных с использованием мобильного приложения в составе автоматизированной информационно-аналитической системы. Организована работа специалистов РосНИПЧИ «Микроб» в отрядах и отделениях Астраханской и Элистинской противочумных станций на базе мобильной лаборатории эпидразведки и индикации. Использование современных методов экспресс- и ускоренной диагностики позволило получать дополнительные сведения о циркуляции опасных патогенов, своевременно и оперативно вносить коррективы в календарно-территориальные планы работы зоогрупп, осуществляющих эпизоотологический мониторинг, проводить комплекс профилактических мероприятий на участках высокого риска заражения. Выполнена перегруппировка сил и средств Астраханской и Элистинской противочумных станций с целью организации и проведения полевой дератизации и дезинсекции в местах обнаружения зараженных чумой животных, барьерной

обработки вокруг населенных пунктов.

В соответствии с приказом Роспотребнадзора от 02.06.2014 г. № 452 «О проведении рабочего совещания по профилактике чумы в 2014 г.» (Астрахань, 19 июня 2014 г.) разработан оперативный план мероприятий на вторую половину 2014 г. ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» обоснован неблагоприятный прогноз эпизоотологической обстановки в Прикаспийском песчаном природном очаге чумы на осенний период 2014 г.

В условиях прогнозируемого обострения эпизоотической обстановки на территории Прикаспийского песчаного очага в осенний период 2014 г. Управление Роспотребнадзора по Республике Калмыкия провело внеочередное заседание санитарно-противоэпидемической комиссии при Правительстве Республики Калмыкия (Постановление № 5 от 21.08.2014 г. «О прогнозе эпизоотической ситуации по чуме на осенний период 2014 г. и проведении дополнительных противочумных мероприятий в Республике Калмыкия»). Также проведены заседания СПЭК при главах администрации Черноземельского и Лаганского районов Республики Калмыкия «О проведении экстренных профилактических противочумных мероприятий в зоне эпизоотии на территории Черноземельского района и эпизоотологический прогноз на осень–зиму 2014–2015 гг. Для усиления взаимодействия учреждений Роспотребнадзора и общей медицинской сети Астраханской области, Республик Калмыкия и Дагестан, Ставропольского края и разработки общей стратегии и тактики проведения профилактических (противоэпидемических) работ на всей территории Прикаспийского песчаного очага в осенний период 2014 г. проведено совещание (17 октября 2014 г.), посвященное выполнению «Протокола рабочего совещания по профилактике чумы» (Астрахань, 19 июня 2014 г.) и обоснованию профилактических (противоэпидемических) мероприятий на осенний период 2014 г. в связи с неблагоприятным эпизоотологическим прогнозом. Подчеркнем, что эпизоотологический прогноз на осенне-зимний период 2014 г. полностью оправдался – обострение эпизоотической обстановки началось в прогностические сроки, т.е. во второй декаде октября 2014 г. Министерством здравоохранения Республики Калмыкия совместно с Управлением Роспотребнадзора по Республике Калмыкия, ФБУЗ «ЦГиЭ в Республике Калмыкия» издан Приказ от 01.09.2014 г. «Об усилении готовности медицинских организаций к проведению профилактических и противоэпидемических мероприятий в случае угрозы возникновения очагов чумы и других опасных инфекционных болезней». Подготовлены соответствующие проекты приказов «Об усилении готовности медицинских организаций и учреждений Роспотребнадзора по Республике Дагестан, по Астраханской области».

В результате четкого взаимодействия учреждений Роспотребнадзора Астраханской области, Республик Калмыкия и Дагестан, а также опера-

тивной реализации плана проведения профилактических (противоэпидемических) мероприятий, разработанного в рамках рабочего совещания по профилактике чумы (17 октября 2014 г., Астрахань), удалось значительно снизить потенциальную эпидемическую опасность очаговой территории, предотвратить возникновение эпидемиологических осложнений в осеннее-зимний период 2014–2015 г.

В 2014 г. число контингентов риска составляло 5012 человек, из них привито против чумы 4460 (88,98 %), в том числе в Лиманском районе Астраханской области – 642 (охвачено 99,4 % населения от планируемого показателя), в Республике Калмыкия, в Лаганском районе – 1682 (88,4 %), Черноземельском районе – 2426 (89,4 %), Тарумовском районе Республики Дагестан – 82 (86,3 %). При планировании и организации вакцинации людей столкнулись с проблемой несоответствия официальных и фактических данных. При проведении прививочной кампании приходилось уточнять списки в режиме реального времени. Большая часть трудоспособного населения, зарегистрированного по месту жительства в населенных пунктах на территории указанных административных районов Астраханской области, Республик Калмыкия и Дагестан, выезжает на заработки в другие регионы страны. Ротация временного населения, работающего вахтовым методом, также потребовала контроля за сроками и адресами выезда рабочих и служащих, а в ряде случаев оперативного их сопровождения в форме запросов и справок об их фактическом пребывании и состоянии здоровья. Пришлось столкнуться также со случаем отказа от вакцинации персонала одной из организаций газовиков, но после вмешательства сотрудников Астраханской противочумной станции люди были провакцинированы.

Силами Астраханской, Элистинской и Дагестанской противочумных станций на всех эпизоотических пунктах, а также в населенных пунктах, расположенных в радиусе до 5 км от эпизоотических участков, проведены полевая дезинсекция и дератизация. Большое внимание уделяли барьерной дезинсекции и дератизации вокруг крупных населенных пунктов, оказавшихся в эпизоотической зоне – морского порта Оля, с. Лесное, с. Песчаное, с. Промысловка, г. Лагань, п. Северный, п. Артезиан, п. Красинский, п. Улан-Хол. Общая площадь обработок полевой дезинсекции составила 50,5 км², полевой дератизации – 89,4 км². Противочумные станции также осуществляли полевую и поселковую дезинсекцию и дератизацию на территориях одиночных стоянок животноводов – в кооперативно-фермерских хозяйствах (КФХ): поселковая дезинсекция – 11,4 тыс. м², поселковая дератизация – 9,6 тыс. м². Силами специализированных учреждений дезинфекционного профиля Роспотребнадзора Республик Калмыкия и Дагестан проведены поселковая дератизация на площади 329,1 тыс. м² и дезинсекция на площади 257,3 тыс. м². Проведен контроль эффективности

выполненных работ. Эффективность дератизационных обработок составила 87 %, дезинсекционных – 92 %, что соответствует требованиям действующих нормативно-методических документов. При проведении дезинсекции и дератизации в населенных пунктах пришлось столкнуться с проблемами планирования и организации этих обработок, связанными с требованиями Федерального Закона № 44 от 01.01.2014 г. «О контрактной системе в сфере закупок товаров, работ и услуг для обеспечения государственных и муниципальных нужд». При несвоевременном оповещении или игнорировании прогнозов не удастся провести тендеры на производство этих мероприятий. Конкурсы предусматривают ожидание результатов в течение 40 дней, что делает невозможным проведение оперативных истребительных обработок. Проблема должна решаться на этапе заключения Договоров с организациями дезинфектологического профиля, где прописываются условия выполнения видов и объемов работ с учетом конкретной складывающейся обстановки. В этой ситуации своевременность прогнозов и их достоверность играют очень важную роль в обеспечении эпидблагополучия.

Финансовые затраты по обеспечению эпидемиологического благополучия по чуме на территории Прикаспийского песчаного очага в 2014 г. составили 23265,8 тыс. руб., в том числе на эпизоотологическое обследование территории – 9270,5 (39,8 %), неспецифическую профилактику – 13541,5 (58,2 %), специфическую профилактику – 195,5 (0,8 %), санитарно-просветительскую работу – 258,3 (1,2 %). При оценке этих затрат также пришлось столкнуться с определенными трудностями. Проведение вычислений потребовало согласования и инструктажа, позволившего прийти к единообразию методов подсчета. Указанная цифра характеризует именно общие затраты, часть из которых была бы потрачена даже в обстановке относительного эпидемиологического спокойствия. Дополнительные затраты на проведение оперативных профилактических мероприятий оказались достаточно велики: 13940 тыс. руб. (60 %).

Необходимо отметить, что, несмотря на наличие прогноза на активизацию Прикаспийского песчаного природного очага в весенний период 2014 г., это не в полном объеме учтено при формировании планов работы учреждений Роспотребнадзора эпидемиологического профиля. Последнее явилось одной из основных причин недостаточного уровня взаимодействия и оперативности при организации противочумных мероприятий, а также противоэпидемической готовности МО, планирования и проведения иммунизации населения, отсутствия запасов медицинских иммунобиологических препаратов, средств неспецифической профилактики и оборудования для проведения санитарно-профилактических противочумных мероприятий (специфическая и неспецифическая профилактика). В связи с этим при

формировании комплексных планов по санитарной охране территории субъектов необходимо предусмотреть четкое выполнение рекомендаций п. 4. МУ 3.4.2552-09 «Организация и проведение первичных противоэпидемических мероприятий в случаях выявления больного (трупа), подозрительного на заболевания инфекционными болезнями, вызывающими чрезвычайные ситуации в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения». В план необходимо включать сведения о расчетах по финансовому обеспечению мероприятий по вопросам противоэпидемического и медицинского обеспечения населения. При этом Министерство здравоохранения субъекта должно выступать ответственным за исполнение, в том числе по обеспечению иммунизации населения против чумы в зоне эпизоотии. При планировании санитарно-профилактических (противоэпидемических) противочумных мероприятий необходимо предусматривать подготовку конкретных постановлений Главного государственного санитарного врача по субъекту, а также предписаний, предусмотренных ст. 50, 51 Федерального закона «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» № 52-ФЗ: о реализации мер по улучшению санитарно-эпидемиологической обстановки и выполнению требований санитарного законодательства; о проведении профилактических прививок населению по эпидемическим показаниям; о проведении дополнительных санитарно-профилактических (противоэпидемических) мероприятий; о выполнении работ по дезинсекции и дератизации в очагах и на территориях, а также в помещениях, где имеются и сохраняются условия для возникновения и распространения инфекционных болезней; об осуществлении медицинского наблюдения за населением и оценке его результатов. Для повышения надежности эпидемиологического надзора необходимо повысить контроль за температурами лицами с лимфаденитами, пневмониями, случаями скоропостижных смертей от неизвестных причин, сбором данных эпидемиологического анамнеза. Необходимо целенаправленно осуществлять надзор за противоэпидемической готовностью госпитальной базы, предусмотренной для репрофилирования и развертывания в случае возникновения эпидемического очага. Необходимо повысить уровень оперативного взаимодействия Управлений Роспотребнадзора и их территориальных отделов для организации и проведения внеплановых проверок и принятия мер по пресечению нарушений санитарного законодательства. При этом планы профилактических прививок против чумы на текущий год должны включать сведения об объемах вакцинации и ревакцинации по кварталам. Необходимо также повысить контроль за соблюдением современных требований биологической безопасности (наличие в боксах автономной системы вентиляции, доукомплектование универсальными укладками, специальными контейнерами для транспортировки клинических образцов) медицинскими

организациями эпидемиологического профиля.

Как свидетельствует настоящий опыт, тесное взаимодействие учреждений Роспотребнадзора, общей медицинской сети и административных органов власти при планировании и проведении противочумных мероприятий необходимы уже на этапе прогнозирования ситуации. В этой связи своевременное оповещение государственных структур на местах, руководителей медицинской и ветеринарной сетей о складывающейся ситуации, уточнение прогнозов по оперативным данным противочумных организаций должно войти в обязательную практику деятельности учреждений Роспотребнадзора. Результаты и опыт работы по обеспечению эпидемиологического благополучия населения в условиях резкого обострения эпидемиологической ситуации по чуме в Прикаспийском песчаном природном очаге должны учитываться при организации и проведении этих мероприятий в других регионах Российской Федерации.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кузнецов А.А., Поршаков А.М., Матросов А.Н., Куклев Е.В., Коротков В.Б., Мезенцев В.М., Попов Н.В., Топорков В.П., Топорков А.В., Кутырев В.В. Перспективы ГИС-паспортизации природных очагов чумы Российской Федерации. *Пробл. особо опасных инф.* 2012; 1(111):48–53.
2. Кузнецов А.А., Поршаков А.М., Матросов А.Н., Синцов В.К., Осипов В.П., Санджиев В.Б.-Х., Слудский А.А. Дифференциация Прикаспийского песчаного очага чумы по кратности эпизоотических проявлений. *Пробл. особо опасных инф.* 2012; 3(113):15–9.
3. Матросов А.Н., Лопатин А.А., Попов Н.В., Поршаков А.М., Кузнецов А.А., Голосовский С.М., Синцов В.К., Манджиева В.С., Санджиев Д.Н. Неспецифическая профилактика чумы в Прикаспийском песчаном природном очаге. *Здоровье населения и среда обитания*. 2015; 1(262):30–2.
4. Матросов А.Н., Синцов В.К., Манджиева В.С., Голосовский С.М., Ким Т.С., Лешук В.А., Кузнецов А.А., Поршаков А.М., Яковлев С.А., Удовиков А.И., Лейнерт А.Ю., Чекашов В.Н., Шилов М.М., Шарова И.Н., Куклев В.Е., Казорина Е.В., Гражданов А.К., Лопатин А.А., Скаленко С.Ю., Князева Т.В., Троицкая А.А., Давыдова Т.П., Агапов Б.Л., Кабин В.В., Санджиев В.Б.-Х., Яшкульов К.Б., Халидов А.Х., Хасаев С.М., Бамматов Д.М., Попов Н.В., Кутырев В.В. Условия активизации эпизоотий чумы в Прикаспийском песчаном природном очаге в 2014 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2015; 4:30–5.
5. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Природные очаги чумы Кавказа, Прикаспия, Средней Азии и Сибири. ОАО «Издательство «Медицина»; 2004. 192 с.
6. Попов Н.В., Рогаткин А.К., Козлова Т.А., Букаева И.Н. Цикличность эпизоотий чумы в регионе Северного и Северо-Западного Прикаспия и факторы, ее определяющие. Астрахань; 1999. 112 с.
7. Попов Н.В., Безсмертный В.Е., Топорков В.П., Кузнецов А.А., Матросов А.Н., Князева Т.В., 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 2012 г. и прогноз на 2013 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 1:5–10.
8. 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., Балахонов 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.
9. Попов Н.В., Удовиков А.И., Яковлев С.А., Санджиев В.Б.-Х., Сангаджиева Г.В. Оценка влияния современного потепления климата на формирование нового природного очага чумы песчаночного типа на территории европейского Юго-Востока России. *Поволжский экологический журн.* 2007; 1:34–43.

References

1. Kuznetsov A.A., Porshakov A.M., Matrosov A.N., Kuklev E.V., Korotkov V.B., Mezentshev V.M., Popov N.V., Toporkov V.P., Toporkov A.V., Kutyrev V.V. [Prospects of GIS-passportization of natural plague foci in the territory of the Russian Federation]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2012; 1(111):48–53.
 2. Kuznetsov A.A., Porshakov A.M., Matrosov A.N., Sintsov V.K., Osipov V.P., Sandzhiev V.B.-Kh., Sludsky A.A. [Differentiation of the Pre-Caspian sandy plague foci on the basis of the frequency of epizootic manifestations]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2012; 1(111):48–53.
 3. Matrosov A.N., Lopatin A.A., Popov N.V., Porshakov A.M., Kuznetsov A.A., Golosovsky S.M., Sintsov V.K., Mandzhieva V.S., Sandzhiev D.N. [Non-specific prophylaxis of plague in the Caspian-Sea Region sandy natural focus]. *Zdor. Nas. Sreda Obit.* 2015; 1(262):30–2.
 4. A.N. Matrosov, V.K. Sintsov, V.S. Mandzhieva, S.M. Golosovsky, T.S. Kim, V.A. Leshchuk, A.A. Kuznetsov, A.M. Porshakov, S.A. Yakovlev, A.I. Udovikov, A.Yu. Leinert, V.N. Chekashov, M.M. Shilov, I.N. Sharova, V.E. Kuklev, E.V. Kazorina, A.K. Grazhdanov, A.A. Lopatin, S.Yu. Skalenko, T.V. Knyazeva, A.A. Troitskaya, T.P. Davydova, B.L. Agapov, V.V. Kabin, V.B.-Kh. Sandzhiev, K.B. Yashkulov, A.Kh. Khalidov, S.M. Khasaev, D.M. Bamatov, N.V. Popov, V.V. Kutyrev [Factors that predetermined activation of plague epizootics in the Pre-Caspian sandy natural focus in 2014]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2015; 4:30–5.
 5. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors [Natural Plague Foci of Caucasus, Caspian-Sea Region, Central Asia, and Siberia]. M.: "Meditsina", 2004. 192 p.
 6. Popov N.V., Rogatkin A.K., Kozlova T.A., Bukaeva I.N. [Cyclicality of Plague Epizootics in the North and North-Western Caspian-Sea Region and Factors which Predetermine It]. Astrakhan; 1999. 112 p.
 7. Popov N.V., Bezsmertny V.E., Toporkov V.P., Kuznetsov A.A., Matrosov A.N., Knyazeva T.V., 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 2012 and prognosis for the year of 2013]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 1:5–10.
 8. 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.
 9. Popov N.V., Udovikov A.I., Yakovlev S.A., Sandzhiev V.B.-Kh., Sangadzheva G.V. [Assessment of present-day climate warming impact on the formation of new natural plague focus of a gerbil type in the territory of the European South-East of the Russian Federation]. *Povolzhsky Ekolog. Zh.* 2007; 1:34–43.
- Authors:**
Kutyrev V.V., Toporkov V.P., Popov N.V., Grazhdanov A.K., Matrosov A.N., Kuznetsov A.A., Sharova I.N., Lopatin A.A. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru
Popova A.Yu. 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. Russian Medical Academy for Post-Graduate Training; 2/1, Barrikadnaya St., Moscow, 125993, Russian Federation.
Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Pakskina N.D., Zenkevich E.S. 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.
Bezsmertny V.E. Plague Control Center. 4, Musorgskogo St., Moscow, 127490, Russian Federation. E-mail: protivochym@nlm.ru
Kabin V.V. Astrakhan Plague Control Station. 3, Kubanskaya St., Astrakhan, 414000, Russian Federation. E-mail: antichum@astranet.ru
Yashkulov K.B. Elista Plague Control Station. Postbox 28, Elista, 358000, Russian Federation. E-mail: pestis-kalmykia@yandex.ru
Bamatov D.M. Dagestan Plague Control Station. 13, 5-th Zhilgorodok, Makhachkala, 967015, Russian Federation. E-mail: dag_chum@bk.ru
Kovtunov A.I. Rospotrebnadzor Administration in the Astrakhan Region. 138, Osrovsogo St., Astrakhan, 414057, Russian Federation. E-mail: antichum@astranet.ru
Sandzhiev D.N. Rospotrebnadzor Administration in the Republic of Kalmykia. 8, Balakaeva St., Elista, 358000, Russian Federation. E-mail: rpnrk1@yandex.ru
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:**
Кутырев В.В., Топорков В.П., Попов Н.В., Гражданов А.К., Матросов А.Н., Кузнецов А.А., Шарова И.Н., Лопатин А.А. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru
Попова А.Ю. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; Российская Федерация, 127994, Москва, Вадковский переулок, дом 18, строение 5 и 7. Российская медицинская академия последипломного образования; Российская Федерация, 125993, Москва, ул. Баррикадная, 2/1.
Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Пакскина Н.Д., Зенкевич Е.С. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Российская Федерация, 127994, Москва, Вадковский переулок, дом 18, строение 5 и 7.
Безсмартный В.Е. Противочумный центр. Российская Федерация, 127490, Москва, ул. Мусоргского, 4. E-mail: protivochym@nlm.ru
Кабин В.В. Астраханская противочумная станция. Российская Федерация, 414000, Астрахань, ул. Кубанская, 3. E-mail: antichum@astranet.ru
Яшуков К.Б. Элистинская противочумная станция. Российская Федерация, 358000, Элиста, Главпочтамт, а/я 28. E-mail: pestis-kalmykia@yandex.ru
Бамматов Д.М. Дагестанская противочумная станция. Российская Федерация, 967015, Махачкала, 5-й Жилгородок, 13. E-mail: dag_chum@bk.ru
Ковтунов А.И. Управление Роспотребнадзора по Астраханской области. Российская Федерация, 414057, Астрахань, ул. Островского, 138. E-mail: antichum@astranet.ru
Санджиев Д.Н. Управление Роспотребнадзора по Республике Калмыкия. Российская Федерация, 358000, Элиста, ул. Балакаева, 8. E-mail: rpnrk1@yandex.ru
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 24.09.15.

А.Н.Матросов¹, В.К.Синцов², В.С.Манджиева², С.М.Голосовский², Т.С.Ким², В.А.Лещук²,
А.А.Кузнецов¹, А.М.Поршаков¹, С.А.Яковлев¹, А.И.Удовиков¹, А.Ю.Лейнерт², В.Н.Чекашов¹,
М.М.Шилов¹, И.Н.Шарова¹, В.Е.Куклев¹, Е.В.Казорина¹, А.К.Гражданов¹, А.А.Лопатин¹,
С.Ю.Скаленко¹, Т.В.Князева¹, А.А.Троицкая², Т.П.Давыдова², Б.Л.Агапов², В.В.Кабин², В.Б-Х.
Санджиев³, К.Б.Яшкуллов³, А.Х.Халидов⁴, С.М.Хасаев⁴, Д.М.Бамматов⁴, Н.В.Попов¹, В.В.Кутырев¹

УСЛОВИЯ АКТИВИЗАЦИИ ЭПИЗООТИЙ ЧУМЫ В ПРИКАСПИЙСКОМ ПЕСЧАНОМ ПРИРОДНОМ ОЧАГЕ В 2014 г.

¹ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация; ²ФКУЗ «Астраханская противочумная станция», Астрахань, Российская Федерация;
³ФКУЗ «Элистинская противочумная станция», Элиста, Российская Федерация; ⁴ФКУЗ «Дагестанская противочумная станция», Махачкала, Российская Федерация

В 2014 г. на центральном приморском участке Прикаспийского песчаного природного очага чумы произошла активизация эпизоотического процесса в смешанных поселениях грызунов. Целью исследований явилось выявление условий, которые привели к развитию интенсивных и экстенсивных эпизоотий чумы. В работе использовали оперативные данные Астраханской, Элистинской и Дагестанской противочумных станций, собственных исследований в очаге. В результате высокой исходной численности грызунов и блох, теплой зимы 2013–2014 гг., весной плотность носителей и переносчиков инфекции значительно превысила многолетний уровень. Общая численность зверьков составила 31,1 особи на 1 га, снизившись к осени до 17,8. Запас основного переносчика чумы – блохи *N. laeviceps* – был равен весной 350, осенью – 120 экз. на 1 га. Всего на протяжении 3 смежных сезонов выделено 56 культур *Y. pestis*: 17 штаммов – от грызунов и 39 – от их блох. Общая эпизоотическая площадь составила 2300 кв. км. Эпизоотии чумы регистрировались в зоне ее стойкой природной очаговости в границах Ильменно-Придельного, Приморского и Черноземельского ландшафтно-эпизоотологических районов на административной территории Лиманского района Астраханской области, Лаганского и Черноземельского районов Республики Калмыкия и Тарумовского района Республики Дагестан. Результаты слежения за эпизоотическими проявлениями, динамикой численности носителей и переносчиков чумы легли в основу планирования и проведения противоэпидемических мероприятий, составления прогноза развития ситуации в очаге.

Ключевые слова: природный очаг чумы, эпизоотия чумы, численность носителей, численность переносчиков.

A.N.Matrosov¹, V.K.Sintsov², V.S.Mandzhieva², S.M.Golosovsky², T.S.Kim², V.A.Leshchuk², A.A.Kuznetsov¹,
A.M.Porshakov¹, S.A.Yakovlev¹, A.I.Udovikov¹, A.Yu.Leinert², V.N.Chekashov¹, M.M.Shilov¹, I.N.Sharova¹,
V.E.Kuklev¹, E.V.Kazorina¹, A.K.Grazhdanov¹, A.A.Lopatin¹, S.Yu.Skalenko¹, T.V.Knyazeva¹, A.A.Troitskaya²,
T.P.Davydova², B.L.Agapov², V.V.Kabin², V.B-Kh.Sandzhiev³, K.B.Yashkulov³, A.Kh.Khalidov⁴, S.M.Khasaev⁴,
D.M.Bammatov⁴, N.V.Popov¹, V.V.Kutyrev¹

Factors that Predetermined Activation of Plague Epizooties in the Pre-Caspian Sandy Natural Focus in 2014

¹Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation; ²Astrakhan Plague Control Station, Astrakhan, Russian Federation; ³Elista Plague Control Station, Elista, Russian Federation; ⁴Dagestan Plague Control Station, Makhachkala, Russian Federation

In 2014, in the central coastal part of the Pre-Caspian sandy natural plague focus, activation of epizootic process in the complex rodent settlements occurred. Objective of the study was to identify the factors that predetermined the development of intensive and extensive plague epizooties. Utilized were operational data from the Astrakhan, Elista, and Dagestan plague control stations, and personal investigation records gathered in the focus. Consequently to the high baseline numbers of rodents and fleas, mild winter weather in 2013–2014 population density of the vectors and carriers of the infection significantly exceeded long-term average annual indexes in the following spring. Total abundance rates reached up to 31.1 specimens per a hectare, being lowered up to 17.8 by the fall. Stock of the main vector of plague, *N. laeviceps* flea, amounted to 350 and to 120 per a hectare in the spring and autumn, respectively. All in all, in the course of the three rolling seasons isolated were 56 *Y. pestis* cultures: 17 strains – from the rodents, and 39 – from the fleas. The overall epizootic area totaled to 2300 km². Plague epizooties were registered in the zone of sustained natural focality within the bonds of the Ilmen-Pridelta, Primorsky, and Chernozemelsky landscape-epizootic regions in the administrative territory of the Limansky District in the Astrakhan Region, Lagansky and Chernozemelsky Regions of the Republic of Kalmykia, and Tarumovsky Region of the Republic of Dagestan. Results of monitoring over the epizootic manifestations and plague carrier and vector abundance dynamics provided the basis for scheduling and performance of anti-epidemic activities, as well as for forecasting of the epidemic situation development in the focus.

Key words: natural plague focus, plague epizooty, carrier abundance rates, vector abundance rates.

В конце 80-х годов XX столетия в результате опустынивания Прикаспийской низменности произошло снижение численности малого суслика и ее увеличение у гребенщиковой и полуденной пес-

чанок – основных носителей чумы [9, 10, 11], – повлекшее за собой расширение ареалов и повышение численности блох *Nosopsyllus laeviceps* и *Xenopsylla conformis* – активных переносчиков возбудителя в Прикаспийском песчаном очаге [1]. Кроме того, с конца 90-х гг. XX века здесь наблюдается расширение ареала и увеличение численности общественной полевки, которая становится самым многочисленным фоновым видом полупустыни, также включающимся в эпизоотию чумы [5].

Общая площадь очага составляет 72 тыс. кв. км. Здесь обитают 26 видов мелких млекопитающих, в поселениях которых паразитируют 27 видов блох. К настоящему времени спонтанно зараженными возбудителем чумы зарегистрированы 14 видов млекопитающих-носителей и 10 видов блох-переносчиков. В границах очага выделяют 6 ландшафтно-эпизоотологических районов, характеризующихся большими различиями в рельефе, условиях тектоники и гидрографии, по геоботаническим характеристикам, видовому составу и численности животных. Эпизоотию на территории очага регистрировали в 1923, 1924–1925, 1929–1931, 1935–1938, 1946–1954 гг. Затем, начиная с 1979 г. и по настоящее время, здесь отмечается устойчивая эпизоотическая активность с краткосрочными перерывами в 1–2 года [4]. Индекс эпизоотичности очага на сегодняшний день составляет 0,71. Наиболее устойчивые проявления чумной энзоотии отмечают на Черных землях, в Приморском и Ильменно-Придельтовом ландшафтно-эпизоотологических районах. Эпизоотические проявления чумы в поселениях грызунов носят ярко выраженный сезонный характер. Весной штаммы возбудителя чумы начинают выделять с марта, пик эпизоотической активности приходится на апрель–май, а отдельные находки зараженных объектов отмечаются до июля. Осенью культуры возбудителя обнаруживают с сентября по декабрь с пиком в октябре [2, 4, 6].

После двухлетнего перерыва осенью 2013 г. в центральной приморской части Прикаспийского песчаного очага чумы выделены 3 культуры возбудителя на площади около 300 кв. км. Весной и осенью 2014 г. в этом регионе произошла активизация эпизоотического процесса: изолировано 53 культуры чумы на общей площади 2100 кв. км на административных территориях Астраханской области, Республик Калмыкия и Дагестан. На эпизоотической территории проживает около 20 тыс. человек постоянного и временного населения, что свидетельствует о высоком уровне риска заболевания людей чумой. В создавшейся обстановке для обеспечения эпидемиологического благополучия, обоснования прогноза эпизоотической активности, оптимизации объемов и содержания профилактических мероприятий в этой части очага необходимо проведение анализа условий, при которых развиваются интенсивные и экстенсивные эпизоотии чумы в многовидовых поселениях грызунов.

Материалы и методы

Основные исследования проводили на базе Яндыковского отделения Астраханской противочумной станции. Анализировали оперативные материалы, полученные подразделениями станции в процессе эпизоотологического обследования, а также результаты исследований, проведенных группой сотрудников РосНИПЧИ «Микроб» в 2014 г. Кроме того, использовали оперативные данные Элистинской и Дагестанской противочумных станций, материалы Базы данных ведомственной геоинформационной аналитической «Системы поддержки принятия управленческих решений» Роспотребнадзора (СППР). Весь добытый материал исследовали в стационарной лаборатории Яндыковского противочумного отделения бактериологическим и серологическим методами. Исследования на чуму параллельно проводили в условиях мобильной лаборатории эпидразведки и индикации иммунологическим (ИФА) и молекулярно-генетическим (ПЦР) методами. Для полевых исследований использовали планшетные компьютеры и мобильные картографические веб-приложения [3]. Эпизоотологическое обследование проводили в соответствии с планами станций, эпизоотологическим прогнозом и конкретной оперативной обстановкой в очаге. В 2014 г. в Прикаспийском песчаном очаге исследовано на чуму 14358 мелких млекопитающих и 16824 блохи. Общая площадь обследованной территории составила около 51 тыс. кв. км, число обследованных пунктов – 1496. Всего за указанный период накоплено 148 тыс. ловушко-ночей, пройдено 87 км маршрутов в 20 пунктах учета.

Результаты и обсуждение

Центральная приморская часть Прикаспийского песчаного очага чумы на протяжении длительного периода времени остается одним из наиболее устойчивых участков чумной энзоотии. Результаты осенних исследований в очаге в 2013 г. и оперативные данные наблюдений за состоянием носителей и переносчиков чумы в холодный период 2013–2014 гг. явились основанием для составления неблагоприятного прогноза по чуме на весну 2014 г. [8].

Анализ данных о динамике распределения носителей по территории, показателей численности грызунов и блох, интенсивности паразитарных контактов в смешанных поселениях зверьков, а также ретроспективные сведения о частоте проявлений чумы позволили выделить участки наиболее вероятного развития интенсивных эпизоотий весной 2014 г. Сделанный специалистами Астраханской противочумной станции прогноз на активизацию эпизоотической обстановки в значительной степени подтвердился: эпизоотии чумы были выявлены в 16 (76 %) из 21 эпизоотического сектора, которые указаны в прогнозе в качестве «зон напряженности».

Относительно мягкий гидротермический режим

Таблица 1

Численность мелких млекопитающих в центральной приморской части Прикаспийского песчаного природного очага чумы в 2014 г.
(по материалам отлова на ловушко-линиях)

Месяц	Число ловушко-ночей	Всего зверьков	Численность (процент попадания в давилки Геро)										Общая
			по видам										
			дм	пм	общ	обк	сх	стм	пп	грп	мб		
Январь	2500	374	6,8	0,1	2,8	0,1	0,1	-	1,8	3,1	0,2	15,0	
Февраль	1400	138	5,7	0,1	1,3	0,2	-	-	0,8	1,8	-	9,9	
Март	7500	791	4,7	0,1	0,4	0,3	0,1	0,1	1,7	3,2	0,1	10,5	
Апрель	9300	1588	4,0	-	3,6	0,1	0,1	-	6,6	2,6	0,1	17,1	
Май	3375	390	3,1	0,1	4,2	-	0,1	-	2,3	1,7	-	11,5	
Июнь	1500	108	2,6	-	1,2	-	0,2	-	1,0	2,1	0,1	7,2	
Июль	2450	163	2,1	-	1,6	-	0,3	-	1,3	1,3	0,1	6,7	
Август	300	19	-	-	1,3	-	-	-	4,3	0,7	-	6,3	
Сентябрь	700	60	3,9	-	2,7	-	-	-	1,7	0,1	0,1	8,5	
Октябрь	7600	509	2,7	0,1	0,7	0,1	0,2	-	1,7	0,9	0,3	6,7	
Ноябрь	9900	570	2,7	0,5	0,7	0,2	0,2	-	0,3	0,6	0,6	5,8	
Декабрь	2700	231	3,1	1,1	1,7	0,1	-	-	1,7	0,1	0,7	8,5	
Итого:	49225	4941											

Примечания: дм – домовая мышь, пм – полевая мышь; общ – общественная полевка; обк – обыкновенная полевка; сх – серый хомячок; стм – степная мышовка; пп – полуденная песчанка; грп – гребенчиковая песчанка; мб – малая белозубка.

зимнего периода 2013–2014 гг. благоприятно сказался на состоянии популяций носителей и переносчиков чумы. Богатая кормовая база, сокращение морозного периода, обилие осадков и неглубокое промерзание почвы обеспечили благоприятные условия перезимовки незимоспящих грызунов. Для общественной полевки отмечено активное размножение в январе: показатель интенсивности размножения (ПИР) у этого вида составил 98 эмбрионов на 100 половозрелых самок. Уже в марте наблюдалось интенсивное размножение у полуденной (ПИР 105) и гребенчиковой (81) песчанок, общественной полевки (252) и домовой мыши (27). Пик размножения, по многолетним данным, приходится на апрель, однако в 2014 г. в этом месяце ПИР в ряде случаев не превысил показатели марта и составил у полуденной песчанки 56, гребенчиковой песчанки – 105, общественной полевки – 250, домовой мыши – 26 эмбрионов.

В природных биотопах общая численность мелких млекопитающих, по данным отлова на ловушко-

линиях (табл. 1), весной составила 13,6 % попадания в давилки, что втрое выше многолетнего показателя. Жаркое лето, суховеи и сокращение количества осадков привели к высыханию пустынной растительности и, как следствие, снижению численности грызунов. Летом она уменьшилась до 6,8 %, а осенью осталась на том же уровне – 6,6 %.

По материалам маршрутного метода учета (табл. 2) средняя взвешенная величина плотности зверьков в многовидовых сообществах весной составила 31,1 особи на 1 га. Показательно, что повсеместно и во всех типах биотопов преобладала общественная полевка (индекс доминирования 57 %). Наибольшая численность зверьков в их смешанных поселениях отмечена в бугристых песках – 43,6 ос./га. Плотно населены фации кустарников (каллигонум, тамариск) – 35,9, разнотравной степи – 34,4 и антропогенные участки (насыпи, валы, развалины, берега каналов и др.) – 35,0 ос./га. Средняя численность малых песчанок весной составила

Таблица 2

Численность грызунов в центральной приморской части Прикаспийского песчаного очага чумы в 2014 г.
(по материалам маршрутного метода учета)

Биотопы	Численность (особей на 1 га)													
	по видам												Общая	
	пп		грп		общ		мс		сл		бт			
	весна	осень	весна	осень	весна	осень	весна	осень	весна	осень	весна	осень	весна	осень
Бугристые пески	19,6	12,8	12,2	0,8	9,0	4,2	0,4	-	2,4	4,2	0,0	0,0	43,6	22,0
Разнотравная степь	0,7	0,7	5,5	0,5	24,4	12,5	0,5	-	3,2	5,1	0,1	0,2	34,4	19,0
Полынно-злаковая степь	0,0	0,0	0,5	0,0	16,3	5,4	2,7	-	4,0	4,5	0,1	0,0	23,6	9,9
Кустарники	3,4	2,0	19,0	1,7	12,4	10,6	0,0	-	1,1	1,2	0,0	0,0	35,9	15,5
Галофитные низины	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	5,7	0,0	-	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	5,7
Антропогенные участки	0,0	0,0	8,5	0,0	23,0	15,3	0,0	-	3,5	5,1	0,0	0,0	35,5	20,4
Средняя	2,0	3,0	7,4	0,7	17,7	9,7	1,2	-	2,7	4,3	0,1	0,1	31,1	17,8

Примечания: пп – полуденная песчанка; грп – гребенчиковая песчанка; общ – общественная полевка; мс – малый суслик; сл – обыкновенная слепушонка; бт – большой тушканчик.

9,4 ос./га, что в 2,6 раза выше среднееголетней величины (3,6 ос./га). При этом заметно возросла доля гребенщиковой песчанки – с 1,5 до 7,4 ос./га. Оптимальными биотопами для полуденной песчанки являются бугристые пески, где ее весенняя плотность достигала 19,6 ос./га. Наиболее предпочитаемыми для обитания гребенщиковой песчанки являются кустарники, где ее плотность составила 19,0 ос./га. Важно отметить, что на отдельных маршрутах в зоне эпизоотий чумы в апреле нами обнаруживались ее сплошные поселения с численностью до 25,1 ос./га. Оптимальными станциями для общественной полевки являются разнотравные степи и антропогенные азональные элементы ландшафта, где показатели ее численности составили 24,4 и 23,0 ос./га соответственно. Некоторое снижение численности отмечено лишь для малого суслика, пробуждение которого в периоды зимних оттепелей приводило к гибели зверьков. Средний взвешенный показатель плотности малого суслика составил 1,2 ос./га, что в 2,5 раза ниже многолетней нормы (3,0). В оптимальных условиях белополынно-злаковой степи этот показатель достигал 3,7 ос./га.

Осенью общая плотность зверьков в многовидовых сообществах уменьшилась до 17,8 ос./га. Численность малых песчанок сократилась в 2,5 раза – до 3,7 ос./га, общественной полевки – почти вдвое – до 9,7 ос./га. Плотные поселения полуденных песчанок встречались лишь в бугристых песках (12,8 ос./га). Сухое знойное лето особенно отрицательно сказалось на состоянии относительно влаголюбивой гребенщиковой песчанки. Ее численность сократилась в 10 раз (до 0,7 ос./га): более или менее стабильные поселения плотностью 1,7 ос./га сохранились только в кустарниках.

Численность блох – основных переносчиков возбудителя чумы – на эпизоотическом участке осталась на уровне средней многолетней величины. Весной запас специфического паразита малых песчанок – блохи *N. laeviceps* составил в среднем 350 экз. на 1 га, снизившись к осени до 120 экз. С учетом того, что в зоне эпизоотии распространены смешанные поселения грызунов, реальный запас блох стал выше за счет видов *N. mokrzeckyi* и *N. consimilis*, преобладающих в микробиотопах мышевидных грызунов, а также за счет малочисленного пока на этой территории высокоактивного переносчика *X. conformis*. По нашим оценкам, в смешанных поселениях весной 2014 г. общий запас блох оценивается на уровне 750, осенью – 360 экз. на 1 га.

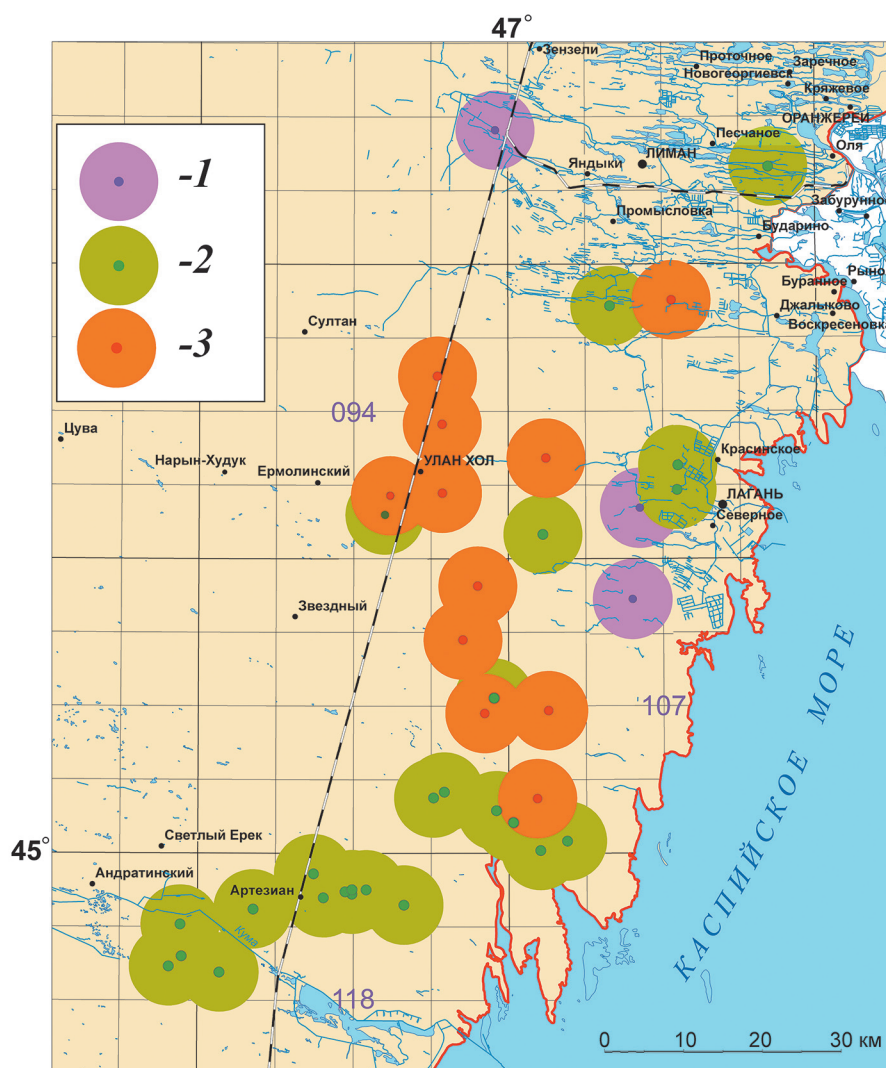
Особенностью 2014 г. явилось нарушение ритма годовой динамики изменения численности популяций грызунов. По нашему мнению, это связано с целым рядом факторов. По многолетним данным от весны к осени происходит рост численности мелких млекопитающих в 2–4 раза. Жаркое лето, недостаточное количество осадков и засуха привели к выгоранию пустынной растительности: даже многолетники вегетировали слабо, а многие виды не достигли

стадии зрелости. Обильные дожди пролились лишь в октябре, когда из-за низких температур заметного роста растений уже не наблюдалось. Низкая урожайность привела к обеднению кормовой базы фитофагов, не обеспечила укрытий для их убежищ. В такой обстановке темпы летней смертности у грызунов оказались высокими, а размножение прекратилось или оказалось малоинтенсивным. Кроме этого, снижению численности зверьков способствовали внутрипопуляционные механизмы регуляции численности: при ее высоком уровне происходит торможение генеративной активности животных.

В 2011–2012 гг. численность носителей и переносчиков в очаге повсеместно была ниже средних многолетних значений, проявлений чумы не отмечалось. К осени 2013 г. на участке стойкой энзоотии численность зверьков и их эктопаразитов возросла до уровня средних многолетних показателей. В этот сезон от блох *N. laeviceps*, собранных с полуденной и гребенщиковой песчанок, с 30 октября по 13 ноября выделено 3 культуры возбудителя чумы на площади около 300 кв. км (рисунок). Весной 2014 г. на фоне высокой численности грызунов и их блох эпизоотия чумы получила развитие. С 14 марта по 14 мая выделено 35 культур возбудителя чумы в 25 пунктах (15 секторах) на площади 1500 кв. км в границах административных территорий Лиманского района Астраханской области, Черноземельского и Лаганского районов Республики Калмыкия и Тарумовского района Республики Дагестан. После летнего затишья, связанного с низкой активностью грызунов и блох в засушливый период, эпизоотия возобновилась осенью: с 21 октября по 12 ноября изолировано 18 культур в 11 пунктах на площади 1100 кв. км в административных границах Лаганского и Черноземельского районов Республики Калмыкия.

Следует отметить, что весной и осенью 2014 г. в западных частях Прикаспийского песчаного очага при исследовании полевого материала молекулярно-генетическим методом ДНК возбудителя чумы выявлена в материале от грызунов и блох, собранных за пределами эпизоотических участков – на территории Черноземельского района Республики Калмыкия и Курского района Ставропольского края [7].

Все пункты, где обнаруживались инфицированные чумой зверьки и их блохи, приурочены к ландшафтными фациям кустарников и бугристых песков – оптимальным биотопам для обитания малых песчанок. Из 53 культур *Y. pestis* на долю выделенных от зверьков пришлось всего 17 (32 %): 9 штаммов получено от полуденной песчанки (в том числе 4 от трупов), 4 – от гребенщиковой песчанки, 2 – от домашней мыши и по 1 – от общественной полевки и малого тушканчика. Общая инфицированность зверьков на эпизоотических участках составила 1,6 %. От блох специфических паразитов грызунов изолировано 36 культур: 17 – от *N. laeviceps*, 6 – *X. conformis*, 8 – *N. mokrzeckyi*, 2 – *N. consimilis*, 3 – от блох без определения вида. Большая часть культур выделена



Места регистрации возбудителя чумы и формирование эпизоотических участков в Прикаспийском песчаном очаге:

1 – осенью 2013 г., 2 – весной 2014 г., 3 – осенью 2014 г.

от эктопаразитов, собранных с песчанок или в их норах (26 штаммов); от блох, собранных с домовых мышей (4), общественной полевки (3), серых хомячков (2), малой белозубки (1). Доля положительных на чуму исследованных проб блох составила 3,0 %. Из 15 эпизоотических секторов весны 2014 г. осенью эпизоотии повторились лишь в 3, а в 8 секторах зарегистрированы в этом сезоне впервые.

Обращает на себя внимание характер различий уровня численности грызунов и блох на эпизоотических и неэпизоотических участках в разные периоды: весной на зараженных секторах он был выше, осенью – ниже. Весной средний процент попадания на эпизоотических участках составил 22,1, на неэпизоотических – 14,2. Осенью средняя численность грызунов на эпизоотических участках составила 5,7, на неэпизоотических – 8,5 %. Это объясняется тем, что начало эпизоотической активности весной связано с повышенной численностью носителей, но к осени именно эпизоотии приводили к более резкому снижению ее значений. Вполне возможно, что в перенаселенных группировках грызунов повышается инфекционная чувствительность (снижается резистентность) носителей к чуме.

Как известно, высокая эпизоотическая актив-

ность в равнинных природных очагах чумы сменяется ее снижением. Погодные условия и опустошительные эпизоотии 2014 г. в значительной степени «разрядили» популяции носителей и переносчиков возбудителя чумы. Поэтому даже при благоприятных условиях зимовки 2014–2015 гг. численность грызунов и их блох к весне может оказаться заметно ниже средних многолетних значений. На этом фоне весной 2015 г. трудно ожидать развития экстенсивных эпизоотий чумы, но локальные ее проявления вполне возможны. При эпизоотологическом мониторинге в очаге следует обратить внимание на обследование тех участков, которые непосредственно примыкают к эпизоотическим территориям 2014 г. с западной стороны. Следует усилить плотность обследования на западных участках, где в 2014 г. обнаружена ДНК возбудителя чумы молекулярно-генетическим методом.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кузнецов А.А., Осипов В.П., Князева Т.В., Синцов В.П., Матросов А.Н. Расселение блох в поселениях грызунов Северо-Западного Прикаспия. *Паразитология*. 2010; 44:77–90.
2. Кузнецов А.А., Поршаков А.М., Матросов А.Н.,

Синцов В.К., Осипов В.П., Санджиев В.Б.-Х., Слудский А.А. Дифференциация Прикаспийского песчаного очага чумы по кратности эпизоотических проявлений. *Пробл. особо опасных инф.* 2012; 3(113):15–9.

3. Кузнецов А.А., Поршаков А.М., Матросов А.Н., Куклев Е.В., Коротков В.Б., Мезенцев В.М., Попов Н.В., Топорков В.П., Топорков А.В., Кутырев В.В. Перспективы ГИС-паспортизации природных очагов чумы Российской Федерации. *Пробл. особо опасных инф.* 2012; 1(111):48–53.

4. Кузнецов А.А., Рогаткин А.К., Кабин В.В., Кологоров А.И., Матросов А.Н., Козлова Т.А., Илюхин А.А. Характеристика пространственно-территориальных особенностей эпизоотии чумы в Прикаспийском песчаном очаге. В кн.: Природно-очаговые особо опасные инфекции на юге России, их профилактика и лабораторная диагностика. Астрахань; 2001. С. 37–40.

5. Матросов А.Н., Кузнецов А.А., Слудский А.А., Попов Н.В., Козлова Т.А., Голосовский С.М., Манжиева В.С., Ким Т.С., Синцов В.К., Ерофеев А.В. Экологические особенности и эпизоотологическое значение общественной полевки в Прикаспийском песчаном очаге чумы. *Поволжский экологический журн.* 2003; 2:147–57.

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

7. 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. *Пробл. особо опасных инф.* 2015; 1:10–7.

8. 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., Балахонов 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.

9. Попов Н.В., Безсмертный В.Е., Удовиков А.И., Кузнецов А.А., Слудский А.А., Матросов А.Н., Князева Т.В., Федоров Ю.М., Попов В.П., Гражданов А.К., Аязбаев Т.З., Яковлев С.А., Капалаева Т.Б., Кутырев В.В. Влияние современного изменения климата на состояние природных очагов чумы России и других стран СНГ. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 3:23–8.

10. Попов Н.В., Рогаткин А.К., Козлова Т.А., Букаева И.Н. Цикличность эпизоотий чумы в регионе Северного и Северо-западного Прикаспия и факторы ее определяющие. Астрахань; 1999. 112 с.

11. Яковлев С.А., Удовиков А.И., Санджиев В.Б.-Х., Осипов В.П. Оценка влияния климатических и антропогенных факторов на изменение западной границы ареала *Meriones tamariscinus* и *Meriones meridianus* (Rodentia, Cricetidae) на территории Республики Калмыкия. *Изв. Высших учебных заведений, Северо-Кавказский регион, естественные науки.* 2009; 2:109–15.

References

1. Kuznetsov A.A., Osipov V.P., Knyazeva T.V., Sintsov V.P., Matrosov A.N. [Dissemination of fleas in the settlements of the rodents habitant in the North-Western Caspian Sea Region]. *Parazitologia.* 2010; 44:77–90.
2. Kuznetsov A.A., Porshakov A.M., Matrosov A.N., Sintsov V.K., Osipov V.P., Sandzhiev V.B.-Kh., Sludsky A.A. [Differentiation of the Pre-Caspian sandy plague focus on the basis of the frequency of epizootic manifestations]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2012; 3(113):15–9.
3. Kuznetsov A.A., Porshakov A.M., Matrosov A.N., Kulev E.V., Korotkov V.B., Mezentshev V.M., Popov N.V., Toporkov V.P., Toporkov A.V., Kutyrev V.V. [Prospects of GIS-passportization of natural plague foci in the territory of the Russian Federation]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2011; 1(111):48–53.
4. Kuznetsov A.A., Rogatkin A.K., Kabin V.V., Kologorov A.I., Matrosov A.N., Kozlova T.A., Ilyukhin A.A. [Characteristics of the spatial-geographical peculiarities of plague epizooties in the Pre-Caspian sandy focus]. In: [Natural-Focal Particularly Dangerous Infections in the South of

Russia. Their Prophylaxis and Laboratory Diagnostics]. Astrakhan; 2001. P. 37–40.

5. Matrosov A.N., Kuznetsov A.A., Sludsky A.A., Popov N.V., Kozlova T.A., Golosovsky S.M., Manzhieva V.S., Kim T.S., Sintsov V.K., Erofeev A.V. [Ecological peculiarities and epizootological significance of the social vole in the Pre-Caspian sandy plague focus]. *Povolzhskiy Ekologich. Zh.* 2003; 2:147–57.

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

7. 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]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2015; 1:10–7.

8. 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.

9. Popov N.V., Bezsmertny V.E., Udovikov A.I., Kuznetsov A.A., Sludsky A.A., Matrosov A.N., Knyazeva T.V., Fedorov Yu.M., Popov V.P., Grazhdanov A.K., Ayazbaev T.Z., Yakovlev S.A., Karavaeva T.B., Kutyrev V.V. [Impact of the present-day climate changes on the natural plague foci condition, situated in the territory of the Russian Federation and other CIS countries]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 3:23–8.

10. Popov N.V., Rogatkin A.K., Kozlova T.A., Bukaeva I.N. [Cyclicality of Plague Epizooties in the Northern and North-Western Caspian Sea Region and Factors Determining It]. Astrakhan; 1999. 112 p.

11. Yakovlev S.A., Udovikov A.I., Sandzhiev V.B.-Kh., Osipov V.P. [Evaluation of the influence of the climatic and anthropogenic factors on the displacement of the western boundary of *Meriones tamariscinus* and *Meriones meridianus* (Rodentia, Cricetidae) areal in the territory of the Republic of Kalmykia]. *Izvestiya Vysshikh Ucheb. Zavedenii, Severo-Kavkaz. Region, Estestvennye Nauki.* 2009; 2:109–15.

Authors:

Matrosov A.N., Kuznetsov A.A., Porshakov A.M., Yakovlev S.A., Udovikov A.I., Chekashov V.N., Shilov M.M., Sharova I.N., Kulev V.E., Kazorina E.V., Grazhdanov A.K., Lopatin A.A., Skalenk S.Yu.o, Knyazeva T.V., Popov N.V., Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Sintsov V.K., Mandzhieva V.S., Golosovsky S.M., Kim T.S., Leshchuk V.A., Leinert A.Yu., Troitskaya A.A., Davydova T.P., Agapov B.L., Kabin V.V. Astrakhan Plague Control Station. 3, Kubanskaya St., Astrakhan, 414000, Russian Federation. E-mail: antichum@astranet.ru

Sandzhiev V.B.-Kh., Yashkulov K.B. Elista Plague Control Station. P.O.B. 28, Central Post Office, Elista, 358000, Russian Federation. E-mail: pestis-kalmykia@yandex.ru

Khalidov A.Kh., Khasaev S.M., Bamatov D.M. Dagestan Plague Control Station. 13, Gagarina St., Makhachkala, 367015, Russian Federation. E-mail: dagchum_tr@mail.ru

Об авторах:

Матросов А.Н., Кузнецов А.А., Поршаков А.М., Яковлев С.А., Удовиков А.И., Чекашов В.Н., Шилов М.М., Шарова И.Н., Куклев В.Е., Казорина Е.В., Гражданов А.К., Лопатин А.А., Скаленко С.Ю., Князева Т.В., Попов Н.В., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Синцов В.К., Манджиева В.С., Голосовский С.М., Ким Т.С., Лешчук В.А., Лейнерт А.Ю., Троицкая А.А., Давыдова Т.П., Аганов Б.Л., Кабин В.В. Астраханская противочумная станция. Российская Федерация, 414000, Астрахань, ул. Кубанская, 3. E-mail: antichum@astranet.ru

Санджиев В.Б.-Х., Яшкуллов К.Б. Элистинская противочумная станция. Республика Калмыкия, 358000, Элиста, Главпочтамт, а/я 28. E-mail: pestis-kalmykia@yandex.ru

Халидов А.Х., Хасаев С.М., Бамматов Д.М. Дагестанская противочумная станция. Республика Дагестан, 368215, Махачкала, ул. Гагарина, 13. E-mail: dagchum_tr@mail.ru

Поступила 12.02.15.

Г.Г.Онищенко¹, М.А.Патяшина², И.Г.Карнаухов³, В.Б.Зиятдинов⁴

СТРУКТУРА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ТЕРРИТОРИАЛЬНО ЗАКРЕПЛЕННЫХ ОРГАНОВ И УЧРЕЖДЕНИЙ И МОБИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЭКСТРАТЕРРИТОРИАЛЬНОГО НАЗНАЧЕНИЯ ПРИ ПРЕДУПРЕЖДЕНИИ И ЛИКВИДАЦИИ ПОСЛЕДСТВИЙ ЧС САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО ХАРАКТЕРА (НА ПРИМЕРЕ УНИВЕРСИАДЫ-2013)

¹Российская академия наук, Москва, Российская Федерация; ²Управление Роспотребнадзора по Республике Татарстан, Казань, Российская Федерация; ³ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация; ⁴ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан», Казань, Российская Федерация

В статье дано научное обоснование привлечения дополнительных сил и средств для обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения в условиях массовых мероприятий с международным участием. Определены задачи и основные направления работы специализированной противоэпидемической бригады Роспотребнадзора в период подготовки и проведения XXVII Всемирной летней универсиады в Казани. Рассмотрены аспекты межведомственного взаимодействия сетевых структур и мобильных формирований санитарно-эпидемиологического и лечебно-профилактического профилей во время Универсиады-2013.

Ключевые слова: СПЭБ, массовые мероприятия, межведомственное взаимодействие, ЧС санитарно-эпидемиологического характера, санитарно-эпидемиологическое благополучие.

G.G.Onishchenko¹, M.A.Patyashina², I.G.Karnaukhov³, V.B.Ziatdinov⁴

Structure of Interaction between the Territorial Agencies and Institutions and Extraterritorial Mobile Complexes in the Course of Prevention and Response to Emergency Situations of Sanitary-Epidemiological Character (by the Example of Universiade, 2013)

¹Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation; ²Rospotrebnadzor Administration in the Republic of Tatarstan, Kazan, Russian Federation; ³Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation; ⁴Center of Hygiene and Epidemiology in the Republic of Tatarstan, Kazan, Russian Federation

The paper provides scientific substantiation for the deployment of auxiliary forces and facilities for the provision of sanitary-epidemiological welfare of the population under mass events with international participation. Identified are the tasks and key areas of the specialized anti-epidemic teams (SAET) of the Rospotrebnadzor activities during the preparation and carrying out of the XXVII World Summer Universiade in Kazan. Reviewed are the aspects of inter-agency cooperation between the network structures and mobile units of sanitary-epidemiological and medical-preventive bias during Universiade, 2013.

Key words: SAET, mass events, inter-agency cooperation, emergency situation of sanitary-epidemiological character, sanitary-epidemiological welfare.

Проведение крупных политических, культурных и спортивных мероприятий, привлекающих большое число участников и зрителей, становится неотъемлемой составляющей современной общественной жизни.

Проводимая Правительством Российской Федерации последовательная внешняя политика существенно укрепила позиции страны, сделала ее привлекательной для инвестиций в различных сферах экономики и местом для проведения крупных культурно-спортивных мероприятий, международных форумов, в том числе с участием первых лиц [1].

В современных условиях Российская Федерация неизменно получает право и доверие международного сообщества при проведении крупных спортивных мероприятий, таких как XXVII Всемирная летняя универсиада в 2013 г. в Казани, XXII Олимпийские игры и XI Паралимпийские зимние игры в 2014 г. в Сочи, чемпионат мира по водным видам спорта в 2015 г., чемпионат мира по футболу в 2018 г. [2].

Обеспечение санитарно-эпидемиологического

благополучия населения в период подготовки и проведения массовых мероприятий с международным участием и готовности к возникновению чрезвычайных ситуаций санитарно-эпидемиологического характера (ЧС) является одной из важнейших задач страны-организатора.

На 58-й сессии Всемирной ассамблеи здравоохранения в 2005 г. были приняты международные медико-санитарные правила (ММСП), разработанные с участием Российской Федерации (РФ). В соответствии с требованиями ММСП эпидемиологический надзор осуществляется с учетом меняющейся эпидемиологической конъюнктуры, появления новых неизвестных инфекционных болезней и возвращения известных нозологических форм [4].

Безопасность участников и гостей массового мероприятия будет зависеть от степени внедрения ММСП в принимающей стране и уровня ее готовности к предупреждению и контролю ЧС с точки зрения методологического, технологического, материально-технического обеспечения, состояния

кадровых ресурсов, а также адаптированности стационарных сетевых структур и мобильных формирований лечебно-профилактического и санитарно-эпидемиологического профиля к требованиям ММСП, гармонизации с ними национальной правовой, нормативной и методической базы в области санитарной охраны территории [5].

Вопросами обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения и реагирования на ЧС занимаются структуры здравоохранения санитарно-эпидемиологического и лечебно-профилактического профиля, действующие по территориальному принципу (в пределах закрепленных административных территорий), и мобильные формирования, функционирующие вне связи с административными территориями, т.е. по экстратерриториальному принципу.

Анализ организации проведения международных спортивных игр показал положительный опыт привлечения специальных (мобильных) формирований с целью усиления лабораторной службы, способных осуществлять забор проб воздуха (станции контроля воздуха), жидких и твердых проб для индикации и диагностики патогенных биологических агентов (ПБА) с помощью ПЦР в режиме реального времени (Ванкувер, 2010 г., Лондон, 2012 г.). Необходимо отметить, что привлечение мобильных противоэпидемических формирований обосновано и целесообразно при проведении массовых международных мероприятий и в Российской Федерации [1].

XXVII Всемирная летняя универсиада в Казани стала крупнейшей за всю историю существования студенческих Игр. В ней приняло участие 11778 спортсменов из 160 стран мира, более 150 тыс. гостей и зрителей, около 20 тыс. волонтеров.

ЧС в период Универсиады-2013 могла возникнуть как в результате эпидемического проявления инфекционных болезней, актуальных для Республики Татарстан, в том числе природно-очаговых, так и в случае заноса на территорию республики опасных инфекционных болезней, требующих проведения мероприятий по санитарной охране территории, в том числе неизвестной этиологии.

С ЧС сталкиваются, в первую очередь, территориально закрепленные учреждения здравоохранения и санитарно-эпидемиологического надзора, возможности которых в плане верификации и реагирования на ЧС, как правило, ограничены. Это связано с тем, что в повседневной деятельности эти учреждения не встречаются с такими ситуациями. Роль учреждений лечебно-профилактического профиля в реагировании на ЧС заключается, прежде всего, в правильной оценке ситуации, своевременном выявлении больного с подозрением на инфекционную болезнь, способную вызвать ЧС, своевременном проведении первичных противоэпидемических мероприятий, оперативной передаче информации в соответствии с комплексным планом по санитарной охране территории.

Поэтому чрезвычайно важно своевременное

подключение мобильных формирований, предназначенных для реагирования на ЧС, и специализированных учреждений федерального и регионального уровней, обладающих соответствующим потенциалом. Мобильными формированиями являются специализированные противоэпидемические бригады (СПЭБ) противочумных институтов Роспотребнадзора, относящиеся в соответствии с постановлением Правительства Российской Федерации от 30.12.2003 г. № 794 к функциональной подсистеме надзора за санитарно-эпидемиологической обстановкой единой государственной системы предупреждения и ликвидации чрезвычайных ситуаций.

Современные СПЭБ – мобильные формирования экстренного реагирования, автономного функционирования, использующие передовые диагностические и информационные технологии, современное оборудование, укомплектованные по модульному принципу, способные решать задачи по ликвидации и предупреждению чрезвычайных ситуаций в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения (ЧС) [3]. СПЭБ непосредственно подчиняется Руководителю Роспотребнадзора.

СПЭБ укомплектованы мобильными комплексами лабораторий различного профиля на базе автошасси. Лаборатории мобильного комплекса соответствуют общим требованиям, установленным в международном стандарте ИСО/МЭК 17025

Впервые в целях обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения в ходе проведения массового мероприятия (ММ) с международным участием (Универсиады-2013) в соответствии с приказом Роспотребнадзора от 08.05.2013 г. № 285 была задействована СПЭБ РосНИПЧИ «Микроб».

Основанием привлечения СПЭБ в ходе подготовки и проведения ММ является возникновение (риск возникновения) ЧС, являющейся объектом деятельности СПЭБ. Тактика использования СПЭБ в ходе обеспечения проведения ММ варьирует в зависимости от эпидемиологической обстановки, наличия эпидемиологических рисков, стоящих перед СПЭБ задач и планируемых объемов исследований. СПЭБ может задействоваться как в полном (или усиленном) составе, так и в виде отдельных лабораторных модулей или групп специалистов.

При возникновении ЧС спектр направлений взаимодействия сетевых структур и мобильных формирований санитарно-эпидемиологического и лечебно-профилактического профилей будет максимальным. Но поскольку в режиме повседневной деятельности при проведении ММ ЧС может и не возникнуть вообще, то возможна постановка перед мобильными формированиями задач в повседневном режиме, которые и будут в данном случае определять направления взаимодействия с органами и учреждениями Роспотребнадзора и здравоохранения.

Так, перед СПЭБ РосНИПЧИ «Микроб» в соответствии с приказом Роспотребнадзора от 08.05.2013 г. № 285 в период проведения

Универсиады-2013 в повседневном режиме были поставлены следующие задачи:

- обеспечение готовности к проведению лабораторной диагностики, противоэпидемических (профилактических) мероприятий при выявлении больного (подозрительного) на особо опасные инфекционные болезни и при регистрации очагов инфекционных болезней с групповой заболеваемостью;

- оказание практической и методической помощи органам и организациям Роспотребнадзора, здравоохранения Казани по вопросам готовности к работе в условиях ЧС санитарно-эпидемиологического характера;

- усиление лабораторной базы учреждений Роспотребнадзора Казани, участие в мониторинге возбудителей инфекционных болезней в материале от людей и из объектов окружающей среды в соответствии с утвержденными документами «Порядок лабораторного обеспечения исследований окружающей среды в период проведения Универсиады-2013 в г. Казани» и «Порядок лабораторного обеспечения диагностики инфекционных болезней в период проведения Универсиады-2013».

Исходя из указанных задач, были определены алгоритмы взаимодействия СПЭБ с учреждениями и органами Роспотребнадзора и здравоохранения Республики Татарстан в рамках осуществления лабораторной диагностики материала от больных и из объектов окружающей среды. Из медицинских организаций Казани клинический материал должен был (по согласованию с Управлением Роспотребнадзора по Республике Татарстан) направляться на исследование в СПЭБ в случаях подозрения на особо опасные инфекции и вспышки инфекционных болезней; выявления заболеваний неясной этиологии; необходимости усиления при больших объемах лабораторных исследований; необходимости верификации диагноза.

Из ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан» материал для исследования из объектов окружающей среды должен был (по согласованию с Управлением Роспотребнадзора по Республике Татарстан) направляться на исследование в СПЭБ в следующих случаях: подозрения на особо опасные инфекции; неизвестного ПБА; необходимости усиления при проведении бактериологических и санитарно-микробиологических исследований; необходимости верификации диагноза.

С учетом потенциальных эпидемиологических рисков необходимо было актуализировать схемы реагирования на ЧС с учетом включения мобильных формирований.

В Республике Татарстан в период подготовки и проведения Универсиады-2013, вопросы межведомственного взаимодействия при обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия и реагировании на ЧС регламентировались Комплексным планом мероприятий по санитарной охране территории Республики Татарстан от завоза и распространения инфекционных болезней, кото-

рые могут привести к возникновению ЧС в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения на 2011–2015 гг., утвержденным распоряжением КМ РТ от 03.09.2011 г. № 1665-р и изменениями от 10.01.2013 г.

В соответствии с упомянутым Комплексным планом в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия в период подготовки и проведения Универсиады-2013 был задействован ряд ведомств (рис. 1). Кроме того, на период Универсиады в Комплексный план по санитарной охране территорий от заноса и распространения опасных инфекционных болезней был включен отдельный раздел, содержащий организационные и противоэпидемические мероприятия в период подготовки к Универсиаде, в том числе с участием СПЭБ ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб».

В соответствии с Постановлением Кабинета Министров РТ от 30.05.2013 г. № 363 «Об организации радиационной, химической и биологической защиты и контроля в период подготовки и проведения XXVII Всемирной летней универсиады 2013 года в г. Казани» в целях обеспечения радиационной, химической и биологической защиты и контроля в период подготовки и проведения Универсиады-2013 был утвержден состав группировки сил радиационной, химической и биологической защиты и контроля. В состав группировки республики впервые была включена СПЭБ ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб».

В целях обеспечения эффективного процесса управления Играми в период проведения Универсиады и своевременного реагирования при возникновении нештатных ситуаций был создан Центр управления Играми (ЦУИ), в рамках которого функционировал оперативный штаб по вопросам медицинского и санитарно-эпидемиологического обеспечения Универсиады.

Организационная структура оперативного штаба ЦУИ работала как система управления медицинским и санитарно-эпидемиологическим обеспечением Игр и представляла собой единую систему межведомственного взаимодействия, функционирующую в режиме повышенной готовности и осуществляющую постоянный взаимообмен информацией, главным образом, с оперативными штабами медицинского и санитарно-эпидемиологического направления.

Взаимодействие оперативного штаба Управления Роспотребнадзора по РТ со специалистами СПЭБ РосНИПЧИ «Микроб» было организовано непосредственно через координаторов оперативного штаба, а также через оперативный штаб ФБУЗ «ЦГиЭ в РТ», который осуществлял координацию работы ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» в период проведения Универсиады-2013 (рис. 2). Работа оперативных штабов Управления Роспотребнадзора по РТ и ФБУЗ «ЦГиЭ в РТ» проводилась согласованно.

В ежедневном формате проводились рабочие совещания по вопросам организации работы, подготовки донесений, корректировки количества лабораторных исследований. Взаимообмен информацией

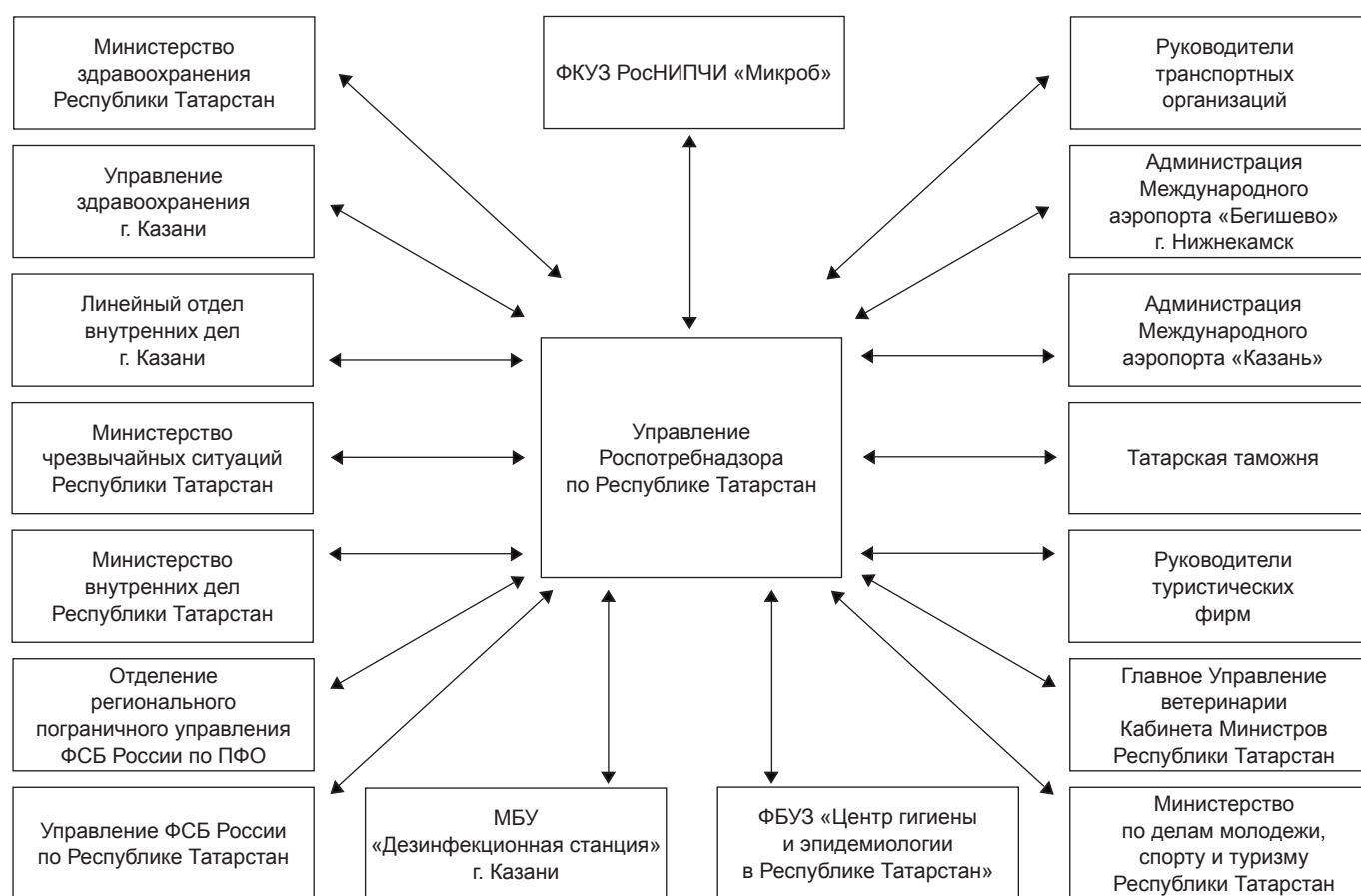


Рис. 1. Схема взаимодействия учреждений Роспотребнадзора по Республике Татарстан

проводился круглосуточно, информация о нестандартных пробах, регистрации экстренных извещений о случаях возникновения инфекционных заболеваний среди участников Универсиады-2013 и приданных сил, а также о случаях подозрения на ЧС химического и радиационного характера доводилась до сведения заинтересованных лиц немедленно, все противоэпидемические и санитарно-гигиенические мероприятия проводились своевременно, в полном объеме.

Таким образом, рассматривая вопросы взаимодействия территориально закрепленных органов и учреждений и мобильных комплексов экстратерриториального назначения при предупреждении и ликвидации последствий ЧС, можно сделать следующие выводы:

1. Внутриведомственное взаимодействие сетевых структур и мобильных формирований определяется как общими задачами лечебно-профилактической и санитарно-эпидемиологической службы, так и теми задачами, которые ставятся перед мобильными формированиями в конкретной ситуации.

2. Функции мобильных формирований, направляемых дополнительно для обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия в период проведения ММ в режиме повседневной деятельности при отсутствии ЧС, определяются, прежде всего, соответствующими ведомственными приказами о направлении формирования. Специально для таких случаев должны разрабатываться документы, которые более

подробно регламентируют функции конкретного мобильного формирования в режиме повседневной деятельности и, соответственно, вопросы внутриведомственного и межведомственного взаимодействия (порядки, регламенты и пр.).

3. При ежегодной корректировке Комплексных планов мероприятий по санитарной охране территории в период подготовки к проведению ММ необходимо предусмотреть наличие в Комплексном плане дополнительного раздела «Организационные и противоэпидемические мероприятия в период подготовки и проведения ММ» с обязательным включением мобильных формирований.

4. Вопросы межведомственного взаимодействия в период проведения ММ решаются в рамках работы межведомственного оперативного штаба медицинского и санитарно-эпидемиологического обеспечения массового мероприятия, а также оперативных штабов Управления Роспотребнадзора по субъекту Российской Федерации, ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в субъекте Российской Федерации».

5. Разработан алгоритм и порядок взаимодействия территориально закрепленных органов и учреждений и мобильных комплексов экстратерриториального назначения при предупреждении и ликвидации последствий ЧС санитарно-эпидемиологического характера в условиях проведения массовых спортивных мероприятий.

В период подготовки и проведения Универсиады-

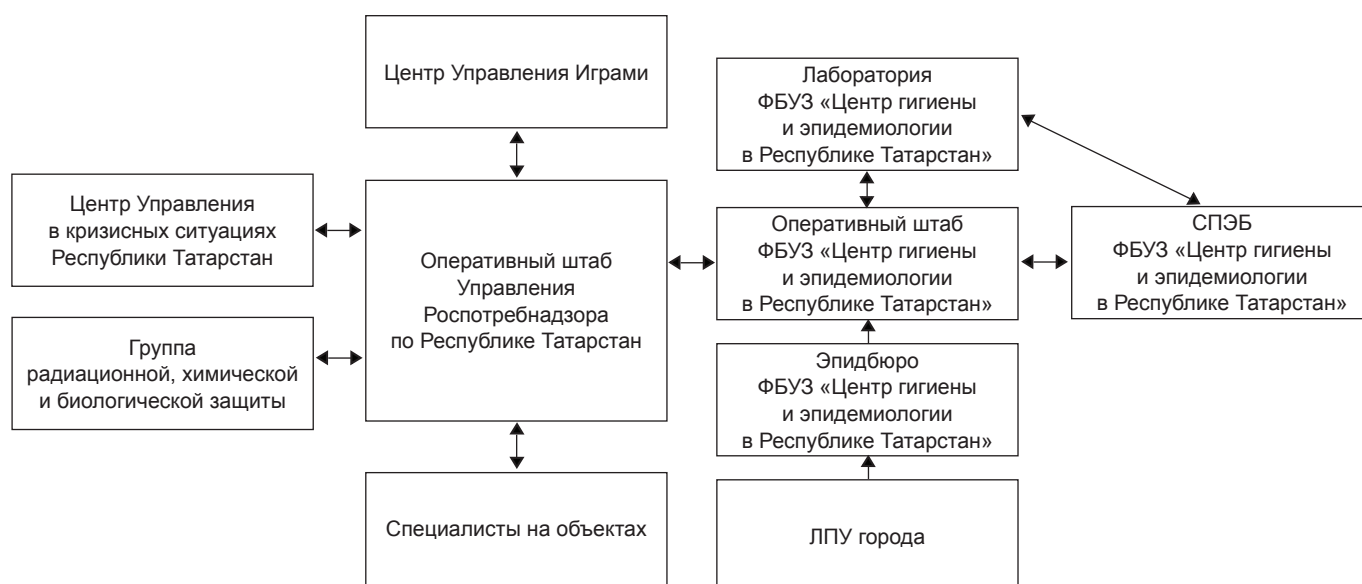


Рис. 2 Схема взаимодействия Оперативных штабов Управления Роспотребнадзора по Республике Татарстан и ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан»

2013 была разработана и успешно апробирована структура взаимодействия территориально закрепленных органов и учреждений и мобильных комплексов экстратерриториального назначения при предупреждении и ликвидации последствий ЧС санитарно-эпидемиологического характера.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Онищенко Г.Г., Кузькин Б.П., Ракитин И.А., Башкетова Н.С., Коржаев Ю.Н., Гречанинова Т.А., Дятлов И.А., Кутырев В.В., Топорков А.В., Карнаухов И.Г., Топорков В.П., Щербак С.А., Казакова Е.С., Шарова И.Н. Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия в период подготовки и проведения саммита «группы двадцати» в Санкт-Петербурге в 2013 г. Сообщение 2. Организация и приоритетные направления работы в период проведения саммита. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 4:11–15.
2. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. XXVII Всемирная летняя Универсиада 2013 года в Казани. Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия. Тверь: Триада; 2013. 528 с.
3. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., Топорков А.В., Карнаухов И.Г., Щербак Д.А., Казакова Е.С., Щербак С.А. Обеспечение модернизации специализированных противоэпидемических бригад (СПЭБ) на современном этапе. *Пробл. особо опасных инф.* 2009; 3(101):10–8.
4. 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.
5. Удовиченко С.К., Топорков А.В., Карнаухов И.Г., Сафронов В.А., Кедрова О.В., Топорков В.П., Кутырев В.В. Оценка внешних и внутренних угроз санитарно-эпидемиологическому благополучию населения в условиях проведения массовых спортивных мероприятий. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 2:26–32.

References

1. Onishchenko G.G., Kuz'kin B.P., Rakitin I.A., Bashketova N.S.,

Korzhayev Yu.N., Grechaninova T.A., Dyatlov I.A., Kutyrev V.V., Toporkov A.V., Karnaukhov I.G., Toporkov V.P., Shcherbakova S.A., Kazakova E.S., Sharova I.N. [Sanitary-epidemiological welfare provision in the preparations to and management of the “G-20” Summit in Saint-Petersburg, 2013. Communication 2. Management and Priority Areas of Anti-Epidemic Activities as Regards “G-20” Summit Campaign]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 4:11–5.

2. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors. [XXVII World Summer Universiade 2013 in Kazan. Provision of Sanitary and Epidemiological Well-Being]. Tver: Triada; 2013. 528 p.

3. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., Toporkov A.V., Karnaukhov I.G., Shcherbakov D.A., Kazakova E.S., Shcherbakova S.A. [Provision of Specialized Anti-Epidemic Teams (SAET) Modernization at the Present Stage]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2009; 3(101):10–8.

4. Toporkov A.V., Toporkov V.P., Shiyanova A.E., Kutyrev V.V. [Emergency Situation in the Sphere of Population Sanitary and Epidemiologic 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.

5. Udovichenko S.K., Toporkov A.V., Karnaukhov I.G., Safronov V.A., Kedrova O.V., Toporkov V.P., Kutyrev V.V. [Evaluation of External and Internal Threats to Sanitary-Epidemiological Welfare of the Population in the Context of Mass Sporting Events]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 2:26–32.

Authors:

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

Patyashina M.A. Rosпотребнадзор Administration in the Republic of Tatarstan. 30, B. Krasnaya St., Kazan, 420111, Russian Federation. E-mail: org@16.rosпотребнадзор.ru

Karnaukhov I.G. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Ziatdinov V.B. Center of Hygiene and Epidemiology in the Republic of Tatarstan. 13a, Sechenova St., Kazan, 420061, Russian Federation. E-mail: fguz@16.rosпотребнадзор.ru

Об авторах:

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

Патяшина М.А. Управление Роспотребнадзора по Республике Татарстан. Российская Федерация, 420111, Казань, ул. Б. Красная, 30. E-mail: org@16.rosпотребнадзор.ru

Карнаухов И.Г. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Зиятдинов В.Б. Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан. Российская Федерация, 420061, Казань, ул. Сеченова 13а. E-mail: fguz@16.rosпотребнадзор.ru

Поступила 04.02.15.

М.В.Полищук¹, Л.Н.Данилина², В.В.Болдырева³, Т.Д.Здольник¹**ХАРАКТЕРИСТИКА ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ НАСЕЛЕНИЯ ТУЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ ПРИРОДНО-ОЧАГОВЫМИ ИНФЕКЦИОННЫМИ БОЛЕЗНЯМИ**

¹ГБОУ ВПО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова», Рязань, Российская Федерация; ²Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Тульской области, Тула, Российская Федерация; ³ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Тульской области», Тула, Российская Федерация

Исследование проведено с целью выявления уровня, структуры, динамики, территориального распределения природно-очаговых инфекционных болезней на территории Тульской области. В работе на основании анализа данных статистических отчетов ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Тульской области» за 1993–2013 гг. показано, что на территории Тульской области из числа природно-очаговых инфекционных болезней регистрируются в основном геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, лептоспироз, иксодовый клещевой боррелиоз, туляремия в соотношении 60,2:33,6:5,5:0,7. Средний уровень заболеваемости населения геморрагической лихорадкой с почечным синдромом и лептоспирозом за исследуемый период превышает данный показатель по Российской Федерации в 1,3 и 4,9 раза; инцидентность иксодовым клещевым боррелиозом и туляремией, наоборот, в 9,2 и 2,1 раза ниже, чем в целом по стране. Динамика заболеваемости геморрагической лихорадкой с почечным синдромом и иксодовым клещевым боррелиозом характеризуется умеренной тенденцией к росту; инцидентность лептоспирозом и туляремией проявляет выраженную тенденцию к снижению. Наиболее значительное число случаев заболеваний геморрагической лихорадкой с почечным синдромом, лептоспирозом, иксодовым клещевым боррелиозом отмечается в северных, северо-западных, западных районах области; наибольшее число случаев туляремии зарегистрировано в двух восточных районах.

Ключевые слова: природно-очаговые инфекционные болезни, геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, лептоспироз, туляремия, иксодовый клещевой боррелиоз, заболеваемость, эпидемиология.

M.V.Polishchuk¹, L.N.Danilina², V.V.Boldyreva³, T.D.Zdol'nik¹**Specification of Morbidity Rates among the Population of the Tula Region as Regards Natural-Focal Infectious Diseases**

¹I.P.Pavlov Ryazan State Medical University, Ryazan, Russian Federation; ²Administration of the Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare in the Tula Region, Tula, Russian Federation; ³Center of Hygiene and Epidemiology in the Tula Region, Tula, Russian Federation

Objective of the study was to analyze morbidity rates, structure, and spatial distribution of natural-focal infections in the Tula Region. Based on statistical reports of the Center of Hygiene and Epidemiology in the Tula Region over a period of 1993–2013, it is demonstrated that zoonotic infections that occur in the Tula Region, are hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS), leptospirosis, Ixodidae tick-borne borreliosis, and tularemia in the ratio of 60.2:33.6:5.5:0.7, respectively. An average case rate for HFRS and leptospirosis is 1.3 and 4.9 times higher than the corresponding rates throughout Russia, respectively, while Ixodidae tick-borne borreliosis, and tularemia incidence is, by contrast, 9.2 and 2.1 times lower, than the national average. Dynamics of HFRS morbidity rates and Ixodidae tick-borne borreliosis is marked by a moderate upward trend, while leptospirosis and tularemia incidence levels have an apparent downward trend. The highest HFRS, leptospirosis, and Ixodidae tick-borne borreliosis morbidity is in the northern, north-western and western parts of the Region, situated in broadleaved woodland; and the highest numbers of tularemia cases are registered in two eastern zones.

Key words: natural-focal zoonotic infections, tick-borne borreliosis, tularemia, leptospiroses, hemorrhagic fever with renal syndrome, morbidity rates, epidemiology.

Тульская область относится к территориям, неблагоприятным по природно-очаговым инфекционным болезням (ПОИБ), в частности, по геморрагической лихорадке с почечным синдромом (ГЛПС), лептоспирозу и туляремии. Особенности природно-климатических условий (расположение в ландшафтных зонах северной и южной лесостепи, разделенных зоной широколиственных лесов), активное антропогенное и техногенное воздействие обуславливают не только постоянное функционирование, но и активную трансформацию природных очагов этих нозологий [7]. Полиморфизм клинических проявлений от легких бессимптомных и гриппоподобных форм до тяжелой молниеносной фатальной инфекции определяют значительный интерес к ПОИБ исследователей

и практикующих врачей [4].

В конце XX века в регионе регистрировалось от 75 до 300 случаев заболеваний ПОИБ в год, показатель заболеваемости колебался от 4,1 до 16,3 на 100 тыс. населения [7].

В 1981–1997 гг. в области зафиксировано 959 случаев заболеваний ГЛПС. Население в 92 % случаев инфицировалось в очагах циркуляции хантавирусов Пуумала, расположенных в широколиственных («засечных» и островных) лесах северо-западной части области. Показатель заболеваемости на наиболее активной очаговой территории в различные годы составил от 2,0 до 32,0 на 100 тыс. населения. Динамика инцидентности в очагах лесного типа обусловлена цикличностью эпизоотического процесса в популяции

рыжей полевки. В лесостепной зоне области с 1986 г. регистрируются единичные случаи заболеваний, вызванные хантавирусами Добрава, основным резервуаром которого в регионе является полевая мышь. В эпидсезон 1991–1992 гг. в области зафиксирована высокая активность очагов ДОБ-ГЛПС в юго-восточных районах области с заражением 45 человек, преимущественно в Новомосковском и Куркинском районах (23 и 13 случаев соответственно) [1].

Лептоспирозная инфекция также актуальна для данного региона. К 1999 г. на территории всех районов области подтверждено существование природных очагов лептоспироза серогруппы *Grippytyphosa*. Кроме того, под воздействием антропогенного фактора в регион были завезены лептоспиры серогруппы *Icterohaemorrhagiae*, которые быстро распространились по территории области с вовлечением в эпизоотический процесс не только серых крыс (основных резервуаров этого возбудителя), но и лесных, желтогорлых, полевых и домовых мышей [7]. В 2001–2006 гг. Тульская область была самым неблагополучным по лептоспирозу регионом Центрального федерального округа, в котором число заболевших составляло 33,4 % от их общего количества в округе. Инцидентность в области была на уровне $6,5 \pm 4,0$ на 100 тыс. населения против 2,4 – максимального показателя в ЦФО, который наблюдался только в 2004 г. Данные значения зафиксированы на фоне снижения заболеваемости по округу в 1,3 раза. Кроме того, уровень инцидентности лептоспирозом в Тульской области был выше среднеголетнего общероссийского показателя [6].

Тульская область является активной очаговой территорией по туляремии лугополевого типа. По результатам эпизоотологического мониторинга за период 1942–2014 гг. в 537 населенных пунктах региона была выделена 1131 культура *Francisella tularensis*. Основным источником туляремииной инфекции в области является обыкновенная полевка (51,2 % выделенных культур), высокая численность которой наблюдалась в 1985, 1987, 1989, 1991, 1993 и 2005 гг. В распространении туляремииного микроба участвуют также гамазовые клещи (7,4 % культур), блохи (11,1 %), вши (1,0 %). Определенное значение также имеют иксодовые клещи, особенно *Dermacentor reticulatus* (5,5 % культур), менее активным переносчиком является *Ixodes ricinus* (0,2 % культур) [2]. Особенностью эпидемиологической ситуации по туляремии в Тульской области является низкая заболеваемость населения при высокой активности эпизоотического процесса. Так, в период 1998–2005 гг. на территории ЦФО был зарегистрирован 781 случай туляремии, из них 13 в Тульской области. При этом максимальное количество культур туляремииного микроба из различных объектов окружающей среды изолировано именно в Тульской области – 114 из 281 [5].

С увеличением численности клещей в Тульской области все острее становится проблема распространения клещевых инфекций. В лесной зоне широко распространен клещ *I. ricinus*. Наиболее заселенными им территориями являются широколиственные «засечные» леса Суворовского, Белевского,

Одоевского, Щекинского, Ленинского районов, а также островные леса Алексинского района. В 1998 г. численность клещей *I. ricinus* резко возросла до 19,5 % при среднемноголетнем уровне 0,5–3,0 на 1 флаго-километр. В 1999 г. в клещах, отловленных в Алексинском и Белевском районах, впервые был обнаружен возбудитель иксодового клещевого боррелиоза (ИКБ) [3].

Целью исследования явилось выявление уровня, структуры, динамики, территориального распределения ПОИБ на территории Тульской области за последние два десятилетия.

Материалы и методы

В работе использованы данные статистических отчетов ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Тульской области» по заболеваемости населения ГЛПС, лептоспирозом, туляремией, ИКБ и материалы Государственных докладов «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации» за 21 год (с 1993 по 2013 год), обработанные с использованием программ Excel, Statistica.60.

Результаты и обсуждение

Среди случаев заболеваний ПОИБ в Тульской области за 1993–2013 гг. преобладающими нозологическими формами являются ГЛПС и лептоспироз, которые в совокупности формируют заболеваемость данной группой инфекций на 93,8 %.

Средняя инцидентность населения Тульской области ГЛПС превышает данный показатель по Российской Федерации в 1,3 раза и характеризуется умеренной тенденцией к росту при стабильном уровне заболеваемости этой инфекцией по стране (таблица). В динамике показателя при семилетней периодизации отмечается его нарастание во втором и третьем периодах по сравнению с первым в 1,3 раза. В последние семь лет инцидентность населения ГЛПС в Тульской области превышает таковую по России в 1,6 раза ($P < 0,05$).

Инцидентность лептоспирозами в Тульской области так же, как и в Российской Федерации, имеет выраженную тенденцию к снижению. Сравнительная характеристика показателя заболеваемости по семилетним периодам наблюдения свидетельствует о его повышении во втором временном промежутке по сравнению с первым в 1,4 раза, а затем – резком снижении в 5,4 раза ($P < 0,05$) в третьем отрезке времени. Средний уровень заболеваемости данной инфекцией за весь период наблюдения выше среднероссийского показателя в 4,9 раза ($P < 0,01$) и даже в последние семь лет, несмотря на значительное снижение, продолжает превышать заболеваемость по России в 3,5 раза ($P < 0,05$).

Заболеваемость ИКБ среди населения Тульской области в 9,2 раза ниже, чем в среднем по России ($P < 0,01$), но при этом отмечается умеренная тенденция к росту при стабильной за последние 14 лет ин-

Заболеемость населения Тульской области природно-очаговыми инфекционными болезнями за 1993–2013 гг. в сравнении с Российской Федерацией (на 100 тыс. населения)

Годы наблюдения	Показатели заболеваемости	Характеристика показателей заболеваемости							
		ГЛПС		лептоспирозами		ИКБ		туляремией	
		Тульская обл.	РФ	Тульская обл.	РФ	Тульская обл.	РФ	Тульская обл.	РФ
1993–2013	$\bar{X}$	6,48	4,96	3,61	0,74	0,59*	5,44*	0,08	0,17
	m	0,59	0,50	0,80	0,33	0,09	0,23	0,02	0,05
	T _{ср.пр.} (%)	1,83	-0,76	-6,69	-7,24	1,55	0,24	-10,16	0,50
1993–1999	$\bar{X}$	5,37	5,73	4,09	1,07	-	-	0,11	0,20
	m	1,37	1,22	0,56	0,11	-	-	0,05	0,10
2000–2006	$\bar{X}$	6,89	5,04	5,68	0,85	0,55	5,29	0,13	0,16
	m	1,25	0,54	1,83	0,17	0,16	0,22	0,04	0,11
2007–2013	$\bar{X}$	7,15	4,54	1,05	0,30	0,63	5,58	0,01	0,16
	m	0,97	0,44	0,36	0,04	0,10	0,42	0,01	0,10

*Данные за 2000–2013 гг.

цидентности в Российской Федерации.

Инцидентность населения Тульской области туляремией по сравнению с описанными ПОИБ имеет наименьшее значение. Уровень заболеваемости данной инфекцией в 2,1 раза ниже, чем в среднем по России и характеризуется выраженной тенденцией к снижению. Значительное снижение числа случаев туляремии отмечается в последние семь лет.

В структуре заболеваемости населения Тульской области ПОИБ за 1993–2013 гг. первое ранговое место принадлежит ГЛПС, которая формирует заболеваемость данной группой инфекций на 60,2 %, второе место занимает лептоспироз – 33,6 %, и лишь незначительную долю заболеваемости (6,2 %) дают ИКБ и туляремия.

Описанные выше изменения уровней заболеваемости отдельными ПОИБ в течение трех семилетних периодов привели и к изменениям структуры данной группы инфекций (рис. 1). В первом периоде заболеваемость ПОИБ формируется, главным образом, дву-

мя инфекциями – ГЛПС и лептоспирозом, при этом доля ГЛПС в структуре заболеваемости на 13,4 % превышает долю лептоспироза. Во втором периоде принципиальные позиции двух основных инфекций в структуре ПОИБ сохраняются, но за счет регистрации случаев ИКБ удельный вес ГЛПС снижается на 4 %. В последние семь лет наблюдения доля лептоспироза в структуре заболеваемости ПОИБ сокращается в 3,6 раза, в результате чего, несмотря на увеличение удельного веса ИКБ, 80,9 % заболеваемости данной группой инфекций приходится на ГЛПС. Заболеваемость туляремией во все три периода наблюдения составляет незначительный процент.

Территориальное распределение двух ГЛПС и лептоспироза в Тульской области в значительной степени совпадает (рис. 2). За 21 год наблюдения наибольшее число случаев ГЛПС (1380 из 2177, 63,8 %) зарегистрировано в Туле. Из 1414 случаев лептоспироза 807 (57,1 %) также были выявлены среди населения областного центра. Среднее значение числа слу-

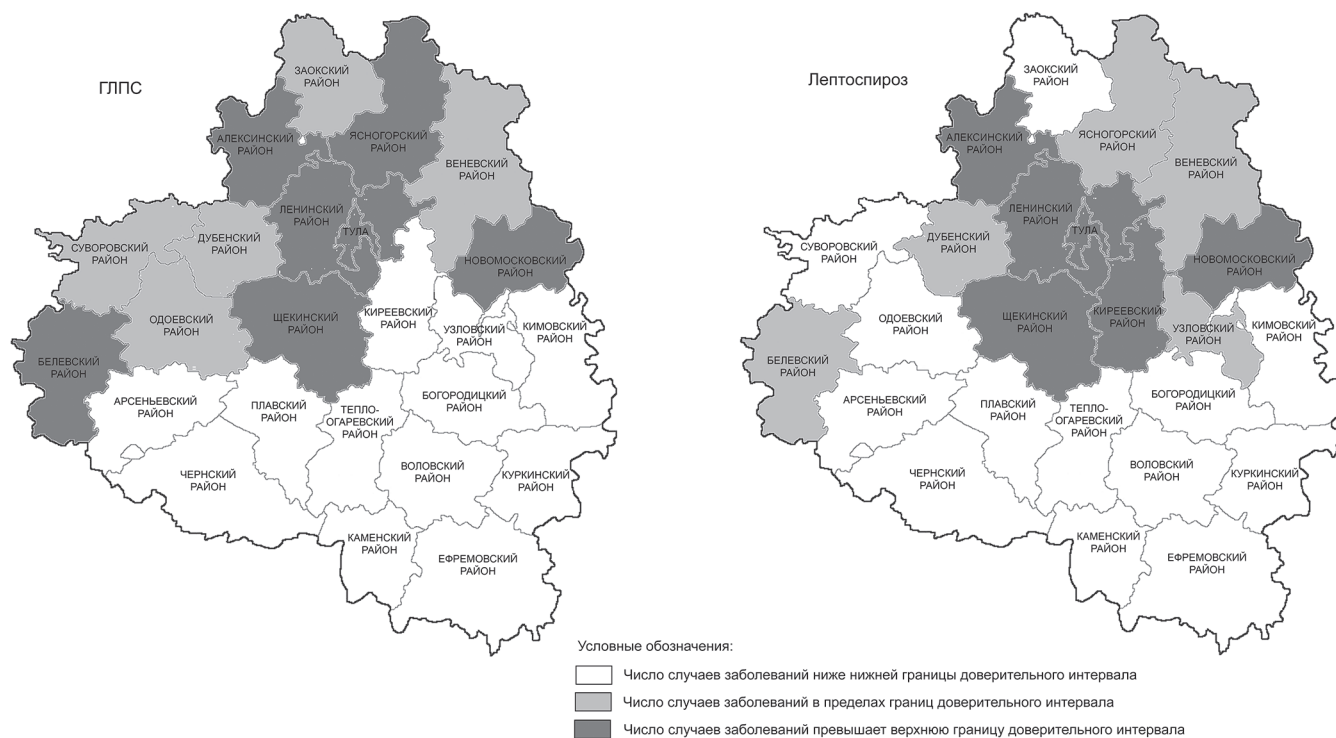


Рис. 1. Структура заболеваемости населения Тульской области природно-очаговыми инфекционными болезнями за 1993–2013 гг. в семилетней периодизации (%)

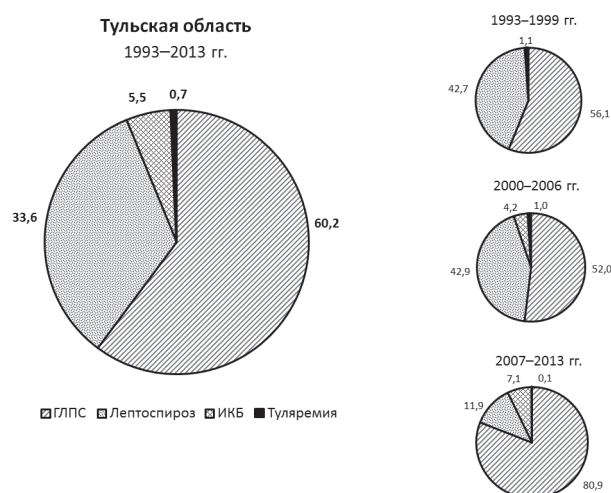


Рис. 2. Территориальное распределение числа случаев ГЛПС и лептоспироза в Тульской области

чаев ГЛПС в районах области за все годы наблюдения составило $34,0 \pm 6,1$. В пяти районах (Веневском, Дубенском, Заокском, Одоевском, Суворовском) значение числа случаев данной инфекции входило в доверительный интервал средней величины ($\bar{X} \pm 2m$), в шести районах (Алексинском, Белевском, Ленинском, Новомосковском, Щекинском, Ясногорском) превышало его верхнюю доверительную границу, на остальной территории было меньше нижней доверительной границы.

Среднее значение числа случаев лептоспироза в районах области – $26,2 \pm 6,3$. В доверительный интервал данной величины входит число случаев лептоспироза, зарегистрированных в Белевском, Веневском, Дубенском, Узловском, Ясногорском районах. В Алексинском, Киреевском, Ленинском, Новомосковском, Щекинском районах число случаев данного заболевания превосходило верхнюю доверительную границу средней, в остальных районах – не превышало нижнюю доверительную границу среднего значения данной величины.

Из 124 случаев ИКБ, зарегистрированных в Тульской области с 2000 по 2013 год, 51 (41,1 %) приходится на население Тулы. Из остальных 73 случаев 42 отмечены в Алексинском районе, 6 – в Новомосковском, 5 – в Суворовском, по 3 – в Заокском и Узловском районах. В Белевском, Ефремовском, Кимовском, Киреевском, Ленинском, Черном, Щекинском, Ясногорском районах были зарегистрированы по 1–2 случая ИКБ. В остальных районах случаев данной инфекции за 14 лет наблюдения не зарегистрировано.

Туляремия для Тульской области является достаточно редкой инфекцией – за 21 год наблюдения зафиксировано 30 случаев данного заболевания, из них 4 (13,3 %) отмечены в Туле. Из остальных 26 случаев 9 зарегистрированы в Кимовском районе, 7 – в Новомосковском, 4 – в Алексинском, 3 – в Ефремовском, по одному – в Богородицком, Дубенском, Ленинском районах.

Анализ территориального распределения заболеваемости ПОИБ показал, что эндемичные районы расположены на севере, северо-западе и западе региона

(исключением является распределение инцидентности туляремии) в зоне широколиственных лесов, что соответствует области распространения основного резервуара этих инфекций – рыжей полевки.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Апекина Н.С., Бобылкова Т.В., Мясников Ю.А., Ручкина Н.Ю. Выявление очагов ГЛПС «нового» типа по данным эпидемиологического анализа заболеваемости. *Пробл. профилактик. мед.* 2000; 11:27–31.
2. Евстегнеева В.А., Честнова Т.В., Смольянинова О.А. О нейросетевом моделировании и прогнозировании эпизоотий туляремии на территории Тульской области. *Вестник новых медицинских технологий*. <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2014-1/5022.pdf> (дата обращения 01.12.2014).
3. Козлова Т.В., Арумова Е.А., Давыдов В.Н., Фомичева М.В., Бобылкова Т.В., Новохатка А.Д., Дорофеев Э.М., Шишкина Л.И. Роль клещей рода Ixodes ридинус в циркуляции возбудителей природно-очаговых инфекций на территории Тульской области. *Пробл. профилактик. мед.* 2000; 11:34–6.
4. Малеев В.В., Мартынов В.А., Клочков И.Н. Клинико-эндоскопическая характеристика острой эрозивно-язвенной патологии верхних отделов ЖКТ у больных геморрагической лихорадкой с почечным синдромом, лептоспирозом и туляремией. *Рос. медико-биол. вестн. им. акад. И.П.Павлова*. 2014; 3:48–55.
5. Топорков В.П., Величко Л.Н., Васенин А.С. Состояние заболеваемости туляремией в федеральных округах Российской Федерации с 1998 по 2005 год. *Пробл. особо опасных инф.* 2007; 1(93):46–8.
6. Топорков В.П., Величко Л.Н. Динамика заболеваемости лептоспирозами в федеральных округах Российской Федерации. *Пробл. особо опасных инф.* 2008; 2(96):22–5.
7. Фомичева М.В., Бобылкова Т.В., Гельштейн В.С., Бажажина Н.А., Шишкина Л.И. О состоянии дератизационных мероприятий и уровне заболеваемости природно-очаговыми инфекциями на территории Тульской области. *Пробл. профилактик. мед.* 2000; 11:37–9.

References

1. Apekina N.S., Bobylkova T.V., Myasnikov Yu.A., Ruchkina N.Yu. [Detection of HFRS foci of a "new" type based on the data on morbidity epidemiological analysis]. *Probl. Profilakt. Med.* 2000; 11:27–31.
2. Evstegneeva V.A., Chestnova T.V., Smol'yaninova O.A. [Concerning the neural network modeling and forecasting of tularemia epizootics in the territory of the Tula Region]. *Vestnik Novykh Med. Tekhnol.* [Cited: 01.12.2014]. Available from: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2014-1/5022.pdf>
3. Kozlova T.V., Arumova E.A., Davydov V.N., Fomicheva M.V., Bobylkova T.V., Novokhatka A.D., Dorofeev E.M., Shishkina L.I. [Role of Ixodidae ricinus ticks in the circulation of natural-focal infections agents in the territory of the Tula Region]. *Probl. Profilakt. Med.* 2000; 11:34–6.
4. Maleev V.V., Martynov V.A., Klochkov I.N. [Clinical-endoscopic characteristics of acute erosive-ulcerative pathology in the upper gastrointestinal tract of the patients with HFRS, leptospiroses, and tularemia]. *I.P.Pavlov Russian Medico-Biological Bulletin*. 2014; 3:48–55.
5. Toporkov V.P., Velichko L.N., Vassenin A.S. [Present status of tularemia morbidity in the Federal Districts of the Russian Federation from 1998 to 2005]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2007; 1(93):46–8.
6. Toporkov V.P., Velichko L.N. [Dynamics of leptospiroses morbidity in the Federal Districts of the Russian Federation]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2007; 2(96):22–5.
7. Fomicheva M.V., Bobylkova T.V., Gel'shtein V.S., Bazhazhina N.A., Shishkina L.I. [Concerning the state of deratization activities and morbidity rates for natural-focal infections in the territory of the Tula Region]. *Probl. Profilakt. Med.* 2000; 11:37–9.

Authors:

Polishchuk M.V., Zdol'nik T.D. I.P.Pavlov Ryazan State Medical University. 9, Vysokovol'naya St., Ryazan, 390026, Russian Federation. E-mail: xvostt@mail.ru.

Danilina L.N. Administration of the Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare in the Tula Region. 114, Oboronnaya St., Tula, 300045, Russian Federation.

Boldyreva V.V. Center of Hygiene and Epidemiology in the Tula Region. 114, Oboronnaya St., Tula, 300045, Russian Federation.

Об авторах:

Полищук М.В., Здолик Т.Д. Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова. Российская Федерация, 390026, Рязань, ул. Высоковольная, 9. E-mail: xvostt@mail.ru.

Данилина Л.Н. Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Тульской области, Российская Федерация, 300045, Тула, ул. Оборонная, 114. E-mail: tula@71.rosпотреbnadzor.ru.

Болдырева В.В. Центр гигиены и эпидемиологии в Тульской области. Российская Федерация, 300045, Тула, ул. Оборонная, 114.

Поступила 14.09.15.

А.Ю.Попова^{1,2}, Е.Б.Ежлова¹, Ю.В.Демина¹, А.Н.Куличенко³, А.Г.Рязанова³, Д.В.Ефременко³,
И.В.Кузнецова³, С.П.Дикова³, А.С.Волынкина³, Я.В.Лисицкая³, Е.С.Казакова⁴, С.А.Портенко⁴,
Т.Ю.Красовская⁴, И.Н.Шарова⁴, В.Е.Куклев⁴, В.А.Сафронов⁴, А.С.Раздорский⁴, И.Г.Карнаухов⁴

ИТОГИ РАБОТЫ СПЭБ РОСПОТРЕБНАДЗОРА ПО ОБЕСПЕЧЕНИЮ САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО БЛАГОПОЛУЧИЯ В ПЕРИОД ЛЕТНЕЙ ОЗДОРОВИТЕЛЬНОЙ КАМПАНИИ 2014 г. В КРЫМСКОМ ФЕДЕРАЛЬНОМ ОКРУГЕ

¹Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация; ²Российская медицинская академия последилового образования, Москва, Российская Федерация; ³ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт», Ставрополь, Российская Федерация; ⁴ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация

Включение в состав Российской Федерации Крымского федерального округа (КФО) в марте 2014 г. определило необходимость организации профилактических мероприятий, направленных на обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия в регионе. В статье представлены итоги деятельности специализированных противозидемических бригад ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» и ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» по оказанию помощи санитарно-эпидемиологической службе (СЭС) КФО, оперативной этиологической расшифровке вспышек инфекционных заболеваний. Выполнены лабораторные исследования 2407 проб клинического материала и объектов окружающей среды, при проведении 11518 исследований получено 676 положительных (нестандартных) результатов. Даны рекомендации по оптимизации работы учреждений СЭС КФО.

Ключевые слова: специализированные противозидемические бригады, мониторинг, индикация, природно-очаговые инфекции, санитарно-эпидемиологическая обстановка, патогенные биологические агенты.

A.Yu.Popova^{1,2}, E.B.Ezhlova¹, Yu.V.Demina¹, A.N.Kulichenko³, A.G.Ryazanova³, D.V.Efremenko³,
I.V.Kuznetsova³, S.P.Dikova³, A.S.Volynkina³, Ya.V.Lisitskaya³, E.S.Kazakova⁴, S.A.Portenko⁴,
T.Yu.Krasovskaya⁴, I.N.Sharova⁴, V.E.Kuklev⁴, V.A.Safronov⁴, A.S.Razdorsky⁴, I.G.Karnaukhov⁴

Results of Work of the Rospotrebnadzor SAET on the Provision of Sanitary Epidemiological Welfare of the Population during the Summer Health-Promotion Campaign, 2014 in the Crimean Federal District

¹Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Moscow, Russian Federation; ²Russian Medical Academy for Post-Graduate Training, Moscow, Russian Federation; ³Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation; ⁴Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

Integration of the Crimean Federal District (CFD) into the Russian Federation in March, 2014 predetermined the necessity to organize preventive activities, aimed at the provision of sanitary epidemiological welfare in the region. The paper observes the results of work of the specialized anti-epidemic teams, affiliated to the Stavropol Research Anti-Plague Institute and Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", on the provision of assistance to CFD Sanitary Epidemiological Service (SES) in operational etiologic investigation of infectious diseases outbreaks. Performed is the laboratory analysis of 2407 clinical and environmental samples. 676 tests out of 11518 have showed positive (non-standard) results. Given are the recommendations concerning optimization of work of the CFD SES facilities.

Key words: specialized anti-epidemic teams, monitoring, indication, natural-focal infections, sanitary epidemiological situation, pathogenic biological agents.

Образование в составе Российской Федерации КФО, включающего Республику Крым и город федерального значения Севастополь, в марте 2014 г. определило необходимость организации профилактических мероприятий, направленных на обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия в округе. При оценке деятельности СЭС КФО выявлен ряд проблем в организации мониторинга и индикации возбудителей природно-очаговых и других инфекционных болезней в клиническом материале и объектах окружающей среды. Накопившиеся проблемы обусловлены, в первую очередь, недостаточным финансированием и, как следствие, низким уровнем оснащённости лабораторной базы, недостаточным количеством единиц современного высокотехнологического оборудования, отсутствием диагностических тест-систем. В условиях высокой рекреационной нагрузки на территорию КФО в период летнего

курортного сезона 2014 г. указанные проблемы могли привести к невозможности адекватного реагирования на осложнения санитарно-эпидемиологической обстановки. В связи с этим принято решение о привлечении специализированных противозидемических бригад (СПЭБ) Роспотребнадзора для оказания помощи СЭС КФО.

В соответствии с приказом Роспотребнадзора № 408 от 15.05.2014 г. в целях обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения в период летней оздоровительной кампании 2014 г. и санитарной охраны территории в КФО с 22 мая по 3 сентября 2014 г. на лабораторных базах ГУ «Крымский республиканский лабораторный центр Госсанэпидслужбы Украины» и Севастопольского городского лабораторного центра функционировали группы СПЭБ ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» и

ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб».

Согласно плану работы, первоочередными задачами СПЭБ были:

- участие в проведении мониторинга возбудителей инфекционных болезней в материале от людей и из окружающей среды;
- оказание практической помощи в диагностике инфекционных болезней;
- исследование материала от больных и проб окружающей среды при регистрации очагов инфекционных болезней с групповой заболеваемостью;
- индикация патогенных биологических агентов (ПБА) в клиническом материале при подозрении на опасные и природно-очаговые инфекционные заболевания, при тяжелом, атипичном клиническом течении инфекционных болезней.

Работа СПЭБ РосНИПЧИ «Микроб» была организована на базах лабораторных центров СЭС в городах Ялта и Севастополь (три смены специалистов СПЭБ, 23 сотрудника). Работа СПЭБ Ставропольского противочумного института осуществлялась на базах лабораторных центров СЭС в городах Евпатория и Феодосия (четыре смены специалистов СПЭБ, 25 сотрудников института, а также специалистов ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ставропольском крае» – 2 человека, ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Карачаево-Черкесской Республике» – 1, ФКУЗ «Кабардино-Балкарская противочумная станция» – 1, ФКУЗ «Причерноморская противочумная станция» – 1.

Для решения поставленных задач и, в первую очередь, на случай осложнения эпидемиологической обстановки по опасным инфекциям СПЭБ Ставропольского противочумного института осуществлял работу не только в стационарных помещениях лабораторных центров, но и в двух мобильных лабораториях на базе автошасси (лаборатория индикации и бактериологическая лаборатория), дислоцированных в Евпатории.

Бригады были оснащены лабораторным оборудованием для проведения исследований клинического материала и проб из объектов окружающей среды методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), включая 7 амплификаторов с гибридационно-флуоресцентной детекцией результатов в формате реального времени, иммуносерологическими методами (линии для иммуноферментного анализа (ИФА), люминесцентные микроскопы), автоматическими микробиологическими анализаторами для исследования продуктов питания, воды, идентификации микроорганизмов («VacTrac», «MicroTach», «Tempo»), анализаторами для детекции биотоксинов («miniVIDAS», «Диагем»), а также диагностическими препаратами для выявления широкого спектра возбудителей острых кишечных, респираторных, природно-очаговых, особо опасных инфекций и биологических токсинов, необходимыми расходными материалами. По мере необходимости запасы СПЭБ пополнялись. СПЭБ также были обеспечены четырьмя единицами вспомогательного автотранспорта для доставки проб материала в плановом порядке и в эк-

стренных случаях.

Группы СПЭБ РосНИПЧИ «Микроб» обслуживали южный берег Крыма (города Алушта, Ялта, Алушка, Севастополь, п.г.т. Гаспра, Гурзуф, Кореиз, Массандра, Симеиз, Форос), в том числе МДЦ «Артек» и другие детские оздоровительные лагеря.

Зоной обслуживания групп СПЭБ Ставропольского противочумного института было западное побережье Республики Крым (Евпатория, Сакский, Черноморский, Раздольненский районы) и восточное (Феодосия, Судак, по эпидемиологическим показаниям – Керчь, Ленинский район).

Работа осуществлялась в постоянном взаимодействии между всеми группами СПЭБ с органами и учреждениями СЭС КФО, лечебно-профилактическими организациями инфекционного профиля, а также учреждениями Роспотребнадзора: ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт» (референс-центр по мониторингу за возбудителем холеры), ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н.Блохиной» (референс-центр по мониторингу за энтеровирусными инфекциями), ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» (исследования материала на наличие ДНК *Rickettsiae* spp. группы клещевых пятнистых лихорадок).

С целью оптимизации работы СПЭБ, уточнения порядка взаимодействия СПЭБ, учреждений СЭС, медицинских организаций инфекционного профиля КФО разработан ряд документов: Алгоритм отбора и доставки клинического материала (2), Порядок осуществления совместного мониторинга объектов окружающей среды на период до 15 сентября 2014 г. (2), Схема исследования проб материала на наличие ПБА на базе отделов ГУ «Крымский республиканский лабораторный центр ГСЭС» и СПЭБ ФКУЗ Ставропольского противочумного института Роспотребнадзора (6), Схема отбора, доставки, исследования проб клинического материала на наличие ПБА на лабораторной базе СПЭБ ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора (7), Памятка для медицинского персонала по основным клиническим синдромам (1), Памятка для медицинского персонала по отбору и доставке проб клинического/секционного материала при подозрении на особо опасные инфекции (ООИ) (1).

За период работы специалисты СПЭБ проводили следующие виды исследований:

- обследование декретированного контингента методом ПЦР на наличие ДНК/РНК возбудителей острых респираторных заболеваний (ОРЗ), острых кишечных инфекций (ОКИ) по эпидемиологическим показаниям;

- исследование клинического материала на наличие ДНК/РНК возбудителей ОРЗ, ОКИ, менингитов, природно-очаговых и других актуальных инфекционных болезней;

- еженедельный мониторинг морской воды в рекреационных зонах, сточных вод инфекционных стационаров после обеззараживания, сточных вод канализационных очистных сооружений (КОС) после

очистки, морской воды в точках сброса сточных вод КОС, воды открытых водоемов и др. на наличие РНК вирусов кишечной группы (энтеро-, рота-, норо-, астровирусов), ДНК холерных вибрионов; ежемесячный мониторинг воды из артезианских скважин, воды разводящей сети на наличие РНК вирусов кишечной группы, ДНК вируса гепатита А (по запросу); скрининговые исследования на наличие ДНК возбудителя легионеллеза воды из системы горячего водоснабжения, воды бассейнов значимых туристических объектов (отелей, аквапарков);

- исследование клещей, снятых с людей после укусов, на наличие актуальных для Крыма возбудителей клещевых инфекций: риккетсиозов группы клещевых пятнистых лихорадок (КПЛ), иксодового клещевого боррелиоза, вирусного клещевого энцефалита, Крымской геморрагической лихорадки, лихорадки Ку, гранулоцитарного анаплазмоза человека;

- скрининговые исследования продуктов питания на наличие ДНК/РНК возбудителей ОКИ и по санитарно-микробиологическим показателям в плановом порядке и при внеплановых проверках;

- исследования других объектов окружающей среды (почва, смывы, лечебная грязь).

В период работы СПЭБ в КФО исследовано 2407 проб, проведено 11518 исследований, получено 676 нестандартных результатов исследования. Исследованный материал можно разделить на три группы: клинический, из объектов окружающей среды и культуры микроорганизмов. Количество положительных проб преобладало в группе объектов окружающей среды, из них большая часть пришлась на пробы воды (таблица).

В клиническом материале выявлено наличие РНК/ДНК возбудителей ОКИ (РНК *Enterovirus* – 41, *Norovirus* 2-го генотипа – 36, *Rotavirus A* – 7, *Astrovirus* – 2, ДНК *Campylobacter spp.* – 13), ОРЗ (ДНК *Staphylococcus aureus* – 1, *Streptococcus pneumoniae* – 1, РНК *human Rhinovirus* – 2), природно-очаговых инфекций (ДНК *Rickettsiae spp.* группы КПЛ – 10, РНК *Leptospira spp.* – 4), герпес-вирусных инфекций (ДНК *Varicella-Zoster virus* – 1), TORCH-инфекций (РНК *Rubella virus* – 1), а также антитела к возбудителю иерсиниоза (1). При обследовании на наличие противокорревого иммунитета в 8 случаях выявлено отсутствие IgG к вирусу кори.

При исследовании клещей, снятых с людей после укусов, обнаружены ДНК *Rickettsiae spp.* группы КПЛ (27), рРНК *Borrelia burgdorferii s.l.* (7), ДНК *Anaplasma phagocytophilum* (2), РНК *TBE-virus* (1).

В пробах пищевых продуктов выявлялись ДНК *Campylobacter spp.* (29), авирулентных *Yersinia enterocolitica* (14), *Salmonella* (1), *Listeria* (1), энтеро-геморрагической *Escherichia coli* (2), РНК *Norovirus* 2-го генотипа (1), БГКП (1).

При скрининговых исследованиях в морской воде в местах массового купания обнаружены РНК вирусов кишечной группы (*Rotavirus A* – 4, *Norovirus* 2-го генотипа – 11, *Astrovirus* – 6, *Enterovirus* – 5), ДНК *Vibrio cholerae non O1/non O139* – 77, нетоксигенного *V. cholerae O1* – 1. В сточных водах КОС после очист-

ки и инфекционных стационаров после обеззараживания также выявлялись РНК вирусов кишечной группы (258), ДНК холерных вибрионов (*V. cholerae non O1/non O139* – 32, нетоксигенные *V. cholerae O139* – 3), что свидетельствует о неполноценной работе канализационных очистных сооружений и неэффективности проводимого обеззараживания сточных вод в инфекционных стационарах. В морской воде в местах сброса сточных вод КОС определялись ДНК *V. cholerae non O1/non O139* (2), нетоксигенного *V. cholerae O1* (1). В воде открытых водоемов также обнаружены РНК вирусов кишечной группы (25), ДНК *V. cholerae non O1/non O139* – 15, нетоксигенных *V. cholerae O139* – 2. В воде артезианских скважин однократно была выявлена РНК *Norovirus* 2-го генотипа.

При исследовании источников горячего водоснабжения и воды бассейнов (отели, туристические комплексы, аквапарки) в 9 пробах воды бассейнов обнаружена ДНК *Legionella pneumophila* и выделены культуры возбудителя легионеллеза.

СПЭБ также принимали участие в оперативной этиологической расшифровке вспышек инфекционных заболеваний. В период работы СПЭБ имел место большой поток беженцев из Донецкой и Луганской областей Украины на территорию КФО. Часть беженцев разместили в санаториях, где зарегистрировали повышение инфекционной заболеваемости. В местах размещения вынужденных переселенцев неоднократно зафиксированы случаи заболеваний ОКИ и ОРЗ. При лабораторном исследовании материала от больных обнаружены РНК возбудителей энтеро-, норо-, рота- и риновирусной инфекций.

Так, в с. Мазанка в/ч «Опушки» зарегистрирована вспышка острой кишечной инфекции. В стационары Симферополя поступили 23 человека: 21 ребенок в возрасте от 6 мес. до 12 лет и 2 взрослых. При исследовании клинического материала от больных в 21 пробе выявлена РНК *Norovirus* 2-го генотипа, в том числе в 1 пробе в сочетании с РНК *Astrovirus*, в 1 пробе – в сочетании с ДНК *Campylobacter spp.* По эпидемиологическим показаниям проведено обследование декретированного контингента с целью выявления носительства возбудителей ОКИ, в 5 пробах ректальных мазков выявлена РНК *Norovirus* 2-го генотипа.

Также СПЭБ приняли участие в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия при

Результаты исследований СПЭБ в Крымском федеральном округе

Вид материала	Кол-во проб	Кол-во исследований	Кол-во нестандартных результатов
Клинический материал	822	4760	130
Объекты окружающей среды:			
вода	1119	4700	452
клещи	162	578	37
пищевые продукты	250	1279	49
смывы	7	56	-
грязь лечебная	1	5	-
почва	28	116	-
Идентификация культур микроорганизмов	18	24	8
Итого	2407	11518	676

проведении международного молодежного слета «Таврида» (Севастополь – п. Орловка) с участием представителей 64 стран. Проводился мониторинг объектов окружающей среды на территории проведения слета (40 проб), продуктов питания (31 проба) и воды (8 проб). В рамках подготовки к слету обследованы 118 работников объектов питания и волонтеров на наличие возбудителей ОКИ бактериальной и вирусной природы. В 1 пробе обнаружена ДНК *Campylobacter spp.*

В период проведения слета с признаками инфекционных заболеваний госпитализировано 23 участника. При исследовании 34 поступивших в СПЭБ проб (мазки/смывы из носоглотки, ректальные мазки, фекалии) в 5 выявлена РНК *Enterovirus*, в 1 пробе – РНК *human Rhinovirus*, еще в 1 пробе – РНК *Norovirus* 2-го генотипа.

Одним из важных направлений деятельности СПЭБ в КФО явилась консультативно-методическая работа. Проведен ряд семинаров, практических занятий, тренингов на рабочих местах для более чем 150 специалистов эпидемиологического, микробиологического и клинического профиля по актуальным вопросам лабораторной диагностики и эпидемиологии инфекционных болезней вирусной и бактериальной этиологии, санитарной микробиологии, вопросам обеспечения биологической безопасности, организации системы качества диагностической работы. Оказана консультативно-методическая помощь по вопросам организации ПЦР-лабораторий.

Таким образом, в результате работы решена основная задача, поставленная перед СПЭБ, – оказание практической и консультативно-методической помощи СЭС КФО в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия населения и отдыхающих в условиях повышенной рекреационной нагрузки на территорию округа, оперативной расшифровке вспышек ОКИ, участие в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия при проведении массового международного мероприятия, недопущение возникновения ЧС санитарно-эпидемиологического характера.

Установлены эпидемиологические риски, которые могли привести к осложнению эпидемиологической обстановки в КФО: неэффективность проводимого обеззараживания сточных вод в инфекционных стационарах, некачественная работа канализационных очистных сооружений. В ходе мониторинга объектов окружающей среды выявлены эпидемиологические риски в отношении заражения людей легионеллезом, определены эпидемиологические риски по природно-очаговым инфекционным болезням.

Формат использования СПЭБ в сложившейся ситуации вполне согласуется с современной тактикой применения данных формирований, предусматривающей два варианта функционирования: работу группы специалистов СПЭБ с использованием оборудования и автотранспорта на базе местных стационарных лабораторий и работу групп специалистов СПЭБ с использованием оборудования мобильных лабораторий на базе автошасси.

Анализ результатов работы СПЭБ позволяет дать несколько предложений по оптимизации работы учреждений СЭС КФО и стабилизации обстановки по инфекционным заболеваниям в КФО:

- обучение персонала на курсах первичной специализации и повышения квалификации по программам подготовки бактериологов, эпидемиологов, медицинских зоологов, паразитологов, лаборантов;
- обучение специалистов на сертификационных курсах, на рабочем месте – ПЦР-диагностике инфекционных болезней;
- обеспечение лабораторных центров СЭН КФО оборудованием, тест-системами, расходными материалами, необходимыми для диагностики инфекционных болезней;
- оказание лабораторным центрам СЭН КФО консультативно-методической помощи в плановой работе;
- оказание практической помощи при осложнении эпидемиологической ситуации в регионе (расследование вспышек, лабораторная диагностика) профильными учреждениями Роспотребнадзора;
- взаимодействие с Референс-центрами по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней системы Роспотребнадзора;
- проведение систематического эпизоотологического обследования территории КФО с целью определения границ и эпидемического потенциала очагов природно-очаговых инфекций, актуальных для КФО;
- проведение акарицидных обработок в рекреационных зонах КФО.

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

Authors:

Popova A.Yu. 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. Russian Medical Academy for Post-Graduate Training; 2/1, Barrikadnaya St., Moscow, 125993, Russian Federation.

Ezhlova E.B., 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., Ryazanova A.G., Efremenko D.V., Kuznetsova I.V., Dikova S.P., Volynkina A.S., Lisitskaya Ya.V. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: snipchi@mail.stv.ru

Kazakova E.S., Portenko S.A., Krasovskaya T.Yu., Sharova I.N., Kuklev V.E., Safronov V.A., Razdorsky A.S., Karnaukhov I.G. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Об авторах:

Попова А.Ю. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; Российская Федерация, 127994, Москва, Вадковский переулок, дом 18, строение 5 и 7. Российская медицинская академия последипломного образования; Российская Федерация, 125993, Москва, ул. Баррикадная, 2/1.

Ежлова Е.Б., 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., Рязанова А.Г., Ефременко Д.В., Кузнецова И.В., Дикова С.П., Волюнкина А.С., Лисицкая Я.В. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: snipchi@mail.stv.ru

Казакова Е.С., Портенко С.А., Красовская Т.Ю., Шарова И.Н., Куклев В.Е., Сафронов В.А., Раздорский А.С., Карнаухов И.Г. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Поступила 16.03.15.

Э.А.Яковлев¹, С.В.Борисевич¹, А.Ю.Попова^{2,3}, Е.Б.Ежлова², Ю.В.Демина²**ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ЛИХОРАДКОЙ КУ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ И СТРАНАХ ЕВРОПЫ: РЕАЛИИ И ПРОБЛЕМЫ**

¹ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, Сергиев Посад, Российская Федерация; ²Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация; ³Российская медицинская академия последипломного образования, Москва, Российская Федерация

Лихорадка Ку представляет определенную проблему у нас в стране и за рубежом. В Российской Федерации разработан и утвержден новый базовый нормативный документ – санитарно-эпидемиологические правила профилактики коксиеллеза. Впервые в мире в нашей стране введен регламентированный надзор за внебольничными пневмониями, который улучшит диагностику данной патологии. Качество борьбы с лихорадкой Ку зависит от оснащения лабораторий, подготовки медицинского персонала и межведомственного взаимодействия, позволяющего проводить оценку ситуации, принимать противоэпидемические меры и осуществлять прогноз в целях обеспечения биологической безопасности Российской Федерации.

Ключевые слова: коксиеллез, лихорадка Ку, вспышки, природные, антропоургические очаги.

E.A.Yakovlev¹, S.V.Borisevich¹, A.Yu.Popova^{2,3}, E.B.Ezhlova², Yu.V.Demina²**Morbidity Rates of Q Fever in the Russian Federation and European Countries: Realities and Problems**

¹The 48th Central Research Institute of the RF Ministry of Defense, Sergiev Possad, Russian Federation; ²Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Moscow, Russian Federation; ³Russian Medical Academy for Post-Graduate Training, Moscow, Russian Federation

Q fever poses a problem, both in the Russian Federation and abroad. Thereat, a new base normative document, sanitary-epidemiological regulations on coxiellosis prevention, has been developed and approved in the Russian Federation. For the first time ever in the world history, a regulated surveillance of community-acquired pneumonias, which will help to improve diagnostics of this pathology, has been introduced in our country. Quality of Q fever control directly depends on the laboratory facilities, qualification of the personnel, and coordination of interagency cooperation. All these factors provide for the prompt assessment of the situation, in-time anti-epidemic measures, and forecasting of the events, which ensures the biological security of Russian Federation.

Key words: coxiellosis, Q fever, outbreaks, natural, anthropurgic foci.

Лихорадка Ку относится к природно-очаговым заболеваниям, общим для человека и животных с потенциальной возможностью перехода в хроническую форму, что составляет важную медико-социальную проблему, в том числе с учетом распространения в различных климато-географических зонах, многообразия путей передачи инфекции, профессионального характера заражения лиц, занятых в животноводстве [3–6, 9, 10].

В Российской Федерации (РФ) обязательная регистрация лихорадки Ку проводится с 1957 г. [3]. По данным, предоставленным Федеральным центром гигиены и эпидемиологии, за период с 1957 по 2013 год официально зарегистрировано 13111 случаев заболеваний, причем за 25 лет (с 1994 по 2013 год) – 2542 случая, при показателе заболеваемости на 100 тыс. населения немногим менее 0,1 (табл. 1).

Исходя из показателей заболеваемости Ку-лихорадкой по РФ, можно говорить о спорадической заболеваемости. Отмечается, что в РФ данную инфекцию регистрируют более чем в 50 административных образованиях [3, 5]. В то же время за последние 16 лет лихорадку Ку официально выявляют только в 20 регионах России, а также в Москве

и Санкт-Петербурге. При этом основное количество выявленных случаев Ку-лихорадки приходится на Южный федеральный округ (табл. 2).

Отмечаемая неравномерность территориального распределения заболеваемости объясняется как степенью активности антропоургических и природных очагов инфекции, так и реальной возможностью их выявления при отсутствии надлежащей лабораторной базы в медицинских организациях и подготовленных специалистов в первичном медицинском звене [1, 3–6].

Важным моментом является и то, что с переходом к частному фермерскому хозяйствованию и передачей надзорных функций на региональный уровень произошло ослабление контроля со стороны ветеринарной службы. Это, в свою очередь, способствовало формированию скрытых очагов инфекции среди животных и вовлечению в эпидпроцесс обслуживающего персонала с возможной, без проведения своевременного лечения, хронизацией заболеваний [3, 9, 10].

Как правило, инфицирование людей происходит в период с конца февраля по май, охватывая в большинстве сельское население. В группу риска

Показатели заболеваемости Ку-лихорадкой в Российской Федерации в период с 1957 г. по сентябрь 2014 г.

Год	Зарегистрировано заболеваний, абсолютное число	Показатель заболеваемости на 100 тыс. населения	Год	Зарегистрировано заболеваний, абсолютное число	Показатель заболеваемости на 100 тыс. населения
1957	1241	1,0	1986	281	0,2
1958	520	0,4	1987	224	0,1
1959	564	0,4	1988	83	0,1
1960	770	0,6	1989	87	0,1
1961	427	0,3	1990	112	0,1
1962	499	0,4	1991	140	0,1
1963	445	0,3	1992	165	0,1
1964	525	0,4	1993	209	0,1
1965	236	0,2	1994	121	0,1
1966	137	0,1	1995	225	0,1
1967	161	0,1	1996	181	0,1
1968	106	0,1	1997	174	0,1
1969	187	0,1	1998	110	0,1
1970	257	0,2	1999	27	0,02
1971	238	0,2	2000	54	0,04
1972	194	0,1	2001	184	0,1
1973	120	0,1	2002	114	0,1
1974	330	0,2	2003	119	0,1
1975	214	0,1	2004	124	0,1
1976	155	0,1	2005	89	0,1
1977	201	0,1	2006	48	0,03
1978	251	0,2	2007	83	0,1
1979	259	0,2	2008	17	0,01
1980	202	0,1	2009	205	0,1
1981	230	0,2	2010	181	0,1
1982	224	0,2	2011	128	0,1
1983	178	0,1	2012	187	0,1
1984	254	0,2	2013	171	0,1
1985	143	0,1	9 месяцев 2014	31	0,02

входили до 40 % больных. В городах резко возросло количество домашних собак и кошек, которые стали вовлекаться в циркуляцию коксиделл. Например, в 2,6 % проб сывороток крови собак, поступавших в ветлечебницы с заболеваниями неустановленной этиологии, были обнаружены антитела к возбудителю лихорадки Ку. Диагноз «Ку-лихорадка» у 70 % больных выставлялся по истечении 2 недель и более [1, 2, 3, 6].

Подтверждением выраженной гиподиагностики Ку-лихорадки являются результаты выборочных проверок сывороток крови доноров. От 1,5 до 4,3 % доноров, проживающих на различных территориях РФ, имели в сыворотке крови антитела к коксиделлам [2, 3].

О гиподиагностике свидетельствуют и результаты ретроспективного исследования сывороток крови людей, задействованных в разнопрофильных сельских хозяйствах и на предприятиях по переработке мясной продукции, перенесших «гриппоподобные» заболевания. Специалисты констатируют, что в РФ серологическая прослойка среди различных слоев населения колеблется от 2 до 40 %, причем чаще всего (до 60 %) болеют мужчины в возрасте от 20 до 60 лет и старше [2, 3, 7, 8].

В странах Западной Европы существуют разные подходы к информативному учету Ку-лихорадки. В

Бельгии и Нидерландах он предполагает обязательное экстренное извещение практикующих врачей и сотрудников лабораторий о появлении заболеваний. Из Великобритании, Уэльса, Шотландии и Испании сообщения о заболеваемости составляются на основе лабораторных исследований. Германия, Италия, Португалия и страны Балканского региона сообщают ежегодно о заболеваемости риккетсиозами с включением Ку-лихорадки в перечень. Ирландия, Дания и Франция о своих программах не сообщают, однако известно, что вся необходимая информация по Ку-лихорадке в Западной Европе поступает в Марсельский Центр по риккетсиозам. Особую озабоченность вызывает рост количества хронических заболеваний. Например, в 22 странах Западной Европы в 2006 г. было зафиксировано 583, а в 2007 г. – 637 случаев хронического коксиделлеза [22].

В последние десятилетия отдельные страны Западной Европы с показателями заболеваемости Ку-лихорадкой, близкими к российским, вдруг столкнулись с ее резким возрастанием (табл. 3).

Эпидемиологическое исследование сложившейся ситуации позволило установить ее связь с разведением продуктивных пород овец и коз. Так, например, к началу XXI века только в Нидерландах на созданных фермерских комплексах было размещено свыше 1,5 млн овец и почти 500 тыс. коз, причем на самых

Таблица 2

Регистрация заболеваемости лихорадкой Ку в регионах России за период с 1998 по 2013 год

Регион	Округ	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Алтайский край	СФО	0	0	1	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Астраханская обл.	ЮФО	97	16	28	158	85	79	95	53	15	68	5	116	163	113	178	160
Белгородская область	ЦФО	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Волгоградская обл.	ЮФО	2	1	17	18	14	9	10	6	3	1	4	81	3	0	2	1
Вологодская обл.	СЗФО	0	0	0	0	2	0	1	3	1	1	0	0	0	0	0	0
Воронежская обл.	ЦФО	0	0	0	1	1	18	2	12	12	3	2	3	3	2	5	3
Ленинградская обл.	СЗФО	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	1	0	1	2	0
Кемеровская обл.	СФО	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Новосибирская обл.	СФО	2	6	3	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Оренбургская обл.	ПФО	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Пермский край	ПФО	0	0	0	0	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Республика Калмыкия	ЮФО	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	0	3	1	0
Республика Мордовия	ПФО	1	0	0	0	0	1	1	4	6	0	0	0	0	0	0	0
Республика Тыва	СФО	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Ростовская область	ЮФО	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Смоленская обл.	ЦФО	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ставропольский край	СКФО	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Тверская обл.	ЦФО	0	0	0	2	2	1	1	0	3	2	1	0	1	0	0	0
Ульяновская обл.	ПФО	0	0	0	0	1	5	12	0	6	7	1	0	9	9	1	2
Ханты-Мансийский автономный округ	УФО	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
г. Москва	ЦФО	0	0	1	0	0	1	0	5	0	0	0	1	1	0	0	1
г. Санкт-Петербург	СЗФО	1	2	2	1	2	0	1	5	1	0	1	0	0	0	0	2
<i>Всего</i>		110	27	54	184	114	119	124	89	48	83	17	205	181	128	187	171

крупных содержалось до 5000 животных. По результатам обследования сыворотки крови, молока, вагинальных выделений, плаценты и околоплодных вод, проведенных в разгар эпидемии, было выявлено заболевание до 70 % поголовья скота [29]. В результате к концу 2010 г. при 14 смертельных исходах переболело около 4000 человек, а количество инфицированных людей могло достигнуть 40000. В их число вошли работники ветеринарных служб, обслуживающий персонал и лица, проживающие вблизи ферм или на удалении от 1 до 10 километров [11, 13, 14].

Для ликвидации эпидемии в Нидерландах было выбраковано 20 % коз, 5 % овец, и вакцинировано поголовье скота ферм и частных хозяйств на удалении до 45 км от зоны риска [11, 13, 28]. Одновременно уточнялись другие возможные источники распространения инфекции среди людей. Установлено наличие специфических антител в сыворотке крови лошадей и собак [27].

Расследование вспышек Ку-лихорадки у нас в стране и за рубежом указывает на важность и необходимость дальнейшей оптимизации эпидемиологического и ветеринарного надзора. В 2010 г. специалистами Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (далее – Роспотребнадзор) взамен СП 3.1.095-96 были разработаны и утверждены санитарно-эпидемиологические правила СП 3.1.7.2811-10, которые в настоящее время являются базовым нор-

мативным методическим документом по данной проблематике [7]. Кроме того, в РФ впервые в мире в 2013–2014 гг. был введен эпидемиологический надзор за внебольничными пневмониями, определивший системный подход к данной нозологической группе. Роспотребнадзором разработаны санитарно-эпидемиологические правила «Профилактика внебольничных пневмоний», методические указания «Эпидемиологический надзор за внебольничными пневмониями» и «Лабораторная диагностика внебольничных пневмоний», способствующие внедрению на практике этиологической расшифровки. Санитарно-эпидемиологическими правилами предусмотрена вакцинация людей, связанных с работой в зоне риска. Кроме того, в рамках реализации федеральной целевой программы «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации в 2009–2014 гг.» оптимизированы тест-системы для диагностики коксиеллеза. Однако их внедрение возможно при наличии лабораторий, подготовленных к работам с возбудителями II группы патогенности. Важно постоянное рабочее взаимодействие между профильными управлениями Роспотребнадзора и центрами гигиены и эпидемиологии в субъектах Российской Федерации, с одной стороны, и медицинскими организациями различной ведомственной принадлежности – с другой.

Клинические наблюдения, являясь составной частью системы эпиднадзора, позволяют оценить тя-

Показатели заболеваемости Ку-лихорадкой по результатам обследования вспышек в странах Европы

Страна	Год	Кол-во заболевших	Предполагаемый источник инфицирования человека	Предполагаемый путь инфицирования человека	Источник литературы
Австрия	1998	80	Козы, овцы, кошки, собаки	Ингаляционный	[15, 28]
	2003	27	Кошки, собаки		
Бельгия	2007	14	Козы, овцы	Ингаляционный, алиментарный	[31]
	2008	27			
	2009	33			
Болгария	1993	2000	Козы, овцы, крупный рогатый скот	Ингаляционный, алиментарный	[21, 27]
	1995	28	Козы, овцы	Ингаляционный	
	1996	26			
	1997	113			
	2004	91			
Великобритания	1989	147	Овцы	Ингаляционный	[29, 32]
	2002	95			
Германия	1992	170	Овцы	Ингаляционный	[19, 20, 23]
	1993	181			
	1998	150			
	1999	268	Овцы, козы		
	2000	273			
	2001	293			
	2002	191			
	2003	229			
Италия	2003	133	Овцы	Ингаляционный	[22, 26]
	2004	94			
Нидерланды	2007	182	Овцы, козы	Ингаляционный, алиментарный	[14, 17, 24, 25]
	2008	1000			
	2009	2354			
	2010	473			
	2011	81			
Польша	1996	25	Овцы, козы	Ингаляционный	[12, 16]
	2003	16			
	2005	59			
	2008	24			
	2009	5			
Словакия	1993	113	Козы	Ингаляционный, алиментарный	[27]
Франция	1996	204	Козы, овцы, крупный рогатый скот	Ингаляционный, алиментарный	[18, 30]
	2002	79	Овцы, козы		
	2006	58			
	2007	48			
	2008	49			
	2009	65			

жесть состояния больных и установить особенности заболеваемости населения в различных регионах. Связь характера проявлений лихорадки Ку с плазмидной характеристикой возбудителя определяет правомерность включения в систему эпиднадзора программы по изучению свойств циркулирующих штаммов коксиелл.

Изучение иммунологической структуры населения будет способствовать ретроспективной диагностике заболеваний, что позволит оценить масштабы распространения инфекции в конкретном регионе.

Полученные обобщенные характеристики эпидемического и эпизоотического процессов являются основой для разработки прогнозов и конкретного планирования мероприятий по профилактике и лечению коксиеллеза.

Таким образом, на настоящем этапе в России имеется необходимая нормативная база и проводится комплекс санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий. Вместе с тем проблема лихорадки Ку требует принятия дополнительных мер. В первую очередь, необходимо провести

оснащение лабораторий и организовать подготовку медицинского персонала первичного звена. В целях обеспечения реализации требований санитарного законодательства следует взять на особый контроль организацию иммунизации работников в неблагополучных по коксиеллезу хозяйствах, подняв вопрос о возобновлении производства вакцины.

В целом, необходимо отметить, что качество мероприятий по борьбе с лихорадкой Ку зависит от системного межведомственного взаимодействия, которое позволит проводить объективную оценку ситуации, принимать своевременные адекватные противоэпидемические меры и осуществлять полноценный прогноз в целях обеспечения биологической безопасности РФ.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Богомолов Б.П. Инфекционные болезни: неотложная диагностика, лечение, профилактика. М.: Ньюдиамед; 2007. 653 с.
2. Карпенко С.Ф., Галимзянов Х.М., Касимова Н.Б., Рубальский О.В., Красков А.В., Горева О.Н. Возрастные аспекты клинико-иммунологических проявлений коксиеллеза. *Эпидемиол. и инф. бол.* 2012; 6:16–9.
3. Лобан К.М., Лобзин Ю.В., Лукин Е.П. Риккетсиозы человека (Руководство для врачей). М. – СПб.; 2002. 480 с.
4. Онищенко Г.Г., Монисов А.А., Гульченко Л.П. Заболеваемость зооантропонозами и природно-очаговыми инфекциями и меры их профилактики. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* 1999; 4:14–8.
5. Рудаков Н.В. Таксономия, экология и эволюционные связи риккетсий. *Вестник Рос. АМН.* 2008; 7:10–5.
6. Рыбакова Н.А., Соцнев В.В. Зоонозные болезни в условиях Европейского Севера России. *Эпидемиол. и инф. бол.* 1998; 2:12–6.
7. Санитарно-эпидемиологические правила СП 3.1.7.2811-10 Профилактика коксиеллеза (лихорадка Ку). М.; 2010. 26 с.
8. Смелянский В.П., Корсакова И.И., Пашанина Т.П., Мананенков В.В., Савченко С.Т., Шумакевич Г.В., Иоанниди Е.А., Божко В.Г., Попов С.Ф. Заболеваемость населения Волгоградской области лихорадкой Ку. *Инф. бол.* 2012; 10(2):29–32.
9. Токарев Н.К. Академик РАМН И.В. Тарасевич – руководитель разработки комбинированной инактивированной вакцины против Ку-лихорадки (коксиеллеза). *Вестник Рос. АМН.* 2008; 7:19–24.
10. Яковлев Э.А., Лукин Е.П., Борисевич С.В. Химиотерапия и химиопрофилактика риккетсиозов и коксиеллеза на современном этапе. *Антибиот. и химиотер.* 2011; 56(11–12):34–44.
11. Berg E.J., Wielders C.C.H., Schneeberger P.M., Wegdam-Blans M. C., Hoek W. Spatial analysis of positive and negative Q fever laboratory results for identifying high-and low-risk areas of infection in the Netherlands. *Infect. Ecol. Epidemiol.* 2013; 3:1–7.
12. Bielawska-Drozdz A., Cieslik P., Mirski T., Bartoszcze M., Knap J.P., Gaweł J., Zakowska D. Q fever-selected issues. *Ann. Agr. Environ. Med.* 2013; 20 (2):222–32.
13. Brooke R.J., Kretzschmar M.E.E., Muters N.T., Teunis P.F. Human dose response relation for airborne exposure to *Coxiella burnetii*. *BMC Infect. Dis.* 2013; 13(488):1–8.
14. Brooke R.J., Schneeberger P.M., Hoek W. Q fever in the Netherlands? A review. *Culture.* 2011; 32 (1):5–7.
15. Caron F., Meurice J.C., Ingrand P., Bourgoin A., Masson P., Roblot P., Patte F. Acute Q fever pneumonia: a review of 80 hospitalized patients. *Chest.* 1998; 114(3):808–13.
16. Chmielewski T. Q fever outbreaks in Poland during 2005–2011. *Med. Sci. Monit.* 2013; 19:1073–9.
17. Delsing C.E., Kullberg B.J. Q fever in the Netherlands: a concise overview and implications of the largest ongoing outbreak. *Netherlands J. Med.* 2008; 66 (9):365–7.
18. Frankel D., Richet H., Renvoise A., Raoult D. Q fever in France, 1985–2009. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17(3):350–5.
19. Hellenbrand W., Breuer T., and Petersen L. Changing Epidemiology of Q Fever in Germany, 1947–1999. *Emerg. Infect. Dis.* 2001; 7(5):789–96.
20. Hoek W., Schneeberger P.M., Oomen T., Wegdam-Blans M.C., Dijkstra F., Notermans D.W., Bijlmer H.A., Groeneveld K., Wijkman C.J., Rietveld A., Kampschreur L., Duynhoven Y. Shifting priorities in the aftermath of a Q fever epidemic in 2007 to 2009 in the Netherlands: from acute to chronic infection. *Euro Surveill.* 2012; 17(3):pii=20059.
21. Kamenov G., Tiholova M. Q fever outbreak in Botevgrad, Bulgaria: May–June 2004. *Euro Surveill.* 2004; 8(35):pii=2535.
22. Monno R., Fumarola L., Trerotoli P., Cavone D., Giannelli G., Rizzo C., Ciceroni L., Musti M. Seroprevalence of Q fever, brucellosis and leptospirosis in farmers and agricultural workers in Bari, Southern Italy. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2009; 19:205–9.
23. Porten K., Rissland J., Tigges A., Broll S., Hopp W., Lunemann M., Treeck U., Kimmig P., Brockmann S.O., Wagner-Wiening C., Hellenbrand W., Buchholz U. A super-spreading ewe infects hundreds with Q fever at a farmers market in Germany. *BMC Infect. Dis.* 2006; 6(10):147.
24. Roest H.I.J., Solt C.B., Tilburg J.H.C., Klassen C.H.W., Hovius E.K., Roest F.T.F., Vellema P., Brom R., Zijderveld F.G. Search for Possible Additional Reservoirs for Human Q fever, the Netherlands. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19(5):834–5.
25. Rooij M.M.T., Schimmer B., Versteeg B., Schneeberger P., Berends B. R., Heederik D., Hoek W., Wouters I.M. Risk Factors of *Coxiella burnetii* (Q fever) seropositivity in veterinary medicine students. *PLoS ONE.* 2012; 7(2):e32108.
26. Santoro D., Giura R., Colombo M.C., Antonelli P., Gramegna M., Gandola O., Gridavilla G. Q fever in Como, North Italy. *Emerg. Infect. Dis.* 2004; 10(1):157–8.
27. Šerbezov V.S., Kazar J., Novkirishki V., Gatcheva N., Kovacova E., Yoynova V. Q fever in Bulgaria and Slovakia. *Emerg. Infect. Dis.* 1999; 5(3):388–94.
28. Skerget M., Wenisch C., Daxboeck F., Krause R., Haberl R., Stuenkel D. Cat or Dog Ownership and Seroprevalence of Ehrlichiosis, Q Fever, and Cat-Scratch Disease. *Emerg. Infect. Dis.* 2003; 9(10):1337–40.
29. Smith D.L., Ayres J.G., Blair I., Burge P.S., Carpenter M.J., Caul E.O., Coupland B., Desselberger U., Evans M., Farrel I.D. A large Q fever outbreak in the west Midlands: clinical aspects. *Resp. Med.* 1993; 87:509–16.
30. Tissout-Dupont H., Amadei M., Nezzi M. and Raoult D. Wind in November, Q fever in December. *Emerg. Infect. Dis.* 2004; 10(9):1264–9.
31. Wattiau P., Baldisova E., Toman R., Esbroeck M., Quoilain S., Hammadi S., Tissout – Dupont H., Raoult D., Henkinbrant J.M., Hessche M., Fretin D. Q fever in Woolsorters, Belgium. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17(12):2368–9.
32. Woerden H.C., Mason B.M., Nehaul L.K., Smith R., Salmon R.L., Healy B., Valappil M., Westmoreland D., Martin S., Evans M.R., Lloyd G., Hamilton – Kirkwood M., Williams N.S. Q fever outbreak in industrial setting. *Emerg. Infect. Dis.* 2004; 10(7):1282–9.

References

1. Bogomolov B.P. [Infectious Diseases: Urgent Diagnostics, Treatment, and Prophylaxis]. M.: "Newdiamed"; 2007. 653 p.
2. Karpenko S.F., Galimzyanov Kh.M., Kasimova N.V., Rubal'sky O.V., Kraskov A.V., Goreva O.N. [Age-specific aspects of the clinical-immunological manifestations of Q fever]. *Epidemiol. Infek. Bol.* 2012; 6:16–9.
3. Loban K.M., Lobzin Yu.V., Lukin E.P. [Human Rickettsioses (Guidelines for Clinicians)]. M. – St. Petersburg; 2002. 480 p.
4. Onishchenko G.G., Monisov A.A., Gul'chenko L.P. [Morbidity rates on anthroponoses and natural-focal infections and measures for their prophylaxis]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 1999; 4:14–8.
5. Rudakov N.V. [Taxonomy, ecology and evolutionary relations of rickettsia]. *RAS Bulletin.* 2008; 7: 10–5.
6. Rybakova N.A., Sochnev V.V. [Zoonotic diseases under the conditions of European North of Russia]. *Epidemiol. Infek. Bol.* 1998; 2:12–6.
7. [Prophylaxis of coxiellosis (Q fever). Sanitary-epidemiological regulations]. SR 3.1.7.2811–10. M.; 2010. 26 p.
8. Smelyansky V.P., Korsakova I.I., Pashanina T.P., Mananenko V.V., Savchenko S.T., Shumakevich G.V., Ioannidi E.A., Bozhko V.G., Popov S.F. [Morbidity rates on Q fever among the population of the Volgograd Region]. *Infek. Bol.* 2012; 10(2):29–32.
9. Tokarevich N.K. [Academician of the Russian Academy of Medical Sciences, I.V. Tarasovich – the Head of the Project on the development of combined inactivated vaccine against Q fever (coxiellosis)]. *RAMS Bulletin.* 2008; 7:19–24.
10. Yakovlev E.A., Lukin E.P., Borisevich S.V. [Chemotherapy and chemoprophylaxis of rickettsioses and Q fever at the present stage]. *Antibiot. Khimioter.* 2011; 56(11–12):34–44.
11. Berg E.J., Wielders C.C.H., Schneeberger P.M., Wegdam-Blans M. C., Hoek W. Spatial analysis of positive and negative Q fever laboratory results for identifying high-and low-risk areas of infection in the Netherlands. *Infect. Ecol. Epidemiol.* 2013; 3:1–7.
12. Bielawska-Drozdz A., Cieslik P., Mirski T., Bartoszcze M., Knap J.P., Gaweł J., Zakowska D. Q fever-selected issues. *Ann. Agr. Environ. Med.* 2013; 20 (2):222–32.
13. Brooke R.J., Kretzschmar M.E.E., Muters N.T., Teunis P.F. Human dose response relation for airborne exposure to *Coxiella burnetii*. *BMC Infect. Dis.* 2013; 13(488):1–8.
14. Brooke R.J., Schneeberger P.M., Hoek W. Q fever in the Netherlands? A review. *Culture.* 2011; 32 (1):5–7.
15. Caron F., Meurice J.C., Ingrand P., Bourgoin A., Masson P., Roblot P., Patte F. Acute Q fever pneumonia: a review of 80 hospitalized patients. *Chest.* 1998; 114(3):808–13.

16. Chmielewski T. Q fever outbreaks in Poland during 2005–2011. *Med. Sci. Monit.* 2013; 19:1073–9.
17. Delsing C.E., Kullberg B.J. Q fever in the Netherlands: a concise overview and implications of the largest ongoing outbreak. *Netherlands J. Med.* 2008; 66 (9):365–7.
18. Frankel D., RichetnH., Renvoise A., Raoult D. Q fever in France, 1985–2009. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17(3):350–5.
19. Hellenbrand W., Breuer T., and Petersen L. Changing Epidemiology of Q Fever in Germany, 1947–1999. *Emerg. Infect. Dis.* 2001; 7(5):789–96.
20. Hoek W., Schneeberger P.M., Oomen T., Wegdam-Blans M.C., Dijkstra F., Notermans D.W., Bijlmer H.A., Groeneveld K., Wijkmans C.J., Rietveld A., Kampschreur L., Duynhoven Y. Shifting priorities in the aftermath of a Q fever epidemic in 2007 to 2009 in the Netherlands: from acute to chronic infection. *Euro Surveill.* 2012; 17(3):pii=20059.
21. Kamenov G., Tiholova M. Q fever outbreak in Botevgrad, Bulgaria: May–June 2004. *Euro Surveill.* 2004; 8(35):pii=2535.
22. Monno R., Fumarola L., Trerotoli P., Cavone D., Giannelli G., Rizzo C., Ciceroni L., Musti M. Seroprevalence of Q fever, brucellosis and leptospirosis in farmers and agricultural workers in Bari, Southern Italy. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2009; 19:205–9.
23. Porten K., Rissland J., Tigges A., Broll S., Hopp W., Lunemann M., Treeck U., Kimmig P., Brockmann S.O., Wagner-Wiening C., Hellenbrand W., Buchholz U. A super-spreading ewe infects hundreds with Q fever at a farmers market in Germany. *BMC Infect. Dis.* 2006; 6(10):147.
24. Roest H.I.J., Solt C.B., Tilburg J.H.C., Klassen C.H.W., Hovius E.K., Roest F.T.F., Vellema P., Brom R., Zijderfeld F.G. Search for Possible Additional Reservoirs for Human Q fever, the Netherlands. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19(5):834–5.
25. Rooij M.M.T., Schimmer B., Versteeg B., Schneeberger P., Berends B. R., Heederik D., Hoek W., Wouters I.M. Risk Factors of *Coxiella burnetii* (Q fever) seropositivity in veterinary medicine students. *PLoS ONE.* 2012; 7(2):e32108.
26. Santoro D., Giura R., Colombo M.C., Antonelli P., Gramegna M., Gandola O., Gridavilla G. Q fever in Como, North Italy. *Emerg. Infect. Dis.* 2004; 10(1):157–8.
27. Serbezov V.S., Kazar J., Novkirishki V., Gatcheva N., Kovacova E., Yoynova V. Q fever in Bulgaria and Slovakia. *Emerg. Infect. Dis.* 1999; 5(3):388–94.
28. Skerget M., Wenisch C., Daxboeck F., Krause R., Haberl R., Stuenkel D. Cat or Dog Ownership and Seroprevalence of Ehrlichiosis, Q Fever, and Cat-Scratch Disease. *Emerg. Infect. Dis.* 2003; 9(10):1337–40.
29. Smith D.L., Ayres J.G., Blair I., Burge P.S., Carpenter M.J., Caul E.O., Coupland B., Desselberger U., Evans M., Farrel I.D. A large Q fever outbreak in the west Midlands: clinical aspects. *Resp. Med.* 1993; 87:509–16.
30. Tissout-Dupont H., Amadei M., Nezzi M. and Raoult D. Wind in November, Q fever in December. *Emerg. Infect. Dis.* 2004; 10(9):1264–9.
31. Wattiau P., Baldisova E., Toman R., Esbroeck M., Quoilin S., Hammad S., Tissout – Dupont H., Raoult D., Henkinbrant J.M., Hessche M., Fretin D. Q fever in Woolsorters, Belgium. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17(12):2368–9.
32. Woerden H.C., Mason B.M., Nehaul L.K., Smith R., Salmon R.L., Healy B., Valappil M., Westmoreland D., Martin S., Evans M.R., Lloyd G., Hamilton – Kirkwood M., Williams N.S. Q fever outbreak in industrial setting. *Emerg. Infect. Dis.* 2004; 10(7):1282–9.

Authors:

Yakovlev E.A., Borisevich S.V. The 48th Central Research Institute of the RF Ministry of Defense. Sergiev Possad, Russian Federation. E-mail: 48cnii@mail.ru.

Popova A.Yu. 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. Russian Medical Academy for Post-Graduate Training; 2/1, Barrikadnaya St., Moscow, 125993, Russian Federation.

Ezhlova E.B., 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. E-mail: ezhlova_eb@gsen.ru.

Об авторах:

Яковлев Э.А., Борисевич С.В. 48 Центральный научно-исследовательский институт Министерства обороны Российской Федерации. Российская Федерация, 141306, Московская область, г. Сергиев Посад-6, ул. Октябрьская, д. 11. E-mail: 48cnii@mail.ru.

Попова А.Ю. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; Российская Федерация, 127994, Москва, Вадковский переулок, дом 18, строение 5 и 7. Российская медицинская академия последипломного образования; Российская Федерация, 125993, Москва, ул. Баррикадная, 2/1.

Ежлова Е.Б., 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. E-mail: ezhlova_eb@gsen.ru.

Поступила 19.10.15.

В.В.Евсеева, М.Е.Платонов, С.В.Дентовская, А.П.Анисимов

ТИПИРОВАНИЕ *YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS* С ПОМОЩЬЮ МУЛЬТИЛОКУСНОГО АНАЛИЗА ВАРИАБЕЛЬНОГО ЧИСЛА ТАНДЕМНЫХ ПОВТОРОВ

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии», Оболensk, Российская Федерация

Проведена оценка эффективности используемого для дифференциации и кластеризации штаммов чумного микроба метода MLVA25 в отношении возбудителя псевдотуберкулеза, а также поиск штаммов *Y. pseudotuberculosis* наиболее филогенетически близких *Yersinia pestis* с помощью варианта этого метода с использованием не 25, а 14 VNTR локусов. При сравнительном исследовании 71 изолята *Y. pseudotuberculosis* и пяти штаммов *Y. pestis* вариантами метода MLVA25 и MLVA14 выявлено 75 и 54 генотипа соответственно. Штаммам псевдотуберкулезного микроба отдельных сероваров соответствовали определенные MLVA типы. По данным MLVA14, наиболее близкими к чумному микробу из 221 исследованного штамма *Y. pseudotuberculosis* оказались представители кластеров, включающих изоляты псевдотуберкулезного микроба MLST типов ST19 (серовар O:3) и ST43 (серовар O:1b).

Ключевые слова: *Yersinia pseudotuberculosis*, VNTR, MLVA, генотипирование.

V.V.Evseeva, M.E.Platonov, S.V.Dentovskaya, A.P.Anisimov

Yersinia pseudotuberculosis Typing Using Multi-Locus Variable-Number Tandem Repeat Analysis

State Scientific Center of Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russian Federation

Estimated has been efficacy of MLVA25 method, used for differentiation and clusterization of *Yersinia pestis* strains, in reference to *Yersinia pseudotuberculosis* strains, as well as the search of *Y. pseudotuberculosis* strains mostly closely related to *Y. pestis*. Applied was the reduced version of the technique deploying 14 out of 25 VNTR loci. Comparative study of 71 *Y. pseudotuberculosis* isolates and five *Y. pestis* strains by means of MLVA25 and MLVA14 variants revealed 75 and 54 genotypes, respectively. *Y. pseudotuberculosis* strains of certain serovars corresponded to certain clusters of MLVA types. According to MLVA14 typing of 221 *Y. pseudotuberculosis* isolates the clusters including the strains belonging to MLST types ST19 (serovar O:3) and ST43 (serovar O:1b) were the most closely related to *Y. pestis*.

Key words: *Yersinia pseudotuberculosis*, VNTR, MLVA, genotyping.

Y. pseudotuberculosis – граммотрицательная бактерия, принадлежащая к роду *Yersinia* семейства *Enterobacteriaceae*. Резервуар вызываемой возбудителем псевдотуберкулеза инфекции представлен большим количеством объектов внешней среды и широким кругом хозяев, включая млекопитающих и насекомых, а передача инфекции осуществляется фекально-оральным путем. Различия в строении О-полисахаридных боковых цепей ЛПС позволяют выделить внутри вида *Y. pseudotuberculosis* 15 серотипов (O:1–O:15) и 10 подтипов (O:1a–c, O:2a–c, O:4a–b и O:5a–b) [2].

Из молекулярно-генетических методов для типирования возбудителя псевдотуберкулеза используют анализ полиморфизма длины рестрикционных фрагментов плазмид – REAP (Restriction endonuclease analysis of plasmids) [4], риботипирование [15], гель-электрофорез в пульсирующем поле – PFGE (Pulsed-field gel electrophoresis) [9], IS-типирование (Insertion sequence) [10, 14], RAPD-ПЦР (Random amplified polymorphic DNA) [8] и ERIC-ПЦР (Enterobacterial repetitive intergenic consensus sequence) [3]. Однако большинство из них обладают низкой дискриминирующей способностью и могут использоваться для характеристики ограниченного числа штаммов, выделенных на небольших территориях. Для оценки структуры популяций и филогении *Y. pseudotuberculosis* используется метод мультилокусного сиквенса-типирования – MLST (Multiple loci sequence typing) [5]. К сожалению, ис-

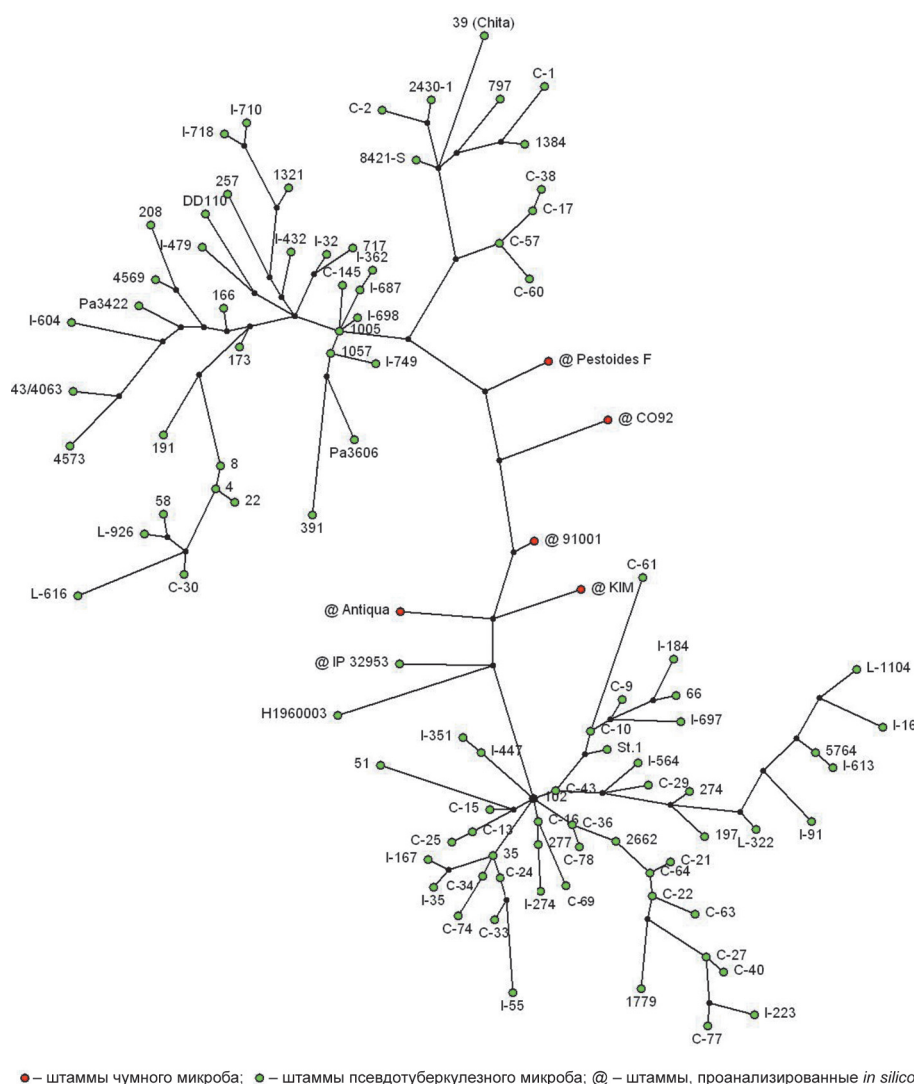
пользование этого метода требует значительных затрат времени и финансов.

Ранее нами показана высокая эффективность мультилокусного анализа полиморфизма варибельного числа тандемных повторов (MLVA – multiple loci variable number of tandem repeat polymorphism analysis) для детального популяционного анализа *Y. pestis* [7, 12]. Адаптация MLVA-типирования для оценки структуры популяций и филогеографии возбудителя псевдотуберкулеза может позволить определить степень микроэволюционной изменчивости *Y. pseudotuberculosis* в отдельных географических регионах и основные отличия между штаммами, выделяемыми на разных территориях с помощью метода, легко воспроизводимого в различных лабораториях и обладающего высоким разрешением и низкой себестоимостью.

Целью работы была оценка эффективности используемого для дифференциации и кластеризации штаммов чумного микроба метода MLVA25 в отношении возбудителя псевдотуберкулеза, а также поиск с помощью этого метода и его варианта с использованием 14 VNTR-локусов штаммов *Y. pseudotuberculosis* наиболее филогенетически близких *Y. pestis*.

Материалы и методы

В работе использовали 221 штамм *Y. pseudotuberculosis*, выделенный от людей, млекопитающих, птиц или из объектов внешней среды преимущественно в



Филограмма исследуемых штаммов, построенная методом максимальной экономии (парсимонии, *Maximum Parsimony*)

Кавказском, Сибирском и Дальневосточном регионах России, а также данные о полногеномных сиквенсах пяти штаммов: Antiqua, KIM, CO92, 910001 и Pestoides F, представляющих различные филогенетические группы *Y. pestis*. Пробоподготовку и MLVA25-типирование проводили, как описано ранее. Для MLVA14-типирования использовали локусы ms01, ms04, ms05, ms24, ms25, ms27, ms31, ms35, ms38, ms40, ms41, ms56, ms68, ms74 [7]. Анализ MLVA-профилей и построение дендрограмм кластеризации штаммов осуществляли с помощью программного обеспечения Bionumerics 5.1 (Applied Math NV, Бельгия). Серотипирование штаммов проводили по методике [2].

Результаты и обсуждение

Так как *Y. pseudotuberculosis* – это вид, включающий большее количество гетерогенных внутривидовых групп, чем *Y. pestis* [5], для его эффективного популяционного анализа из 25 VNTR-локусов, используемых для типирования штаммов чумного микроба [7], мы выбрали 14 генетических маркеров, обладавших наименьшей дискриминационной способностью [6]. Как и следовало ожидать, метод MLVA-типирования по 25 генетическим локусам

обладал большим разрешением. Анализ MLVA25-профилей 71 изолята *Y. pseudotuberculosis* и пяти штаммов *Y. pestis* позволил разделить их на 75 генотипов, а MLVA14 – только на 54.

На следующем этапе наших исследований для выявления филогенетических групп псевдотуберкулезного микроба, наиболее близких *Y. pestis*, мы увеличили количество анализируемых штаммов возбудителя псевдотуберкулеза до 221. По результатам проведенного нами О-генотипирования [2], 74 штамма *Y. pseudotuberculosis* созданной коллекции принадлежали к генотипу O:1a, 95 – к генотипу O:1b, 1 – к генотипу O:2a, 2 – к генотипу O:2b, 1 – к генотипу O:2c, 23 – к генотипу O:3, 5 – к генотипу O:4a, 2 – к генотипу O:4b, 1 – к генотипу O:5a, 1 – к генотипу O:5b, 2 – к генотипу O:6, 1 – к генотипу O:7, 11 – к генотипу O:8. Схему родственных отношений строили на основании данных MLVA14 с использованием принципа максимальной экономии [13]. Штаммы чумного микроба оказались сгруппированы в центре филограммы (рисунок, из 221 исследованных штаммов *Y. pseudotuberculosis* на дендрограмме представлено 96, так как при увеличении их количества данные начинают сливаться). Штаммам отдельных серотипов *Y. pseudotuberculosis* соответствовали определенные MLVA типы псевдотуберкулезного микроба.

Восемь штаммов *Y. pseudotuberculosis*, расположенных на схеме рядом с изолятами *Y. pestis*, отобрали для дальнейшего анализа. Все они были выделены от диких или синантропных грызунов, а штаммы 797 (B-6862), 1384 (B-6863) и 2430 (в ходе лабораторного хранения штамм разделился на две субпопуляции B-6865 и B-6866) при выделении были ошибочно отнесены к виду *Y. pestis*. После проведения черного полногеномного секвенирования [1, 11] оказалось, что данные штаммы формируют две группы: MLST-типа [5] 19 (ST19) и серотипа O:3 – C-2 (B-6796), 797 (B-6862), 1384 (B-6863), 8421-S (B-6864), 2430-1 (B-6865), 2430-2 (B-6866); MLST-типа 43 (ST43) и серотипа O:1b – 58 (B-7194) и L-926 (B-7195). К последней группе штаммов должен относиться, по данным MLST-типирования, и наиболее вероятный предшественник *Y. pestis* [5].

Суммируя результаты нашего исследования, следует отметить, что метод MLVA14 обладает достаточной дискриминирующей способностью для проведения молекулярно-эпидемиологических исследований, а также пригоден для отбора штаммов *Y. pseudotuberculosis* филогенетически наиболее близких чумному микробу.

Работа выполнена в рамках реализации отраслевой научно-исследовательской программы «Научные исследования и разработки с целью обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия и снижения инфекционной заболеваемости в Российской Федерации» (2011–2015 годы).

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Blouin Y., Platonov M.E., Pourcel C., Evseeva V.V., Afanas'ev M.V., Balakhonov S.V., Anisimov A.P., Vergnaud G. Draft genome sequences of two *Yersinia pseudotuberculosis* ST43 (O:1b) strains, B-7194 and B-7195. *Genome Announc.* 2013; 1(4):e00510–13. DOI: 10.1128/genomeA.00510-13.
- Bogdanovich T. Use of O-antigen gene cluster-specific PCRs for the identification and O-genotyping of *Yersinia pseudotuberculosis* and *Yersinia pestis*. *J. Clin. Microbiol.* 2003; 41:5103–12.
- Hulton C.S., Higgins C.F., Sharp P.M. ERIC sequences: a novel family of repetitive elements in the genomes of *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* and other enterobacteria. *Mol. Microbiol.* 1991; 5(4):825–34.
- Ishiguro N., Nakaoka Y., Sato G., Tsubokura M. Plasmid DNA relatedness among different serogroups of *Yersinia pseudotuberculosis*. *J. Clin. Microbiol.* 1985; 21(4):662–5.
- Laukkanen-Ninios R., Didelot X., Jolley K.A., Morelli G., Sangal V., Kristo P., Brehony C., Imori P.F., Fukushima H., Siitonen A., Tseneva G., Voskressenskaya E., Falcao J.P., Korkeala H., Maiden M.C., Mazzoni C., Carniel E., Skurnik M., Achtman M. Population structure of the *Yersinia pseudotuberculosis* complex according to multilocus sequence typing. *Environ. Microbiol.* 2011; 13(12):3114–27. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2011.02588.x.
- Le Flèche P., Hauck Y., Onteniente L., Prieur A., Denoeud F., Ramisse V., Sylvestre P., Benson G., Ramisse F., Vergnaud G. A tandem repeats database for bacterial genomes: application to the genotyping of *Yersinia pestis* and *Bacillus anthracis*. *BMC Microbiol.* 2001; 1:2.
- Li Y., Cui Y., Hauck Y., Platonov M.E., Dai E., Song Y., Guo Z., Pourcel C., Dentovskaya S.V., Yang R., Vergnaud G. Genotyping and phylogenetic analysis of *Yersinia pestis* by MLVA: insights into the worldwide expansion of Central Asia plague foci. *PLoS ONE.* 2009; 4(6):e6000.
- Makino S., Okada Y., Maruyama T., Kaneko S., Sasakawa C. PCR-based random amplified polymorphic DNA fingerprinting of *Yersinia pseudotuberculosis* and its practical applications. *J. Clin. Microbiol.* 1994; 32(1):65–9.
- Niskanen T., Fredriksson-Ahomaa M., Korkeala H. *Yersinia pseudotuberculosis* with limited genetic diversity is a common find-

ing in tonsils of fattening pigs. *J. Food Prot.* 2002; 65(3):540–5.

10. Odaert M., Berche P., Simonet M. Molecular typing of *Yersinia pseudotuberculosis* by using an IS200-like element. *J. Clin. Microbiol.* 1996; 34(9):2231–5.

11. Platonov M.E., Blouin Y., Evseeva V.V., Afanas'ev M.V., Pourcel C., Balakhonov S.V., Vergnaud G., Anisimov A.P. Draft genome sequences of five *Yersinia pseudotuberculosis* ST19 isolates and one isolate variant. *Genome Announc.* 2013; 1(2):e0012213. DOI: 10.1128/genomeA.00122-13.

12. Platonov M.E., Evseeva V.V., Svetoch T.E., Efremenko D.V., Kuznetsova I.V., Dentovskaya S.V., Kulichenko A.N., Anisimov A.P. Phylogeography of *Yersinia pestis* vole strains isolated from natural foci of the Caucasus and South Caucasus. *Mol. Genet. Microbiol. Virol.* 2012; 27(3):108–11.

13. Stewart C.-B. The powers and pitfalls of parsimony. *Nature.* 1993; 361(6413):603–7.

14. Voskressenskaya E., Savin C., Leclercq A., Tseneva G., Carniel E. Typing and clustering of *Yersinia pseudotuberculosis* isolates by restriction fragment length polymorphism analysis using insertion sequences. *J. Clin. Microbiol.* 2014; 52(6):1978–89. DOI: 10.1128/JCM.00397-14.

15. Voskressenskaya E., Leclercq A., Tseneva G., Carniel E. Evaluation of ribotyping as a tool for molecular typing of *Yersinia pseudotuberculosis* strains of worldwide origin. *J. Clin. Microbiol.* 2005; 43(12):6155–60.

References

- Blouin Y., Platonov M.E., Pourcel C., Evseeva V.V., Afanas'ev M.V., Balakhonov S.V., Anisimov A.P., Vergnaud G. Draft genome sequences of two *Yersinia pseudotuberculosis* ST43 (O:1b) strains, B-7194 and B-7195. *Genome Announc.* 2013; 1(4):e00510–13. DOI: 10.1128/genomeA.00510-13.
- Bogdanovich T. Use of O-antigen gene cluster-specific PCRs for the identification and O-genotyping of *Yersinia pseudotuberculosis* and *Yersinia pestis*. *J. Clin. Microbiol.* 2003; 41:5103–12.
- Hulton C.S., Higgins C.F., Sharp P.M. ERIC sequences: a novel family of repetitive elements in the genomes of *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* and other enterobacteria. *Mol. Microbiol.* 1991; 5(4):825–34.
- Ishiguro N., Nakaoka Y., Sato G., Tsubokura M. Plasmid DNA relatedness among different serogroups of *Yersinia pseudotuberculosis*. *J. Clin. Microbiol.* 1985; 21(4):662–5.
- Laukkanen-Ninios R., Didelot X., Jolley K.A., Morelli G., Sangal V., Kristo P., Brehony C., Imori P.F., Fukushima H., Siitonen A., Tseneva G., Voskressenskaya E., Falcao J.P., Korkeala H., Maiden M.C., Mazzoni C., Carniel E., Skurnik M., Achtman M. Population structure of the *Yersinia pseudotuberculosis* complex according to multilocus sequence typing. *Environ. Microbiol.* 2011; 13(12):3114–27. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2011.02588.x.
- Le Flèche P., Hauck Y., Onteniente L., Prieur A., Denoeud F., Ramisse V., Sylvestre P., Benson G., Ramisse F., Vergnaud G. A tandem repeats database for bacterial genomes: application to the genotyping of *Yersinia pestis* and *Bacillus anthracis*. *BMC Microbiol.* 2001; 1:2.
- Li Y., Cui Y., Hauck Y., Platonov M.E., Dai E., Song Y., Guo Z., Pourcel C., Dentovskaya S.V., Yang R., Vergnaud G. Genotyping and phylogenetic analysis of *Yersinia pestis* by MLVA: insights into the worldwide expansion of Central Asia plague foci. *PLoS ONE.* 2009; 4(6):e6000.
- Makino S., Okada Y., Maruyama T., Kaneko S., Sasakawa C. PCR-based random amplified polymorphic DNA fingerprinting of *Yersinia pseudotuberculosis* and its practical applications. *J. Clin. Microbiol.* 1994; 32(1):65–9.
- Niskanen T., Fredriksson-Ahomaa M., Korkeala H. *Yersinia pseudotuberculosis* with limited genetic diversity is a common finding in tonsils of fattening pigs. *J. Food Prot.* 2002; 65(3):540–5.
- Odaert M., Berche P., Simonet M. Molecular typing of *Yersinia pseudotuberculosis* by using an IS200-like element. *J. Clin. Microbiol.* 1996; 34(9):2231–5.
- Platonov M.E., Blouin Y., Evseeva V.V., Afanas'ev M.V., Pourcel C., Balakhonov S.V., Vergnaud G., Anisimov A.P. Draft genome sequences of five *Yersinia pseudotuberculosis* ST19 isolates and one isolate variant. *Genome Announc.* 2013; 1(2):e0012213. DOI: 10.1128/genomeA.00122-13.
- Platonov M.E., Evseeva V.V., Svetoch T.E., Efremenko D.V., Kuznetsova I.V., Dentovskaya S.V., Kulichenko A.N., Anisimov A.P. Phylogeography of *Yersinia pestis* vole strains isolated from natural foci of the Caucasus and South Caucasus. *Mol. Genet. Microbiol. Virol.* 2012; 27(3):108–11.
- Stewart C.-B. The powers and pitfalls of parsimony. *Nature.* 1993; 361(6413):603–7.
- Voskressenskaya E., Savin C., Leclercq A., Tseneva G., Carniel E. Typing and clustering of *Yersinia pseudotuberculosis* isolates by restriction fragment length polymorphism analysis using insertion sequences. *J. Clin. Microbiol.* 2014; 52(6):1978–89. DOI: 10.1128/JCM.00397-14.
- Voskressenskaya E., Leclercq A., Tseneva G., Carniel E. Evaluation of ribotyping as a tool for molecular typing of *Yersinia pseudotuberculosis* strains of worldwide origin. *J. Clin. Microbiol.* 2005; 43(12):6155–60.

Authors:

Evseeva V.V., Platonov M.E., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P. State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology. Obolensk, Moscow Region, 142279, Russian Federation. E-mail: info@obolensk.org

Об авторах:

Евсеева В.В., Платонов М.Е., Дентовская С.В., Анисимов А.П. Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии. Российская Федерация, 142279, Московская обл., п. Оболensk. E-mail: info@obolensk.org

Поступила 15.12.14

Г.А.Ерошенко, Я.М.Краснов, Н.Ю.Носов, Л.М.Куклева, К.А.Никифоров, Е.Г.Оглодин, В.В.Кутырев

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ПОДВИДОВОЙ КЛАССИФИКАЦИИ *YERSINIA PESTIS* НА ОСНОВЕ ДАННЫХ ПОЛНОГЕНОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ШТАММОВ ИЗ РОССИИ И СОПРЕДЕЛЬНЫХ ГОСУДАРСТВ

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

Нами проведено полногеномное секвенирование 20 штаммов *Yersinia pestis* из всех 11 природных очагов чумы в России и части очагов сопредельных государств. Филогенетический анализ на основе выявленных 1918 коровых SNPs в геномах этих штаммов и 16 штаммов *Y. pestis* из NCBI GenBank установил наличие 5 кластеров близкородственных штаммов, с учетом которых нами усовершенствована подвидовая классификация возбудителя чумы. Новая классификация включает пять подвидов: основной (*ssp. pestis*), кавказский (*ssp. caucasica*), улегейский (*ssp. ulegeica*) и два новых – центральноазиатский (*ssp. central asiatica*) и ангольский (*ssp. angola*). Центральноазиатский подвид объединяет эволюционно родственные штаммы, ранее отнесенные к алтайскому и гиссарскому подвидам, а также штаммы из Таласского высокогорного очага в Киргизии и Узбекистане и штаммы *microtus* из Китая. В составе центральноазиатского подвида выделено три биовара – алтайский, гиссарский и *microtus*. Предложено удобное обозначение штаммов: 0.PE4a для алтайских, 0.PE4h для гиссарских, 0.PE4t для таласских штаммов и 0.PE4m для штаммов *microtus*, а также 0.PE5 для штаммов улегейского подвида.

Ключевые слова: возбудитель чумы, подвиды, совершенствование классификации.

G.A.Eroshenko, Ya.M.Krasnov, N.Yu.Nosov, L.M.Kukleva, K.A.Nikiforov, E.G.Oglodin, V.V.Kutyrev

Updating of Intra-Specific *Yersinia pestis* Classification, Based on the Results of Whole-Genome Sequencing of the Strains from the Russian Federation and the Neighboring States

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

Carried out has been genome-wide sequencing of 20 *Yersinia pestis* strains from all 11 natural plague foci in Russia and some foci in the neighboring states. Phylogenetic analysis on the basis of 1918 core SNPs, identified in the genomes of these strains and 16 *Y. pestis* strains from NCBI GenBank, has revealed 5 clusters of closely related strains. Taking these clusters into account, up-dated has been subspecific classification of plague agent. New taxonomy has combined 5 subspecies: major (*ssp. pestis*), Caucasian (*ssp. caucasica*), ulegeisk (*ssp. ulegeica*), and two novel ones – Central Asian (*ssp. central asiatica*) and Angolan (*ssp. angola*). Central Asian subspecies comprises evolutionally related strains, earlier classified as *altaica* and *hissarica*, as well as the strains from Talas high-mountain focus in Kirghizia and Uzbekistan, and *microtus* strains from China. *Central asiatica* is divided into three biovars – altai, hissar, and *microtus*. Set forward is a serviceable designation for the strains: 0.PE4a – for altai ones, 0.PE4h – for hissar, 0.PE4t – for talas, and 0.PE4m – for *microtus*, and also for *ulegeica* subspecies – 0.PE5.

Key words: plague agent, subspecies, updating of classification.

Бактерия *Yersinia pestis* является возбудителем особо опасной природно-очаговой болезни – чумы, носителями которой являются различные виды грызунов, а переносчиками – блохи, паразитирующие на этих грызунах. Природные очаги чумы расположены во многих странах на территории большинства континентов, в том числе 45 из них – в Российской Федерации и странах ближнего зарубежья [6]. *Y. pestis* – относительно молодой и генетически однородный бактериальный вид, ведущий свое происхождение от возбудителя псевдотуберкулеза *Yersinia pseudotuberculosis* [2, 10]. Однако существование отдельных популяций возбудителя чумы в различных ландшафтно-климатических условиях – в степных, пустынных, горных и высокогорных регионах – привело к накоплению в ходе адаптивной эволюции генетических и фенотипических отличий между штаммами *Y. pestis*, которые могут быть использованы для проведения филогенетического анализа и дифференциации штаммов по географическому региону и очагу происхождения [1, 5, 11, 17].

Общепризнанной внутривидовой классифи-

кации *Y. pestis* не существует. В России и странах ближнего зарубежья широко используется подвидовая классификация, в соответствии с которой штаммы делятся на пять подвидов: основной (*ssp. pestis*) и четыре неосновных – кавказский (*ssp. caucasica*), алтайский (*ssp. altaica*), гиссарский (*ssp. hissarica*) и улегейский (*ssp. ulegeica*). Отечественная подвидовая классификация принята в 1985 г. и основана на отличиях штаммов *Y. pestis* в ряде биохимических свойств – способности ферментировать некоторые сахара – рамнозу, арабинозу, редуцировать нитраты [4, 8]. Штаммы основного подвида отличаются высокой вирулентностью, имеют высокую эпидемическую значимость и вызывают вспышки, эпидемии и даже пандемии чумы. Они широко распространены в природных очагах чумы по всему миру. Штаммы неосновных подвидов вирулентны, в основном для мышевидных грызунов, редко вызывают заболевания у людей. Неосновные подвиды являются древними формами чумного микроба и занимают промежуточное положение между предшественником *Y. pseudotuberculosis* и основным подвидом *Y. pestis*

[2, 14]. Они не имеют глобального распространения и циркулируют в отдельных географических регионах или природных очагах России, Армении, Грузии, Таджикистана, Киргизии и Узбекистана, а также Монголии и Китая, то есть на территории Евразийского континента. Так, штаммы кавказского подвида распространены в очагах Кавказа и Закавказья, алтайского – в Горно-Алтайском высокогорном очаге России, гиссарского – в Гиссарском высокогорном очаге чумы Таджикистана, улегейского – в Монголии. Известен лишь один штамм – *Angola*, относящийся к неосновным подвидам, который выделен в Африке [13]. Для некоторых штаммов *Y. pestis*, принадлежащих к неосновным подвидам, штаммов из Таласского высокогорного очага Киргизии и Узбекистане, штаммов *microtus* из двух природных очагов Китая, а также для штамма *Angola* не определена их подвиговая принадлежность [6, 20].

Используемая за рубежом классификация предложена еще в 1951 г. Она также основана на отличиях штаммов в биохимической активности – способности редуцировать нитраты и ферментировать глицерин [12]. В соответствии с ней штаммы *Y. pestis* делятся на три биовара – античный, средневековый и восточный, каждый из которых послужил причиной одной из трех прошедших в истории пандемий чумы. Все три биовара соответствуют основному подвиду возбудителя чумы по отечественной классификации. Неосновным подвидам зарубежными исследователями не уделяется должного внимания, они обозначаются как «пестоиды». Их долгое время считали редуцированными формами основного подвида.

Анализ популяционной генетики возбудителя чумы стал возможен с проведением полногеномного секвенирования большого числа штаммов *Y. pestis*. Установлено, что штаммы античного биовара принадлежат к нескольким линиям эволюции: 0.ANT, 3.ANT, 4.ANT (Центральная Азия), 1.ANT (Африка), 2.ANT (Юго-Восточная и Центральная Азия). Штаммы средневекового биовара относятся к линии 2.MED и циркулируют в очагах Кавказа, Прикаспия, Центральной Азии. Штаммы восточного биовара распространены в Юго-Восточной и Центральной Азии, Африке, Америке и принадлежат к филогенетической линии 1.ORI. Неосновные подвиды относятся к нескольким филогенетическим линиям: штамм *Angola* – к 0.PE3, кавказский подвид – к 0.PE2, алтайский подвид и штаммы *microtus* – к 0.PE4, а древние штаммы с Тибетского плато в Китае – к 0.PE7 [10, 11, 17].

Выдвинут ряд предложений по изменению классификации возбудителя чумы. В частности, предлагается выделить четвертый биовар – *microtus* с включением в него всех неосновных подвидов, а также новых подвидов *qinghaiensis*, *xilingolensis* [7, 16, 20]. Однако эти предложения носят формальный характер, поскольку не учитывают данных популяционной генетики возбудителя чумы, а также свойства штаммов *Y. pestis* из очагов чумы России и сопредельных стран. В международных базах данных можно найти небольшое количество полногеномных

последовательностей штаммов *Y. pestis* из стран СНГ, некоторые из них с неустановленным происхождением. Положение этих штаммов в глобальном генетическом разнообразии возбудителя чумы остается неясным.

Цель работы – совершенствование подвидовой классификации возбудителя чумы на основе полногеномного секвенирования штаммов из природных очагов России и сопредельных стран.

Материалы и методы

Штаммы *Y. pestis*, использованные в работе, представлены в таблице. Все штаммы получены из Государственной коллекции патогенных бактерий РосНИПЧИ «Микроб». Культивирование штаммов *Y. pestis* проводили на LB агаре и LB бульоне (pH 7,2) при 28 °C в течение 24–48 ч. ДНК штаммов для полногеномного секвенирования выделяли с помощью набора AxyPrep производства AXYGEN Biosciences (Китай). Секвенирование геномов штаммов проводили в системе Ion PGM (Life Technologies, США) в соответствии с инструкцией производителя. Для обработки данных секвенирования применяли пакет программ Ion Torrent Suite software 4.2. и Newbler gsAssembler 2.6. В анализ брали нуклеотидные последовательности штаммов с не менее чем 30-кратной средней глубиной прочтения. Полногеномный SNP-анализ штаммов *Y. pestis* выполняли с помощью программы Wombac 2.0. Построение дендрограмм штаммов проводили с использованием пакета программ Bionumerics 7.5 и алгоритма Maximum Parsimony.

Результаты и обсуждение

Для определения современной внутривидовой структуры *Y. pestis* с учетом штаммов из Российской Федерации и сопредельных стран нами проведено полногеномное секвенирование 20 штаммов, включая 13 штаммов из всех одиннадцати очагов России, 2 штаммов из двух очагов в Киргизии и Узбекистане, 2 штаммов из двух очагов в Армении, 1 штамма из Таджикистана, 2 штаммов из двух регионов Монголии, и установлена их филогенетическая принадлежность (таблица). Полногеномные последовательности штаммов из этих очагов чумы практически не представлены в международных базах данных.

В работе также использованы нуклеотидные последовательности 16 штаммов *Y. pestis* различного происхождения из базы данных NCBI GenBank, принадлежащих к основным ветвям эволюции *Y. pestis* (таблица). Анализ популяционной структуры *Y. pestis* проводили на основе выявления коровых SNPs в полногеномных последовательностях отечественных и зарубежных штаммов с помощью программы Wombac 2.0. Всего выявлено 1918 коровых (общих для всех штаммов) полиморфных нуклеотидов, с использованием которых в программе Bionumerics 7.5. с помощью алгоритма Maximum Parsimony построена дендрограмма штаммов *Y. pestis* (рис. 1).

Штаммы *Y. pestis* на дендрограмме разделились

Штаммы *Y. pestis*, полногеномные последовательности которых использованы в работе

Штамм	Происхождение	Внутривидовая принадлежность		
		Филогенетическая линия	Используемые классификации	Новая классификация
C-627	Центрально-Кавказский высокогорный очаг, Россия, 1986 г.	2.MED	Основной п/в, средневековый б/в	Основной п/в, средневековый б/в
M-978	Прикаспийский Северо-Западный степной очаг, Россия, 1990 г.	«	«	«
M-1773	Волго-Уральский песчаный очаг, Россия, 2002 г.	«	«	«
M-1484	Волго-Уральский степной очаг, 1992 г.	«	«	«
M-1864	Прикаспийский песчаный очаг, Россия, 2009 г.	«	«	«
C-791	Дагестанский равнинно-предгорный очаг, Россия, 2003 г.	«	«	«
1116Д	Терско-Сунженский низкогорный очаг, Россия, 1970 г.	«	«	«
И-1996	Забайкальский степной очаг, Россия, 1970 г.	2.ANT	Основной п/в, античный б/в	Основной п/в, античный б/в
KM932	Тувинский горный очаг, 1987 г.	4.ANT	«	«
231 (708)	Аксайский высокогорный очаг, Киргизия, 1947 г.	0.ANT	«	«
C-741	Восточно-Кавказский высокогорный очаг, Россия, 1998 г.	0.PE2	Кавказский п/в	Кавказский п/в
M-986	Зангезуро-Карабахский горный очаг, Армения, 1975 г.	«	«	«
3544 Арм.	Ленинканский горный очаг, Армения, 1979 г.	«	«	«
И-2998	Горно-Алтайский высокогорный, Россия, 1982 г.	0.PE4a	Алтайский п/в	Центральноазиатский п/в
И-2751-55	Горно-Алтайский высокогорный, Россия, 2012 г.	«	«	«
B-1313	Горно-Алтайский высокогорный, Россия, 2014 г.	«	«	«
A-1249	Гиссарский высокогорный очаг, Таджикистан, 1970 г.	0.PE4h	Гиссарский п/в	«
A-1815	Таласский высокогорный очаг, Киргизия, 1980 г.	0.PE4t	Таласский штамм	«
И-3086	Монголия, 1983 г.	0.PE4m	Штамм <i>microtus</i>	«
И-2422	Монголия, 1974 г.	0.PE5	Улегейский п/в	Улегейский п/в
Nepal516, Antiqua	NCBI GenBank	2.ANT 1.ANT	Основной п/в, античный б/в	Основной п/в, античный б/в
KIM10	«	2.MED	Основной п/в, средневековый б/в	Основной п/в, средневековый б/в
CO92	«	1.ORI	Основной п/в, восточный б/в	Основной п/в, восточный б/в
Pestoides F	«	0.PE2	Кавказский п/в	Кавказский п/в
620024, CMCC05009	«	0.PE7		Кавказский п/в
Pestoides A, Pestoides B	«	0.PE4a	Алтайский п/в	Центральноазиатский п/в
91001, CMCC91090, CMCC93014, CMCC18019, CMCC10025, M0000002	«	0.PE4m	Штаммы <i>microtus</i>	«
Angola	«	0.PE1	«	Ангольский п/в

Примечание: п/в – подвид, б/в – биовар.

на пять четко обособленных кластеров. Отдельный большой кластер составили штаммы основного подвида, выделенные в России, странах ближнего и дальнего зарубежья. В этот кластер вошли все 10 секвенированных штаммов основного подвида из России и сопредельных стран: три штамма античного биовара (И-1996 из Забайкальского степного, KM932 из Тувинского горного и 231(708) из Аксайского высокогорного очагов), семь штаммов средневекового биовара из очагов Прикаспия (М-978, М-1773, М-1484, М-1864) и Кавказа (С-627, С-791, 1116Д). В этот же кластер вошли все использованные штаммы основного подвида из NCBI GenBank: два штамма античного биовара из Непала и Африки (Nepal516, Antiqua), 1 штамм средневеко-

вого биовара из Ирана (KIM10) и один штамм восточного биовара из США (CO92).

По данным проведенного анализа, все 14 штаммов основного подвида имеют 38 общих нуклеотидных замен, отсутствующих у других штаммов. Из этого следует, что они представляют отдельную внутривидовую систематическую единицу возбудителя чумы. Кластер тесно сгруппирован, что подтверждает близкое родство штаммов основного подвида. Количество взятых в анализ штаммов основного подвида может быть значительно увеличено за счет большого числа штаммов этого подвида, содержащихся в международных генетических базах данных, а также за счет секвенированных нами штаммов средневекового биовара из природных очагов

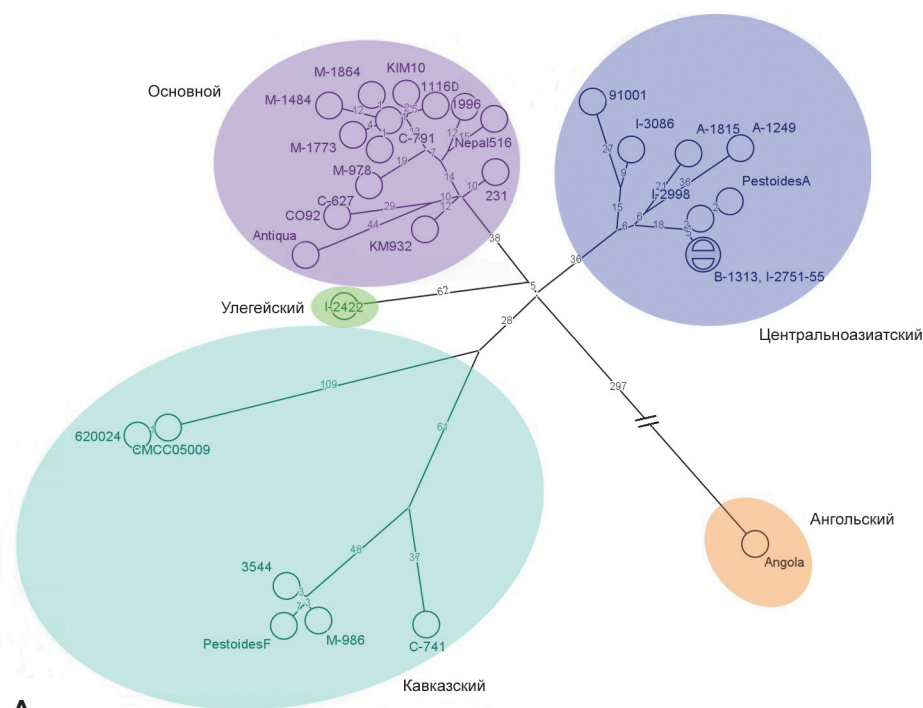
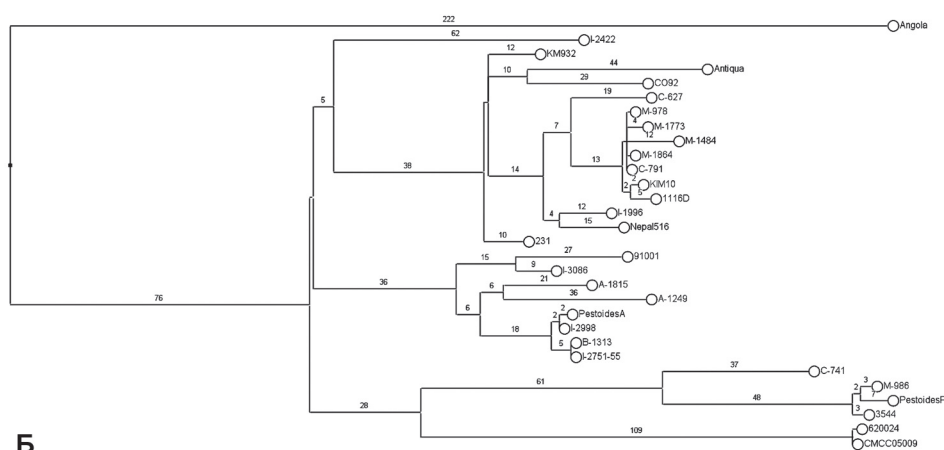


Рис. 1. Кластерная структура *Y. pestis*, по данным анализа коровых SNPs, в полногеномных последовательностях штаммов из России, стран ближнего и дальнего зарубежья (программа Bionumerics 7.5, алгоритм Maximum Parsimony):

А – неукорененное дерево, Б – укорененное дерево



Казахстана. Однако это не приведет к изменению кластерной структуры возбудителя чумы, представленной на рис. 1.

В кластер основного подвида на дендрограмме включены основные филогенетические линии античного биовара O.ANT (штамм 231(708) из Аксайского высокогорного очага), 1.ANT (штамм Antiqua из Африки), 2.ANT (штамм И-1996 из Забайкальского степного очага и Nepal516 из Юго-Восточной Азии), 4.ANT (штамм KM932 из Тувинского горного очага), линия 2.MED средневекового биовара (штаммы из очагов Кавказа, Прикаспия, Ирана), линия 1.ORI восточного биовара (штамм CO92 из США). Принадлежность штаммов основного подвида (античный, средневековый и восточный биовары) к одной внутривидовой систематической группе не вызывает сомнения ни у отечественных, ни у зарубежных ученых [7, 11, 14, 17].

Отдельный кластер представлен штаммом улегейского подвида И-2422 из Монголии. Он имеет 62 уникальные замены единичных нуклеотидов, которые отделяют его от остальных кластеров дендрограммы. Нуклеотидная последовательность штаммов улегейского подвида отсутствует в международных базах данных, вследствие чего эта внутривидовая систематическая единица не учитывается при анализе генетического разнообразия *Y. pestis*. Популяция улегейских штаммов обозначена нами как 0.РЕ5. Несмотря на то, что в анализе использована последовательность только одного улегейского штамма, тем не менее, она может представлять все улегейские штаммы, поскольку эти штаммы из Монголии генетически однородны [3]. Улегейский подвид является наиболее молодым из всех основных подвидов, так как занимает наиболее близкое расположение к штаммам основного подвида и

имеет 5 общих с ними замен нуклеотидов, отсутствующих у других штаммов *Y. pestis*.

Отдельный кластер представлен штаммами, относящимися к алтайскому и гиссарскому подвидам, а также штаммами *microtus* и таласским штаммом. В этот кластер вошли три штамма алтайского подвида из Горно-Алтайского высокогорного очага (И-2998, И-2751-55, В1313) России, один штамм из Гиссарского высокогорного очага (И-1249) Таджикистана, один штамм из Таласского высокогорного очага (А-1815) Киргизии и Узбекистана и один штамм (И-3086) из Монголии. В этот же кластер вошли два штамма из NCBI GenBank (*Pestoides* А, 91001 *microtus*). Весь кластер имеет 36 отличительных единичных нуклеотидных замен, не встречающихся у штаммов из других кластеров. Это означает, что входящие в него штаммы составляют отдельную линию эволюции и отдельную внутривидовую систематическую единицу возбудителя чумы. Все штаммы, входящие в этот кластер, имеют одинаковую характеристику по дифференциальным биохимическим признакам. Они не редуцируют нитраты и не ферментируют арабинозу.

В пределах этого большого кластера четко выделяются три подкластера. Тесно сгруппированный подкластер составлен штаммами из Горно-Алтайского высокогорного очага, а также штаммом *Pestoides* А (NCBI GenBank), из чего следует, что последний также относится к алтайскому подвиду. Алтайские штаммы имеют 18 общих маркерных единичных нуклеотидных замен. Отличия между штаммами в пределах этого подкластера невелики и составляют от 2 до 5 замен нуклеотидов, что свидетельствует о высокой генетической однородности алтайских штаммов. Штамм И-3086, который ранее считался штаммом алтайского подвида из Монголии, не вошел в подкластер алтайских штаммов, а образовал отдельный подкластер вместе со штаммом 91001 *microtus* из Китая (NCBI GenBank). Оба штамма имеют 15 общих маркерных мутаций, из чего следует, что штамм И-3086 из Монголии родственен штаммам *microtus*, и штаммы *microtus* циркулируют не только в Китае, но и в Монголии. Возможно также, что штаммы алтайского подвида существуют только в Горно-Алтайском высокогорном очаге, о чем свидетельствует их высокая генетическая однородность. Об этом мы уже сообщали ранее [3].

Из структуры этого кластера становится ясным филогенетическое положение штаммов из Таласского высокогорного очага, расположенного в Киргизии и Узбекистане. Неоднократно выдвигались предложения о необходимости выделения таласских штаммов в отдельный подвид или биовар *Y. pestis* [7]. Данные полногеномного секвенирования таласского штамма А-1815 не поддерживают эти предложения. Штамм А-1815 образовал общий подкластер вместе со штаммом гиссарского подвида А-1249 из Гиссарского высокогорного очага Таджикистана. Оба штамма имеют 6 общих мутаций нуклеотидов, не встречающихся у других штаммов, что подтверждает их эволюционное родство. В то же время штам-

мы А-1815 и А-1249 не так близки между собой, как штаммы алтайского подкластера, и имеют соответственно 21 и 36 уникальных замен нуклеотидов. Это не удивительно, так как штаммы гиссарского подвида и таласские штаммы циркулируют в изолированных высокогорных очагах Киргизии, Узбекистана и Таджикистана. Нуклеотидные последовательности геномов гиссарских и таласских штаммов получены впервые и отсутствуют в генетических базах данных. Филогенетические линии этих штаммов для удобства обозначены нами как 0.РЕ4h и 0.РЕ4t, а алтайских штаммов и штаммов *microtus* как 0.РЕ4a и 0.РЕ4m.

Весь этот большой кластер штаммов, включающий штаммы алтайского и гиссарского подвигов, таласские штаммы и штаммы *microtus*, на основании их эволюционного родства и обособленности от других штаммов *Y. pestis*, мы предлагаем выделить в новый отдельный подвид с присвоением ему названия центральноазиатский подвид (*ssp. central asiatica*). Выбор такого названия подвида обусловлен тем, что составляющие его штаммы циркулируют на территории Центрально-Азиатской зоны природной очаговости чумы. В пределах этого подвида можно выделить три биовара, соответствующие трем подкластерам. Это алтайский биовар (bv. altaica), гиссарский биовар (bv. hissarica) с включением в него таласских штаммов, а также биовар *microtus* (штаммы из Китая и Монголии). Единство кластера сохраняется и при включении в него других штаммов из базы данных NCBI GenBank: *Pestoides* В (алтайский штамм) и штаммов *microtus* – CMCC91090, CMCC93014, CMCC18019, CMCC10025 и M0000002, CMCC91090, CMCC93014, CMCC18019, CMCC10025 и M0000002 из Китая (рис. 2).

Некоторые исследователи кроме трех используемых в классификациях биоваров – античного, средневекового и восточного – предлагают выделить новый биовар – *microtus* с включением в него всех неосновных подвигов, а также новых подвигов – *qinghaiensis*, *xilingolensis* – для штаммов из некоторых очагов Китая [7, 16, 19]. На дендрограмме (рис. 1) видно, что штамм M0000002 предлагаемого подвида *qinghaiensis* входит в подкластер *microtus* кластера центральноазиатского подвида и не может быть отнесен к отдельному подвиду *Y. pestis*. То же, по-видимому, касается и близкородственных штаммов *xilingolensis*. Из кластерной структуры *Y. pestis* (рис. 1) также следует, что предлагаемое объединение всех неосновных подвигов в подвид или биовар *microtus* не соответствует популяционной структуре возбудителя чумы. Штаммы *microtus* представляют лишь отдельный подкластер в составе центральноазиатского подвида. Поскольку в одну внутривидовую систематическую единицу не следует включать штаммы, не имеющие близкого родства и не относящиеся к одной филогенетической линии, то выделение биовара или подвида *microtus* с включением в него неродственных неосновных подвигов является формальным, лишенным генетической основы.

Еще один кластер на дендрограмме *Y. pestis* (рис. 1) представлен единственным штаммом не-

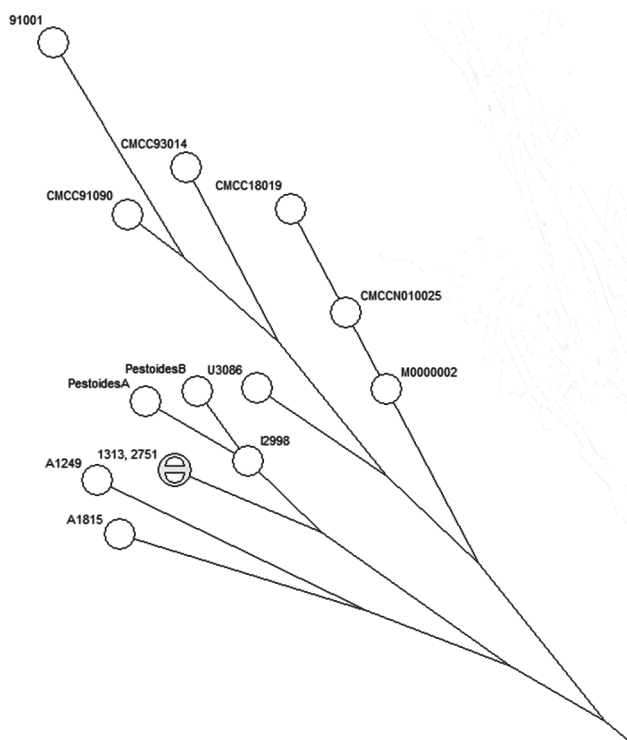


Рис. 2. Кластерная структура центральноазиатского подвида *Y. pestis* по данным анализа коровых SNPs в полногеномных последовательностях алтайских (Pestoides A, Pestoides B, И-2998, В-1313, И-2751-55), гиссарского (А-1249), таласского (А-1815) штаммов и штаммов *microtus* (91001, CMCC91090, CMCC93014, CMCC18019, CMCC10025, M0000002). Программа Bionumerics 7.5, алгоритм Maximum Parsimony с логарифмической обработкой длины ветвей

основного подвида из Африки – штаммом Angola, относящимся к ветви 0.РЕ3 [13]. Этот штамм имеет более 200 отличительных мутаций, отсутствующих у других штаммов *Y. pestis*. Штамм Angola представляет независимую ветвь эволюции *Y. pestis* и, следовательно, должен быть выделен в отдельный ангольский (*ssp. angola*) подвид. Несмотря на то, что он имеет наиболее длинную ветвь на дендрограмме, он не является самым древним штаммом *Y. pestis* [4, 7]. Скорость эволюции отдельных ветвей *Y. pestis* характеризуется значительной вариабельностью, связанной с различным селективным давлением в процессе адаптивной эволюции. Штамм Angola является ярким примером ускоренной эволюции при освоении новой экологической ниши [9, 13, 18].

По общепризнанному мнению и из данных представленной дендрограммы наиболее древними штаммами *Y. pestis* являются штаммы кавказского подвида и штаммы линии 0.РЕ7 из Китая [11, 14, 15]. Эти древние штаммы составили на дендрограмме один общий кластер и представляют одну ветвь эволюции. Они имеют 28 общих замен нуклеотидов, не встречающихся у других штаммов *Y. pestis*, что доказывает их эволюционное родство и принадлежность к одной внутривидовой группе *Y. pestis*. Однако в пределах кластера эти штаммы образовали два удаленных друг от друга подкластера. Один из них представлен штаммами кавказского подвида С-741, М-986, 3544 Арм. из очагов Кавказа (Россия, Армения) и штам-

мом Pestoides F (NCBI GenBank). Подкластер имеет 61 общую мутацию единичных нуклеотидов. При этом штамм С-741 из Восточно-Кавказского высокогорного очага существенно отличается от других штаммов кавказского подвида.

Отдельный подкластер образовали штаммы 620024 и CMCC05009 линии 0.РЕ7 с Тибетского плато в Китае, в геноме которых присутствует 109 уникальных замен нуклеотидов. Сведения о свойствах этих штаммов достаточно скудны, хотя известно, что они, как и штаммы кавказского подвида, способны вызывать чуму у людей [11]. Мы предлагаем объединить штаммы этого подкластера и подкластера кавказских штаммов в один кавказский подвид на основе их общего эволюционного происхождения. В то же время с учетом различий, существующих между этими штаммами, в дальнейшем при получении более полной информации о штаммах линии 0.РЕ7 возможно выделение их в отдельный подвид.

Из структуры этого кластера не следует, что наиболее древними штаммами *Y. pestis* являются штаммы линии 0.РЕ7, как это утверждается в работе Y. Cui et al. [11]. На дендрограмме (рис.1) видно, что они представляют одну эволюционную ветвь с кавказскими штаммами, разделившуюся на линии 0.РЕ2 и 0.ОРЕ7. По количеству отличающихся у них SNPs нельзя судить о большей древности одной из этих ветвей, поскольку скорость эволюции у отдельных популяций *Y. pestis* может значительно отличаться в зависимости от условий существования.

Таким образом, в результате проведенного нами анализа полногеномных последовательностей штаммов *Y. pestis* из всех 11 природных очагов Российской Федерации и 7 очагов сопредельных государств, а также зарубежных штаммов различных филогенетических ветвей выявлено наличие пяти обособленных внутривидовых кластеров возбудителя чумы, которые соответствуют пяти подвидам. Это основной (*ssp. pestis*), кавказский (*ssp. caucasica*), центральноазиатский (*ssp. central asiatica*), улегейский (*ssp. ulegeica*) и ангольский (*ssp. angola*) подвиды. Эта классификация во многом совпадает с разработанной ранее отечественной подвидовой классификацией штаммов *Y. pestis*. Нами на основании данных филогенетического анализа с применением технологии полногеномного секвенирования подведена генетическая основа под используемую подвидовую классификацию и проведено ее усовершенствование. При этом учтены генетические особенности штаммов *Y. pestis* из всех очагов России и части очагов сопредельных стран, которые ранее не использовались при анализе глобального разнообразия возбудителя чумы. Предлагаемая подвидовая классификация может быть пополнена новыми подвидами в случае открытия популяций *Y. pestis* с отличающимися свойствами. Новая подвидовая классификация является объективной, поскольку построена на анализе большого числа полиморфных нуклеотидов в геномах штаммов возбудителя чумы различных филогенетических линий. Она отражает структуру вида *Y. pestis*, сформировавшуюся в процессе образования совре-

менных границ распространения возбудителя чумы.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ерошенко Г.А., Одинок 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.
- Куклева Л.М., Проценко О.А., Кутырев В.В. Современные представления о родстве возбудителей чумы и псевдотуберкулеза. *Мол. генет., микробиол. и вирусол.* 2002; 1:3–7.
- Куклева Л.М., Шавина Н.Ю., Одинок Г.Н., Оглодин Е.Г., Носов Н.Ю., Виноградова Н.А., Гусева Н.П., Ерошенко Г.А., Кутырев В.В. Анализ разнообразия и определение геновариантов штаммов возбудителя чумы из Монголии. *Генетика.* 2015; 51(3):298–305.
- Кутырев В.В., Проценко О.А. Классификация и молекулярно-генетические исследования *Yersinia pestis*. *Пробл. особо опасных инф.* 1998; 1(78):11–22.
- Одинок Г.Н., Ерошенко Г.А., Краснов Я.М., Куклева Л.М., Черкасов А.В., Шавина Н.Ю., Кутырев В.В. Анализ полногеномной последовательности штаммов *Yersinia pestis* на основе ступенчатого 680-SNP алгоритма. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 3:49–54.
- Онищенко Г.Г., Кутырева В.В., редакторы. Природные очаги чумы Кавказа, Прикаспия, Средней Азии и Сибири. М.: Медицина; 2004. 192 с.
- Платонов М.Е., Евсеева В.В., Дентовская С.В., Анисимов А.П. Молекулярное типирование *Yersinia pestis*. *Мол. генет., микробиол. и вирусол.* 2013; 2:3–12.
- Тимофеева Л.А. О таксономии чумного микроба. *Пробл. особо опасных инф.* 1972; 1(23):15–20.
- Achtman M. Insights from genomic comparison of genetically monomorphic bacterial pathogen. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 2012; 367(1590):860–7.
- Achtman M., Zurth K., Morelli G., Torrea G., Guisoule A., Carniel E. *Yersinia pestis*, the cause of plague, is a recently emerged clone of *Yersinia pseudotuberculosis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 1999; 96(24):14043–8.
- Cui Y., Yu C., Yan Y., Li D., Li Y., Jombart T., Weinert L.A., Wang Z., Guo G., 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., Yang R. Historical variation in mutational rate in an epidemic pathogen *Yersinia pestis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2013; 110(2):577–82.
- Devignat R. Variétés de l'espèce *Pasteurella pestis*. *Bull. WHO.* 1951; 4(2):247–63.
- Eppinger M., Worsham P.L., Nikolich M.P., Riley D.R., Sebastian Y., Mou S., Achtman M., Lindler L.E., Ravel J. Genome sequence of the deep-rooted *Yersinia pestis* strain Angola reveals new insights into the evolution and pangenome of the plague bacterium. *J. Bacteriol.* 2010; 192(6):1685–99.
- 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.
- Garcia E., Worsham P., Bearden S., Malfatti S., Lang D., Larimer F., Lindler L., Chain P. Pestoides F, an atypical *Yersinia pestis* strain from the former Soviet Union. *Adv. Exp. Med. Res.* 2007; 603:17–22.
- Li Y., Cui Y., Hauck Y., Platonov M.E., Dai E., Song Y., Guo Z., Pourcel C., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P., Yang R., Vergnaud G. Genotyping and phylogenetic analysis of *Yersinia pestis* by MLVA: insights into the worldwide expansion of Central Asia plague foci. *PLoS ONE.* 2009; 4(6):e6000.
- Morelli G., Song Y., Mazzoni C.J., Eppinger M., Roumagnac P., Wagner D.M., Feldkamp M., Kusecek B., Vogler A.J., Li Y., Cui Y., Thomson N.R., Jombart T., Leblois R., Lichtner P., Rahalison L., Petersen J.M., Balloux F., Keim P., Wirth T., Ravel J., Yang R., Carniel E., Achtman M. *Yersinia pestis* genome sequencing identifies patterns of global phylogenetic diversity. *Nat. Genet.* 2010; 42(12):1140–3.
- Wagner D.M., Klunk J., Harbeck M., Devault A., Waglechner N., Sahl J.W., Enk J., Birdsell D.N., Kuch M., Lumibao C., Poinar D., Pearson T., Fourment M., Golding B., Rheim J.M., Earn D.J., Dewitte S., Rouillard J.M., Grupe G., Wiechmann I., Bliska J.B., Keim P.S., Scholz H.C., Holmes E.C., Poinar H. *Yersinia pestis* and the Plague of Justinian 541–543 AD: a genomic analysis. *Lancet Infect. Dis.* 2014; 14(4):319–26.

- 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 E. Genetics of metabolic variations between *Yersinia pestis* biovars and proposal of a new biovar, microtus. *J. Bacteriol.* 2004; 186(15):5147–62.

References

- Eroshenko G.A., Odiokov 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. Immunobiol.* 2012; 3:25–35.
- Kukleva L.M., Protsenko O.A., Kutyrev V.V. [Modern views on the kinship of plague and pseudotuberculosis agents]. *Mol. Genet. Mikrobiol. Virusol.* 2002; 1:3–7.
- Kukleva L.M., Shavina N.Yu., Odiokov G.N., Oglodin E.G., Nosov N.Yu., Vinogradova N.A., Guseva N.P., Eroshenko G.A., Kutyrev V.V. [Analysis of diversity and identification of the genovariants of plague agent strains from Mongolia]. *Genetika.* 2015; 51(3):298–305.
- Kutyrev V.V., Protsenko O.A. [Classification and molecular-genetic investigations of *Yersinia pestis*]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 1998; 1(78):11–22.
- Odiokov G.N., Eroshenko G.A., Krasnov Ya.M., Kukleva L.M., Cherkasov A.V., Shavina N.Yu., Kutyrev V.V. [Analysis of the genome-wide sequence of *Yersinia pestis* strains based on the consecutive 680-SNP algorithm]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 3:49–54.
- Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors. [Natural Plague Foci of Caucasus, Caspian Sea Region, Central Asia, and Siberia]. M.: "Meditsina", 2004. 192 p.
- Platonov M.E., Evseeva V.V., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P. [Molecular typing of *Yersinia pestis*]. *Mol. Genet. Mikrobiol. Virusol.* 2013; 2:3–12.
- Timofeeva L.A. [Regarding taxonomy of plague microbe]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 1972; 1(23):15–20.
- Achtman M. Insights from genomic comparison of genetically monomorphic bacterial pathogen. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 2012; 367(1590):860–7.
- Achtman M., Zurth K., Morelli G., Torrea G., Guisoule A., Carniel E. *Yersinia pestis*, the cause of plague, is a recently emerged clone of *Yersinia pseudotuberculosis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 1999; 96(24):14043–8.
- Cui Y., Yu C., Yan Y., Li D., Li Y., Jombart T., Weinert L.A., Wang Z., Guo G., 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., Yang R. Historical variation in mutational rate in an epidemic pathogen *Yersinia pestis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2013; 110(2):577–82.
- Devignat R. Variétés de l'espèce *Pasteurella pestis*. *Bull. WHO.* 1951; 4(2):247–63.
- Eppinger M., Worsham P.L., Nikolich M.P., Riley D.R., Sebastian Y., Mou S., Achtman M., Lindler L.E., Ravel J. Genome sequence of the deep-rooted *Yersinia pestis* strain Angola reveals new insights into the evolution and pangenome of the plague bacterium. *J. Bacteriol.* 2010; 192(6):1685–99.
- 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.
- Garcia E., Worsham P., Bearden S., Malfatti S., Lang D., Larimer F., Lindler L., Chain P. Pestoides F, an atypical *Yersinia pestis* strain from the former Soviet Union. *Adv. Exp. Med. Res.* 2007; 603:17–22.
- Li Y., Cui Y., Hauck Y., Platonov M.E., Dai E., Song Y., Guo Z., Pourcel C., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P., Yang R., Vergnaud G. Genotyping and phylogenetic analysis of *Yersinia pestis* by MLVA: insights into the worldwide expansion of Central Asia plague foci. *PLoS ONE.* 2009; 4(6):e6000.
- Morelli G., Song Y., Mazzoni C.J., Eppinger M., Roumagnac P., Wagner D.M., Feldkamp M., Kusecek B., Vogler A.J., Li Y., Cui Y., Thomson N.R., Leblois R., Lichtner P., Rahalison L., Petersen J.M., Balloux F., Keim P., Wirth T., Ravel J., Yang R., Carniel E., Achtman M. *Yersinia pestis* genome sequencing identifies patterns of global phylogenetic diversity. *Nat. Genet.* 2010; 42(12):1140–3.
- Wagner D.M., Klunk J., Harbeck M., Devault A., Waglechner N., Sahl J.W., Birdsell D.N., Kuch M., Lumibao C., Poinar D., Pearson T., Fourment M., Golding B., Rheim J.M., Earn D.J., Dewitte S., Rouillard J.M., Grupe G., Wiechmann I., Bliska J.B., Keim P.S., Scholz H.C., Holmes E.C., Poinar H. *Yersinia pestis* and the Plague of Justinian 541–543 AD: a genomic analysis. *Lancet Infect. Dis.* 2014; 14(4):319–26.
- 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 E. Genetics of metabolic variations between *Yersinia pestis* biovars and proposal of a new biovar, microtus. *J. Bacteriol.* 2004; 186(15):5147–62.

Authors:

Eroshenko G.A., Krasnov Ya.M., Nosov N.Yu., Kukleva L.M., Nikiforov K.A., Oglodin E.G., Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Об авторах:

Ерошенко Г.А., Краснов Я.М., Носов Н.Ю., Куклева Л.М., Никифоров К.А., Оглодин Е.Г., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». 46, Университетская, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Поступила 30.11.15.

С.П.Заднова, Т.А.Кульшань, Н.Б.Челдышова, А.А.Крицкий, Н.А.Плеханов, Н.И.Смирнова

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЫЖИВАЕМОСТИ ТИПИЧНЫХ ШТАММОВ И ШТАММОВ ГЕНОВАРИАНТОВ *VIBRIO CHOLERAЕ* БИОВАРА ЭЛЬ ТОР *IN VITRO* И *IN VIVO*

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

Цель исследования состояла в проведении экспериментов по изучению выживаемости токсигенных штаммов геновариантов *V. cholerae* биовара Эль Тор в автоклавированной речной воде и организме лабораторных животных в сравнении с типичными штаммами. В результате установлено, что в автоклавированной речной воде геноварианты так же, как и типичные Эль Тор вибрионы выживали длительное время (свыше пяти месяцев). При этом количество микробных клеток в популяции типичных штаммов со временем уменьшалось, в то же время в штаммах геновариантов в период между 7-ми и 21-ми сутками наблюдался рост штаммов. На 7-е сутки КОЕ штаммов геновариантов превышало количество бактерий типичных штаммов в 1,5–2,5 раза, на 21-е – в 1,8–3,0 раза. Селективное преимущество геновариантов было также подтверждено при постановке конкурентной пробы *in vitro* (речная вода) с типичными штаммами. Геноварианты доминировали над типичными штаммами *V. cholerae* биовара Эль Тор и в смешанной популяции *in vivo* (биопробные животные). Так, КОЕ штаммов геновариантов при высеве кишечного содержимого и гомогената кишечной стенки превышало число клеток типичных штаммов в 1,25–84,0 раза. Высказано предположение, что одной из причин селективного преимущества геновариантов может быть их более высокий уровень адаптации в результате изменения метаболической активности клеток. Выявленная способность токсигенных штаммов геновариантов не только длительное время сохраняться в водоемах нашей страны, но и размножаться в них создает неблагоприятный прогноз по холере.

Ключевые слова: геноварианты *V. cholerae* биовара Эль Тор, выживаемость, речная вода, лабораторные животные.

S.P.Zadnova, T.A.Kul'shan', N.B.Cheldyshova, A.A.Kritsky, N.A.Plekhanov, N.I.Smirnova

Comparative Analysis of Survival Capacity among Typical and Genovariant Strains of *Vibrio cholerae*, Biovar El Tor *in vivo* and *in vitro*

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

Objective of the study was to conduct experiments on survival capacity of toxigenic genovariant strains as compared to typical strains of *V. cholerae*, biovar El Tor in autoclaved river water and in the organism of laboratory animals. Consequently, it was determined that both, genovariant and typical El Tor vibrios, sustained for a significant period of time (more than 5 months) in the river water, though a number of the bacterial cells in the population of the typical ones gradually decreased, while in the genovariant strains – the growth was observed in between the 7th and 21st day. CFU of the genovariants was 1.5–2.5 and 1.8–3.0 times higher than the amount of typical strain bacteria on the day 7 and day 21, respectively. Selective advantage of genovariants was also confirmed by competitive test *in vitro*. Furthermore, genovariants dominated over typical strains of *V. cholerae*, biovar El Tor in the mixed population *in vivo* (bioassay animals): CFU of the genovariants 1.25–84.0 times exceeded that of the typical strains when seeding out the contents of intestine and gastrointestinal wall homogenate. Put forward was an assumption that one of the factors for genovariant selective advantage might be enhanced adaptation ability affected by changes of cell metabolic activity. Identified capacity of genovariant toxigenic strains – not only to sustain in open water bodies of our country, but also to propagate in there, creates unfavorable epidemiological situation on cholera.

Key words: genovariants of *Vibrio cholerae*, biovar El Tor, survival capacity, river water, laboratory animals.

Способность выживать и размножаться в различных условиях внешней среды является одним из важных свойств многих патогенных бактерий и предпосылкой для развития инфекционных болезней. К данной группе патогенов относится и холерный вибрион – *Vibrio cholerae*, который может существовать как в организме человека, так и в воде открытых водоемов. При попадании в кишечник человека токсигенные штаммы *V. cholerae* O1 и O139 серогрупп продуцируют факторы вирулентности, необходимые для преодоления защитной системы хозяина, и вызывают холеру – особо опасную инфекционную болезнь, характеризующуюся профузной диареей и способной к быстрому эпидемическому распространению. Во

внешней среде активно экспрессируются гены персистенции, способствующие адаптации *V. cholerae* при смене среды обитания и выживанию в данных условиях [8, 10]. В результате интенсивного изучения вопросов экологии холерного вибриона установлено, что типичные токсигенные штаммы *V. cholerae* биовара Эль Тор, вызвавшие начало текущей, 7-й, пандемии холеры в отличие от штаммов *V. cholerae* классического биовара (возбудителя предыдущей 6-й пандемии холеры) способны быстро адаптироваться при смене среды обитания и длительное время сохраняться во внешней среде [1, 2, 7, 8, 11].

В настоящее время возбудителями холеры являются токсигенные штаммы геновариантов

V. cholerae биовара Эль Тор, содержащих в профаге вирулентности СТХф классический аллель гена *ctxB* (или *ctxB1*) и отличающихся от типичных Эль Тор вибрионов повышенной вирулентностью [12]. Геноварианты *V. cholerae* биовара Эль Тор получили глобальное распространение в мире, вытеснив на эндемичной территории типичные штаммы, и с 1993 г. явились причиной всех вспышек и спорадических случаев холеры, зарегистрированных в Российской Федерации [3, 5, 6]. В последние годы (2005, 2011, 2014) геноварианты обнаруживаются и при мониторинговых исследованиях в воде открытых водоемов на разных территориях России [4]. При этом, несмотря на активно проводимый молекулярно-генетический анализ, вопросы экологии штаммов геновариантов изучены недостаточно. В связи с вышеизложенным цель нашего исследования состояла в проведении экспериментов по изучению выживаемости токсигенных штаммов геновариантов *V. cholerae* биовара Эль Тор в автоклавированной речной воде и организме лабораторных животных в сравнении с типичными штаммами.

Материалы и методы

В работе были использованы 46 штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор, выделенных от больных, носителей и внешней среды в 1970–2012 гг. и хранящихся в лиофилизированном состоянии в Государственной

коллекции патогенных бактерий (РосНИПЧИ «Микроб», Саратов). Среди изученных 24 штамма относились к типичным Эль Тор вибрионам, а 22 – к геновариантам *V. cholerae* биовара Эль Тор (табл. 1). Культивирование штаммов осуществляли на среде LB в течение 16–18 ч при температуре 37 °С.

Для определения выживаемости штаммов в водной среде из агаровой культуры каждого штамма готовили взвесь $1 \cdot 10^9$ КОЕ/мл, используя в качестве стандарта отраслевой стандартный образец ОСО 42-28-59-86П. Затем 0,5 мл приготовленной взвеси помещали во флаконы с 50 мл автоклавированной речной воды.

Конкурентные способности штаммов определяли по методу R.Freter *et al.* [9] с модификациями путем посева смеси клеток двух сравниваемых штаммов в стерилизованную речную воду и последующего сравнения их выживаемости. Из бактериальных культур тестируемых штаммов, выращенных на LB агаре при температуре 37 °С, готовили суспензии одинаковой оптической плотности, определяя ее на спектрофотометре «Biowave DNA» (США). Полученные суспензии разводили до концентрации $1 \cdot 10^7$ м.к. Взвеси сравниваемых штаммов вносили по 0,5 мл в 4,5 мл стерилизованной речной воды так, чтобы конечная концентрация каждого штамма составляла $5 \cdot 10^6$ м.к./мл. Кроме того, параллельно каждый из сравниваемых штаммов помещали в отдельную пробирку со стерильной речной водой в той же концентрации для

Таблица 1

Штаммы <i>V. cholerae</i> биовара Эль Тор, использованные в работе		
Штамм	Место и год выделения	Источник выделения
Типичные штаммы Эль Тор вибрионов		
M818	Саратов, 1970	Больной
M886, M887, M888, M889, M890, M892, M893, M905, M943, M982, M1055	Астрахань, 1970	Больные
M1061	Астрахань, 1970	Вибрионотель
M1062	Астрахань, 1970	Контактный
P3644, P3646, M962	Астрахань, 1970, 1972	Внешняя среда
M1011	Башкирия, 1972	Больной
M641, M642	Астрахань, 1975	Контактные
M1261, C402	Пермь, Ставрополь, 1990	Больной
P14380, P14376	Ростов-на-Дону, 1990	Больной
Геноварианты		
M1270	Казань, 1993	Больной
M1298, M1299, M1264	Краснодар, 1993	Больные
M1275, M1293	Дагестан, 1993, 1994	Больные
M1266, M1268	Пермь, Магнитогорск, 1994	Больные
P17644, P17645	Иркутск, 1997	Больные
M1326, M1328	Дагестан, 1998	Больной
M1344, M1345	Казань, 2001	Больной
M1429	Башкирия, 2004	Больной
M1430	Тверь, 2005	Больной
P18899	Мурманск, 2006	Больной
L3225, L3226, L4150	Москва, 2010	Больные
301	Таганрог, 2011	Внешняя среда
M1509	Москва, 2012	Больной

учета характера роста и выживаемости. Высевы делали на 4–7, 8–11, 15–24 и 71-е сутки совместного культивирования тестируемых штаммов на чашки с LB агаром, содержащим соответствующий антибиотик, подсчитывая число выросших колоний.

Постановку конкурентной пробы *in vivo* проводили в лигированных петлях тонкой кишки взрослых кроликов [13] с небольшими модификациями. В лигированные петли длиной 10–12 см вводили 1 мл суспензии, содержащей смесь клеток двух штаммов (типичный и геновариант) в концентрации $5 \cdot 10^6$ КОЕ/мл каждого штамма. Через 24 ч после заражения животных забивали хлороформом, вскрывали брюшную полость, извлекали петли тонкого кишечника. Отбирали кишечное содержимое лигированных петель и забирали их отрезки длиной 3 см. Взятые отрезки растирали в фарфоровой ступке с 1 см³ стерильного кварцевого песка и 5 мл 0,9 % раствора хлорида натрия. Затем из соответствующих разведений кишечного содержимого и растертых стенок тонкого кишечника делали высев на LB агар, содержащий определенный антибиотик, и подсчитывали число выросших колоний. Эксперименты на биомоделях проводили с соблюдением принципов гуманного обращения с лабораторными животными.

Выделение ДНК осуществляли с использованием коммерческого набора «ДНК-сорб В» в соответствии с инструкцией производителя из суспензии бактериальных клеток, предварительно обработанных мертиолятом натрия до конечной концентрации 1:10000 (0,01 %) и прогретых при 56 °С в течение 30 мин согласно МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности». При постановке полимеразной цепной реакции использовали олигонуклеотидные праймеры, описанные ранее [6] и синтезированные в ЗАО «Синтол» (Россия). Амплификацию ДНК осуществляли на программируемом амплификаторе «Терцик» («ДНК-Технология», Россия). Полученные продукты анализировали методом электрофореза в 2 % агарозном геле.

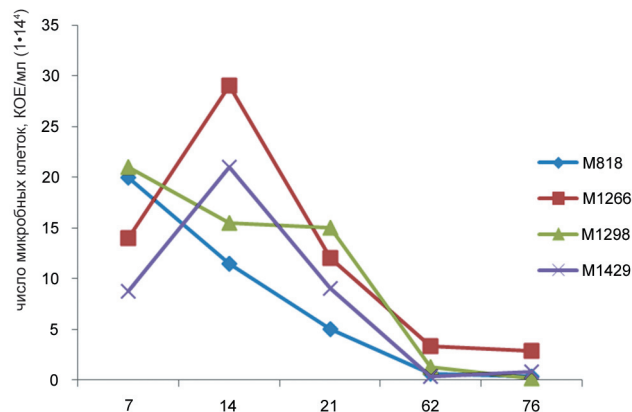
Результаты и обсуждение

На первом этапе работы все взятые штаммы были проверены с помощью ПЦР-тестирования на наличие 30 генов, входящих в состав мобильных генетических элементов (профагов CTXφ (*ctxA*, *ctxB*, *zot*, *ace*, *cep*, *orfU*, *rstR*, *rstA*, *rstB*) и RS1φ (*rstC*), островов патогенности VPI-1 (*mop*, *tcpA*, *tcpB*, *aldA*, *tcpH*, *tcpP*, *toxT*) и VPI-2 (*hel1760*, *nanH*, *rep1803*), островов пандемичности VSP-I (*deo175*, *tnp0185*, *pro0490*) и VSP-II (*vc0514*, *vc0502*) и коровой части хромосомы (*mshA*, *attRS*, *toxR*, *rtxA*, *hapA*). В результате установлено, что независимо от года, территории и источника выделения как типичные штаммы, так и геноварианты содержали тестируемые гены мобильных генетических элементов и коровой обла-

сти хромосомы и являлись вирулентными.

Затем исследованные штаммы были помещены в одинаковые условия, моделирующие пребывание холерных вибрионов в естественной водной среде. В качестве среды обитания использовали автоклавированную речную воду. Посевы инкубировали при комнатной температуре (20–22 °С), делая высевы на чашки с питательным агаром через каждые семь дней по 0,1 мл контаминированной речной воды на протяжении всего срока наблюдения. В результате установлено, что изученные штаммы геновариантов *V. cholerae* биовара Эль Тор так же, как и типичные Эль Тор вибрионы, способны длительное время (свыше пяти месяцев, срок наблюдения) выживать в речной воде при комнатной температуре. Однако геноварианты лучше адаптировались в данной среде. Так, нами было выявлено, что количество микробных клеток в популяции типичных штаммов со временем уменьшалось, в то же время снижение КОЕ в популяции всех изученных штаммов геновариантов происходило скачкообразно и наблюдались периоды увеличения количества высеваемых бактерий, что указывает на рост штаммов (рисунок). При этом рост штаммов наблюдался в период между 7-ми и 21-ми сутками. Так, на 7-е сутки КОЕ штаммов геновариантов превышало количество бактерий типичных штаммов в 1,5–2,5 раза, а на 21-е – в 1,8–3,0 раза. В последующие дни количество бактерий геновариантов также постепенно снижалось.

Согласно данным литературы, с приобретением нового генетического материала (аллель *ctxB1*) в штаммах геновариантов не только повысилась вирулентность, но и изменился метаболизм клеток [15]. Выявленная нами способность штаммов геновариантов расти в условиях недостатка питательных веществ, возможно, связана с их лучшей адаптацией к изменяющимся условиям внешней среды. Повышение адаптационных способностей могло произойти в результате изменения метаболической активности клеток и повышения скорости их роста. Однако для подтверждения данного предположения необходимы дополнительные исследования.



Динамика выживаемости некоторых типичных штаммов и геновариантов *V. cholerae* биовара Эль Тор в речной воде (приведены средние данные трех экспериментов):

M818 – типичный штамм; M1266, M1298, M1429 – геноварианты

Таким образом, исследованные штаммы геновариантов *V. cholerae* биовара Эль Тор при попадании в речную воду способны не только в ней сохраняться, но и увеличивать численность популяции, в отличие от типичных штаммов, популяция которых постепенно погибала.

Учитывая, что геноварианты в настоящее время полностью вытеснили типичные штаммы *V. cholerae* биовара Эль Тор на эндемичной территории, на следующем этапе исследований мы определяли конкурентную способность типичных штаммов и геновариантов при их совместном обитании в водной среде и в организме лабораторных животных. Для проведения данных исследований были подобраны три пары токсигенных штаммов, выделенных на территории России в разные периоды текущей пандемии. Типичные штаммы (M1011, M1062, M893) были изолированы в 1970–1972 гг., штаммы геновариантов (M1270, P17644, 301) – в 1993–2011 гг. (табл. 1). Предварительно для дифференциации штаммов были получены клоны, резистентные к определенному антибиотику – спектиномицину (M1270 Sp^R, P17644 Sp^R, 301 Sp^R), рифампицину (M1062 Rif^R, M893 Rif^R) и канамицину (M1011 Km^R). За весь период наблюдения было установлено, что в бактериальных популяциях типичные штаммы имели более низкий уровень выживаемости по сравнению с геновариантами (табл. 2).

Так, в конкурентной пробе M1011 Km^R и M1270 Sp^R количество геновариантов уже на 2-е сутки превышало количество типичных штаммов в 38,8 раз. На 6-е сутки их совместной инкубации наблюдалось отсутствие роста на среде с канамицином типичных штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор на фоне активного роста на среде со спектиномицином геновариантов, чья популяция сократилась незначительно. Подобная картина наблюдалась и при высеве других сравниваемых штаммов бактерий из конкурентных проб. В популяции штаммов 301Sp^R и M893Rif^R на 4-е сутки исследования уровень обоих штаммов клеток был примерно одинаковым. Однако на 18-е и 20-е сутки КОЕ типичных штаммов было соответственно в 2,5 и 3,2 раза меньше, чем генова-

риантов, а в пробе M1062Rif^R/P17644Sp^R КОЕ геновариантов превышало количество бактерий у типичных штаммов в указанные периоды времени в 1,7 и 11,0 раз (табл. 2).

При совместном культивировании типичных штаммов и геновариантов *V. cholerae* биовара Эль Тор в речной воде при комнатной температуре уровень выживаемости геновариантов был гораздо выше, чем типичных штаммов.

Особый интерес представляло сравнение жизнеспособности типичных штаммов и геновариантов *V. cholerae* биовара Эль Тор в организме чувствительных лабораторных животных. В связи с этим следующим этапом работы явилась постановка конкурентной пробы указанных выше пар штаммов в лигированных петлях тонкой кишки взрослых кроликов. В результате установлено, что как при высеве кишечного содержимого, так и гомогената кишечной стенки количество клеток штаммов геновариантов *V. cholerae* биовара Эль Тор в трех изучаемых парах превышало число клеток типичных штаммов в 1,25–84,0 раза (табл. 2).

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что изученные штаммы геновариантов *V. cholerae* биовара Эль Тор способны не только длительное время выживать в речной воде, но и размножаться в ней. Увеличение численности популяции токсигенных штаммов геновариантов, отличающихся повышенной вирулентностью, при попадании их в поверхностные водоемы нашей страны в летнее время создаст реальную угрозу попадания их в организм человека и развития заболевания. Также показано, что и в речной воде, и в организме биопробных животных в смешанной популяции геноварианты доминируют над типичными штаммами *V. cholerae* биовара Эль Тор уже через короткий период их совместного обитания. Возможно, одной из причин селективного преимущества геновариантов в природных популяциях является их более высокий уровень адаптации к окружающей среде по сравнению с типичными штаммами в результате изменения метаболической активности клеток. Дальнейшее изучение механизмов выживания штаммов геновари-

Таблица 2

Результаты определения выживаемости типичных штаммов и геновариантов *V. cholerae* биовара Эль Тор в речной воде и в лигированных петлях тонкой кишки взрослых кроликов, по данным конкурентной пробы

Штаммы	Количество КОЕ/мл*, определенное в водной среде через					Кишечное содержимое, КОЕ/мл*	Стенки тонкого кишечника, КОЕ/мл*
	2 сут	4 сут	6 сут	18 сут	20 сут		
M1011 Km ^R	2,4·10 ⁴	1,06·10 ⁴	0	0	н.о.	0,03·10 ⁸	0,02·10 ⁸
M1270 Sp ^R	9,32·10 ⁵	8,22·10 ⁵	6,4·10 ⁴	4,5·10 ⁴	н.о.	2,52·10 ⁸	3,35·10 ⁸
M1062 Rif ^R	н.о.	2,0·10 ⁴	н.о.	1,05·10 ⁴	1,0·10 ³	0,65·10 ⁸	0,65·10 ⁸
P17644 Sp ^R	н.о.	6,04·10 ⁴	н.о.	2,5·10 ⁴	1,1·10 ⁴	1,64·10 ⁸	0,87·10 ⁸
M893 Rif ^R	н.о.	5,1·10 ⁵	н.о.	1,24·10 ⁴	1,0·10 ⁴	4,0·10 ⁶	1,64·10 ⁸
301 Sp ^R	н.о.	5,3·10 ⁵	н.о.	4,0·10 ⁴	3,2·10 ⁴	5,0·10 ⁶	2,4·10 ⁸

Примечания: н.о. – не определяли; M1270 Sp^R, P17644 Sp^R, 301 Sp^R – геноварианты; M1011 Km^R, M1062 Rif^R, M893 Rif^R – типичные штаммы; КОЕ/мл* – средние значения 3 экспериментов.

антов, а также выявление факторов внешней среды (макроорганизма), обеспечивающих им селективное преимущество, может внести существенный вклад в понимание природы адаптационной изменчивости *V. cholerae*.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бароян О.В. Холера Эль-Тор. 2-е изд. перераб. и доп. М.: Медицина; 1971. 256 с.
2. Марамонович А.С., Урбанович Л.Я., Куликалова Е.С., Шкаруба Т.Т. Роль и значение поверхностных водоемов в становлении и развитии VII пандемии холеры. *Эпидемиол. и инф. бол.* 2009; 2:21–6.
3. Миронова Л.В., Бадахонов С.В., Урбанович Л.Я., Кожевникова А.С., Половинкина В.С., Куликалова Е.С., Афанасьев М.В. Молекулярно-генетический анализ эпидемически опасных штаммов *Vibrio cholerae eltor*, изолированных в Сибирском и Дальневосточном регионах России. *Мол. генет., микробиол. и вирусол.* 2012; 2:13–21.
4. 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. *Пробл. особо опасных инф.* 2015; 1:18–25.
5. Савельев В.Н., Савельева И.В., Васильева О.В., Бабенышев Б.В., Ковалев Д.А., Грижебовский Г.М., Антоненко А.Д., Курбанов Ш.Х., Бутаев Т.М., Куличенко А.Н. Эволюция *Vibrio cholerae eltor* и обнаружение их генотипических вариантов на Кавказе. *Пробл. особо опасных инф.* 2012; 4(114):58–60.
6. Смирнова Н.И., Заднова С.П., Шашкова А.В., Кутырев В.В. Вариативность генома измененных вариантов *Vibrio cholerae* биовара Эль-Тор, изолированных на территории России в современный период. *Мол. генет., микробиол. и вирусол.* 2011; 3:11–8.
7. Хайтович А.Б., Михайлова А.Е. Факторы сохранения холерных вибрионов в водоемах. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* 2000; 6:99–104.
8. Faruque S.M., Nair G.B. *Vibrio cholerae*: Genomics and Molecular Biology. Caister Academic Press; 2008.
9. Freter R., O'Brien P.C., Macsai M.S. Role of chemotaxis in the association of motile bacteria with intestinal mucosa: *in vivo* studies. *Infect. Immun.* 1981; 34(1):234–40.
10. Kaper J.B., Morris J., Levin M. Cholera. *Clin. Microbiol. Rev.* 1995; 8(1):48–89.
11. Lutz C., Erken M., Noorian P., Sun S., McDougald D. Environmental reservoirs and mechanism persistence of *Vibrio cholerae*. *Front. Microbiol.* 2013; 4:375. DOI: 10.3389/fmicb.2013.00375.
12. Nair G.B., Qadri F., Holmgren J., Svennerholm A.M., Saka A., Bhuiyan N.A., Ahmad Q.S., Faruque S.M., Faruque A.S.G., Takeda Y., Sack D.A. Cholera due to altered El Tor strains of *Vibrio cholerae* O1 in Bangladesh. *J. Clin. Microbiol.* 2006; 44(11):4211–3.
13. Pierce N.F., Cray W.C., Kaper J.B., Mekalanos J.J. Determinants of immunogenicity and mechanisms protection by virulent and mutant *Vibrio cholerae* O1 in rabbits. *Infect. Immun.* 1988; 56(1):142–8.

14. Son M.S., Megli C.J., Kovacicova G., Qadri F., Taylor R.K. Characterization of *Vibrio cholerae* O1 El Tor biotype variant clinical isolates from Bangladesh and Haiti, including a molecular genetic analysis of virulence genes. *Infect. Immun.* 2011; 49:3739–49.

References

1. Baroyan O.V. [Cholera El Tor]. Second edition. Updated and revised. M.: Meditsina; 1971. 256 p.
2. Maramovich A.S., Urbanovich L.Ya., Kulikalova E.S., Shkaruba T.T. [Role and significance of surface water bodies in emergence and development of the seventh cholera pandemic]. *Epidemiol. Infek. Bol.* 2009; 2:21–6.
3. Mironova L.V., Balakhonov S.V., Urbanovich L.Ya., Kozhevnikova A.S., Polovinkina V.S., Kulikalova E.S., Afanas'ev M.V. [Molecular-genetic analysis of epidemically hazardous *Vibrio cholerae eltor* strains isolated in Siberian and Far East Regions of the Russian Federation]. *Mol. Genet. Mikrobiol. Virusol.* 2012; 2:13–21.
4. 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]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2015; 1:18–25.
5. Savel'ev V.N., Savel'eva I.V., Vasil'eva O.V., Babenyshev B.V., Kovalev D.A., Grizhebovsky G.M., Antonenko A.D., Kurbanov Sh.Kh., Butaev T.M., Kulichenko A.N. [Evolution of *Vibrio cholerae* El Tor and detection of their genovariants in the Caucasus]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2012; 4(114):58–60.
6. Smirnova N.I., Zadnova S.P., Shashkova A.V., Kutyrev V.V. [Genome variability in the altered variants of *Vibrio cholerae*, biovar El Tor, isolated in the territory of Russia in the modern period]. *Mol. Genet. Mikrobiol. Virusol.* 2011; 3:11–8.
7. Khaitovich A.B., Mikhailova A.E. [Factors contributing to cholera vibrio sustainability in surface water bodies]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2000; 6:99–104.
8. Faruque S.M., Nair G.B. *Vibrio cholerae*: Genomics and Molecular Biology. Caister Academic Press; 2008.
9. Freter R., O'Brien P.C., Macsai M.S. Role of chemotaxis in the association of motile bacteria with intestinal mucosa: *in vivo* studies. *Infect. Immun.* 1981; 34(1):234–40.
10. Kaper J.B., Morris J., Levin M. Cholera. *Clin. Microbiol. Rev.* 1995; 8(1):48–89.
11. Lutz C., Erken M., Noorian P., Sun S., McDougald D. Environmental reservoirs and mechanism persistence of *Vibrio cholerae*. *Front. Microbiol.* 2013; 4:375. DOI: 10.3389/fmicb.2013.00375.
12. Nair G.B., Qadri F., Holmgren J., Svennerholm A.M., Saka A., Bhuiyan N.A., Ahmad Q.S., Faruque S.M., Faruque A.S.G., Takeda Y., Sack D.A. Cholera due to altered El Tor strains of *Vibrio cholerae* O1 in Bangladesh. *J. Clin. Microbiol.* 2006; 44(11):4211–3.
13. Pierce N.F., Cray W.C., Kaper J.B., Mekalanos J.J. Determinants of immunogenicity and mechanisms protection by virulent and mutant *Vibrio cholerae* O1 in rabbits. *Infect. Immun.* 1988; 56(1):142–8.
14. Son M.S., Megli C.J., Kovacicova G., Qadri F., Taylor R.K. Characterization of *Vibrio cholerae* O1 El Tor biotype variant clinical isolates from Bangladesh and Haiti, including a molecular genetic analysis of virulence genes. *Infect. Immun.* 2011; 49:3739–49.

Authors:

Zadnova S.P., Kul'shan' T.A., Cheldyshova N.B., Kritsky A.A., Plekhanov N.A., Smirnova N.I. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Об авторах:

Заднова С.П., Кульшань Т.А., Челдышова Н.Б., Крицкий А.А., Плеханов Н.А., Смирнова Н.И. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Поступила 03.07.15.

Е.В.Казорина¹, Т.Ю.Красовская¹, Е.В.Найденова¹, А.В.Казанцев¹, Е.Н.Калинина², Э.А.Федотов²,
С.А.Щербакова¹

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ГЕМОТРАНСФУЗИОННОЙ ПЕРЕДАЧИ ВИРУСА ЗАПАДНОГО НИЛА НА ТЕРРИТОРИИ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

¹ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация; ²ГУЗ «Саратовская областная станция переливания крови», Саратов, Российская Федерация

С целью выявления риска гемотрансфузионной передачи вируса Западного Нила на территории Саратовской области в ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» проведено исследование 1760 образцов сывороток крови и 270 образцов крови доноров, проживающих на территории области, направленное на выявление маркеров, свидетельствующих о недавнем инфицировании этим вирусом. В результате исследования выявлены IgM и/или низкоавидные IgG, указывающие на недавний контакт с возбудителем. Полученные результаты показывают возможность реализации гемотрансфузионного механизма передачи вируса Западного Нила на территории Саратовской области в сезон его передачи. В дальнейшем планируется продолжить исследования с помощью 2 методов: ИФА и ПЦР-анализа, тестируя индивидуально биологический материал от каждого донора.

Ключевые слова: вирус Западного Нила, лихорадка Западного Нила, скрининговые исследования крови доноров, гемотрансфузионный механизм передачи вируса Западного Нила.

E.V.Kazorina¹, T.Yu.Krasovskaya¹, E.V.Naidenova¹, A.V.Kazantsev¹, E.N.Kalinina², E.A.Fedotov²,
S.A.Shcherbakova¹

Feasibility Study on Hemotransfusion Transmission of West Nile Fever Virus in the Territory of the Saratov Region

¹Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation; ²Saratov Regional Hemotransfusion Station, Saratov, Russian Federation

In order to identify the risk of hemotransfusion transmission of West Nile virus in the territory of the Saratov Region, carried out has been analysis of 1760 blood sera and 270 blood samples from donors residing in the Region, intended to detect markers, indicating recent infection with the virus. Consequently, identified have been IgM and/or low-avid IgG suggestive of a late contact with the agent. The data obtained demonstrate the feasibility of realization of hemotransfusion mechanism for West Nile virus transmission in the territory of the Saratov Region in a particular season. It is planned to continue investigations, applying 2 analytical methods: ELISA and PCR, with individual testing of biological material from each donor.

Key words: West Nile virus, West Nile fever, screening of donor blood samples, hemotransfusion mechanism for West Nile virus transmission.

Основной механизм передачи вируса Западного Нила (ВЗН), являющегося возбудителем природно-очаговой инфекционной болезни – лихорадки Западного Нила (ЛЗН) – трансмиссивный [1, 5]. В последнее время доказаны гемотрансфузионный, трансплантационный, вертикальный (трансплацентарный) механизмы передачи, при кормлении грудным молоком и возможность лабораторного заражения [1, 5, 10, 15]. В 80–90 % случаев ЛЗН протекает бессимптомно, но сопровождается специфической реакцией иммунной системы [1, 5]. Доноры крови или ее компонентов с субклинической (бессимптомной) формой в стадии вирусемии являются источником заражения реципиентов лихорадкой Западного Нила [9], которое у пациентов в состоянии иммуносупрессии может привести к летальному исходу (при развитии симптомов тяжелой формы с поражением центральной нервной системы) [10]. Длительность вирусемии в среднем составляет 6–10 дней, но у больных с иммунодефицитом может достигать 22–28 дней [1, 5].

Некоторыми исследователями было показано, что ВЗН обладает способностью связываться с компонентами эритроцитов, и вирусная нагрузка в эритроцитах может превышать вирусную нагрузку в

плазме. Это свидетельствует о более высокой опасности переливания препаратов крови, содержащих эритроциты, и необходимости тестирования для исключения вирусемии не только образцов сыворотки, но и фракций крови, содержащих эритроциты [11].

Впервые подозрения о существовании гемотрансфузионного механизма передачи ВЗН возникли у американских ученых в 2002 г., когда 23 человека в США заболели после переливания крови или ее компонентов от 16 доноров [14]. Для исключения гемотрансфузионной передачи вируса на территории США, эндемичной по ЛЗН, с 1 июня 2003 г. проводится тестирование крови доноров [7, 8, 9, 13]. Исследование осуществляется методом ПЦР с целью выявления РНК ВЗН [7, 8, 9, 13]. Подобные скрининговые исследования выполняются и в ряде стран Европы. Рабочая группа экспертов Евросоюза по ЛЗН рекомендует при регистрации первого случая нейроинвазивной формы этой болезни в регионе вводить скрининг крови доноров с помощью ПЦР для обеспечения безопасности гемотрансфузии [4]. Тестирование крови проводят, используя формат минипулов, объединяя образцы крови 6–16 доноров. При выявлении в пуле РНК ВЗН материал от каж-

дого донора исследуют индивидуально [7]. С июня по декабрь 2003 г. в США осуществили скрининг порядка 6 млн образцов донорской крови, в результате чего более чем в 818 образцах обнаружена РНК ВЗН [9, 13]. По данным другого источника, с 1 июля по 31 октября 2003 г. проведено тестирование 4585573 образцов донорской крови, в 944 из них обнаружена РНК вируса [8]. В период 2003–2005 гг. в 41 штате выявлены 1425 образцов крови доноров, полученных в стадии клинически бессимптомной вiremии [2].

Несмотря на введение обязательного скрининга, в США отмечались случаи ЛЗН после переливания крови и ее компонентов: по одному лабораторно подтвержденному случаю в 2003 и 2004 гг. [12], в 2006 и 2008 гг. – по два случая от одного инфицированного донора [17]. Случаи гемотрансфузионной передачи ВЗН зарегистрированы также и в странах Европы: 2008 г. – в Румынии (2 случая), Венгрии (14) и Италии (4); 2010 г. – в Греции [3].

Принимая во внимание наличие природных и антропоургических очагов ЛЗН, а также активную циркуляцию ВЗН на значительной части территории Российской Федерации, в последние годы начинается изучение возможности гемотрансфузионной передачи ВЗН на территории эндемичных по ЛЗН регионов. Подобное исследование проведено в Волгоградской области, где сформирован очаг с многолетней активностью [3].

Исследования донорской крови были организованы и в Саратовской области, где отмечается формирование очага ЛЗН: циркуляция ВЗН подтверждена выявлением маркеров вируса в полевом материале, антител к вирусу у населения области и сельскохозяйственных животных, а также регистрацией с 2012 г. больных.

Целью работы является выявление риска гемотрансфузионной передачи ВЗН на территории Саратовской области, разработка и апробация алгоритма тестирования донорской крови для исключения этого механизма заражения.

Задачи исследования: выявление маркеров иммунного ответа к ВЗН в образцах сывороток крови доноров; определение РНК ВЗН в образцах донорской крови.

Материалы и методы

В ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» проведены исследования биологического материала (образцы сывороток и крови) от 1760 доноров. Материал получен из ГУЗ «Саратовская областная станция переливания крови»: сыворотки – в период с сентября по ноябрь 2014 г., кровь – с 22 сентября по 1 октября. Все обследуемые – жители Саратова и Саратовской области.

Доставка материала осуществлялась с соблюдением холодовой цепи. Пробоподготовка проводилась сразу после его доставки в лабораторию: биологический материал от каждого донора разделили на аликвоты и заморозили (сыворотки хранились при минус 20 °С, кровь – при минус 70 °С).

Исследование проводилось ретроспективно, по мере накопления материала.

Проведен скрининг 1760 образцов сывороток крови и 270 образцов крови доноров. Из них 526 доноров являются жителями Саратова, остальные (1234 чел.) – различных районов Саратовской области (таблица).

Сыворотки крови исследовали на наличие антигенов класса IgG к ВЗН, затем образцы, в которых зарегистрированы антитела, тестировали с целью обнаружения антител класса IgM к ВЗН. При выявлении IgM, определяли их титр, при выявлении IgG – авидность. Образцы крови исследовали на наличие РНК ВЗН.

Антитела определяли с помощью иммуноферментного анализа (ИФА). Использовали диагностические препараты отечественного и зарубежного производства: набор реагентов для выявления антигенов вируса Западного Нила и антител к нему методом иммуноферментного анализа «БиоСкрин-ВЗН» (комплект «G» и комплект «M») производства ЗАО БТК «Биосервис» (Боровск, Россия); «Вирус лихорадки Западного Нила IgM, полуколичественно», «Вирус лихорадки Западного Нила IgG, количественно» и «Вирус Западного Нила авидность IgG антител» производства «Euroimmun AG» (Германия). Выявление РНК ВЗН с помощью ОТ-ПЦР проводили, используя набор реагентов «АмплиСенс *WNV-Fl*» производства ООО «ИнтерЛабСервис» (Москва, Россия).

Все указанные диагностикумы зарегистрированы в Российской Федерации. Исследования проводили в соответствии с инструкциями по применению тест-систем, а также в соответствии с действующими методическими указаниями: МУ 3.1.3.2600-10 «Мероприятия по борьбе с лихорадкой Западного Нила на территории Российской Федерации», МУК 4.2.3009-12 «Порядок организации и проведения лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней».

Статистическую обработку данных, полученных при исследовании биологического материала от доноров, проводили по методике В.Ю.Урбаха [6].

Результаты и обсуждение

При исследовании 1760 образцов сывороток крови доноров выявлены маркеры иммунного ответа к ВЗН. У 59 (3,4±0,4) % доноров зарегистрированы антитела класса IgG к ВЗН. Образцы, содержащие IgG, протестированы для определения авидности антител с целью оценки давности инфицирования. В соответствии с инструкцией к использованной тест-системе индекс относительной авидности до 40 % указывает на присутствие антител с низкой авидностью, более 60 % – с высокой авидностью. Выявление низкоавидных антител свидетельствует о недавнем инфицировании (в течение ближайших 2–3 месяцев), а высокоавидных – о более давнем контакте с возбудителем. В двух случаях из 59 выявлены низкоавидные антитела класса IgG к ВЗН, наличие которых указывает на не-

Результаты исследования сывороток доноров на выявление антител к ВЗН

Район	Кол-во обследо- ванных доноров	Кол-во доноров с выявленными маркерами ВЗН		Выявленный маркер ВЗН		
		абсолютная величина	%	IgM	IgG	
					низкоавидные	высокоавидные
Саратов	526	18	3,4±0,8	3	1	17
Балаковский район	142	0		0	0	0
Марковский район	115	4	3,5±1,7	0	0	4
Вольский район	107	2	1,9±1,3	0	0	2
Аркадакский район	102	4	3,9±1,9	0	0	4
Балашовский район	92	0		0	0	0
Александрово-Гайский район	78	3	3,8±2,2	0	1	2
Ивантеевский район	69	4	5,8±2,8	0	0	4
Озинский район	68	3	4,4±2,5	0	0	3
Петровский район	63	0		0	0	0
Ртищевский район	60	3	5±2,8	1	0	3
Энгельский район	53	1	1,9±1,9	1	0	1
Калининский район	51	2	3,9±2,7	0	0	2
Краснокутский район	45	9	20±6,0	1	0	9
Лысогорский район	45	0		0	0	0
Татищевский район	36	1	2,8±2,8	0	0	1
Новобураасский район	32	0		0	0	0
Ровенский район	24	3	12,5±6,9	1	0	3
Новоузенский район	22	2	9±6,2	0	0	2
Пугачевский район	21	0		0	0	0
Базарно-Карабулакский район	3	0		0	0	0
Аткарский район	2	0		0	0	0
Балтайский район	2	0		0	0	0
Екатериновский район	1	0		0	0	0
Красноармейский район	1	0		0	0	0

давно перенесенную инфекцию. У 7 человек, помимо IgG, зарегистрированы IgM к ВЗН.

Среди доноров, у которых выявлен иммунный ответ к ВЗН, 18 – жители Саратова (30,5±6,0) %: Ленинского района – 9 человек, Заводского – 5, Кировского – 2, Октябрьского – 1 и Фрунзенского – 1. Остальные серопозитивные лица (41 человек – (69,5±6,0) % были жителями районов Саратовской области (таблица). Из 38 районов Саратовской области исследован материал от доноров из 24 районов. Положительный результат зафиксирован у жителей 13 районов.

Из двух доноров, в сыворотке которых выявлены IgG с низкой авидностью, один является жителем Саратова (индекс относительной авидности – 22 %), второй – Александрово-Гайского района Саратовской области (34 %). Трое из семи человек, у которых зарегистрированы IgM к ВЗН, – жители Саратова, остальные – из Ртищевского (1 человек), Краснокутского (1), Ровенского (1) районов и Энгельса (1). В 6 случаях титр IgM составил 1:100, в одном – 1:800. Антитела класса IgG, выявленные в сыворотке крови донора с высоким титром IgM, характеризовались как низкоавидные, что подтверждает недавний контакт с ВЗН.

С целью оценки целесообразности исследования групповых проб методом ПЦР в предварительном эксперименте был протестирован образец крови пациентки с лабораторно подтвержденным диагнозом ЛЗН, содержащий РНК ВЗН. Аликвоты образца

хранились при минус 70 °С в течение 2,5 месяцев. Материал разморозили и исследовали повторно индивидуально и в составе объединенной пробы с девятью образцами крови, не содержащими РНК вируса. Тестируя образец крови индивидуально, получили положительный результат – детекция РНК ВЗН, Ст 29,64 (в соответствии с инструкцией к тест-системе результат расценивается как положительный при Ст до 38). В объединенной пробе РНК ВЗН не выявлена. Полученные результаты указывают на необходимость индивидуального исследования образцов, учитывая также обычно высокий уровень вирусемии у человека при ЛЗН [16].

С целью выявления РНК протестировано 270 образцов крови доноров, получен отрицательный результат. Необходимо отметить, что из 59 доноров, в образцах сывороток крови которых выявлены антитела к ВЗН, в ПЦР исследовали образцы только от 25 доноров.

Таким образом, у 8 доноров из 1760 (0,5±0,2) % выявлены маркеры ВЗН, указывающие на недавно перенесенную болезнь: IgM и/или низкоавидные IgG. При этом в сыворотке крови одного из них зарегистрированы IgM в совокупности с низкоавидными IgG к ВЗН, что с еще большей достоверностью свидетельствует о недавнем инфицировании. Поэтому нельзя исключить возможность реализации гемотрансфузионного механизма передачи ВЗН в этих случаях, учитывая также существование длительной

вирусемии при ЛЗН [1, 5] и большую долю субклинических (бессимптомных) форм болезни.

В ПЦР получен отрицательный результат, но объем проведенных этим методом исследований недостаточен, поэтому, учитывая патогенез ЛЗН, тестирование этим методом фракций крови доноров, содержащих эритроциты, необходимо продолжить, обращая внимание на соблюдение правил транспортировки и хранения материала.

Проведенное исследование показало, что наиболее достоверные результаты при тестировании образцов донорской крови с целью выявления недавнего контакта с ВЗН получаются при использовании не только ПЦР-анализа, но и ИФА. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости продолжения исследований, направленных на определение риска гемотрансфузионной передачи ВЗН, для которых можно предложить следующий алгоритм тестирования биологического материала от доноров (кровь, сыворотка крови): исследовать донорскую кровь следует в сезон передачи ВЗН: с мая по октябрь; исследование осуществлять с помощью двух методов: ИФА (выявление IgG к ВЗН в сыворотке крови с определением авидности и IgM) и ПЦР-анализа; тестировать образцы биологического материала индивидуально от каждого донора. В исследование включать образцы, доставленные в лабораторию с соблюдением условий холодовой цепи в течение первых суток после забора.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Брико Н.И., Зуева Л.П., Покровский В.И., Сергиев В.П., Шкарин В.В. Эпидемиология. М.: ООО «Издательство «Медицинское информационное агентство»; 2013. Т. 2. 656 с.
2. Жибурт Е.Б., Губанова М.Н., Максимов В.А. Гемотрансмиссивная передача вируса Западного Нила. *Эпидемиол. и инф. бол.* 2007; 3:28–32.
3. Карань Л.С., Федорова М.В., Гриндева К.А., Чайка А.Н., Ромасова Е.И. Выявление РНК вируса Западного Нила и специфических антител в крови доноров в Волгоградской области. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* 2015; 2:65–9.
4. Лихорадка Западного Нила (подробно) http://entomologs.ru/lzn_podrobno.php#ixzz2qaUFtyWL (дата обращения 13.08.2015).
5. Львов Д.К., Писарев В.Б., Петров В.А., Григорьева Н.В. Лихорадка Западного Нила: по материалам вспышек в Волгоградской области в 1999–2002 гг. Волгоград: Издатель; 2004. 104 с.
6. Урбах В.Ю. Математическая статистика для биологов и медиков. М.: «Изд. АН СССР»; 1963. 324 с.
7. Busch M.P., Caglioti S., Robertson E.F., McAuley J.D., Tobler L.H., Kamel H., Linnen J.M., Shyamala V., Tomasulo P., Kleinman S.H. Screening the blood supply for West Nile virus RNA by nucleic acid amplification testing. *N. Engl. J. Med.* 2005; 353:460–7.
8. Busch M.P., Wright D.J., Custer B., Tobler L.H., Stramer S.L., Kleinman S.H., Prince H.E., Bianco C., Foster G., Petersen L.R., Nemo G., Glynn S.A. West Nile Virus Infections Projected From Blood Donor Screening Data, United States, 2003. *Emerg. Infect. Dis.* 2006; 12(3):395–402.
9. CDC. Update: West Nile Virus screening of blood donations and transfusion-associated transmission - United States, 2003. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2004; 53:281–4.
10. Hayes E.B., Komar N., Nasci R.S., Montgomery S.P., O'Leary D.R., Campbell G.L. Epidemiology and transmission dynamics of West Nile virus disease. *Emerg. Infect. Dis.* 2005; 11(8):1167–73.
11. Maria Rios, Sylvester Daniel, Caren Chancey, Indira K. Hewlett, Susan L. Stramer. West Nile Virus Adheres to Human Red Blood Cells in Whole Blood. *Clin. Infect. Dis.* 2007; 45:181–6.

12. Montgomery S.P., Brown J.A., Kuehnert M., Smith T.L., Crall N., Lanciotti R.S., Oliveira A.M.D., Boo T., Marfin A.A. Transfusion-associated transmission of West Nile virus, United States 2003–2005. *Transfusion.* 2006; 46:2038–46.
13. Pauli G. West-Nil-Virus. Prävalenz und Bedeutung als Zoonoseerreger. *Bundesgesundheitsbl – Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz.* 2004; 47(7):653–60.
14. Pealer L.N., Marfin A.A., Petersen L.R., Lanciotti R.S., Page P.L., Stramer S.L., Stobierski M.G., Signs K., Newman B., Kapoor H., Goodman J.L., Chamberland M.E. Transmission of West Nile virus through blood transfusion in the United States in 2002. *N. Engl. J. Med.* 2003; 349:1236–45.
15. Petersen L.R., Hayes E.B. West Nile Virus in the Americas. *West Nile US-Med Clin* 2008 (Apr-23-09). 2009:1313–4.
16. Solomon T., Ooi M.H., Beasley D.W.C., Mallewa M. West Nile encephalitis. *BMJ.* 2003; 326(7394):865–9.
17. Stanley E., Ratard R., Staples J.E., Royce R. West Nile virus transmission via organ transplantation and blood transfusion – Louisiana, 2008. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2009; 58(45):1263–7.

References

1. Briko N.I., Zueva L.P., Pokrovsky V.I., Sergiev V.P., Shkarin V.V. [Epidemiology]. M.: "Medical News Agency" Publishing House, Ltd.; 2013. Vol. 2. 656 p.
2. Zhiburt E.B., Gubanov M.N., Maksimov V.A. [Hemotransfusion transmission of West Nile virus]. *Epidemiol. Infek. Bol.* 2007; 3: 28–32.
3. Karan' L.S., Fedorova M.V., Gridneva K.A., Chaika A.N., Romasova E.I. [Identification of West Nile virus RNA and specific antibodies in blood samples from donors in the Volgograd Region]. *Zh. Mikrobiol., Epidemiol., Immunobiol.* 2015; 2: 65–9.
4. [West Nile fever (closely)] (cited 13 Aug 2015). Available from: http://entomologs.ru/lzn_podrobno.php#ixzz2qaUFtyWL
5. L'vov D.K., Pisarev V.B., Petrov V.A., Grigor'eva N.V. [West Nile Fever: Following the Reports on the Outbreaks in the Volgograd Region in 1999–2002]. Volgograd: "Izdatel"; 2004. 104 p.
6. Urbakh V.Yu. [Mathematical Statistics for Biologists and Medical Officers]. M.: "Publishing House of USSR Academy of Sciences"; 1963. 324 p.
7. Busch M.P., Caglioti S., Robertson E.F., McAuley J.D., Tobler L.H., Kamel H., Linnen J.M., Shyamala V., Tomasulo P., Kleinman S.H. Screening the blood supply for West Nile virus RNA by nucleic acid amplification testing. *N. Engl. J. Med.* 2005; 353:460–7.
8. Busch M.P., Wright D.J., Custer B., Tobler L.H., Stramer S.L., Kleinman S.H., Prince H.E., Bianco C., Foster G., Petersen L.R., Nemo G., Glynn S.A. West Nile Virus Infections Projected From Blood Donor Screening Data, United States, 2003. *Emerg. Infect. Dis.* 2006; 12(3):395–402.
9. CDC. Update: West Nile Virus screening of blood donations and transfusion-associated transmission - United States, 2003. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2004; 53:281–4.
10. Hayes E.B., Komar N., Nasci R.S., Montgomery S.P., O'Leary D.R., Campbell G.L. Epidemiology and transmission dynamics of West Nile virus disease. *Emerg. Infect. Dis.* 2005; 11(8):1167–73.
11. Maria Rios, Sylvester Daniel, Caren Chancey, Indira K. Hewlett, Susan L. Stramer. West Nile Virus Adheres to Human Red Blood Cells in Whole Blood. *Clin. Infect. Dis.* 2007; 45:181–6.
12. Montgomery S.P., Brown J.A., Kuehnert M., Smith T.L., Crall N., Lanciotti R.S., Oliveira A.M.D., Boo T., Marfin A.A. Transfusion-associated transmission of West Nile virus, United States 2003–2005. *Transfusion.* 2006; 46:2038–46.
13. Pauli G. West-Nil-Virus. Prävalenz und Bedeutung als Zoonoseerreger. *Bundesgesundheitsbl – Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz.* 2004; 47(7):653–60.
14. Pealer L.N., Marfin A.A., Petersen L.R., Lanciotti R.S., Page P.L., Stramer S.L., Stobierski M.G., Signs K., Newman B., Kapoor H., Goodman J.L., Chamberland M.E. Transmission of West Nile virus through blood transfusion in the United States in 2002. *N. Engl. J. Med.* 2003; 349:1236–45.
15. Petersen L.R., Hayes E.B. West Nile Virus in the Americas. *West Nile US-Med Clin* 2008 (Apr-23-09). 2009:1313–4.
16. Solomon T., Ooi M.H., Beasley D.W.C., Mallewa M. West Nile encephalitis. *BMJ.* 2003; 326(7394):865–9.
17. Stanley E., Ratard R., Staples J.E., Royce R. West Nile virus transmission via organ transplantation and blood transfusion – Louisiana, 2008. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2009; 58(45):1263–7.

Authors:

- Kazorina E.V., Krasovskaya T.Yu., Naidenova E.V., Kazantsev A.V., Shcherbakova S.A. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru
- Kalinina E.N., Fedotov E.A. Saratov Regional Hemotransfusion Station. 27, Gvardeyskaya St., Saratov, Russian Federation.

Об авторах:

- Казорина Е.В., Красовская Т.Ю., Найденова Е.В., Казанцев А.В., Щербакова С.А. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrap@microbe.ru
- Калинина Е.Н., Федотов Э.А. Саратовская областная станция переливания крови. Российская Федерация, Саратов, Гвардейская, 27.

Поступила 09.09.15.

Е.П.Лукин

ВИРУС НИПА – ВОЗБУДИТЕЛЬ ОПАСНОЙ ИНФЕКЦИОННОЙ БОЛЕЗНИ*ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» МО РФ, Сергиев Посад,
Российская Федерация*

Представлена информация об этиологии, эпидемиологии, клинике и профилактике малоизвестного вирусного энцефалита Нипа. Дана характеристика возбудителя и его экология. Целью анализа является ознакомление отечественных специалистов (инфекционистов, эпидемиологов, неврологов, санитарных врачей) с новым опасным заболеванием, неизвестным в России. Метод исследования – аналитический. Инфекция вируса Нипа у людей впервые описана в Малайзии (1998–1999), затем – в Бангладеш (2004) и Индии (2006). Возбудитель идентифицирован как новый представитель парамиксовирусов в 1998 г. и затем вместе с родственным ему вирусом Хендра обособлен в новый род семейства *Paramyxoviridae*. Резервуар вируса в природе – рукокрылые крыланы, преимущественно плодоядные летучие лисицы 8 видов рода *Pteropus*, вторичный – домашние свиньи. Вирус Нипа высококонтагиозен для свиней, которые выступают как амплификатор и резервуар вируса. Для заболевания у людей характерны симптомы и признаки энцефалита и острой легочной недостаточности. Быстро развивается кома. Летальность – 38,5–92,0 %. Известны вспышки с передачей возбудителя от человека к человеку. Специфическое лечение не разработано. Профилактика – неспецифическая.

Ключевые слова: вирус Нипа, энцефалит Нипа, экология, эпидемиология, эпизоотология, ареал болезни, рукокрылые, клиника, профилактика.

E.P.Lukin

Nipah Virus – Agent of Infectious Dangerous Disease*The 48th Central Research Institute of the RF Ministry of Defense, Sergiev Possad, Russian Federation*

The review provides the information on etiology, epidemiology, clinical features and prevention of a little-known viral encephalitis Nipah. Given is the characteristics of the pathogen and its ecology. Objective of the review is to inform Russian specialists about the new dangerous disease unknown in the Russian Federation. Nipah virus infections in humans were first described in Malaysia (1998–1999), later in Bangladesh (2004) and India (2006). The causative agent was identified as a new member of paramyxoviruses in 1998, and then, together with related Hendra virus, has been separated in a new genus of the family *Paramyxoviridae*. The natural reservoir of the virus are fruit bats, predominantly carnivorous flying foxes of 8 species, *Pteropus* genus; the secondary reservoir – domestic pigs. Nipah virus is highly contagious for swines, that can act as amplifying and reservoir host. The disease in humans is characterized by symptoms and signs of encephalitis and acute pulmonary failure, rapidly developing coma. Lethality is 38.5–92.0 %. Registered are the outbreaks when virus transmission occurred from person-to-person. Specific treatment has not been developed. Prophylaxis is nonspecific.

Key words: Nipah virus, Nipah encephalitis, ecology, epidemiology, epizootiology, areal of the disease, bats, clinical picture, prophylaxis.

Значительное число наших соотечественников отдыхает на курортах Юго-Восточной Азии. Однако пребывание в этом регионе сопряжено с риском завоза в Россию не только лихорадки денге, но и других, экзотических для РФ заболеваний [5]. К наиболее опасным из них можно отнести и вирусный энцефалит Нипа. Именно в зимне-весенний сезон года, привлекательный для туристов из северных стран, в регионах, эндемичных по возбудителю Нипа, на рубеже XX–XXI веков произошел его выход из дикой природы в популяцию домашних свиней с последующим неоднократным инфицированием людей (таблица). Общепризнанное, устоявшееся название болезни, связанной с новым, ранее неизвестным вирусом, отсутствует. В англоязычных публикациях она проходит под номинациями «Nipah virus encephalitis», «Nipah virus infection», «Nipah virus associated encephalitis» [6, 8, 15, 16, 23, 24, 33, 37]. В Международной классификации болезней данное заболевание не значится. Вероятно, его следует отнести

в код В-33 «Другие вирусные болезни, не классифицированные в других рубриках» [4].

Болезнь неожиданно появилась в сентябре 1998 г. на свиноводческих фермах вблизи г. Ипо, столицы штата Перак в северо-западной части полуостровной Малайзии. Из эпицентра эпизоотии заболевание распространилось на фермы штатов Негери Сембилан и Селангор. Одновременно начали болеть фермеры – владельцы свиноводческих хозяйств. Для болезни была характерна лихорадка, сопровождавшаяся быстро прогрессирующей картиной энцефалита. За шестимесячный период в общинах Тамбун (штат Перак) и Серимбан скончались 100 заболевших фермеров (летальность ~56 %) [7]. Необычной особенностью клинического течения болезни у людей являлось ее быстрое развитие с картиной энцефалита на фоне лихорадки и высокая летальность среди пациентов, тогда как у свиней превалировала острая дыхательная недостаточность с относительно низкой (1–6 %) их гибелью [16, 33]. Две кардинальные особенности бо-

лезни в сезон 1998–1999 гг., а именно – энцефалит у взрослых людей и профессиональная связь заболевших со свиньями в 86–93 % случаев [32], послужили основанием первоначально заподозрить японский энцефалит [16]. Попытка предотвратить дальнейшие случаи болезни среди людей путем вакцинации против данной инфекции, а также посредством обработки пестицидами 18586 свиноферм и 403837 прилегающих жилых домов, оказалась безуспешной [14, 16]. Общность ареала вирусов Нипа и японского энцефалита, их амплификатора (свиньи) в окружении человека и, наконец, схожесть клинического проявления по комплексу признаков, отражающих патологические процессы у человека, долгое время не позволяли заподозрить существование какого-то иного, нового вируса [13, 23, 35].

Вероятно, из опасения перед африканской чумой свиней в течение двух месяцев, с 29.02 по 26.04.1999 г., было уничтожено 960000 животных [13, 16]. К их забою и утилизации были привлечены 1638 военнослужащих малайзийской армии и, несмотря на принятые меры личной защиты (маски, перчатки, сапоги, у 31 % – очки), 6 из них инфицировались, двое скончались [8]. За время всей кампании по забою и утилизации свыше 1,1 млн свиней [13, 33] министерство здравоохранения Малайзии сообщило об остром лихорадочном заболевании с картиной энцефалита у 283 пациентов, 109 из них умерли [16]. Был выделен и идентифицирован возбудитель. Его наименовали вирусом Нипа (*Nipah virus*) по названию поселения в штате Негери Сембилан, Малайзия [14, 16, 40]. По результатам выявления IgM антител к вирусу Нипа или его выделению от больных в этот период болезнь классифицировали как острый энцефалит Нипа в 265 случаях, в 10 – как его отдаленное проявление, в одном случае был установлен японский энцефалит [16].

Вирус. Выделенные от заболевших изоляты вируса по результатам секвенирования участков генома и серологическим реакциям оказались близки, но не идентичны вирусу Хендра. Последний был открыт несколько ранее (1994 г.), циркулирует в Юго-Восточной Азии и Австралии, является этиологической причиной заболевания лошадей, в меньшей степени – людей [11, 40]. Новый вирус вместе с вирусом Хендра сформировал род *Henipavirus* семейства *Paramyxoviridae* порядка *Mononegavirales* [14, 42]. Вирусы нового рода – сферической формы, их диаметр 120–150 nm, вне клетки – до 500 nm. Геном представлен одноцепочечной несегментированной РНК отрицательной полярности, инкапсулирован в мембрану. Протяженность генома – 18252–18258 пн [10]. Встроенные гликопротеины прикрепления (G_т) и расщепления (F), а также фосфопротеиназа (Р) обеспечивают проникновение РНК вируса в чувствительную клетку-мишень. У вируса Нипа гемагглютиназа и нейраминидаза отсутствуют. Последнее компенсирует гликопротеин F – типичный гликопротеин I класса. Обнаружены также лиганды эфрина 2

и 3, способствующие инфицированию чувствительных клеток-мишеней [14, 21, 42]. В реакции нейтрализации различие в титрах между вирусами Нипа и Хендра порядка 4–16 раз [9, 14]. По сиквенсу нуклеотидов и аминокислот генома гомология между ними на уровне 70–78 % [14].

Природный исходный геновариант вируса Нипа, изолят Тамбун, выделен от человека во время вспышки 1999 г. в Малайзии. По результатам секвенирования генома данного и других семи изолятов вируса от людей, свиней и крыланов подтверждена их высокая идентичность: гомология по нуклеотидному и аминокислотному составу 98,0–99,2 % [7, 9, 10]. Более поздние изоляты вируса из Бангладеш, Индии и Камбоджи по аналогичным исследованиям близки между собой – различие по аминокислотной и нуклеотидной последовательностям порядка 0,0–8,0; 2,5 и 8,9 % соответственно [12, 24, 28].

Вирус культивируется на линиях клеток Vero E6, RK 13, ВНК, астроглиомы человека U373, вызывает цитопатическое действие [7, 14, 19, 28]. Накопление на клетках Vero E6 достигает $\geq 1 \cdot 10^7$ БОЕ/мл [14, 21]. В качестве лабораторных моделей используют золотистых хомячков, хорьков и африканских зеленых мартышек [17, 21, 28, 30]. У хорьков и обезьян воспроизводится инфекция, наиболее полно отображающая заболевание у человека [17, 21].

Во внешней среде вирус относительно устойчив. В моче крыланов и в соке финиковой пальмы выживает в течение нескольких дней [27], прогревание до 70 °C инактивирует вирус. Клинические пробы от больных людей обеззараживают гуанидинизотиоционатом [28] или гамма-облучением [12], свиарники – гипохлоритом натрия [33].

Экология и ареал распространения вируса. Существование вирусов Нипа и родственного ему Хендра в девственной природе Юго-Восточной Азии связано с рукокрылыми, в основном крыланами – представителями семейства *Pteropodidae*, подотряд *Pteropidei*, в меньшей степени – с летучими мышами из семейства кожановых (*Vespertilionidae*), подотряд *Vespertilioidei*. В этом регионе и в Австралии обитает не менее 13 видов плодоядных и до 60 видов насекомоядных крыланов [36, 43]. Их причастность к циркуляции вируса Нипа подтверждена его выделением из мочи *Pteropus lylei* (летучей лисицы Лайла) и *Pteropus hypomelanus* (маленькой летучей лисицы) в Камбодже и Малайзии [11, 34, 36]. Наличие вируса в организме животных подтверждено определением вируснейтрализующих антител (ВН АТ) в Камбодже, Малайзии, на островах Калимантан, Суматра и Ява (Индонезия), антител в иммуноферментном анализе (ИФА АТ), фрагментов специфической РНК в ПЦР у других видов крыланов: *P. vampyrus* (большой летучей лисицы) в Австралии, Бангладеш, Вьетнаме, Индонезии, Малайзии и Таиланде [11, 26, 32, 34, 36, 41]. Среди *P. giganteus* (индийская летучая лисица), отловленных на удалении более чем 1000 км от места вспышки энцефалита Нипа у людей (Индия,

2001 г.), уровень ВН АТ достигал 51,0, а по ИФА АТ – 63 % [19]. Из 14 видов рукокрылых в Малайзии положительными по ВН АТ оказались 8,4 % исследованных животных: 4 вида плоядных и один – насекомоядный [26]. В юго-восточных провинциях Китая (Юньнань и Хайнань), вблизи территории Вьетнама, методами ИФА, ПЦР и реакции нейтрализации обнаружено присутствие Нипа-подобного возбудителя у 4,8 % рукокрылых [11]. В слюне и моче 7,8 % крыланов из Таиланда, а также летучей мыши Хорсфильда (*Hipposideros larvatus*) также присутствовали следы вируса Нипа [43].

В итоге обширных исследований положительные находки на вирус Нипа по Юго-Восточной Азии, включая Восточный Тимор, Папуа Новую Гвинею и провинцию Квинсленд (север Австралии), обнаружены в диапазоне 6,5–86,4 % [11, 26, 32, 34, 37, 41, 43]. Видовой состав рукокрылых, причастных к циркуляции вируса, представлен 7 видами плоядных и одним видом насекомоядных – *Scotophilus kuhlii* [11, 26, 41, 43]. Инфекция у них протекает бессимптомно, при этом они выделяют вирус в окружающую среду с отделяемым из носа, слюной, мочой, фекалиями [26, 32, 36, 37, 41, 43]. Самки не передают возбудитель детенышам с молоком, однако ВН АТ в их организме появлялись [19]. Очевидно, что вирус Нипа существует в природе в пределах ареала обитания рукокрылых, и они служат основным его резервуаром в природе. Состояние беременности, выкармливание потомства и лактация у самок являются факторами риска, повышающими циркуляцию вируса Нипа среди *P. vampyrus* [36].

В отличие от вируса Хендра, вирус Нипа высококонтагиозен для домашних свиней. Они являются значительным дополнительным амплификатором вируса. До 1–5 % из инфицированных животных погибает. Часть из них с клинической картиной поражения дыхательных путей выделяет вирус во внешнюю среду. В свою очередь, они получают вирус от крыланов, съедая недоеденные и сброшенные на землю рукокрылыми фрукты (бананы, манго, папайя, гуава), их абортированные плоды и выпивая контаминированную воду [29, 33]. Внутри ферм и между ними инфицирование свиней происходит респираторно-контактным путем, поскольку больные животные выделяют вирус в окружающую среду со слюной, отделяемым бронхолегочного эпителия, мочой. Часть свиноматок, вероятно, заражалась за счет инфицированной спермы от хряков [16].

Другие животные из окружения человека (кошки, козы) инфицировались без или с незначительным рассеиванием возбудителя в окружении [18]. Собаки на дистанции более 15 км от эпизоотологической зоны не содержали антител к вирусу, внутри ее на удалении 5 км до 26–57 % были сероположительны, среди комнатных собак – 1,9 %. Очевидно, что в отсутствие инфицированных свиней они не поддерживали возбудитель [31]. Лошади инфицируются очень редко (положительные находки 0,15 %) [33].

У диких кабанов, одичавших кошек, охотничьих собак и крыс следов присутствия вируса не обнаружено [18, 26]. Из вышеизложенного следует, что домашние свиньи выступают в качестве вторичного резервуара вируса Нипа и, соответственно, источника заражения человека. Последнее четко подтверждено вялотекущей вспышкой энцефалита Нипа среди фермеров-свиноводов в сентябре 1998 – апреле 1999 г. в Малайзии и, параллельно, в марте 1999 г. в Сингапуре, где забой завезенных из Малайзии инфицированных свиней послужил источником заражения людей. Полагают, что во время эпизоотии в Малайзии циркулировали два геноварианта вируса [7], что расценивается как результат двух интродукций вируса из дикой природы в популяцию свиней с последующим его переносом в популяцию людей [23].

Эпидемиология. Ареал проявления заболеваемости людей энцефалитом Нипа значительно меньше, чем ареал распространения его возбудителя. Он охватывает территорию полуостровной Малайзии, юго-восточной части Индии (штат Западная Бенгалия), Бангладеш и Сингапур. Поскольку в Сингапуре болезнь была связана с инфицированными свиньями, завезенными из Малайзии в 1999 г., следует считать, что заболевания до настоящего времени проявились в трех странах Индо-Азиатского региона (таблица). К тому же, после массового забоя свиней на 896 фермах в Малайзии в 1998–1999 гг. заболевания в данной стране прекратились [16, 33]. Из Бангладеш информация о случаях энцефалита Нипа у людей публикуется почти ежегодно. Установлено, что в Малайзии интродукция вируса от крыланов в популяцию населения произошла не более двух раз, в Бангладеш она идентифицирована в 23 из 24 известных очагов болезни [29].

Заболевания в Бангладеш и Индии регистрировали в период с декабря по май месяц последующего года. Такая сезонность обусловлена тем, что в этот период года в этих странах собирают сок финиковой пальмы. Местное население расценивает его как национальный деликатес [10, 28, 32], аналогично березовому соку в России. Сок пьют без термической обработки. Во время процедуры сбора крыланы приспособились пить его из сосудов (глиняных горшков), подвешенных к стволам пальм и контаминируют его своей слюной, мочой, фекалиями и иногда своими трупами [28, 32]. Из 23 расшифрованных эпизодов интродукции вируса в популяцию людей в Бангладеш 21 возник именно в период сбора и употребления сока пальмы. Одиннадцать из них привели к единичным заболеваниям, десять – к групповым, от 1 до 29, в среднем – 7 пациентов в каждом очаге [29]. Алиментарный путь заражения составил 49–80 % всех случаев в Бангладеш [10, 28, 29, 39]. Для этой категории больных источником инфекции послужили первичные больные, потребители сока, причем все они умерли. Для другой группы характерны тесные контакты с больными при уходе за ними, медицинском обследовании и лечении или при

Хронология вспышек вирусного энцефалита Нипа, 1998–2013 гг.

Страна, количество заболевших/умерших, (летальность, %)	Месяц, год	Источник инфицирования	Диагноз подтвержден:	Библио-графическая ссылка
Полуостровная Малайзия, штаты Негери Сембилан, Перак, Селангор, 283/109 (38,5)	Сентябрь 1998 – декабрь 1999	Выход вируса из природы в популяцию домашних свиней, прямые контакты с больными свиньями	Выделением вируса и его идентификацией, выявлением IgM и IgG антител у больных; обнаружением фрагментов РНК у больных	[7, 8, 13, 15, 16, 23]
Сингапур, 11/1*, (9,0)	Март 1999	Завоз из Малайзии больных свиней и контакт с ними при забое	Обнаружением IgM антител и фрагментов РНК вируса	[14, 16, 35]
Бангладеш: округа Голандо, Мехерпур, Раджбари, Тангаил, Фаридпур и др. 188/146 (77,1)	2001–2013, 12 вспышек, из них: январь – 4, январь–февраль – 2, февраль–май – 6	Термически необработанный сок финиковой пальмы, контаминированный выделениями крыланов – до 64 %; контакт с крыланами и их выделениями, немые фрукты; «цепочки» контактных заболеваний (1+5+21+6; 1+4+4)*** от больного или трупа***	Выделение вируса из отделяемого носа, спинномозговой жидкости и мочи больных; обнаружением IgM и IgG антител, а также фрагментов РНК вируса	[9, 22, 25, 27, 28, 32, 39]
Индия, штат Западная Бенгалия, районы Силигури и Надия, 71/52 (73,2)	Январь–февраль 2001; апрель 2007	Контакт с выделениями крыланов и внутригоспитальные вспышки с «цепочкой» контактных заболеваний (11+11+33; 1+4)***	Ретроспективным выявлением IgM и IgG антител, фрагментов РНК вируса Нипа в моче пациентов	[10, 12, 32]
Итого: 4 страны 553/308 (~56,0)	Январь–май, 1998–2013	Употребление сока финиковой пальмы и контактные заражения	См. выше	См. выше

* Девять из них лечились ацикловиром, 8 – выжили [35].

** Вспышка в Фаридпуре, 2004 г., 36 случаев: 1 – первичный, 5 – вторичных, 21 – третичных и 6 – четвертичных; летальность – 75 % [22].

*** Больничные персонал, родственники и друзья пациентов [12, 39].

выполнении обряда омовения тела усопшего согласно мусульманским традициям перед похоронами. Возникали трансмиссии вируса с двумя и более, до 4 волн и «цепочек» последовательных заболеваний, с 4–30 последующими случаями [10, 22, 25, 32, 39]. Общим источником заражения объясняется ограниченный, часто в пределах одной семьи, характер вспышек болезни [23, 27, 29, 39]. Обычно все члены семьи погибали. В одной из вспышек 10 из 12 заболевших и умерших составляли дети и подростки до 15 лет. Они рвали фрукты с деревьев, на которых обитали рукокрылые, пили финиковый сок, подбирали фрукты с земли [32]. В другой вспышке, возникшей в семье сборщика сока, последовательно заболели и умерли 5 ее членов [10].

В Камбодже, где жители поддерживают высокий уровень контактов с крыланами при их отлове и поставках в рестораны Пном-Пеня, наоборот, до настоящего времени не зарегистрирован ни один случай заболевания людей энцефалитом Нипа [34, 37].

Вспышки возникали неожиданно, автохтонно. Вторичные и последующие случаи болезни в семьях, а также внутригоспитальные заболевания отмечены исключительно среди лиц, тесно общавшихся с больными, ухаживавших за ними или принимавших участие в обряде подготовки трупа к захоронению. Известны два случая заражения в результате контакта с телом умершего больного, спустя 3 и 6 ч после его смерти [39]. «Контактные» заболевшие не применяли каких-либо мер защиты в виде масок, перчаток, очков, и обычно не мыли руки [22, 39]. Для больных, заразившихся алиментарным путем или в результате контактно-респираторной передачи возбудителя, характерна высокая летальность – до 75,0–100 % [10, 28, 29, 32, 39].

Болеют люди любых возрастов: от 7 мес. до 85 лет [12, 14, 29, 32]. Доля возрастной группы пациен-

тов в Малайзии от 21 года до 60 лет, в основном мужчин, составила 81,6 %, что обусловлено спецификой содержания и ухода за свиньями [16, 23]. На пике вспышки (между февралем и июнем 1999 г.) средний возраст 94 пациентов был равен 37 годам, соотношение мужчин и женщин – 4,5:1.

В Бангладеш и Западной Бенгалии (Индия), где большая часть населения исповедует ислам и свиней не содержит [32], распределение заболеваемости в зависимости от пола составляло 1,4 мужчин и 1 женщина, поскольку сборщиками пальмового сока являются мужчины [12, 32, 39]. Средний возраст умерших больных в этой стране в 2001–2007 гг. составил 27 лет (n=122) [29]. Религиозной принадлежностью объясняется алиментарный, респираторный и контактно-респираторный путь заражения людей в Бангладеш и Индии [29, 32, 39], респираторно-контактный – в Малайзии и Сингапуре [16].

Патогенез. Инфицирование людей может происходить одним или одновременно двумя возможными путями, при которых, в любом случае, первой линией защиты является эпителий кожи, либо слизистых дыхательной и пищеварительной системы. Вирионы возбудителя контактируют с дендритными клетками этого барьера, прикрепляются к ним и, без их разрушения, мигрируют в лимфатические сосуды, далее – регионарные лимфатические узлы [30]. В них происходит первичное размножение вируса с последующей диссеминацией в кровеносном русле по всему организму [20, 30]. На данном этапе лейкоциты (лимфоциты, моноциты, макрофаги) выступают как пассивное «транспортное» средство для доставки возбудителя к основным клеткам-мишеням, а именно – эндотелиоцитам и нейронам [30]. В наблюдениях на инфицированных вирусом Нипа хорьках [17] и зеленых мартышках [38], а также при некропсии умерших пациентов [13, 23] подтвержден выра-

женный тропизм вируса к эндотелиальным клеткам сосудистой системы и нейронам головного мозга [14, 17, 20, 21, 23]. Формируется тотальное поражение эндотелия, что приводит к мультиорганному вовлечению в патологический процесс сердца, почек, поджелудочной железы и других органов, сопровождается застоем крови, отложением фибрина, отеками. Эндотелиальные клетки лизируются, частично слущиваются в просвет кровеносных сосудов, и инфекция из первоначальных мест размножения вируса продолжает распространяться дальше, приводя к функциональной недостаточности жизненно важных органов [20]. Изменения наиболее выражены в ЦНС, где на фоне диффузного васкулита в коре и стволе мозга формируются очажки микроинфарктов и некроза как результат васкулит-индуцированного тромбоза [13, 23]. В нейронах и паренхиматозных клетках при электронно-микроскопическом исследовании обнаруживают включения вируса [14], при некропии – обширные микроинфаркты в головном мозгу, в легких – васкулит, фибриноидные некрозы и альвеолярные геморрагии, отек, признаки аспирационной пневмонии [39].

Состояние мультиорганной патологии приводит к деструкции морфологической структуры и нарушениям физиологической и биохимической деятельности эндотелиальной выстилки капиллярной составляющей кровеносных сосудов всего организма больного – аналогично тому, как это происходит при геморрагических лихорадках вирусной этиологии и риккетсиозах [1, 3]. Поражение нейронов, помимо непосредственного воздействия вирионов возбудителя, проникших в нервные клетки, обусловлено ишемией и отеком мозговой ткани. Тотальное вовлечение в прогрессирующий инфекционный процесс эндотелиоцитов и нервных клеток дезорганизует деятельность цитокиновой сети, снижает синтез оксида азота, повышает проницаемость стенок капилляров, меняет баланс про- и противовоспалительных цитокинов, про- и антитромбогенных факторов системы гемостаза, нарушает гуморальный ответ клеток эндотелия и гемодинамику кровотока, возникает состояние эндотелиальной дисфункции [1]. В итоге возникают глубокие патофизиологические изменения, несовместимые с жизнедеятельностью – больной погибает.

Клиника. Легкие, стертые формы болезни редки, не более 0,4–0,6 %. Среди контактировавших, но не заболевших лиц из очагов инфекции или соседей больного вируснейтрализующие антитела (ВН АТ) к вирусу в Бангладеш и Индии не обнаруживали [12, 27, 32], в Малайзии они ретроспективно выявлены у 8–15 % обследованных [23].

Инкубационный период от момента заражения до появления недомогания находился в пределах от 2 до 30 сут [12, 22], вероятно, в зависимости от инфицирующей дозы. Для пациентов, употреблявших сок, он составлял 2–7 сут [39], при контактном и контактно-респираторном заражении – 2–18 сут [10,

23, 27, 32], в 51 % таких случаев (для когорты больных из 122 пациентов) – в пределах 5–15 сут [29]. В Малайзии (n=94, респираторное и респираторно-контактное заражение от инфицированных свиней) у 92 % заболевших инкубационный период не превышал двух недель [23].

Первоначальная картина манифестного проявления инфекции в Бангладеш, Индии и Малайзии однотипна, напоминает воспалительное заболевание верхних дыхательных путей с лихорадкой до 38,5–40,0 °С и выше (97,0–100,0 %), головной болью и миалгией (12,0–100,0 %). Патогномоничные симптомы отсутствуют. В момент поступления (3–5-е сутки лихорадки) поведение больных необычно – большей частью они заторможены. Симптомы вовлечения ЦНС в виде спутанности сознания, дезориентации, галлюцинаций, головокружения (36,0–97,0 %) создают картину диффузного неврологического синдрома. Присоединяются одышка, непродуктивный кашель (14,0–41,0 %), тахикардия и гипотония (39,0 и 38,0 % соответственно), с картиной атипичной пневмонии (8,0–64,0 %), непроизвольные движения и конвульсии (23,0–75,0 %), ритмическое дрожание мышц рук (32 %), симптомы затронутости мозжечка в форме нистагма (16,0 %), птоза, дизартрии, дисфагии (2,0–3,0 %) [23]. Сухожильные и плантарные рефлексы снижаются или отсутствуют (56,0–75,0 %). Зрачки билатерально расширены, на свет не реагируют. Появляются признаки желудочно-кишечного кровотечения (5,0–12,0 %), развивается диарея, гипертензия. Тяжесть болезни быстро прогрессирует, и нередко спустя 24–48 ч развивается кома, в бессознательном состоянии пациент умирает [10, 12, 22, 23, 25, 35, 39].

Продолжительность жизни больного от первых симптомов и до смерти, по наблюдениям в Бангладеш и Индии, 2–8 сут, в среднем 5–6 сут [25, 27, 32, 39]. В группе взрослых пациентов старше 15 лет в Силигури, Индии (2001) смерть наступила в течение первой недели у 62,5 %, на второй – у 38,2 %, в двух случаях (4,7 %) – на 30-е сутки [12]. В медицинском центре университета в г. Куала-Лумпур (Малайзия), где проводилась более интенсивная терапия, болезнь длилась 5–29 сут, смерть наступала в среднем через 10,3 сут [23].

На 5–10-е сутки в секретах из носа, смывах из ротоглотки, а также в моче обнаруживали вирус в 40,0, 25,0 и 5,0 % соответственно. Его концентрация в смывах из ротоглотки до 10^3 – 10^6 копий РНК/мл [28]. Для крови характерно снижение уровня лимфо- и тромбоцитов у 11,0–80,0 % пациентов, повышение уровня аспаратаминотрансферазы – у 42,0–50,0 % больных [23, 35]. Уровни креатинина, мочевины и электролитов сохранялись нормальными у всех больных, в спинно-мозговой жидкости у 75 % пациентов – патологические изменения (лейкоциты, белок), аналогичные таковым при других энцефалитах вирусной этиологии [23]. При рентгенографии грудной клетки заметны мягкие интерстициальные за-

темнения, при магнитно-резонансном обследовании головы – множественные дискретные очажки поражения, отображающие микроинфаркты, обусловленные панваскулитом [10, 23, 35].

Возвращение к сознанию из комы проходило медленно, в среднем в течение 14,1 сут (границы 6–24 сут), его уровень при этом был снижен у 50 % выживших [40].

Летальность. Показатели варьируют от 11,0 до 92,0 %: в Малайзии – 38,5 %, в Бангладеш для всех заболевших в 2001–2013 гг. – 77,4 %, в Индии – 74,0 % (таблица). Различие в показателях летальности, возможно, связано с возрастом заболевших, объемом и качеством медицинской помощи.

Осложнения. Полное выздоровление после интенсивного лечения возможно для половины пациентов. У остальных в период реконвалесценции сохраняется инвалидизирующая слабость со средней продолжительностью 5 мес., а также различные неврологические дисфункции. Они включают статическую энцефалопатию, паралич мышц глазного яблока и лицевого нерва, у 50 % пациентов возрастной группы младше 16 лет – изменения в поведении [40]. Такая симптоматика сохраняется до 10 недель и не имеет каких-либо отличий от симптоматики на острой фазе болезни. Возможно развитие респираторного дистресс-синдрома и системного сепсиса. Известны также случаи, спустя 4,5–11 лет, рецидивирующего и отдаленного проявления болезни после ранее перенесенной безлихорадочной формы энцефалита. Их клиническая картина не отличается от манифестных проявлений на острой стадии. Для них характерны очаговый неврологический дефицит и припадки, без вовлечения других органов, кроме головного мозга [6, 40].

Диагностика. Предварительный диагноз при поступлении больного основан на клинико-эпидемиологических данных, учитывающих состояние больного с оценкой уровня его менталитета и возможного пребывания в очаге инфекции или эндемичном ареале [23, 25]. Диагноз подтверждается исследованием образцов крови, мочи или смывов из ротоглотки на наличие вируса, антител и фрагментов РНК возбудителя в ПЦР; при неблагоприятном исходе болезни – по результатам некропсии. Выделение и идентификация вируса невозможны в условиях обычной клинической лаборатории, образцы пересылаются в таковые с уровнем биобезопасности BSL-4. Специфические IgM и IgG антитела выявляют в иммуноферментном анализе, вируснейтрализующие в лабораториях, оборудованных с уровнем биобезопасности BSL-3.

Дифференциальный диагноз на острой фазе болезни проводят в отношении японского энцефалита, лихорадок денге, Западного Нила, Хантаан и лептоспирозов [12, 23, 25]. При отдаленном и рецидивирующем энцефалите Нипа дополнительно – в отношении герпес-инфекции и кори, которые также вызывают подострый склерозирующий панэнцефалит [6].

Лечение. Этиотропное лечение не разработано. Больные с подозрением на энцефалит подлежат обязательной госпитализации с последующей интенсивной симптоматической и поддерживающей терапией. Лечебные мероприятия должны быть направлены на устранение отека мозга, судорог, нарушений внешнего дыхания, нормализацию деятельности сердечно-сосудистой системы и ее эндотелиального звена, снижение лихорадочного статуса пациентов. С этой целью назначали фенитонин (внутривенно), аспирин, пентоксифиллин, при явлениях легочной недостаточности применяли искусственную вентиляцию легких [23]. Дополнительное назначение ацикловира внутривенно (Сингапур) или рибавирина орально или внутривенно (Малайзия) снизило летальность до 9,0–38,5 % [23, 35].

Профилактика. Специфическая профилактика отсутствует. В ней нет необходимости, она, при существующем уровне заболеваемости, нерациональна и экономически нерентабельна.

Неспецифическая профилактика направлена на снижение риска заболеваемости путем повышения информированности населения эндемичного региона о необходимости избегать контактов с рукокрылыми, не употреблять необработанный (непастеризованный) пальмовый сок и немытые фрукты, возможно загрязненные выделениями крыланов.

Больные с симптомами изменения уровня сознания подлежат госпитализации в отдельную палату или бокс инфекционного стационара. Медицинский и ухаживающий за ними персонал обязан осуществлять меры индивидуальной защиты в виде ношения масок, перчаток, сменных халатов, защитных очков, бахил. Все выделения от больных, личные вещи, постельное белье, предметы в палате, полы и стены подлежат дезинфекции [16, 28, 32, 39].

После случайного физического контакта с больным незащищенными руками тщательно их вымыть водой с мылом [22, 32].

Выводы и рекомендации. Энцефалит Нипа – острый зооантропоноз вирусной этиологии, эндемичный для трех стран Юго-Восточной Азии. Экология вируса тесно связана с некоторыми видами рукокрылых полуостровной Малайзии, Бангладеш и штата Западная Бенгалия (Индия). Домашние свиньи – вторичный резервуар и амплификатор вируса в окружении человека. По комплексу признаков эпидемиологического, эпизоотологического и патогенетического характера возбудитель соответствует критериям, требующих организации мер противодействия при санитарной охране территории Российской Федерации [2].

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Болевич С.Б., Войнов В.А. Молекулярные механизмы в патологии человека. Руководство для врачей. М.: Медицинское информационное агентство; 2012. 208 с.

2. Карнаухов И.Г., Топорков В.П., Топорков А.В. О критериях отнесения инфекционных заболеваний к болезням, требующим проведения мероприятий по санитарной охране территории. *Пробл. особо опасных инф.* 2012; 4(114):5–9.
3. Луккин Е.П., Воробьев А.А., Махлай А.А. Элементы патогенеза риккетсиозов в свете современных данных. *Вестник РАМН*. 1999; 12:7–13.
4. Международная статистическая классификация проблем и болезней, связанных со здоровьем. Десятый пересмотр. Женева: ВОЗ; 2003. Т. 1, ч. 1.
5. Симакова А.И., Попов А.Ф., Сокотун С.А., Сокотун О.А., Петухова С.А. Случай лихорадки Чикунгунья в Приморском крае. *Мед. паразитол.* 2014; 4:54–5.
6. Abdullah S., Chang L.Y., Rahmat K., Goh K.J., Tan C.T. Late-onset Nipah virus encephalitis 11 years after initial outbreak: a case report. *Neurology Asia*. 2012; 17(1):71–4.
7. Abu Bakar S., Chang L.Y., Ali A.R.M., Sharifah S.H., Yusoff K., Zamrod Z. Isolation and molecular identification of Nipah virus from pigs. *Emerg. Infect. Dis.* 2004; 10(12):2228–30.
8. Ali R., Mounts A.W., Parashar U.D., Sahani M., Lye M.S., Isa M.M., Balathevan K., Arif M.T., Ksiazek T.G. Nipah virus infection among military personnel involved in pig culling during an outbreak of encephalitis in Malaysia, 1998–1999. *Emerg. Infect. Dis.* 2001; 7(4):759–61.
9. Aljofan M. Hendra and Nipah infection: emerging paramyxoviruses. *Virus Res.* 2013; 177(2):119–26.
10. Arankalle V.A., Bandyopadhyay B.T., Ramdasi A.Y., Jati R., Patil D.R., Rahman M., Majumdar M., Banerjee P.S., Hati A.K., Goswami R.P., Neogi D.K., Mishra A.C. Genomic characterization of Nipah virus, West Bengal, India. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17(5):907–9.
11. Breed A.C., Meers J., Sendow L., Bossart K.N., Barr J.A., Smith I., Wacharapluesadee S., Wang L., Field H.E. The distribution of Henipavirus in Southeast Asia and Australia: Is Wallace's line a barrier to Nipah virus. *PLoS One*. 2013 Apr 24; 8(4):e61316. DOI: 10.1371/journal.pone.0061316.
12. Chadha M., Comer J.A., Lowe L., Rota P.A., Rollin P.E., Bellini W.J., Ksiazek T.G., Mishra A.C. Nipah virus-associated encephalitis outbreak, Siliguri, India. *Emerg. Infect. Dis.* 2006; 12(2):235–40.
13. Chua K.B., Goh K.J., Wong K.T., Kamarulzaman A., Tan P.S.K., Ksiazek T.G., Zaki S.R., Paul G., Lam S.K., Tan C.T. Fatal encephalitis due to Nipah virus among pig-farmers in Malaysia. *Lancet*. 1999; 354(9186):1257–9.
14. Chua K.B., Bellini W.J., Rota P.A., Harkourt B.H., Tamin A., Lam S.K. et al. Nipah virus: a recently emergent deadly paramyxovirus. *Science*. 2000; 288(5470):1432–5.
15. Chua K.B., Lam S.K., Goh K.J., Hooi P.S., Ksiazek T.G., Kamarulzaman A., Olson J., Tan C.T. The presence of Nipah virus in respiratory secretions and urine of patients during an outbreak of Nipah virus encephalitis in Malaysia. *J. Infect.* 2001; 42(1):40–4.
16. Chua K.B. Epidemiology, surveillance and control of Nipah virus infections in Malaysia. *Malaysian J. Pathol.* 2010; 32(2):69–73.
17. Clayton R., Middleton D., Bergfeld J., Haining J., Arkinstall R., Wang L., Marsh G. Transmission routes for Nipah virus from Malaysia and Bangladesh. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18(12):1983–93.
18. Epstein J.H., Rahman S.A., Zambriski J.A., Halpin K., Meehan G., Jamaluddin A.A., Hassan S.S., Field H.E., Hyatt A.D., Daszak P. Feral cats and risk for Nipah virus transmission. *Emerg. Infect. Dis.* 2006; 12(7):1178–9.
19. Epstein J.H., Prakash V., Smith C.S., Daszak P., McLaughlin A.B., Meehan G., Field H.E., Cunningham A.A. Henipavirus infection in fruit bats (*Pteropus giganteus*), India. *Emerg. Infect. Dis.* 2008; 14(8):1309–11.
20. Escaffre O., Borisevich V., Rockx B. Pathogenesis of Hendra and Nipah virus infection in humans. *J. Infect. Dev. Ctries.* 2013; 7(4):308–11.
21. Geisbert T.W., Daddario-DiCaprio K.M., Hickey A.C., Smith M.A., Chan Y.-P., Wang L.-F., Mattapallil J.J., Geisbert J.B., Bossart K.N., Broder C.C. Development of acute and highly pathogenic nonhuman primate model of Nipah virus infection. *PLoS One*. 2010; 5(5):e10690. DOI: 10.1371/journal.pone.0010690.
22. Gurley E.S., Montgomery J.M., Hossain M.J., Bell M., Azad A.K., Islam M.R., Molla M.A.R., Carroll D.S., Ksiazek T.G., Rota P.A., Lowe L., Comer J.A., Rollin P.E., Czub M., Grolla A., Feldmann H., Luby S.P., Woodward J.L., Breiman R.F. Person-to-person transmission of Nipah virus in a Bangladeshi community. *Emerg. Infect. Dis.* 2007; 13(7):1031–7.
23. Goh K.J., Tan C.T., Chew N.K., Tan P.S.K., Kamarulzaman A., Sarji S.A., Wong K.T., Abdullah B.J.J., Chua K.B., Lam S.K. Clinical features of Nipah virus encephalitis among pig farmers in Malaysia. *N. Engl. J. Med.* 2000; 342(17):1229–35.
24. Harcourt B.H., Lowe L., Tamin A., Liu X., Bankamp B., Bowden N., Rollin P.E., Comer J.A., Ksiazek T.G., Hossain M.J., Gurley E.S., Breiman R.F., Bellini W.J., Rota P.A. Genetic characterization of Nipah virus, Bangladesh, 2004. *Emerg. Infect. Dis.* 2005; 11(10):1594–7.
25. Hsu V.P., Hossain M.J., Parashar U.D., Ali M.M., Ksiazek T.G., Kuzmin I., Niezgodna M., Rupprecht C., Bresee J., Breiman R.F. Nipah virus encephalitis reemergence, Bangladesh. *Emerg. Infect. Dis.* 2004; 10(12):2082–7.
26. Johara M.Y., Field H., Rashdi A.M., Morrissey C., Van der Heide B., Rota P., Adzhar A., White J., Daniels P., Jamaluddin A., Ksiazek T.G. Nipah virus infection in bats (order Chiroptera) in Peninsular Malaysia. *Emerg. Infect. Dis.* 2001; 7(3):439–41.
27. Lo M.K., Lowe L., Hummel K.B., Sazzad H.M.S., Gurley E.S., Hossain M.J., Luby S.P., Miller D.M., Comer J.A., Rollin P.E., Bellini W.J., Rota P.A. Characterization of Nipah virus from outbreaks in Bangladesh, 2008–2010. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18(2):248–55.
28. Luby S.P., Rahman M., Hossain M.J., Blum L.S., Husain M.M., Gurley E., Khan R., Ahmed B., Rahman S., Nahar N., Kenah E., Comer J.A., Ksiazek T.G. Foodborne transmission of Nipah virus, Bangladesh. *Emerg. Infect. Dis.* 2006; 12(12):1888–94.
29. Luby S.P., Hossain M.J., Gurley E.S., Ahmed B., Banu S., Khan S., Homaira N., Rota P.A., Rollin P.E., Comer J.A., Kenah E., Ksiazek T.G., Rahman M. Recurrent zoonotic transmission of Nipah virus into humans, Bangladesh, 2001–2007. *Emerg. Infect. Dis.* 2009; 15(8):1229–35.
30. Mathieu C., Pohl C., Szecsi J., Trajkovic-Bodenec S., Devergnas S., Raoul H., Cosset F.L., Gerlier D., Wild T.F., Horvat B. Nipah virus uses leukocytes for efficient dissemination within a host. *J. Virol.* 2011; 85(15):7863–71.
31. Mills J.N., Alim A.N.M., Bunning M.L., Lee O.B., Wagoner K.D., Amman B.R., Stockton P.C., Ksiazek T.G. Nipah virus infection in dogs, Malaysia, 1999. *Emerg. Infect. Dis.* 2009; 15(6):950–2.
32. Montgomery J.M., Hossain M.J., Gurley E., Carroll D.S., Croisier A., Bertherat E., Asgari N., Formenty P., Keeler N., Comer J., Bell R.M., Akram K., Molla A.R., Zaman K., Islam M.R., Wagoner K., Mills J.N., Rollin P.E., Ksiazek T.G., Breiman R.F. Risk factors for Nipah virus encephalitis in Bangladesh. *Emerg. Infect. Dis.* 2008; 14(10):1526–32.
33. Nipah virus infection [Internet]. Iowa State University, the Center for Food Security and Public Health [updated November 2007; cited 25 Aug 2014]. Available from: <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/nipah.pdf>
34. Olson J.G., Rupprecht C., Rollin P.E., An U.S., Niezgodna M., Clemens T., Walston J., Ksiazek T.G. Antibodies to Nipah-like virus in bats (*Pteropus lylei*), Cambodia. *Emerg. Infect. Dis.* 2002; 8(9):987–8.
35. Paton N.I., Leo Y.S., Zaki S.R., Auchus A.P., Lee K.E., Ling A.E., Chew S.K., Ang B., Rollin P.E., Umaphathi T., Sng I., Lee C.C., Lim E., Ksiazek T.G. Outbreak of Nipah virus infection among abattoir workers in Singapore. *Lancet*. 1999; 354(9186):1253–6.
36. Rahman S.A., Hassan L., Epstein J.H., Mamat Z.C., Yatim A.M., Hassan S.S., Field H.E., Hughes T., Westrum J., Naim M.S., Suri A.S., Jamaluddin A.A., Daszak P. Risk factor for Nipah virus infection among Pteroid bats, Peninsular Malaysia. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19(1):51–60.
37. Reyes J.-M., Cournot D., Ong S., Faure C., Seng V., Molia S., Walston J., Georges-Courbot M.C., Deubel V., Sarthou J.-L. Nipah virus in Lyle's flying foxes, Cambodia. *Emerg. Infect. Dis.* 2005; 11(7):1042–7.
38. Rockx B., Bossart K.N., Feldmann F., Geisbert J.B., Hickey A.C., Brining D., Callison J., Safronetz D., Marzi A., Kercher L., Long D., Broder C.C., Feldmann H., Geisbert T.W. A novel model of lethal Hendra virus infection in African green monkeys and the effectiveness of Ribavirin treatment. *J. Virology*. 2010; 84(19):9831–9.
39. Sazzad H.M.S., Hossain M.J., Gurley E.S., Ameen K.M.H., Parveen S., Islam M.S., Faruque L.I., Podder G., Banu S.S., Lo M.K., Rollin P.E., Rota P.E., Daszak P., Rahman M., Luby S.P. Nipah virus infection outbreak with nosocomial and corpse-to-human transmission, Bangladesh. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19(2):210–17.
40. Sejvar J.J., Hossain J., Saha S.K., Gurley E.S., Banu S., Hamadani J.D., Faiz M.A., Siddiqui F.M., Mohammad Q.D., Mollah A.H., Uddin R., Alam R., Rahman R., Tan C.T., Bellini W., Rota P., Breiman R.F., Luby S.P. Long-term neurological and functional outcome of Nipah virus infection. *Ann. Neurol.* 2007; 62(3):235–42.
41. Sendow I., Ratnawati A., Taylor T., Adjid R.M.A., Saepullo M., Barr J., Wong F., Daniels P., Field H. Nipah virus in the fruit bat *Pteropus vampyrus* in Sumatra, Indonesia. *PLoS One*. 2013; 8(7):e69544. DOI: 10.1371/journal.pone.0069544.
42. Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of viruses. Ed. by A.M.Q. King, M.J. Adams, E.B. Carners and E.J. Lefkowitz. San Diego: Elsevier Academic Press; 2012. P. 679–80.
43. Wacharapluesadee S., Lumlertdacha B., Boongird K., Wanghongsa S., Chanhom L., Rollin P., Stockton P., Rupprecht C.E., Ksiazek T.G., Hemachundha T. Bat Nipah virus, Thailand. *Emerg. Infect. Dis.* 2005; 11(12):1949–51.

References

1. Bolevich S.B., Voinov V.A. [Molecular mechanisms in Human Pathology. Practice Guidelines for Doctors]. M.: Medical News Agency; 2012. 108 p.
2. Karnaukhov I.G., Toporkov V.P., Toporkov A.V. [Concerning criteria for assigning infections to the group of diseases that require implementation of measures for the provision of sanitary protection of the territories]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2012; 4(114):5–9.
3. Lukin E.P., Vorob'ev A.A., Makhlay A.A. [Elements of rickettsioses pathogenesis in the light of the present-day knowledge]. *RAMS Bulletin.* 1999; 12:7–13.
4. [International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems. 10th Revision]. Geneva: WHO; 2003. Vol. 1. Part 1.
5. Simakova A.I., Popov A.F., Sokotun S.A., Sokotun O.A., Petukhova S.A. [A case of Chikungunya fever in the Primorsky Territory]. *Med. Parazitol.* 2014; 4:54–5.
6. Abdullah S., Chang L.Y., Rahmat K., Goh K.J., Tan C.T. Late-onset Nipah virus encephalitis 11 years after initial outbreak: a case report. *Neurology Asia.* 2012; 17(1):71–4.
7. Abu Bakar S., Chang L.Y., Ali A.R.M., Sharifah S.H., Yusoff K., Zamrod Z. Isolation and molecular identification of Nipah virus from pigs. *Bengal. Infect. Dis.* 2004; 10(12):2228–30.
8. Ali R., Mounts A.W., Parashar U.D., Sahani M., Lye M.S., Isa M.M., Balathevan K., Arif M.T., Ksiazek T.G. Nipah virus infection among military personnel involved in pig culling during an outbreak of encephalitis in Malaysia, 1998–1999. *Emerg. Infect. Dis.* 2001; 7(4):759–61.
9. Aljofan M. Hendra and Nipah infection: emerging paramyxoviruses. *Virus Res.* 2013; 177(2):119–26.
10. Arankalle V.A., Bandyopadhyay B.T., Ramdasi A.Y., Jari R., Patil D.R., Rahman M., Majumdar M., Banerjee P.S., Hati A.K., Goswami R.P., Neogi D.K., Mishra A.C. Genomic characterization of Nipah virus, West Bengal, India. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17(5):907–9.
11. Breed A.C., Meers J., Sendow I., Bossart K.N., Barr J.A., Smith I., Wacharapluesadee S., Wang L., Field H.E. The distribution of Henipavirus in Southeast Asia and Australia: Is Wallace's line a barrier to Nipah virus. *PLoS One.* 2013 Apr 24; 8(4):e61316. DOI: 10.1371/journal.pone.0061316.
12. Chadha M., Comer J.A., Lowe L., Rota P.A., Rollin P.E., Bellini W.J., Ksiazek T.G., Mishra A.C. Nipah virus-associated encephalitis outbreak, Siliguri, India. *Emerg. Infect. Dis.* 2006; 12(2):235–40.
13. Chua K.B., Goh K.J., Wong K.T., Kamarulzaman A., Tan P.S.K., Ksiazek T.G., Zaki S.R., Paul G., Lam S.K., Tan C.T. Fatal encephalitis due to Nipah virus among pig-farmers in Malaysia. *Lancet.* 1999; 354(9186):1257–9.
14. Chua K.B., Bellini W.J., Rota P.A., Harkourt B.H., Tamin A., Lam S.K. et al. Nipah virus: a recently emergent deadly paramyxovirus. *Science.* 2000; 288(5470):1432–5.
15. Chua K.B., Lam S.K., Goh K.J., Hooi P.S., Ksiazek T.G., Kamarulzaman A., Olson J., Tan C.T. The presence of Nipah virus in respiratory secretions and urine of patients during an outbreak of Nipah virus encephalitis in Malaysia. *J. Infect.* 2001; 42(1):40–4.
16. Chua K.B. Epidemiology, surveillance and control of Nipah virus infections in Malaysia. *Malaysian J. Pathol.* 2010; 32(2):69–73.
17. Clayton B.A., Middleton D., Bergfeld J., Haining J., Arkinstall R., Wang L., Marsh G. Transmission routes for Nipah virus from Malaysia and Bangladesh. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18(12):1983–93.
18. Epstein J.H., Rahman S.A., Zambri J.A., Halpin K., Meehan G., Jamaluddin A.A., Hassan S.S., Field H.E., Hyatt A.D., Daszak P. Feral cats and risk for Nipah virus transmission. *Emerg. Infect. Dis.* 2006; 12(7):1178–9.
19. Epstein J.H., Prakash V., Smith C.S., Daszak P., McLaughlin A.B., Meehan G., Field H.E., Cunningham A.A. Henipavirus infection in fruit bats (*Pteropus giganteus*). *India. Emerg. Infect. Dis.* 2008; 14(8):1309–11.
20. Escaffre O., Borisevich V., Rockx B. Pathogenesis of Hendra and Nipah virus infection in humans. *J. Infect. Dev. Ctries.* 2013; 7(4):308–11.
21. Geisbert T.W., Daddario-DiCaprio K.M., Hickey A.C., Smith M.A., Chan Y.-P., Wang L.-F., Mattapallil J.J., Geisbert J.B., Bossart K.N., Broder C.C. Development of acute and highly pathogenic nonhuman primate model of Nipah virus infection. *PLoS One.* 2010; 5(5):e10690. DOI: 10.1371/journal.pone.0010690.
22. Gurley E.S., Montgomery J.M., Hossain M.J., Bell M., Azad A.K., Islam M.R., Molla M.A.R., Carroll D.S., Ksiazek T.G., Rota P.A., Lowe L., Comer J.A., Rollin P., Czub M., Grolla A., Feldmann H., Luby S.P., Woodward J.L., Breiman R.F. Person-to-person transmission of Nipah virus in a Bangladeshi community. *Emerg. Infect. Dis.* 2007; 13(7):1031–7.
23. Goh K.J., Tan C.T., Chew N.K., Tan P.S.K., Kamarulzaman A., Sarji S.A., Wong K.T., Abdullah B.J.J., Chua K.B., Lam S.K. Clinical features of Nipah virus encephalitis among pig farmers in Malaysia. *N. Engl. J. Med.* 2000; 342(17):1229–35.
24. Harcourt B.H., Lowe L., Tamin A., Liu X., Bankamp B., Bowden N., Rollin P.E., Comer J.A., Ksiazek T.G., Hossain M.J., Gurley E.S., Breiman R.F., Bellini W.J., Rota P.A. Genetic characterization of Nipah virus, Bangladesh, 2004. *Emerg. Infect. Dis.* 2005; 11(10):1594–7.
25. Hsu V.P., Hossain M.J., Parashar U.D., Ali M.M., Ksiazek T.G., Kuzmin I., Niezgoda M., Rupprecht C., Breese J., Breiman R.F. Nipah virus encephalitis reemergence, Bangladesh. *Emerg. Infect. Dis.* 2004; 10(12):2082–7.
26. Johara M.Y., Field H., Rashdi A.M., Morrissy C., Van der Heide B., Rota P., Adzhar A., White J., Daniels P., Jamaluddin A., Ksiazek T.G. Nipah virus infection in bats (order Chiroptera) in Peninsular Malaysia. *Emerg. Infect. Dis.* 2001; 7(3):439–41.
27. Lo M.K., Lowe L., Hummel K.B., Sazzad H.M.S., Gurley E.S., Hossain M.J., Luby S.P., Miller D.M., Comer J.A., Rollin P.E., Bellini W.J., Rota P.A. Characterization of Nipah virus from outbreaks in Bangladesh, 2008–2010. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18(2):248–55.
28. Luby S.P., Rahman M., Hossain M.J., Blum L.S., Husain M.M., Gurley E., Khan R., Ahmed B., Rahman S., Nahar N., Kenah E., Comer J.A., Ksiazek T.G. Foodborne transmission of Nipah virus, Bangladesh. *Emerg. Infect. Dis.* 2006; 12(12):1888–94.
29. Luby S.P., Hossain M.J., Gurley E.S., Ahmed B., Banu S., Khan S., Homaira N., Rota P.A., Rollin P.E., Comer J.A., Kenah E., Ksiazek T.G., Rahman M. Recurrent zoonotic transmission of Nipah virus into humans, Bangladesh, 2001–2007. *Emerg. Infect. Dis.* 2009; 15(8):1229–35.
30. Mathieu C., Pohl C., Szecsi J., Trajkovic-Bodenec S., Devergnas S., Raoul H., Cosset F.L., Gerlier D., Wild T.F., Horvat B. Nipah virus uses leukocytes for efficient dissemination within a host. *J. Virol.* 2011; 85(15):7863–71.
31. Mills J.N., Alim A.N.M., Bunning M.L., Lee O.B., Wagoner K.D., Amman B.R., Stockton P.C., Ksiazek T.G. Nipah virus infection in dogs, Malaysia, 1999. *Emerg. Infect. Dis.* 2009; 15(6):950–2.
32. Montgomery J.M., Hossain M.J., Gurley E., Carroll D.S., Croisier A., Bertherat E., Asgari N., Formenty P., Keeler N., Comer J., Bell R.M., Akram K., Molla A.R., Zaman K., Islam M.R., Wagoner K., Mills J.N., Rollin P.E., Ksiazek T.G., Breiman R.F. Risk factors for Nipah virus encephalitis in Bangladesh. *Emerg. Infect. Dis.* 2008; 14(10):1526–32.
33. Nipah virus infection [Internet]. Iowa State University, the Center for Food Security and Public Health [updated November 2007; cited 25 Aug 2014]. Available from: <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/nipah.pdf>
34. Olson J.G., Rupprecht C., Rollin P.E., An U.S., Niezgoda M., Clemens T., Walston J., Ksiazek T.G. Antibodies to Nipah-like virus in bats (*Pteropus lylei*). Cambodia. *Emerg. Infect. Dis.* 2002; 8(9):987–8.
35. Paton N.I., Leo Y.S., Zaki S.R., Auchus A.P., Lee K.E., Ling A.E., Chew S.K., Ang B., Rollin P.E., Umaphathi T., Sng I., Lee C.C., Lim E., Ksiazek T.G. Outbreak of Nipah-virus infection among abattoir workers in Singapore. *Lancet.* 1999; 354(9186):1253–6.
36. Rahman S.A., Hassan L., Epstein J.H., Mamat Z.C., Yatim A.M., Hassan S.S., Field H.E., Hughes T., Westrum J., Naim M.S., Suri A.S., Jamaluddin A.A., Daszak P. Risk factor for Nipah virus infection among Pterid bats, Peninsular Malaysia. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19(1):51–60.
37. Reynes J.-M., Counor D., Ong S., Faure C., Seng V., Mollia S., Walston J., Georges-Courbot M.C., Deubel V., Sarthou J.-L. Nipah virus in Lyle's flying foxes, Cambodia. *Emerg. Infect. Dis.* 2005; 11(7):1042–7.
38. Rockx B., Bossart K.N., Feldmann F., Geisbert J.B., Hickey A.C., Brining D., Callison J., Saffronetz D., Marzi A., Kercher L., Long D., Broder C.C., Feldmann H., Geisbert T.W. A novel model of lethal Hendra virus infection in African green monkeys and the effectiveness of Ribavirin treatment. *J. Virology.* 2010; 84(19):9831–9.
39. Sazzad H.M.S., Hossain M.J., Gurley E.S., Ameen K.M.H., Parveen S., Islam M.S., Faruque L.I., Podder G., Banu S.S., Lo M.K., Rollin P.E., Rota P.E., Daszak P., Rahman M., Luby S.P. Nipah virus infection outbreak with nosocomial and corpse-to-human transmission, Bangladesh. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19(2):210–17.
40. Sejvar J.J., Hossain J., Saha S.K., Gurley E.S., Banu S., Hamadani J.D., Faiz M.A., Siddiqui F.M., Mohammad Q.D., Mollah A.H., Uddin R., Alam R., Rahman R., Tan C.T., Bellini W., Rota P., Breiman R.F., Luby S.P. Long-term neurological and functional outcome of Nipah virus infection. *Ann. Neurol.* 2007; 62(3):235–42.
41. Sendow I., Ratnawati A., Taylor T., Adjid R.M.A., Saepulloh M., Barr J., Wong F., Daniels P., Field H. Nipah virus in the fruit bat *Pteropus vampyrus* in Sumatera, Indonesia. *PLoS One.* 2013; 8(7):e69544. DOI: 10.1371/journal.pone.0069544.
42. Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of viruses. Ed. by A.M.Q. King, M.J. Adams, E.B. Cartens and E.J. Lefkowitz. San Diego: Elsevier Academic Press; 2012. P. 679–80.
43. Wacharapluesadee S., Lumlertdacha B., Boongird K., Wanghongsa S., Chanhom L., Rollin P., Stockton P., Rupprecht C.E., Ksiazek T.G., Hemachundha T. Bat Nipah virus, Thailand. *Emerg. Infect. Dis.* 2005; 11(12):1949–51.

Authors:

Lukin E.P. The 48th Central Research Institute of the RF Ministry of Defense. Sergiev Possad, Russian Federation. E-mail: 48cnii@mail.ru.

Об авторах:

Лукин Е.П. 48 Центральный научно-исследовательский институт Министерства обороны Российской Федерации. Российская Федерация, 141306, Московская область, г. Сергиев Посад-6, ул. Октябрьская, д. 11. E-mail: 48cnii@mail.ru.

Получила 19.03.15.

Е.Г.Оглодин, Г.А.Ерошенко, Л.М.Куклева, Г.Н.Одинок, Н.П.Гусева, С.А.Бугоркова, В.В.Кутырев

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КРИПТИЧЕСКИХ ПЛАЗМИД ШТАММОВ *YERSINIA PESTIS* ИЗ ДВУХ ПРИРОДНЫХ ОЧАГОВ ЧУМЫ РОССИИ

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

Определены полные нуклеотидные последовательности двух криптических плазмид – pCKF из Центрально-Кавказского высокогорного очага чумы и pTP33 из Тувинского горного очага чумы в России. Установлено, что размер плазмиды pCKF составляет 5,4 т.п.н., а ее состав Г+Ц пар равен 38,4 %. В плазмиде содержится 8 открытых рамок считывания, кодирующих функции транспорта и секреции, в частности, системы секреции IV типа. Размер другой криптической плазмиды pTP33 равен 33,8 т.п.н., а состав Г+Ц пар равен 50,3 %. В pTP33 содержится 52 открытые рамки считывания, большинство из которых идентифицировано как фаговые белки, из чего следует, что pTP33 является кольцевым геномом фага. В pTP33 присутствуют также два гена двухкомпонентной системы белков токсин-антитоксин YoeB/YefM, действующей на репликативный аппарат бактерий.

Ключевые слова: возбудитель чумы, геном, криптические плазмиды, структурно-функциональный анализ.

E.G.Oglodin, G.A.Eroshenko, L.M.Kukleva, G.N.Odinokov, N.P.Guseva, S.A.Bugorkova, V.V.Kutyrev

Structural-Functional Analysis of Cryptic Plasmids in *Yersinia pestis* Strains from Two Natural Plague Foci of Russia

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

Identified are the complete nucleotide sequences of two cryptic plasmids – pCKF from the Central-Caucasian high-mountain plague focus and pTP33 – from Tuva mountain plague focus in Russia. It is established that the size of the pCKF is 5.4 kbp, and its G-C pair composition accounts for 38.4 %. The plasmid contains 8 open reading frames, encoding transport and secretion functions, in particular, secretion systems of the VI type. The size of another cryptic plasmid, pTP33, is 33.8 kbp, and G-C pair composition accounts for 50.3 %. It contains 52 open reading frames, the majority of which have been classified as phage proteins. Hence, it is inferred that pTP33 is a ring genome of phage. It also has two genes of two-component protein system, toxin-antitoxin, YoeB/YefM, that affects replication apparatus of bacteria.

Key words: plague agent, genome, cryptic plasmids, and structural-functional analysis.

Геном возбудителя чумы включает три плазмиды pCad, pFra и pPst, которые кодируют ряд важных факторов патогенности, таких как система секреции III типа, белковая капсула F1, мышинный токсин Ymt, активатор плазминогена Pla, пестицин Pst и другие факторы, необходимые для выживания в организме теплокровного животного или в переносчике – блохе. У штаммов *Y. pestis* из некоторых природных очагов чумы встречаются дополнительные криптические плазмиды, функции которых до конца не определены [6, 8]. Так, у *Y. pestis* 91001 microtus из Китая выявлена плаزمида pCRY размером около 22 т.п.н., которая среди прочих генов содержит кластер *vir* системы секреции IV типа (CC4T). CC4T является фактором вирулентности и используется патогенными бактериями для передачи эффекторных белков в клетки макроорганизма, а также для секреции широкого спектра веществ [5, 8]. Другая плазмида pYC размером 6 т.п.н. также выявлена у штаммов *Y. pestis* из Китая [6]. Плазмида pYC содержит 12 открытых рамок считывания, часть из которых принимает участие в процессах инициации репликации и поддержании стабильности ДНК. Криптические плазмиды присутствуют и у штаммов, циркулирующих в некоторых природных очагах России. Наличие криптической плазмиды массой около 3 МДа вы-

явлено у штаммов *Y. pestis* из некоторых участков Центрально-Кавказского высокогорного очага чумы. Штаммы, содержащие эту плазмиду, отличаются по ряду свойств от других штаммов чумного микроба, распространенных в этом очаге чумы. Они имеют сниженную вирулентность и потребность в факторе роста – аминокислоте пролине [3]. Структура этой плазмиды и кодируемые ею гены не исследованы. Не ясна ее роль в вирулентности или жизнедеятельности этих пролинзависимых штаммов *Y. pestis* из Центрально-Кавказского высокогорного очага чумы.

Неизвестны функции и другой криптической плазмиды – pTP33 размером около 34 т.п.н., присутствующей в штаммах из Тувинского горного очага чумы [1]. Возможно, плазмиды pTP33 играют роль в патогенности этих штаммов.

Целью данной работы являлось проведение структурно-функционального анализа двух криптических плазмид штаммов *Y. pestis* из Центрально-Кавказского высокогорного и Тувинского горного очагов чумы.

Материалы и методы

Использованные в работе штаммы *Y. pestis* получены из Государственной коллекции патогенных

бактерий при РосНИПЧИ «Микроб». Штаммы культивировали при 37 °С в бульоне или на агаре LB (pH 7,2) в течение 18–24 ч.

Выделение ДНК штаммов *Y. pestis* проводили с помощью набора AxyPrep Bacterial Genomic Miniprep Kit (производство AXYGEN Biosciences, Китай). Для секвенирования геномов штаммов использовали систему Ion PGM (Life technologies, США) и автоматический генетический анализатор ABI 3500xl Genetic Analyzer (Life technologies, США). Для обработки исходных данных секвенирования применяли пакет программ Ion Torrent Suite software (версия 3.4.2.) и Newbler gsAssembler (версия 2.6). Для финализации сборки секвенированных плазмид применяли программное обеспечение UGENE (версия 1.12.2). При обработке исходных данных по секвенированию нуклеотидных последовательностей учитывались контиги, содержащие не менее 100 единичных прочтений, кратность покрытия каждого нуклеотида составила более 1000 раз.

Анализ нуклеотидных последовательностей осуществляли с помощью сервера аннотирования микробных геномов с использованием технологии подсистем (RAST) [4], а аминокислотных последовательностей – алгоритма Psi-BLAST и баз данных NCBI GenBank, PATRIC, Uniprot, RAST, Pfam, FIGfams и EMBL. Карта плазмиды получена с помощью CGView Server [7].

Результаты и обсуждение

Выделение ДНК криптической 3 Мда плазмиды проводили из штамма *Y. pestis* C-627, изолированного в Центрально-Кавказском высокогорном природном очаге чумы в 1986 г. Поскольку эта плазида не имела названия, мы обозначили ее рСКФ по названию очага, в котором циркулируют содержащие ее штаммы. На основе данных проведенного полногеномного и фрагментного секвенирования установлено, что последовательность плазмиды рСКФ секвенирована нами в геноме штамма C-627 с более чем с 100-кратным прочтением. Секвенированные на капиллярном генетическом анализаторе ABI 3500×1 Genetic Analyzer концевые участки контигов плазмиды объединили с помощью программы UGENE с полученными при полногеномном секвенировании нуклеотидными последовательностями фрагментов рСКФ в кольцевой репликон. Размер плазмиды составил 5,4 т.п.н. Ее карта приведена на рис. 1.

Состав Г+Ц пар плазмиды равен 38,4 %, что отличается от состава хромосомы возбудителя чумы равного 47,6 %, а также от других представителей семейства *Enterobacteriaceae*. На основании анализа полной нуклеотидной последовательности рСКФ с помощью сервера поиска открытых рамок считывания RAST и алгоритма NCBI GenBank glimmer3 установлено, что в плазмиде содержится 8 открытых рамок считывания. Три кодирующие последовательности плазмиды (CDS) считались полностью

идентифицированными на основании их совпадения более чем на 70 % с другими нуклеотидными последовательностями из баз генетических данных. CDS1 плазмиды рСКФ имеет более 89 % гомологии с геном ORF1 белка репликации криптической плазмиды рYC из штаммов *Y. pestis* из Китая [6]. CDS3 показала более 70 % гомологии с *virB6* геном *Proteus mirabilis*, который кодирует VirB6 белок внутренней мембраны CC4T. Аминокислотная последовательность продукта CDS3 гомологична на 45 % белку CC4T *Y. enterocolitica* TriE, который кодируется плазмидой p29930. Последовательность CDS7 имеет более 70 % гомологии с *virB5* *Campylobacter upsaliensis*, который кодирует минорный пилин VirB5, принимающий участие в построении периплазматического канала CC4T. Аминокислотная последовательность белка CDS7 имеет 55 % сходства с еще одним белком CC4T *Y. enterocolitica* – TriD, также кодируемым плазмидой p29930.

Функции CDS6 и CDS8 определены по сходству аминокислотных последовательностей кодируемых ими белков с аминокислотными последовательностями из баз данных PATRIC, Pfam, NCBI GenBank, EMBL и Uniprot. Кодируемый CDS6 белок на 30 % гомологичен белку CC4T *Y. enterocolitica* – TriL, ген

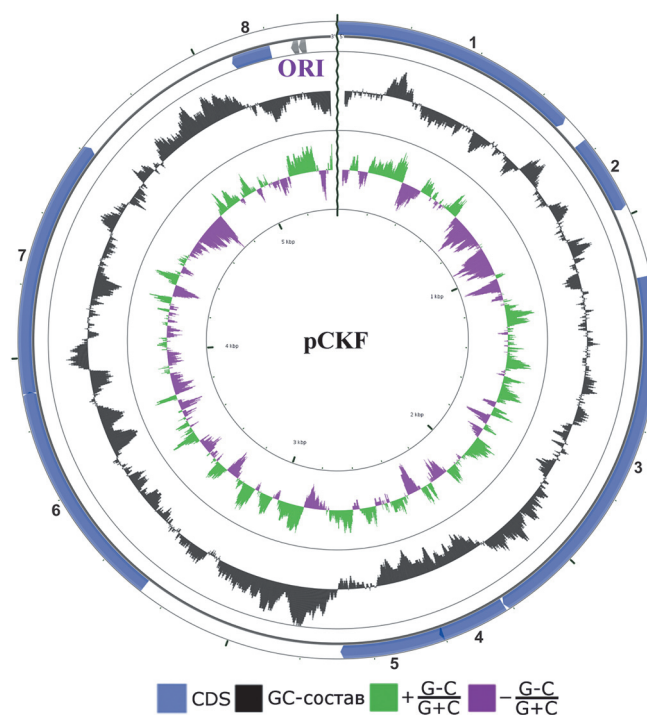


Рис. 1. Карта плазмиды рСКФ штамма *Y. pestis* C-627 из Центрально-Кавказского высокогорного очага чумы:

Синими стрелками отмечены открытые рамки считывания (CDS – coding sequences), определенные с помощью сервера RAST и алгоритма NCBI GenBank glimmer3. Цифрами обозначены номера CDS. Предполагаемая точка начала репликации плазмиды отмечена серой стрелкой. Черным круговым графиком обозначен GC-состав, отображающий отклонение от среднего значения GC-состава всей последовательности на положительную или отрицательную величину. Зеленым и фиолетовым цветом на графике обозначена положительная и отрицательная величина отношения разницы G-C пар к сумме G+C пар по сравнению со средним значением этой дроби для всей нуклеотидной последовательности

которого расположен на плазмиде p29930. Продукт CDS8 показал 43 % гомологии с ABC транспортным белком пермеазы *Bacillus anthracis*, который принимает участие в транспорте веществ из клетки. Белки, кодируемые CDS2, CDS4 и CDS5, имеют гомологию около 40 % с гипотетическими белками *Escherichia coli*, *Streptococcus parasanguinis* и *Clostridium sp.* соответственно. В последовательности плазмиды pCKF присутствует также уникальный участок с богатым содержанием (65,9 %) A+T пар, который расположен перед геном *rep* (CDS1) белка репликации и, по-видимому, является точкой начала репликации pCKF (рис. 1).

Полученные данные свидетельствуют о связи плазмиды pCKF с процессами транспорта и секреции, в частности, с системой секреции IV типа. Схожие функции описаны для плазмиды pCRY штамма *Y. pestis* 91001 microtus [8]. Плазмида pCKF депонирована в базе данных NCBI GenBank с номером доступа KM112087.

Нами также проведен структурно-функциональный анализ криптоической плазмиды pTP33 штаммов *Y. pestis* из Тувинского горного очага чумы [1]. Выделение ДНК плазмиды pTP33 проводили из штамма *Y. pestis* KM932, изолированного в Тувинском горном очаге чумы в 1987 г. Определение полной нуклеотидной последовательности плазмиды и ее структурно-функциональный анализ выполняли также, как и для плазмиды pCKF. Состав Г+Ц пар плазмиды pTP33 равен 50,3 %, что близко этому составу других представителей семейства *Enterobacteriaceae*, и, возможно, эта плазмида приобретена от бактерий этого семейства. Размер pTP33 составляет 33,8 т.п.н. В плазмиде pTP33 содержится 52 открытые рамки считывания (рис. 2). Большинство генов pTP33 идентифицировано как фаговые белки. В частности, по данным RAST, CDS19, CDS27, CDS28, CDS30, CDS31, CDS33, CDS36, CDS37, CDS38, CDS41, CDS45, CDS46, CDS47, CDS48, CDS51, CDS52 кодируют фаговые или фаг-связанные белки. Гены CDS2, CDS25 и CDS26 участвуют в образовании структур хвоста фага. Продукт гена CDS21 является белком рекомбинации RecT фага, а CDS24 – белком ExoZ продукции экзополисахарида, CDS51 кодирует большую субъединицу фаговой терминазы. Продукты генов CDS1, CDS3, CDS4, CDS6, CDS11, CDS12, CDS16 и CDS20 принимают участие в процессе репликации ДНК, а также в лизисе бактериальной стенки. В том числе CDS1 кодирует интегразу, нарушающую присоединение ферментов к ДНК.

Продукт CDS3 является лизоцимом на 100 % идентичным по аминокислотной последовательности лизоциму *Y. pestis*, а CDS4 показал 100 % идентичности с холином *Y. pestis*. Продукт CDS6 является белком репликации ParA со 100 % идентичностью белку ParA *Y. pestis*. Продукты генов CDS10, CDS11 и CDS20 имеют 100 % покрытие и 99 % идентичности с белком *Y. pestis*, который является экзорибонуклеазой VIII (по классификации ферментов – EC 3.1.11.).

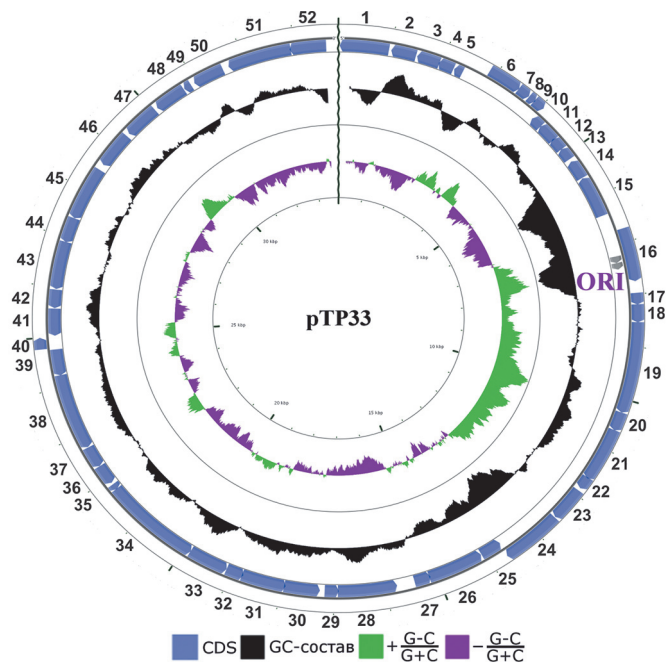


Рис. 2. Карта плазмиды pTP33 из штамма *Y. pestis* KM 932 из Тувинского горного очага чумы:

Синими стрелками отмечены открытые рамки считывания, определенные с помощью сервера RAST и алгоритма NCBI GenBank glimmer3. Цифрами обозначены номера CDS. Предполагаемая точка начала репликации плазмиды отмечена серой стрелкой. Черным круговым графиком обозначен GC-состав, отображающий отклонение от среднего значения GC-состава всей последовательности на положительную или отрицательную величину. Зеленым и фиолетовым цветом на графике обозначена положительная и отрицательная величина отношения разницы G-C пар к сумме G+C пар по сравнению со средним значением этой дроби для всей нуклеотидной последовательности

Продукт CDS12 имеет 97 % покрытие и 73 % сходство с белком YoeB суперсемейства токсин-антитоксин YoeB/YefM регулирующей системы, встречающейся на плазмидах семейства *Enterobacteriaceae*. Белок YoeB является токсином, действующим на репликативный аппарат бактерий. Он препятствует расхождению хромосом во время деления клетки. CDS13 имеет 100 % покрытие и 69 % идентичности с белком YefM суперсемейства токсин-антитоксин YoeB/YefM регулирующей системы. YefM является антитоксином и связывается в комплекс токсин-антитоксин, препятствуя действию токсина на ДНК собственной клетки.

CDS16 имеет 100 % гомологии с белком *Y. pestis*, участвующим в инициации репликации. Еще два гена CDS46 и CDS50 кодируют, по данным RAST, белки мобильных генетических элементов. Продукты CDS5, CDS7, CDS8, CDS9, CDS14, CDS15, CDS17, CDS18, CDS22, CDS23, CDS32, CDS35, CDS39, CDS40, CDS42, CDS43, CDS44, CDS49 определены как гипотетические белки с неустановленными функциями. Таким образом, на основании полученных данных можно заключить, что плазмида pTP33 является кольцевым геномом фага, который содержит гены фагового морфогенеза, а также гены двухкомпонентной системы белков токсин-антитоксин YoeB/YefM, действующей на репликативный аппарат бактерий.

По данным баз NCBI GenBank, PATRIC, Uniprot, RAST, Pfam и EMBL, в них отсутствуют бактериофаги высокомолекулярные рTP33. Наибольшее сходство рTP33 имеет с бактериофагом из бактерии *Photorhabdus asymbiotica subsp. asymbiotica*, фагом Aggregatibacter S1249, почвенным бактериофагом Aaphi23, фагом *Xylella fastidiosa* 9a5c, фагом *Sodalis glossinidius str. morsitans*. Бактерии, содержащие эти фаги, являются почвенными. Штаммы *Y. pestis* также циркулируют в почвенных биоценозах нор грызунов в природных очагах чумы, где они должны выживать в условиях взаимодействия с многочисленными членами этих биоценозов – простейшими, нематодами, другими микроорганизмами [2]. Стабильное сохранение плазмиды рTP33 в штаммах из Тувинского горного очага доказывает наличие селективных преимуществ, придаваемых этим штаммам белками рTP33.

Таким образом, с помощью секвенирования рСКФ из Центрально-Кавказского высокогорного очага чумы и рTP33 из Тувинского горного очага чумы установлено, что первая содержит гены системы секреции IV типа, а вторая представлена геномом фага, включающего гены двухкомпонентной системы белков токсин-антитоксин YoeB/YefM. По-видимому, белки, кодируемые этими плазмидами, являются факторами адаптации штаммов *Y. pestis* к условиям конкретных ландшафтно-географических биоценозов природных очагов чумы.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Балахонов С.В., Афанасьев М.В., Шестопалов М.Ю., Остак А.С., Витязева С.А., Корзун В.М., Вержуцкий Д.Б. Первый случай выделения *Yersinia pestis subsp. pestis* в Алтайском горном природном очаге чумы. Сообщение I. Микробиологическая характеристика, молекулярно-генетическая и масс-спектрометрическая идентификация изолята. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 1:12–6.
2. Кутырев В.В., Ерошенко Г.А., Попов Н.В., Видяева Н.А., Коннов Н.П. Молекулярные механизмы взаимодействия возбудителя чумы с беспозвоночными животными. *Мол. генет., микробиол. и вирусол.* 2009; 24(4):169–76.
3. Проценко С.Л., Сердюкова Т.В., Розанова Г.Н. Выявление новой плазмиды у пролинзависимых штаммов возбудителя чумы из Центрально-Кавказского природного очага и гетерогенность циркулирующих в нем штаммов по плазмидному составу. В кн.: Особо опасные инфекции на Кавказе. Ставрополь; 1987. С. 265–7.
4. Aziz R.K., Bartels D., Best A.A., DeJongh M., Disz T., Edwards R.A., Formsma K., Gerdes S., Glass E.M., Kubal M., Meyer F., Olsen G.J., Olson R., Osterman A.L., Overbeek R.A., McNeil L.K., Paarmann D., Paczian T., Parrello B., Pusch G.D., Reich C., Stevens R., Vassieva O., Vonstein V., Wilke A., Zagnitko O. The RAST Server: rapid annotations using subsystems technology. *BMC genomics.* 2008; 9:75.

5. Christie P.J., Atmakuri K., Krishnamoorthy V., Jakubovsky S., Cascales E. Biogenesis, architecture, and function of bacterial type IV secretion systems. *Annu. Rev. Microbiol.* 2005; 59:451–85.
6. Dong X.Q., Lindler L.E., Chu M.C. Complete DNA sequence and analysis of an emerging cryptic plasmid isolated from *Yersinia pestis*. *Plasmid.* 2000; 43:144–8.
7. Grant J.R., Stothard P. The CGView Server: a comparative genomics tool for circular genomes. *Nucleic Acids Res.* 2008; 36:W181–4.
8. Song Y., Tong Z., Wang J., Guo Z., Han Y., Zhang J., Pei D., Zhou D., Qin H., Pang X., Han Y., Zhai J., Li M., Cui B., Qi Z., Jin L., Dai R., Chen F., Li S., Ye C., Du Z., Lin W., Wang J., Yu J., Yang H., Wang J., Huang P., Yang R. Complete genome sequence of *Yersinia pestis* strain 91001, an isolate avirulent to humans. *DNA Research.* 2004; 11:179–97.

References

1. Balakhonov S.V., Afanas'ev M.V., Shestopalov M.Yu., Ostyak A.S., Vityazeva S.A., Korzun V.M., Verzhutsky D.B., Mikhailov E.P., Mishchenko A.I., Denisov A.V., Ivzhenko N.I., Rozhdestvensky E.N., Viskov E.N., Fomina L.A. [The first case of *Yersinia pestis subsp. pestis* isolation in the territory of Altai mountain natural plague focus. Communication 1. Microbiological characteristics, molecular-genetic and mass-spectrometric identification of the isolate]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 1:60–5.
2. Kutyrev V.V., Eroshenko G.A., Popov N.V., Vidyayeva N.A., Konnov N.P. [Molecular mechanisms of interaction between plague agent and invertebrate animals]. *Mol. Genet. Mikrobiol. Virusol.* 2009; 24(4):169–76.
3. Protsenko S.L., Serdyukova T.V., Rozanova G.N. [Detection of new plasmid in proline-dependent plague agent strains from the Central-Caucasian natural focus and heterogeneity of the circulating strains based on their plasmid composition]. In: [Particularly Dangerous Infections in the Caucasus]. Stavropol; 1987. P. 265–7.
4. Aziz R.K., Bartels D., Best A.A., DeJongh M., Disz T., Edwards R.A., Formsma K., Gerdes S., Glass E.M., Kubal M., Meyer F., Olsen G.J., Olson R., Osterman A.L., Overbeek R.A., McNeil L.K., Paarmann D., Paczian T., Parrello B., Pusch G.D., Reich C., Stevens R., Vassieva O., Vonstein V., Wilke A., Zagnitko O. The RAST Server: rapid annotations using subsystems technology. *BMC genomics.* 2008; 9:75.
5. Christie P.J., Atmakuri K., Krishnamoorthy V., Jakubovsky S., Cascales E. Biogenesis, architecture, and function of bacterial type IV secretion systems. *Annu. Rev. Microbiol.* 2005; 59:451–85.
6. Dong X.Q., Lindler L.E., Chu M.C. Complete DNA sequence and analysis of an emerging cryptic plasmid isolated from *Yersinia pestis*. *Plasmid.* 2000; 43:144–8.
7. Grant J.R., Stothard P. The CGView Server: a comparative genomics tool for circular genomes. *Nucleic Acids Res.* 2008; 36:W181–4. DOI: 10.1093/nar/gkn179.
8. Song Y., Tong Z., Wang J., Guo Z., Han Y., Zhang J., Pei D., Zhou D., Qin H., Pang X., Han Y., Zhai J., Li M., Cui B., Qi Z., Jin L., Dai R., Chen F., Li S., Ye C., Du Z., Lin W., Wang J., Yu J., Yang H., Wang J., Huang P., Yang R. Complete genome sequence of *Yersinia pestis* strain 91001, an isolate avirulent to humans. *DNA Research.* 2004; 11:179–97.

Authors:

Oglodin E.G., Eroshenko G.A., Kukleva L.M., Odinokov G.N., Guseva N.P., Bugorkova S.A., Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Об авторах:

Оглодин Е.Г., Ерошенко Г.А., Куклева Л.М., Одинокоев Г.Н., Гусева Н.П., Бугоркова С.А., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Поступила 20.04.15.

Ал.А.Сергеев, А.С.Кабанов, Л.Е.Булычев, О.В.Пьянков, Ар.А.Сергеев, С.А.Боднев,
Д.О.Горбатовская, А.С.Замедянская, Л.Н.Шишкина, А.П.Агафонов, А.Н.Сергеев

ДИССЕМИНАЦИЯ ВИРУСА ОСПЫ ОБЕЗЬЯН ПРИ ИНТРАНАЗАЛЬНОМ ИНФИЦИРОВАНИИ МЫШЕЙ

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

В экспериментах при интраназальном заражении 8–10-суточных аутбредных мышей ICR вирусом оспы обезьян (ВОО) в дозе 3,83 lg БОЕ/гол. (lg бляшкообразующих единиц на голову) определяли динамику накопления вируса в различных органах, клетках крови и сыворотке крови. Через 2 сут после заражения ВОО был обнаружен в клетках крови, носовой полости, легких, селезенке и двенадцатиперстной кишке, а через 5 сут – в головном мозге, трахее, печени, почках и в сыворотке крови. Установлено, что органами максимальной продукции ВОО являются легкие, носовая полость и головной мозг, соответственно титры вируса в 5 % гомогенатах этих органов были равны (5,7±0,1), (5,5±0,1) и (5,3±0,3) lg БОЕ/мл через 7 сут после заражения. В клетках крови вирус найден через 2, 5 и 7 сут после заражения, а в сыворотке крови – через 5 и 7 сут. Перенос ВОО кровью к вторичным органам-мишеням (печень, селезенка, двенадцатиперстная кишка, почки и др.), по-видимому, осуществляется активным способом за счет его размножения в форменных элементах крови. Полученные данные и разработанная на их основе схема диссеминации ВОО в организме могут быть использованы для поиска и создания терапевтических противооспенных препаратов с целенаправленной, адресной доставкой к органам-мишеням.

Ключевые слова: вирус оспы обезьян, аутбредные мыши, интраназальное инфицирование, динамика накопления, диссеминация.

Al.A.Sergeev, A.S.Kabanov, L.E.Bulychev, O.V.P'yankov, Ar.A.Sergeev, S.A.Bodnev, D.O.Gorbatovskaya,
A.S.Zamedyanskaya, L.N.Shishkina, A.P.Agaonov, A.N.Sergeev

Monkeypox Virus Dissemination in Case of Intranasal Infection of Mice

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

By the experiments of *in vivo* intranasal infection of 8–10-days-old outbred ICR mice with Monkeypox virus (MPV) in a dose equal 3.83 lg FFU/specimen, investigated was dynamics of the virus accumulation within various organs, blood cells, and blood serum. In 2 days after infection MPV was detected in blood cells, nasal cavity, lungs, spleen, and duodenum, and in 5 days after – in brain, trachea, liver, kidneys, and blood serum. It was established that 7 days after infection the highest level of MPV production was in the lungs, nasal cavity, and brain, where virus titers in 5 % homogenates were (5.7±0.1), (5.5±0.1), and (5.3±0.3) lg FFU/ml, respectively. In the blood cells virus was traced in 2, 5, and 7 days after challenge, while in blood serum – in 5 and 7 days. MPV blood transfer to the secondary target organs (liver, spleen, duodenum, kidneys, *et al.*) was operational, probably, due to the virus proliferation in blood corpuscles. The data obtained and the worked out scheme of MPV dissemination in an organism can be used for the selection and construction of therapeutic anti-pox virus preparations with precise targeted drug delivery.

Key words: monkeypox virus, outbred mice, intranasal infection, dynamics of accumulation, dissemination.

Несмотря на то, что прошло более 30 лет с тех пор, как была успешно завершена программа глобальной ликвидации оспы на Земле, актуальность проблемы разработки лекарственных препаратов против ортопоксвирусных инфекций продолжает сохраняться и в настоящее время. Это обусловлено, как минимум, тремя обстоятельствами: существующей вероятностью повторного возникновения вспышек натуральной оспы (например, в результате актов биотерроризма [7], при археологических раскопках в мерзлотных грунтах, где данный патоген может сохраняться длительное время [6]; регулярным появлением вспышек других ортопоксвирусных инфекций среди людей и животных [10]; отсутствием у большей части людей специфического иммунитета против возбудителей рода *Orthopoxvirus* из-за прекратившейся вакцинации против оспы с 1980 г. При разработке препаратов против оспы обезьян некоторые зарубежные ученые используют различные виды

животных, моделирующих данную инфекцию (луговые собачки, африканские сони и др.) [11].

В научной литературе имеется информация об изучении накопления вируса оспы обезьян (ВОО) в организме различных видов животных, в том числе и мышей [5, 9, 12]. Было изучено распространение двух рекомбинантных штаммов ВОО в организме иммунодефицитных мышей BALB/c после внутрибрюшинного заражения вирусом в очень высокой дозе – 10⁵ БОЕ/гол., вызывающей 100 % летальность [9]. При этом самые высокие титры ВОО были обнаружены в яичниках (> 5 lg БОЕ/мг), в легких титры ВОО были на 3 lg меньше, а в других органах дыхания ВОО вообще не появлялся. Кроме того, у иммунодефицитных мышей BALB/c при заражении этим вирусом неадекватно моделируется инфекционный процесс, поскольку заболевание, вызванное ВОО, может развиваться у людей с нормальной иммунной системой. Также в зарубежной литературе

имеется информация о накоплении разных штаммов ВОО в легких, печени и селезенке у мышей высокочувствительной линии CAST/EiJ, выведенной от диких инбредных мышей, после их гибели при разных способах их инфицирования [5].

Ранее нами была показана возможность применения аутбредных мышей (наиболее доступный вид животных) в качестве модели для оценки эффективности лечебно-профилактического действия препаратов против оспы обезьян [4]. В то же время вопрос о распространении ВОО в организме инфицированных мышей остается не изученным.

Целью данных исследований является изучение диссеминации ВОО у мышей для целенаправленного поиска и разработки лекарственных препаратов с адресной их доставкой к органам-мишеням.

Материалы и методы

Все эксперименты были проведены в лаборатории с максимальным уровнем биологической защиты (BSL-4) с использованием изолирующих пневмокостюмов на базе ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор».

В работе использовали Централно-Африканский штамм ВОО V79-1-005, полученный из Государственной коллекции возбудителей вирусных инфекций и риккетсиозов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор». При культивировании данного штамма в монослое клеток Vero была приготовлена вирусодержащая суспензия, которая в дальнейшем использовалась для инфицирования мышей. Концентрацию вируса в культуральной жидкости определяли путем титрования методом бляшек в культуре клеток Vero, рассчитывали и выражали в десятичных логарифмах бляшкообразующих единиц в мл (lg БОЕ/мл) или в БОЕ/мл [8]. Концентрация вируса в использованных для инфицирования образцах составляла $5,0 \cdot 10^6$ БОЕ/мл. Вирусодержащий материал был расфасован в индивидуальные пробирки и хранился при температуре минус 70 °С.

В исследованиях использовали 20 интактных 8–10-суточных аутбредных мышей ICR обоего пола (массой 9–11 г), полученных из питомника ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор». Животных содержали на стандартном рационе с достаточным количеством воды согласно ветеринарному законодательству и в соответствии с требованиями по гуманному содержанию и использованию животных в экспериментальных исследованиях [2].

Ранее в проведенных нами экспериментах по поиску животного, моделирующего заболевание оспы обезьян у человека, на основании наличия вируса в легких у мышей была определена 50 % инфицирующая доза (ИД₅₀) равная 2,35 lg БОЕ/гол. [3, 4]. При изучении динамики накопления ВОО в органах и тканях инфицированных мышей использовали дозу 3,83 lg БОЕ/гол. (30 ИД₅₀), вводя интраназально 0,03 мл вирусодержащей жидкости суммарно в обе ноздри, для достижения 100 % заражения (ИД₁₀₀) и наиболее высоких титров ВОО в легких и других

органах мышей. Перед заражением мышей наркотизировали с помощью эфирного наркоза. За инфицированными животными наблюдали в течение 14 сут после заражения.

При изучении динамики накопления ВОО в органах и тканях (клетки крови, сыворотка крови, носовая перегородка со слизистой, головной мозг, трахея, бифуркационные лимфоузлы, легкие, печень, селезенка, поджелудочная железа, двенадцатиперстная кишка и почки) было взято по 4 животных на каждую временную точку: 2, 5, 7, 9, 14-е сутки после заражения. Мышей подвергали эвтаназии методом цервикальной дислокации, брали органы и готовили 5 % гомогенаты путем механической дезинтеграции в ступке с речным песком и раствором Хенкса. Перед титрованием гомогенаты органов и образцы крови инфицированных мышей хранили при температуре минус 70 °С.

Определение концентрации жизнеспособного вируса в гомогенатах органов и образцах крови животных проводили традиционным методом титрования и подсчета количества бляшек в монослое клеток Vero, инфицированных разными разведениями [8]. Минимальное количество вируса, которое могло быть выявлено в гомогенатах органов и образцах крови при использованном нами методе титрования, составляло 0,7 lg БОЕ/мл.

Статистическую обработку результатов осуществляли стандартными методами [1]. Нормальность распределения титров вируса в органах и тканях мышей проверяли с помощью критерия Колмогорова-Смирнова для вероятности ошибки $p > 0,10$. Титры ВОО представлены как среднее значение ± 95 % доверительный интервал ($M \pm I_{95}$). Сравнение титров ВОО в исследованных образцах проводили с использованием t-статистики и непараметрического U-критерия Манна-Уитни с помощью пакета компьютерных программ «Statistica 6,0» (StatSoft Inc. 1984–2001).

Результаты и обсуждение

Была изучена динамика накопления ВОО в органах мышей через 2, 5, 7, 9, 14 сут после заражения, результаты этих экспериментов представлены в таблице. Из данных таблицы видно, что уже через 2 сут возбудитель заболевания был обнаружен сразу в нескольких органах и тканях: клетках крови, носовой полости, легких, селезенке и двенадцатиперстной кишке. Затем через 5 сут после заражения патоген был зарегистрирован во многих других органах (головном мозге, трахее, печени и почках) и в сыворотке крови в низких концентрациях (1,4–3,3 lg БОЕ/мл).

Также следует обратить внимание на тот факт, что в клетках крови вирус начал регистрироваться через 2 сут после заражения, в отличие от сыворотки крови, где возбудитель заболевания был зафиксирован позднее (через 5 сут). Далее через 7 сут концентрация ВОО в клетках крови была существенно выше, чем в сыворотке крови, а через 9 и 14 сут ВОО

Динамика накопления штамма V79-1-005 вируса оспы обезьян (ВОО) в органах и тканях мышей, интраназально инфицированных дозой 30 ИД₅₀

Органы и ткани мышей (n=4)	Концентрация ВОО в органах и тканях (lg БОЕ/мл, M±I ₉₅) после заражения через				
	2 сут	5 сут	7 сут	9 сут	14 сут
Клетки крови	3,3±0,1 [#]	3,2±0,3 [#]	3,8±0,3 [#]	<0,7	<0,7
Сыворотка крови	<0,7 ^е	2,9±0,1 ^{&}	2,5±0,1 ^{&}	<0,7	<0,7
Носовая полость	2,0±0,1 ^е	5,2±0,3 ^{*Δ}	5,7±0,1 ^{*Δ}	5,7±0,1 ^{*Δ}	5,3±0,3 ^{*Δ}
Трахея	<0,7 ^е	1,5±0,3	1,5±0,3	<0,7	<0,7
Легкие	3,0±0,1	5,5±0,3 ^{*§}	5,5±0,1 ^{*§}	3,7±0,1	2,8±0,1
Бифуркационные лимфоузлы	<0,7 ^е	<0,7	<0,7	<0,7	<0,7
Головной мозг	0,9±0,8 ^е	3,0±0,3	5,3±0,3 ^{*@}	2,9±0,3	3,9±0,3
Печень	0,7±0,1 ^е	1,4±0,3	3,3±0,3	0,9±0,8	<0,7
Селезенка	2,0±0,1 ^е	2,1±0,3	1,7±0,3	0,8±0,5	<0,7
Поджелудочная железа	0,7±0,1 ^е	<0,7	2,0±0,1	<0,7	<0,7
Двенадцатиперстная кишка	2,0±0,1 ^е	3,8±0,6	4,0±0,1	2,3±1,1	<0,7
Почки	0,8±0,6 ^е	3,3±0,1	3,1±0,1	1,7±0,1	<0,7

Примечание: n – число животных; M – среднее; I₉₅ – 95 % доверительный интервал; <0,7 – в случаях, когда в гомогенатах органов инфицированных мышей вирус ВОО не выявлялся из-за существующего порога чувствительности метода титрования, использовали значение минимального количества вируса, выявляемого при использованном нами методе титрования (0,7 lg БОЕ/мл); * – нет отличия между собой, отличие от других показателей в соответствующее время после заражения по t-критерию Стьюдента и U-критерию Манна-Уитни при p≤0,05; ^е – отличие от соответствующих показателей в легких и клетках крови по t-критерию Стьюдента и U-критерию Манна-Уитни при p≤0,05; [#] – отличие от показателей через 9 и 14 сут после заражения по U-критерию Манна-Уитни при p≤0,05; [&] – отличие от показателей через 2, 9 и 14 сут после заражения по U-критерию Манна-Уитни при p≤0,05; [@] – отличие от показателей через 2, 5, 9 и 14 сут после заражения по t-критерию Стьюдента и U-критерию Манна-Уитни при p≤0,05; [§] – отличие от показателей через 2, 9 и 14 сут после заражения по t-критерию Стьюдента и U-критерию Манна-Уитни при p≤0,05; ^Δ – отличие от показателя через 2 сут после заражения по t-критерию Стьюдента и U-критерию Манна-Уитни при p≤0,05.

не найден ни в клетках, ни в сыворотке крови.

Было отмечено, что органами максимального накопления ВОО являются носовая полость, легкие и головной мозг (таблица), причем это наблюдение в ряде случаев зафиксировано через 5, 7 и 9 сут после заражения. Тем не менее через 9 сут концентрация вируса в большинстве исследуемых органов (головной мозг, легкие, печень, селезенка, двенадцатиперстная кишка и почки) существенно снижалась. При этом в клетках и сыворотке крови, трахее и поджелудочной железе ВОО вообще не удалось обнаружить при использованном нами методе титрования (таблица). Позднее через 14 сут после заражения вирус удалось выделить только из трех органов: носовой полости, головного мозга и легких. Примечательно, что во все сроки исследования от 2 до 14 сут после заражения ВОО не зарегистрирован в бифуркационных лимфоузлах (таблица).

Исходя из полученных данных эксперимента, нами была разработана схема возможного распространения ВОО в органах, тканях и биологической жидкости мышей (рисунок). В связи с тем, что наши исследования по изучению динамики накопления ВОО у интраназально инфицированных мышей начались через 2 сут после заражения, нам не удалось зафиксировать, в каком органе происходит первичное размножение вируса. Исходя из того, что мы использовали респираторный способ заражения животных, можно предположить несколько путей проникновения ВОО в кровь мышей: через аэрогематический барьер (пассивное проникновение вируса, находящегося в альвеолах, в просвет капилляров легких или активное – путем размножения вируса в клетках альвеол и эндотелии капилляров легких); через лимфатическую систему респираторного трак-

та, которая имеет сообщение с кровеносным руслом (лимфатическая жидкость поступает в кровь в месте впадения *truncus lymphaticus* в *vena subclavia*); через фенестрированный эпителий обонятельной области носовой полости. Причем существование первых двух способов проникновения вируса в кровь мышей вполне возможно благодаря тому, что около 10 % вирусосодержащего материала, как правило, при интраназальном заражении попадает в легкие. При этом стоит отметить, что более поздняя регистрация вируса в трахее (через 5 сут после заражения), чем в легких (через 2 сут), свидетельствует о низкой вероятности существования нисходящего способа распространения ВОО из верхнего отдела дыхательного тракта мышей в нижний.

Также обращает на себя внимание и тот факт, что перенос ВОО кровью к вторичным органам-мишеням осуществляется активным способом за счет его размножения в форменных элементах крови, о чем свидетельствует наличие достоверно более высокой концентрации вируса в клетках крови, чем в носовой полости, головном мозге, печени, селезенке, поджелудочной железе, двенадцатиперстной кишке и почках, а также отсутствие вируса в сыворотке крови через 2 сут после заражения, а через 9 сут и позднее было отмечено снижение концентрации ВОО во многих органах и в крови животных, что, вероятно, обусловлено воздействием формирующегося у мышей специфического иммунного ответа.

В отличие от описанных выше научных исследований [5, 9, 12], в нашей работе были использованы мыши с нормальной иммунной системой (8–10-суточные аутобредные мыши ICR), инфицированные более низкой (реальной для человека) дозой ВОО равной 3,83 lg БОЕ/гол. Кроме того, мышью заража-

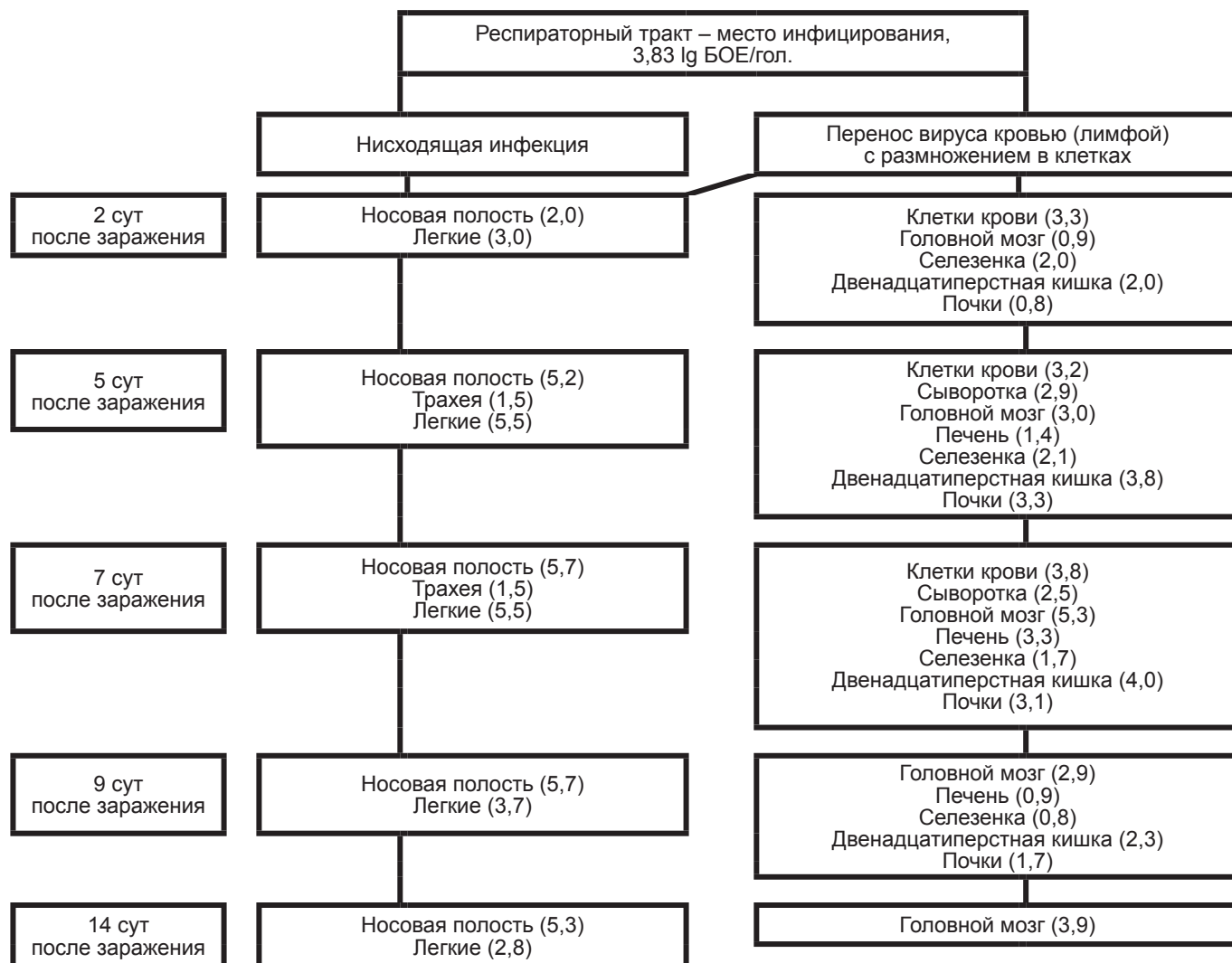


Схема распространения вируса оспы обезьян (ВОО) в организме мышей, интраназально зараженных ВОО в дозе 3,83 lg БОЕ/гол. (титр вируса в lg БОЕ/мл в разные сроки после заражения)

ли интраназально, что соответствует аэрогенному пути передачи этой инфекции в природе. Также отличительной особенностью нашей работы является изучение размножения ВОО в органах мышей у эвтаназированных, а не у погибших животных, в разные сроки после их интраназального инфицирования.

Таким образом, в ходе проведенных нами экспериментов по определению динамики накопления ВОО в различных органах, клетках и сыворотке крови аутбредных мышей ICR, зараженных интраназально в дозе 3,83 lg БОЕ/гол., было установлено, что органами максимальной продукции вируса являются носовая полость, легкие и головной мозг, что было зафиксировано через 5, 7 и 9 сут после заражения. Перенос ВОО кровью к вторичным органам-мишеням (селезенка, двенадцатиперстная кишка, почки и др.) осуществляется активным способом за счет его размножения в клетках крови.

В рамках полученных нами результатов представлена информация о распространении ВОО по органам и тканям интраназально зараженных мышей и разработана схем диссеминации ВОО в организме,

которая может внести определенный вклад в решение вопросов, касающихся целенаправленного поиска и разработки лекарственных противооспенных препаратов с их адресной доставкой к органам-мишеням.

Данная научная работа проведена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках Государственного контракта № 14.518.11.7035.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Закс Л. Статистическое оценивание. М.: Статистика; 1976. 598 с.
2. Руководство по содержанию и использованию лабораторных животных. Washington, D.C.: National Academy Press; 1996. 138 p.
3. Сергеев Ал.А., Булычев Л.Е., Пьянков О.В., Сергеев Ар.А., Боднев С.А., Кабанов А.С., Туманов Ю.В., Юрганова И.А., Шишкина Л.Н., Сергеев А.Н. Чувствительность различных видов животных к вирусу оспы обезьян. *Пробл. особо опасных инф.* 2012; 1(111):88–92.
4. Сергеев Ал.А., Кабанов А.С., Булычев Л.Е., Пьянков О.В., Сергеев Ар.А., Таранов О.С., Боднев С.А., Туманов Ю.В., Шишкина Л.Н., Агафонов А.П., Сергеев А.Н. Использование мышей в качестве модельного животного для оценки эффектив-

ности лечебно-профилактического действия разрабатываемых препаратов против оспы обезьян. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 2:60–5.

5. Americo J.L., Moss B., Earl P.L. Identification of wild-derived inbred mouse strains highly susceptible to monkeypox virus infection for use as small animal models. *J. Virol.* 2010; 84(16):8172–80.

6. Biagini P., Thèves C., Balaesque P., Géraud A., Cannet C., Keyser C., Nikolaeva D., Gérard P., Duchesne S., Orlando L., Willerslev E., Alekseev A.N., de Micco P., Ludes B., Crubézy E. Variola virus in a 300-year-old Siberian mummy. *N. Engl. J. Med.* 2012; 367:2057–9.

7. Cann J.A., Jahrling P.B., Hensley L.E., Wahl-Jensen V. Comparative pathology of smallpox and monkeypox in man and macaques. *J. Comp. Path.* 2013; 148:6–21.

8. Leparco-Goffart I., Poirier B., Garin D., Tissier M.-H., Fuchs F., Crance J.-M. Standardization of a neutralizing anti-vaccinia antibodies titration method: an essential step for titration of vaccinia immunoglobulins and smallpox vaccines evaluation. *J. Clin. Virol.* 2005; 32:47–52.

9. Osorio J.E., Iams K.P., Meteyer C.U., Rocke T.E. Comparison of monkeypox viruses pathogenesis in mice by *in vivo* imaging. *PLoS ONE*. 2009; 4(8):e6592.

10. Reed K.D., Melski J.W., Graham M.B., Regnery R.L., Sotir M.J., Wegner M.V., Kazmierczak J.J., Stratman E.J., Yu Li, Fairley J.A., Swain G.R., Olson V.A., Sargent E.K., Kehl S.C., Frace M.A., Kline R., Foldy S.L., Davis J.P., Damon I.K. The detection of monkeypox in humans in the Western Hemisphere. *N. Engl. J. Med.* 2004; 350:342–50.

11. Schultz D.A., Sagartz J.E., Huso D.L., Mark R., Buller L. Experimental infection of an African dormouse (*Graphiurus kelleni*) with monkeypox virus. *J. Virol.* 2009; 83(1):86–92.

12. Zaucha G., Jahrling P., Geisbert T., Swarengen J., Hensley L. The pathology of experimental aerosolized monkeypox virus infection in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Lab. Invest.* 2001; 81:1581–600.

References

1. Zaks L. [Statistical Estimation]. M.: Statistika; 1976. 598 p.
2. [Guidelines on laboratory animal care and use]. Washington, D.C.: National Academy Press; 1996. 138 p.
3. Sergeev A.I.A., Bulychiev L.E., P'yankov O.V., Sergeev A.R.A., Bodnev S.A., Kabanov A.S., Tumanov Yu.V., Yurganova I.A., Shishkina L.N., Agafonov A.P., Sergeev A.N. [Sensitivity of different animal species to monkeypox virus]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2012; 1(111):88–92.
4. Sergeev A.I.A., Kabanov A.S., Bulychiev L.E., P'yankov O.V.,

Sergeev A.R.A., Taranov O.S., Bodnev S.A., Tumanov Yu.V., Shishkina L.N., Agafonov A.P., Sergeev A.N. [Mice as animal model for evaluation of therapeutic efficacy of preparations against Monkeypox]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 2:60–5.

5. Americo J.L., Moss B., Earl P.L. Identification of wild-derived inbred mouse strains highly susceptible to monkeypox virus infection for use as small animal models. *J. Virol.* 2010; 84(16):8172–80.

6. Biagini P., Thèves C., Balaesque P., Géraud A., Cannet C., Keyser C., Nikolaeva D., Gérard P., Duchesne S., Orlando L., Willerslev E., Alekseev A.N., de Micco P., Ludes B., Crubézy E. Variola virus in a 300-year-old Siberian mummy. *N. Engl. J. Med.* 2012; 367:2057–9.

7. Cann J.A., Jahrling P.B., Hensley L.E., Wahl-Jensen V. Comparative pathology of smallpox and monkeypox in man and macaques. *J. Comp. Path.* 2013; 148:6–21.

8. Leparco-Goffart I., Poirier B., Garin D., Tissier M.-H., Fuchs F., Crance J.-M. Standardization of a neutralizing anti-vaccinia antibodies titration method: an essential step for titration of vaccinia immunoglobulins and smallpox vaccines evaluation. *J. Clin. Virol.* 2005; 32:47–52.

9. Osorio J.E., Iams K.P., Meteyer C.U., Rocke T.E. Comparison of monkeypox viruses pathogenesis in mice by *in vivo* imaging. *PLoS ONE*. 2009; 4(8):e6592.

10. Reed K.D., Melski J.W., Graham M.B., Regnery R.L., Sotir M.J., Wegner M.V., Kazmierczak J.J., Stratman E.J., Yu Li, Fairley J.A., Swain G.R., Olson V.A., Sargent E.K., Kehl S.C., Frace M.A., Kline R., Foldy S.L., Davis J.P., Damon I.K. The detection of monkeypox in humans in the Western Hemisphere. *N. Engl. J. Med.* 2004; 350:342–50.

11. Schultz D.A., Sagartz J.E., Huso D.L., Mark R., Buller L. Experimental infection of an African dormouse (*Graphiurus kelleni*) with monkeypox virus. *J. Virol.* 2009; 83(1):86–92.

12. Zaucha G., Jahrling P., Geisbert T., Swarengen J., Hensley L. The pathology of experimental aerosolized monkeypox virus infection in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Lab. Invest.* 2001; 81:1581–600.

Authors:

Sergeev A.I.A., Kabanov A.S., Bulychiev L.E., P'yankov O.V., Sergeev A.R.A., Bodnev S.A., Gorbatskovskaya D.O., Zamedyanskaya A.S., Shishkina L.N., 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

Об авторах:

Сергеев А.И.А., Кабанов А.С., Булычев Л.Е., Пьянков О.В., Сергеев А.Р.А., Боднев С.А., Горбатовская Д.О., Замедянская А.С., Шишкина Л.Н., 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

Поступила 08.11.14

Е.А.Соловьев¹, Л.В.Саяпина¹, Н.А.Осина², Д.С.Давыдов¹, В.П.Бондарев¹**ХАРАКТЕРИСТИКА ФЕНОТИПИЧЕСКИХ И ГЕНЕТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ВАКЦИННОГО ШТАММА *FRANCISELLA TULARENSIS* 15 НИИЭГ С ДЛИТЕЛЬНЫМИ СРОКАМИ ХРАНЕНИЯ**¹ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России», Москва, Российская Федерация; ²ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация

Изучены культурально-морфологические, биохимические и генетические свойства лиофилизированных культур вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ, наработанных в течение 60 лет и депонированных в Государственной коллекции патогенных микроорганизмов ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России. Проведенные исследования показали, что хранение штаммов в лиофилизированном состоянии при пониженной температуре не в полной мере предохраняет их от изменения генетических и фенотипических свойств. Установлено, что штамм *F. tularensis* 15 НИИЭГ 1953, 1966, 1969, 2003 и 2012 гг. высушивания при культивировании на питательной среде Ft-agar с добавлением крови и без нее по степени диссоциации (87–99 %) SR-колоний сохранял свои иммуногенные свойства. При этом штамм 1990 г. содержал нормированное количество (не менее 80 %) иммуногенных колоний на питательной среде с добавлением крови и не соответствовал требованиям без крови. Выявленное снижение от 70 до 75 % SR-колоний у штамма 1987 г. при культивировании с добавлением крови и без нее свидетельствует о снижении его иммуногенных свойств. По данным RAPD и ERIC типирования, показана высокая стабильность генома лиофилизированных в разные годы культур *F. tularensis* 15 НИИЭГ. Вакцинный штамм туляремийного микроба имеет уникальные RAPD и ERIC профили, незначительное изменение которых отмечено при хранении субкультуры патогена в высушенном состоянии.

Ключевые слова: вакцинный штамм *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ, культурально-морфологические, биохимические и генетические свойства, диссоциация.

Е.А.Solov'ev¹, L.V.Sayapina¹, N.A.Osina², D.S.Davydov¹, V.P.Bondarev¹**Characteristics of Phenotypic and Genetic Properties of *Francisella tularensis* 15 NIEG Vaccine Strain with an Extended Storage Period**¹Scientific Center on Expertise of Medical Application Products, Moscow, Russian Federation; ²Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

Investigated have been cultural-morphological, biochemical and genetic properties of lyophilized cultures of *F. tularensis* 15 NIEG vaccine strain, accumulated within 60-years term and deposited at the State Collection of Pathogenic Microorganisms of Scientific Center on Expertise of Medical Application Products. The studies undertaken have demonstrated that storing of the strains in such a form at low temperatures, does not prevent changes of their genetic and phenotypic properties to the full extent. It is established that *F. tularensis* 15 NIEG strain lyophilized in 1953, 1966, 1969, 2003 and 2012 maintains its immunogenic properties when cultivated on nutrient media Ft-agar with or without addition of blood, based on dissociation rates (87–99 %) of SR-colonies. While *F. tularensis* 15 NIEG strain 1990 contains specified amounts (not less than 80 %) of immunogenic colonies if cultivated on nutrient media with the addition of blood, and fails to meet the requirements – if cultivated without. Identified in *F. tularensis* 15 NIEG strain 1987 SR-colony decrement of 70–75 % in case of cultivation with or without addition of blood testifies to the deterioration of its immunogenic properties. RAPD and ERIC typing has showed high stability of the genome of *F. tularensis* 15 NIEG cultures lyophilized at different times. Tularemia microbe vaccine strain has unique RAPD and ERIC profiles, insignificant alteration of which is observed upon storage of pathogen subculture in the dried form.

Key words: *F. tularensis* 15 NIEG vaccine strain, cultural-morphological, biochemical and genetic properties, dissociation.

Возбудитель туляремии *Francisella tularensis* обладает высокой устойчивостью во внешней среде, множественностью путей передачи, вирулентностью и контагиозностью, что представляет значительную угрозу для населения. Разработка Б.Я.Эльбертом и Н.А.Гайским в 1934 г. высокоэффективной живой туляремийной вакцины и дальнейшее ее использование в СССР позволило снизить ежегодную заболеваемость туляремией с десятков тысяч случаев до уровня спорадической, а также увеличить средний период между вспышками с трех до десяти лет [2, 8, 9].

Вместе с тем изменяющиеся особенности эпизоотического и эпидемического проявлений в

современных условиях антропогенной трансформации окружающей среды, широкое распространение и устойчивость природных очагов туляремии в России сохраняют актуальность данной проблемы для здравоохранения. Как следствие – снижение в последние годы числа вакцинированных людей, резкая урбанизация заболеваемости туляремией. На долю городского населения приходится от 70 до 80 % от числа больных туляремией. В России в 1995 г. зарегистрировано 379 случаев, в 2005 г. – 881 случай на территории 35 субъектов; в 2013 г. только в Ханты-Мансийском автономном округе заболело 1015 человек [3, 7].

Известно, что изготовление живых вакцин требует систематического наблюдения за стабильностью вакцинных штаммов из-за возможных изменений их свойств, в процессе хранения и производства препарата [5]. Некоторые исследователи считают, что применение туляреминой вакцины в течение столь длительного периода привело не только к изменению свойств первоначально полученной вакцины, но и в значительной степени увеличило риск утраты вакцинного штамма [1, 4]. Данное положение подтверждается тем, что используемый на протяжении многих лет штамм *F. tularensis* 15 и 15 НИИЭГ неоднократно подвергался восстановлению иммуногенных свойств (например, в 1954, 1962, 1990, 2003 гг.).

В литературе описан случай производства вакцины из лиофилизированного штамма *F. tularensis* 15, хранившегося в течение 12 лет без должного изучения его свойств, что привело к практически полной его диссоциации (количество иммуногенных клеток в вакцине составляло всего 2–3 %). В связи с этим потребовалось длительное восстановление его иммуногенных свойств путем многократного пассирования на животных, после чего он использовался в производстве как «штамм *F. tularensis* 15 – восстановленный» [6].

На основании многолетнего изучения сохранности основных свойств вакцинного штамма при хранении в условиях температурного режима –18 °С, установлен срок его годности в течение 10 лет. Однако до сих пор сравнительных исследований культур штамма, лиофилизированных в разное время и хранящихся в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, не проводилось.

Учитывая вышеизложенное, целью настоящего исследования явилось изучение стабильности культурально-морфологических, биохимических и генетических свойств культур штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ различных лет высушивания (более 60 лет), применявшегося в производстве живой туляреминой вакцины.

Материалы и методы

В работе изучены 8 лиофилизированных культур штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ, находящихся в Государственной коллекции патогенных микроорганизмов ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России и имеющих различные сроки хранения (от 1 года до 60 лет) при температуре не менее –18 °С.

Перед проведением исследования культурально-морфологических свойств, включая степень диссоциации, лиофилизированные культуры штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ ресуспендировали 0,9 % раствором натрия хлорида и культивировали при температуре (37±1) °С в течение 48 ч на питательной среде ФТ-агар как с добавлением 5 % дефибринированной крови барана, так и без нее. Все исследования проводили с использованием культуры II пассажа.

Для определения ферментативной активности

культур, в том числе образования сероводорода и индола, использовали питательную среду Dawns, модульный анализатор бактериологический bioMerieux «VITEK® 2 Systems», аналитические карты типа bioMerieux GN (21341) и системы индикаторные бумажные (СИБ) коммерческого производства.

Серологические свойства штаммов изучали в реакции агглютинации с применением ОСО 42-28-409-09 сыворотки диагностической туляреминой сухой для реакции агглютинации.

ERIC- и RAPD-типирования культур туляреминого микроба проводили в ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» с использованием праймеров ERIC IR, ERIC II, Universal M13, T3, T7, предложенные V.A. de la Puente-Redondo *et al.* [10]. Работу выполняли в соответствии с рекомендациями авторов: реакционная смесь содержала праймеров в количестве 15 пМоль, дНТФ – 0,2 мМоль, ионов Mg^{2+} – 2,5 мМоль, фермента DreamTaq-ДНК-полимеразы (Fermentas, США) – 4 ед., программа для праймеров ERIC IR, ERIC II – 95 °С – 5 мин, 90 °С – 30 с, 50 °С – 30 с, 52 °С – 1 мин, 72 °С – 1 мин (30 циклов) 72 °С – 8 мин; для праймеров Universal M13, T3, T7 – 94 °С – 5 мин, 94 °С – 5 мин, 40 °С – 5 мин, 72 °С – 5 мин (2 цикла) 94 °С – 1 мин, 60 °С – 1 мин, 72 °С – 1 мин (35 циклов) 72 °С – 5 мин. Амплификацию осуществляли на термоциклере Veriti (LifeTechnology, США), учет результатов проводили в 2 % агарозном геле при градиенте напряжения 5 В/см в течение 2 ч.

Отсутствие посторонних микроорганизмов и грибов подтверждали в соответствии с требованиями ОФС 42-0066-07 методом прямого посева на тиюгликолевую среду в условиях инкубирования посевов при температурах от 30 до 35 °С для выявления аэробных и анаэробных микроорганизмов, от 20 до 25 °С для выявления грибов. После инкубирования проводили оценку однородности тинкториальных свойств культур и микроскопию мазков. Обработку результатов исследований осуществляли с помощью общепринятых статистических методов.

Результаты и обсуждение

В результате проведенных исследований установлено, что внешний вид всех лиофилизированных культур штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ в ампулах имел вид пористой массы белого с желтоватым оттенком цвета, что соответствует нормативным требованиям по данному показателю. Фенотипические свойства культур вакцинного штамма разных лет высушивания приведены в таблице.

Сравнительное изучение культурально-морфологических свойств показало, что на ФТ-агаре (с кровью и без крови) после инкубирования при температуре (37±1) °С в течение 48 ч все культуры штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ вырастали в виде беловато-серых, блестящих, круглых колоний. Отмечено, что на ФТ-агаре с добавлением дефибринированной крови колонии были более однородными, диаметром от

Результаты изучения культурально-морфологических свойств вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ разных лет высушивания

Наименование показателя	Норма	Год высушивания штамма							
		1953	1966	1969	1987	1990	2003	2012	2013
Диссоциация колоний на Ft-агаре с кровью	SR-колоний не менее 80 %	91	97	93	75	82	87	95	95
Диссоциация колоний на Ft-агаре без крови		76	93	92	70	68	91	94	—*
Количество выросших колоний на Ft-агаре с кровью	Не менее 40 % (из 100 м.к./0,1 мл)	94±8,6	99±14,5	86±13,3	101±14,9	98±5,2	93±3,8	91±7,5	—*
Количество выросших колоний на Ft-агаре без крови	Не менее 40 % (из 100 м.к./0,1 мл)	76±12,7	97±11,1	76±11,4	80±11,3	94±8,6	61±4,4	118±5,3	—*
Значение критерия Стьюдента**, рассчитанное по экспериментальным данным $t_{\text{эсп}}$	$t_{\text{табл}}=2,306$ (для $f=8$ и $P \geq 0,95$)	1,17	0,11	0,57	1,12	0,4	5,5	2,94	—*
Отсутствие патогенных микроорганизмов и грибов	Чистая культура <i>F. tularensis</i> 15 НИИЭГ (полиморфные Грам «-» коккобактерии)	Соответствует	Соответствует	Соответствует	Соответствует	Соответствует	Соответствует	Грамм «+» кокки, Грамм «-» палочки	Соответствует

* Не изучалось.

**Значение критерия Стьюдента, рассчитанное по экспериментальным данным для показателя «количество выросших колоний» для культур штамма 1953 г. ($t_{\text{эсп}}=1,17$), 1966 г. ($t_{\text{эсп}}=0,11$), 1969 г. ($t_{\text{эсп}}=0,57$), 1987 г. ($t_{\text{эсп}}=1,12$), 1990 г. ($t_{\text{эсп}}=0,4$) меньше, чем табличное равное $t_{\text{табл}}=2,306$ для числа степеней свободы $f=8$ и уровня значимости $\alpha=0,05$.

1 до 2,5 мм с отчетливо выраженной типичной для туляремии морфологией, на питательной среде без крови – от 2,5 до 3 мм. В мазках, окрашенных по Граму, все культуры штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ представляли собой полиморфные грам-отрицательные коккобактерии.

Степень диссоциации штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ, которую оценивают по формированию при культивировании SR-колоний белого цвета, является важнейшим показателем, свидетельствующим о развитии иммунологических реакций, обеспечивающих формирование полноценного противотуляремии иммунитета [5].

Проведенными исследованиями установлено, что культуры штамма 1953, 1966, 1969, 2003 и 2012 гг. высушивания имели в своем составе от 87 до 99 % иммуногенных (белые) колоний (норма не менее 80 %) и меньшее количество (от 1 до 13 % соответственно) неиммуногенных (серые) колоний в R-форме. В то же время штамм 1987 г., выращенный на обеих питательных средах, содержал от 70 до 75 % SR-колоний. Выявлено, что штамм 1990 г. высушивания при культивировании на FT-агаре с кровью соответствовал нормативным требованиям по степени диссоциации, а на FT-агаре без крови имел в своем составе 68 % SR-колоний. Рассчитанное по экспериментальным данным для показателя «количество выросших колоний» для культур штаммов, лиофилизированных в период с 1953 по 1990 год, значение критерия Стьюдента было меньше, чем табличное равное $t_{\text{табл}}=2,306$ для числа степеней свободы $f=8$ и уровня значимости $\alpha=0,05$. Таким образом, изменение степени диссоциации указанных культур было незначительными, а для культур 2003 и 2012 гг. – статистически значимым (при доверительной вероятности $P \geq 0,95$).

Выявление степени иммуногенности по диссоциации разных культур вакцинного штамма имеет большое значение не только для их сравнительной оценки, но и для своевременного выявления измене-

ния иммуногенности штамма, используемого в производстве живой туляремии вакцины.

При характеристике биохимических свойств культур штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ на питательной среде Dawns и при использовании коммерческих СИБ и диагностических систем bioMerieux Vitek выявлено, что все они имели типичные для голарктического подвида свойства: ферментировали с образованием кислоты без газа глюкозу, мальтозу, маннозу с разной степенью активности и не ферментировали глицерин и мочевины. Исследуемые штаммы образовывали сероводород и не образовывали индол. При этом наблюдалось существенное снижение интенсивности реакций, выявляемых по слабому окрашиванию используемых субстратов. Также нестабильной была ферментативная активность штаммов в отношении маннита, трегалозы, целлобиозы, галактозы и сахарозы. Ложноположительные реакции не выявлены. В целом, совпадение биохимического профиля с типовым для *F. tularensis* подвида *holarctica* составило от 90 до 99 % для штаммов, лиофилизированных в 1963, 1966, 1969, 2003 гг. Ферментативная активность производственных штаммов 1987, 1990 и 2012 гг. высушивания была атипичной и/или слишком низкой для достоверной оценки подлинности.

Нами отмечено, что наиболее активными были культуры штаммов 1953, 1966 и 1969 гг. высушивания, так как при их исследовании наблюдалось наиболее интенсивное желтое окрашивание питательной среды Dawns, что свидетельствует об активности сахаролитических ферментов бактерий. При посеве других культур питательная среда имела слабый желтовато-зеленый цвет. Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что исследованные образцы характеризуются пониженной реакционной способностью. Это указывает на необходимость совершенствования методов восстановления культур вакцинного штамма и строгого соблюдения условий культивирования и пробоподготовки.

Антигенные свойства культур штамма *F. tularensis*

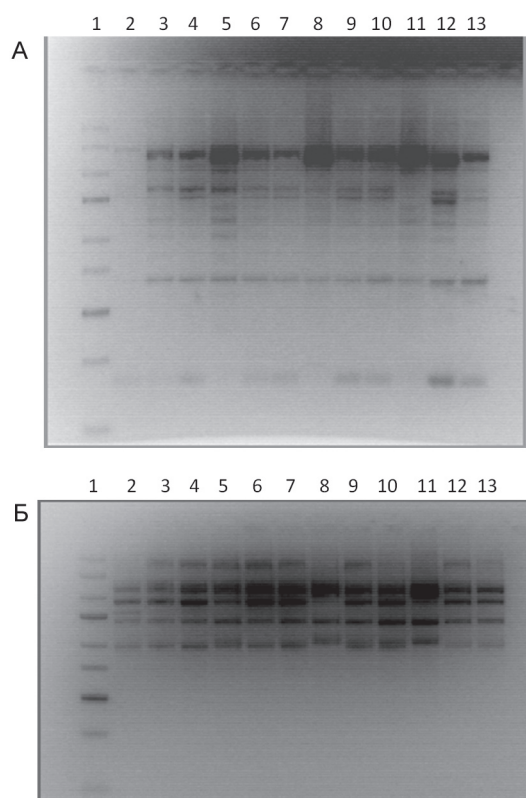


Рис. 1. Результаты ERIC (А) и RAPD с праймерами ТЗ-Т7 (Б) типирования культуры *F. tularensis* 15 НИИЭГ с различным сроком хранения в лиофильном состоянии и после двух пассажей на плотной питательной среде (Ft-агар):

1 – маркер молекулярных масс (100, 300, 500, 750, 1000, 1500, 2000, 3000, 5000); 2 – *F. tularensis* 15 НИИЭГ (1990 г.), нативная культура; 3 – *F. tularensis* 15 НИИЭГ (1990 г.), 1-й пассаж; 4 – *F. tularensis* 15 НИИЭГ (1990 г.), 2-й пассаж; 5 – *F. tularensis* 15 НИИЭГ (2003 г.), нативная культура; 6 – *F. tularensis* 15 НИИЭГ (2003 г.), 1-й пассаж; 7 – *F. tularensis* 15 НИИЭГ (2003 г.), 2-й пассаж; 8 – *F. tularensis* 15 НИИЭГ (2012 г.), нативная культура; 9 – *F. tularensis* 15 НИИЭГ (2012 г.), 1-й пассаж; 10 – *F. tularensis* 15 НИИЭГ (2012 г.), 2-й пассаж; 11 – *F. tularensis* 15 НИИЭГ (2013 г.), нативная культура; 12 – *F. tularensis* 15 НИИЭГ (2013 г.), 1-й пассаж; 13 – *F. tularensis* 15 НИИЭГ (2013 г.), 2-й пассаж

15 НИИЭГ изучали с помощью ОСО сыворотки диагностической туляреминой агглютинирующей. Исследование показало идентичность серологических свойств культур, которые агглютинировались ОСО сыворотки туляреминой до титра 1:1600.

Важным производственным показателем, влияющим в дальнейшем на качество живой туляреминой вакцины, является отсутствие в культуре вакцинного штамма посторонней микрофлоры и грибов. Из 8 изученных культур штамма 7 соответствовали предъявляемым требованиям и представляли собой чистую культуру туляреминого микроба, так как в посевах не обнаружен рост посторонних микроорганизмов и грибов (таблица). Испытание не выдержала культура 2012 г. высушивания. В посевах на тиогликолевой среде был выявлен нетипичный для туляреминого микроба рост в виде помутнения среды, хлопьев и осадка. В мазках, окрашенных по Граму, обнаружены грамположительные кокки и грамотрицательные палочки. При повторном испытании новых образцов штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ подтвердилась контаминация посторонней микрофлорой. Учитывая

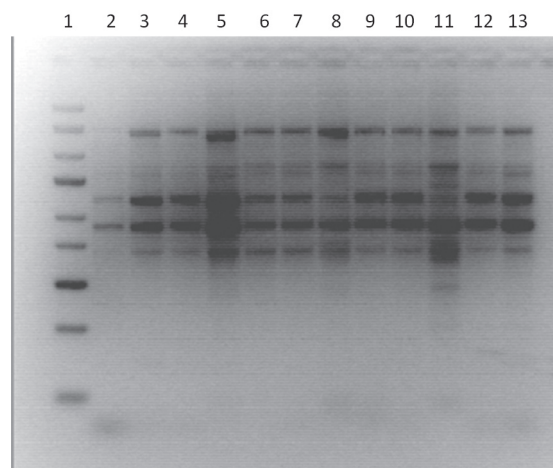


Рис. 2. Результаты RAPD с праймером М-13 типирования культур штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ с различным сроком хранения в лиофильном состоянии и после двух пассажей на плотной питательной среде:

1 – маркер молекулярных масс (100, 300, 500, 750, 1000, 1500, 2000, 3000, 5000); 2 – *F. tularensis* 15 НИИЭГ (1990 г.), нативная культура; 3 – *F. tularensis* 15 НИИЭГ (1990 г.), 1-й пассаж; 4 – *F. tularensis* 15 НИИЭГ (1990 г.), 2-й пассаж; 5 – *F. tularensis* 15 НИИЭГ (2003 г.), нативная культура; 6 – *F. tularensis* 15 НИИЭГ (2003 г.), 1-й пассаж; 7 – *F. tularensis* 15 НИИЭГ (2003 г.), 2-й пассаж; 8 – *F. tularensis* 15 НИИЭГ (2012 г.), нативная культура; 9 – *F. tularensis* 15 НИИЭГ (2012 г.), 1-й пассаж; 10 – *F. tularensis* 15 НИИЭГ (2012 г.), 2-й пассаж; 11 – *F. tularensis* 15 НИИЭГ (2013 г.), нативная культура; 12 – *F. tularensis* 15 НИИЭГ (2013 г.), 1-й пассаж; 13 – *F. tularensis* 15 НИИЭГ (2013 г.), 2-й пассаж

вышеизложенное, было рекомендовано приготовить новую серию производственного штамма.

Результаты исследования культур штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ 1990, 2003, 2012 и 2013 гг. высушивания с помощью ПЦР со случайными праймерами Universal M13, T3, T7 и праймерами на основе последовательности ERIC показали высокую генетическую однородность изученных культур вне зависимости от сроков их хранения (рис. 1, 2).

При RAPD типировании с праймерами ТЗ-Т7 во всех случаях отмечено формирование фрагментов размером ~ 1000, 1400, 1900, 2200, 4000 п.н., с праймером Universal M13 – ~ 750, 900, 1300, 1600, 3000 п.н. При изучении распространения ERIC последовательностей на электрофореграмме выявлены локусы размером ~ 730, 1500, 1600, 2100, 2800 п.н. Полученные результаты указывают на то, что штамм имеет уникальные RAPD и ERIC профили, которые отличаются от таковых для штаммов туляреминого микроба разных подвидов, полученные V.A. de la Puente-Redondo *et al.* [10]. При этом данные профили не имели отличий для всех изученных культур. Последующие после вскрытия ампулы, 2-кратные пассажи культур на плотной питательной среде, также не привели к изменению RAPD и ERIC профилей.

Полученные данные свидетельствуют о достаточно высокой стабильности генома лиофилизированных культур вакцинного штамма при длительном хранении. В ряде случаев при изучении ДНК, выделенной из содержимого ампул, отмечено образование дополнительных фрагментов низкой интенсивности. Однако при исследовании препаратов ДНК, получен-

ных из культур вакцинного штамма, высеванных на плотную питательную среду, формирование таких локусов не зафиксировано. Выявленные отличия могут быть связаны с наличием в лиофилизате незначительного количества погибших клеток туляремийного микроба, ДНК которых могла быть подвергнута деградации.

Изучение стабильности культур вакцинного штамма по генетическим свойствам показало, что исследуемые штаммы имеют практически одинаковые ERIC- и RAPD-профили, характерные для штаммов туляремийного микроба подвида *holarctica*. Несмотря на то, что данные подходы не обладают высокой дискриминирующей способностью при исследовании штаммов туляремийного микроба, они в полной мере могут показать возможные изменения в геноме вакцинных штаммов туляремийного микроба под воздействием неблагоприятных факторов при длительном хранении.

Следует также отметить отсутствие в настоящее время единых методических подходов к алгоритму приготовления, изучения, поддержания и хранения живых вакцинных штаммов, что затрудняет проведение подобных работ и интерпретацию полученных данных.

Таким образом, изучение культур вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ, хранившихся в лиофилизированном состоянии в течение длительного периода времени (до 60 лет), позволяет сделать заключение, что фенотипические свойства большинства культур штаммов соответствуют современным требованиям, предъявляемым к вакцинному штамму *F. tularensis* 15 НИИЭГ. Вместе с тем полученные данные свидетельствуют о нестабильности свойств отдельных культур штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ по культурально-морфологическим свойствам и степени диссоциации в зависимости от состава используемых питательных сред, а также вариативности единичных фрагментов ДНК при длительном хранении.

Отсутствие в настоящее время единых методических требований к поддержанию вакцинных штаммов показывает необходимость разработки документа по алгоритму изготовления, изучения, поддержания и хранения вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кисличкин Н.Н., Кисличкина О.И. Живая туляремийная вакцина Nik-sp. *Francisella tularensis*. Патент РФ № 2308969, опубл. 27.10.2007.
2. Мещерякова И.С. Туляремия: современная эпидемиология и вакцинопрофилактика (к 80-летию создания первой туляре-

мийной лаборатории в России. *Эпидемиол. и вакцинопрофилактика*. 2010; 2:17–22.

3. Никифоров В.В., Кареткина Г.Н. Туляремия: от открытия до наших дней. *Инф. бол.* 2007;5(1):67–76.

4. Олсуфьев Н.Г. Туляремия. М.; 1960. 459 с.

5. Саяпина Л.В., Соловьев Е.А., Горяев А.А., Бондарев В.П. Изучение иммунобиологических свойств вакцинного штамма *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ в условиях длительного хранения. *Пробл. особо опасных инф.* 2015; 2:87–91.

6. Сиротюк Л.В. Биологические свойства туляремийных вакцинных штаммов НИИЭГ. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* 1964; 10:116–20.

7. 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. *Пробл. особо опасных инф.* 2015; 1:30–5.

8. Ellis J., Oyston P.C.F., Green M., Titball R.W. Tularemia. *Clin. Microbiol. Rev.* 2002; 15(40):631–46.

9. Cole L.E., Elkins K.L., Michalek S.M., Qureshi N., Eaton L.J., Rallabhandi P., Cuesta N., Vogel, S.N. Immunologic consequences of *Francisella tularensis* live vaccine strain infection: role of the innate immune response in infection and immunity. *J. Immunol.* 2006; 176:6888–99.

10. de la Puente-Redondo V.A., del Blanco N.G., Gutiérrez-Martín C.B., García-Peña F.J., Rodríguez Ferri E.F. Comparison of different PCR approaches for typing of *Francisella tularensis* strains. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 38(3):1016–22.

References

1. Kislichkin N.N., Kislichkina O.I. [Live tularemia vaccine Nik-sp. *Francisella tularensis*]. RF Patent 2308969. 27.10.2007.

2. Meshcheryakova I.S. [Tularemia: modern epidemiology and preventive vaccination (To the 80th Anniversary since the first tularemia laboratory foundation in Russia)]. *Epidemiol. Vaksino prof.* 2010; 2:17–22.

3. Nikiforov V.V., Karetkina G.N. [Tularemia: since the discovery up to the present day]. *Infek. Bol.* 2007; 5(1):67–76.

4. Olsuf'ev N.G. [Tularemia]. M.; 1960. 459 p.

5. Sayapina L.V., Solov'ev E.A., Goryaev A.A., Bondarev V.P. [Studies of immunobiological properties in *Francisella tularensis* vaccine strain 15 NIIEG under extended storage conditions]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2015; 2:87–91.

6. Sirotyuk L.V. [Biological properties of tularemia vaccine strains NIIEG]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 1964; 10:116–20.

7. Trankvilevsky D.V., Udobikov 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]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2015; 1:30–5.

8. Ellis J., Oyston P.C.F., Green M., Titball R.W. Tularemia. *Clin. Microbiol. Rev.* 2002; 15(40):631–46.

9. Cole L.E., Elkins K.L., Michalek S.M., Qureshi N., Eaton L.J., Rallabhandi P., Cuesta N., Vogel, S.N. Immunologic consequences of *Francisella tularensis* live vaccine strain infection: role of the innate immune response in infection and immunity. *J. Immunol.* 2006; 176:6888–99.

10. de la Puente-Redondo V.A., del Blanco N.G., Gutiérrez-Martín C.B., García-Peña F.J., Rodríguez Ferri E.F. Comparison of different PCR approaches for typing of *Francisella tularensis* strains. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 38(3):1016–22.

Authors:

Solov'ev E.A., Sayapina L.V., Davydov D.S., Bondarev V.P. Scientific Center on Expertise of Medical Application Products. 8, Petrovsky Bulvar, Moscow, 127051, Russian Federation. E-mail: Sayapina@xpmc.ru

Osina N.A. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru

Об авторах:

Соловьев Е.А., Саяпина Л.В., Давыдов Д.С., Бондарев В.П. Научный центр экспертизы средств медицинского применения. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, 8. E-mail: Sayapina@xpmc.ru

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

Поступила 19.06.15.

Д.В.Ульшина, Д.А.Ковалев, О.В.Бобрышева, Г.И.Лямкин, А.А.Худолеев, Ю.В.Сирица, А.Н.Куличенко

РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА ИДЕНТИФИКАЦИИ КУЛЬТУР ВОЗБУДИТЕЛЯ БРУЦЕЛЛЕЗА МЕТОДОМ MALDI-TOF МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ*ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт», Ставрополь, Российская Федерация*

В работе приведены результаты прямого белкового профилирования коллекции штаммов бруцелл с помощью времяпролетной масс-спектрометрии с матричной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF MS). Стандартизована методика обеззараживания культур возбудителя бруцеллеза и последующего анализа при использовании MALDI-TOF MS. Получены 59 репрезентативных белковых профилей представителей шести основных видов бруцелл (*B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. canis*, *B. ovis*, *B. neotomae*), которые включены в электронную базу данных масс-спектров в среде программы Biotyper v 3.0 (Bruker Daltonics, Германия). При анализе масс-спектров исследованных штаммов бруцелл выявлены 17 родоспецифичных фрагментов в диапазоне масс 2000–20000 Да, совокупность которых в MALDI-TOF масс-спектрах может использоваться при идентификации *Brucella spp.* В работе также описаны фрагменты, специфичные для отдельных видов и штаммов бруцелл, представляющие интерес в качестве маркеров для внутривидовой дифференциации возбудителя. На основании полученных данных разработан стандартизированный алгоритм идентификации и дифференциации культур возбудителя бруцеллеза методом MALDI-TOF масс-спектрометрии.

Ключевые слова: масс-спектрометрия, белковое профилирование, возбудитель бруцеллеза.

D.V.Ul'shina, D.A.Kovalev, O.V.Bobrysheva, G.I.Lyamkin, A.A.Khudoleev, Yu.V.Siritsa, A.N.Kulichenko

Development of Algorithm for Identification of Brucellosis Agent Cultures Using MALDI-TOF Mass-Spectrometry*Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation*

Given are the results of direct protein profiling of brucella strain collection using matrix laser desorption/ionization time-of-flight mass-spectrometry (MALDI-TOF MS). Standardized is the method for brucellosis agent culture disinfection and subsequent assessment. Obtained are 59 representative protein profiles of six major species (*B. melitensis*, *B. abortus*, *B. canis*, *B. ovis*, *B. neotomae*), which are included into electronic database of mass-spectra, integrated in Biotyper v 3.0 software (Bruker Daltonics, Germany). Analysis of mass-spectra of brucella strains under investigation revealed 17 genus-specific fragments within the mass range of 2000–20000 Da, the combination of which can be used for *Brucella spp.* identification. In addition, described are the fragments, specific for certain brucella species and strains, promising as markers for intraspecific differentiation. Based on the data received developed is a standardized algorithm of identification and differentiation of brucellosis agent cultures applying MALDI-TOF mass spectrometry.

Key words: mass-spectrometry, protein profiling, brucellosis agent.

Материалы и методы

Штаммы бруцелл, питательные среды, реактивы. В работе использовали 59 культур бруцелл шести видов (*B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. canis*, *B. ovis*, *B. neotomae*) из коллекции микроорганизмов Ставропольского противочумного института, в том числе 11 референсных штаммов: *B. abortus* 19 ВА (вакцинный), *B. abortus* 544 (1 биовар, референсный), *B. abortus* 1552, *B. abortus* 870 (6 биовар, референсный), *B. abortus* C-68 (9 биовар, референсный), *B. abortus* 63-75 (7 биовар, референсный), *B. abortus* B-3196 (5 биовар, референсный), *B. abortus* Tulya (3 биовар, референсный), *B. abortus* C-548 (6 биовар), *B. abortus* C-549 (6 биовар), *B. abortus* C-550 (3 биовар), *B. abortus* 19 (1 биовар), *B. abortus* C-497, *B. abortus* C-551 (3 биовар), *B. abortus* C-499 (3 биовар), *B. melitensis* 16-M (1 биовар, референсный), *B. melitensis* 63/9 (2 биовар), *B. melitensis* 548 (1 биовар), *B. melitensis* C-554 (3 биовар), *B. melitensis* Rev-1 (1 биовар, вакцинный), *B. melitensis* C-555 (3 биовар), *B. melitensis* C-556 (1 биовар), *B. meliten-*

sis C-557 (1 биовар), *B. melitensis* C-558 (3 биовар), *B. melitensis* C-559 (1 биовар), *B. melitensis* Ether 706 (3 биовар, референсный), *B. melitensis* C-560, *B. melitensis* C-561, *B. melitensis* C-562, (3 биовар), *B. ovis* 707, *B. suis* 61, *B. suis* 513, *B. suis* 1330 (1 биовар, референсный), *B. suis* Thomsen (2 биовар, референсный), *B. suis* 40, *B. suis* 686 (3 биовар, референсный), *B. suis* 484, *B. suis* 539, *B. suis* 513, *B. suis* S-705, *B. suis* 68-86, *B. suis* 68 (4 биовар), *B. suis* 323 (4 биовар), *B. suis* 324, *B. canis* 6/66, *B. canis* 1066 (1 биовар), *B. canis* H-966, *B. neotomae* 65/198, *B. neotomae* 65/196, *B. neotomae* 325 (1 биовар), *B. neotomae* 66/2 (1 биовар), *B. neotomae* 5K33, *B. suis* И-72, *B. suis* 2-1/20-2, *B. suis* И-299, *B. suis* И-200, *B. ovis* 712, *B. ovis* C-440 (№ 6), *B. ovis* 722; воду ультрачистую (тип I по ASTM) (система Millipore, США), спирт этиловый 96 % (ГОСТ Р 51723-2001), кислоту муравьиную, ~ 98 % (Sigma-Aldrich, США), ацетонитрил (степень чистоты «для ВЭЖХ-МС») (Sigma-Aldrich, США), α-циано-4-гидроксикоричную кислоту (степень чистоты для масс-спектрометрии) (Sigma-Aldrich, США), трифторуксусную кислоту, > 99 %

(Sigma-Aldrich, США), бактериальный тест-стандарт MBT для внутренней калибровки масс-спектрометра (Bruker Daltonics, Германия). Культуры выращивали на агаре Альбими (pH 7,2, прочность 300–380 г по Валенту, содержание аминного азота 100–120 мг %).

Обеззараживание. В качестве объектов исследования использовали культуры 59 штаммов бруцеллеза шести основных патогенных видов (*B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. canis*, *B. ovis*, *B. neotomae*). Пробоподготовку и обеззараживание образцов выполняли по методике, описанной ранее F.Lista *et al.* [4]. Инактивированные образцы возбудителя бруцеллеза ресуспендировали в 100 мкл 70 % муравьиной кислоты и 100 мкл ацетонитрила с последующим осаждением центрифугированием в течение 4 мин при 14000 об/мин при температуре 10 °С. Приготовленные белковые экстракты вносили в ячейки стального планшета для MALDI-TOF масс-спектрометрии (Bruker Daltonics, Германия) в объеме 1 мкл. Планшет сушили на открытом воздухе в течение нескольких минут с последующим нанесением поверх раствора матрицы, состоящего из α -циано-4-гидроксикоричной кислоты в растворе, содержащем 500 мкл ацетонитрила, 475 мкл ультрачистой воды и 25 мкл трифторуксусной кислоты. Плашку высушивали на воздухе до образования кристаллов в течение 5 мин.

Получение масс-спектров. Масс-спектры получали в линейном режиме на MALDI-TOF масс-спектрометре Microflex (Bruker Daltonics, Германия) при следующих параметрах: частота лазера 60 Гц, интенсивность лазера 10–50 %, время задержки экстракции 110 нс P1E, напряжение первого источника ионов 19,4 kV, второго – 17,3 kV, напряжение фокусирующей линзы – 8 kV, напряжение линейного детектора – 2,500 kV, диапазон масс – 2000–20000 Да. Суммарный масс-спектр генерировали из 22 слу-

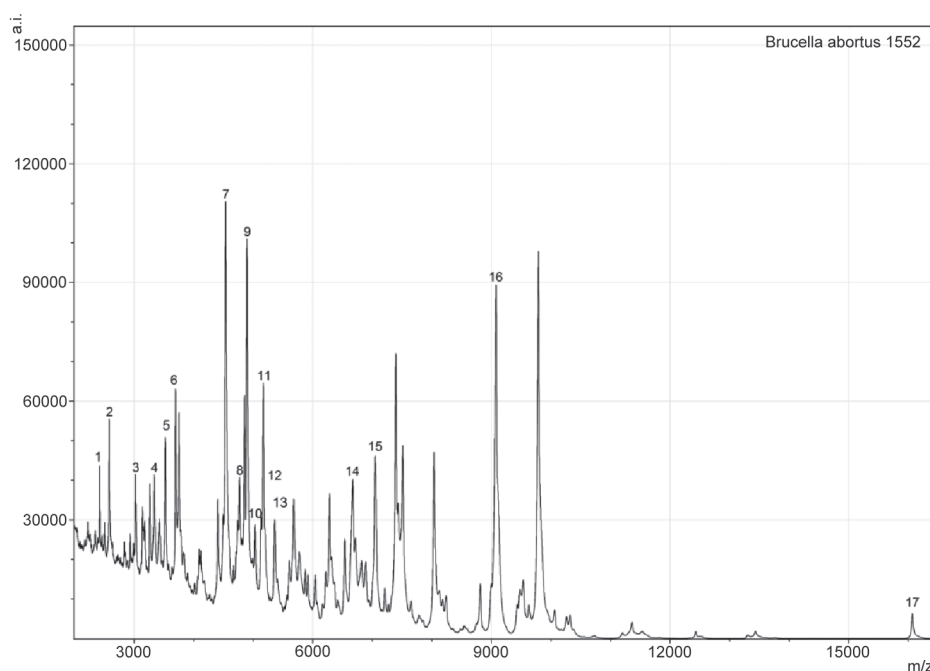
чайно выбранных позиций каждой капли мишени (всего по 4000 выстрелов лазера). Для управления масс-спектрометром использовали программный пакет Daltonics flexControl v 3.3.64 (Bruker Daltonics, Германия), для предварительной оценки интенсивности и разрешения пиков в спектре – flexAnalysis v 3.3.65. Визуализацию и анализ полученных масс-спектров осуществляли в программе mMass v 5.5.0 (<http://www.mmass.org/>).

Статистическая обработка данных. Для математико-статистической обработки данных использовали пакет прикладных программ Statistica v 10.0 (Statsoft Inc., США). Экспериментальные данные представлены в виде среднего значения (M) $\pm$ стандартное отклонение (SD). Анализ групповых различий оценивали по t-критерию Стьюдента для несвязанных выборок при 95 % уровне значимости. Различия между выборками считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Нами разработан протокол MALDI-TOF масс-спектрометрического анализа образцов бруцелл, включающий пробоподготовку и параметры формирования масс-спектров, который был апробирован с использованием вирулентного штамма *B. melitensis* 548. Типичный масс-спектр образца, содержащего инактивированную в стандартизованных условиях культуру возбудителя бруцеллеза, представлен на рисунке.

Воспроизводимость масс-профилей отдельных образцов культур бруцелл была подтверждена серией повторных измерений. При проведении масс-спектрометрического анализа проб, хранившихся до 3 сут при температуре –76 °С, изменений основных характеристик сигналов масс-спектров не выявля-



Типичный MALDI-TOF масс-спектр образца *Brucella abortus* 1552 (цифрами 1–17 отмечен набор фрагментов, специфичный для рода *Brucella*)

но. Полученные данные белкового профилирования штаммов возбудителя бруцеллеза согласуются с результатами более ранних работ [4].

Один из ключевых факторов обеспечения достоверности результата анализа методом MALDI-TOF MS – качество масс-спектров. На основании полученных экспериментальных данных нами были определены следующие критерии качества полученных данных: разрешение пиков масс-спектра, соотношение сигнал/шум, общее число идентифицированных пиков в пик-листе, их интенсивность и диапазон значений m/z , регистрируемых в ходе анализа.

Из литературных источников [2, 3] известно, что при сравнительном анализе идентичных фрагментов в целевой области полученных масс-спектрометрических данных наблюдается дрейф – отклонение по величине m/z . Основные причины отклонения гомологичных сигналов могут быть связаны с калибровкой прибора (аппаратный дрейф) и с изменениями, появившимися в ходе субкультивирования и роста культуры (морфологический дрейф).

Непостоянство изотопного состава белков клеток бактерий может служить причиной увеличения дрейфа сигнала до нескольких дальтон. При анализе полученных масс-спектров возбудителя бруцеллеза для диапазона измерений от 2000 до 20000 Да были отмечены различные отклонения по величине m/z . Минимальные отклонения от среднего значения масс-ионов зафиксированы в начале установленной зоны в интервале 2000–5000 Да (до ± 5 Да), максимальный дрейф значений m/z зарегистрирован для конечной области рабочего диапазона (до ± 20 Да).

В результате проведенного анализа полученных пик-листов были определены следующие оптимальные значения характеристик валидного масс-спектра при анализе образцов, содержащих культуры возбудителя бруцеллеза: абсолютная интенсивность пиков $I > 500$, разрешение $R > 150$, общее число идентифицированных пиков от 65 до 100, отношение сигнал/шум – 15.

Нами были отобраны характеристические спектры инактивированных образцов бруцелл для последующего включения в базу данных в среде программы Biotyper v 3.0 (Bruker Daltonics, Германия). Полученные данные проанализированы и сопоставлены с масс-спектрами из электронной библиотеки Bruker Daltonics.

При интерпретации результатов идентификации и дифференциации микроорганизмов с помощью MALDI-TOF MS в среде программы Biotyper часто возникают затруднения, связанные, в первую очередь, с отсутствием в базе данных информации о штаммах возбудителей инфекций, в том числе циркулирующих на территории России, а также сложностью однозначной трактовки конкретных значений Score. В связи с этим следует отметить, что для проведения точной идентификации и типирования возбудителя бруцеллеза методом масс-спектрометрии с помощью программы Biotyper необходимо формиро-

вание представительной базы данных, содержащей масс-спектры высокого качества, полученные в стандартизированных условиях.

Анализ полученных спектров в базе данных Biotyper DB v 3.1.2 показал низкие значения Score (менее 1,397) для всех штаммов возбудителя бруцеллеза относительно других микроорганизмов (общее количество включает более 4600 штаммов (2185 видов, 364 родов) бактерий, микобактерий и др.), на основании чего был сделан вывод о высокой специфичности исследуемых белковых профилей. С другой стороны, сравнение коллекции масс-спектров штаммов бруцелл между собой подтвердило высокую степень родства изучаемых бактерий (Score в интервале 1,946–2,845). Наблюдаемые незначительные различия качественного состава масс-спектров исследуемых бруцелл подтверждают известные факты о консервативности рибосомальных белков микроорганизмов [1], в том числе рода *Brucella*.

На всех изученных спектрах установлено наличие 17 идентичных сигналов, отличающихся по интенсивности ($m/z (\pm 5 \text{ Da})$): 2422, 2581, 3025, 3268, 3336, 3523, 3696, 3754, 5036, 4545, 4770, 5170, 5360, 6672, 7048, 9085, 16068).

Кроме того, в пик-листах характеристических масс-спектров исследованных штаммов было установлено наличие общих (групповых) фрагментов для штаммов *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis* ($m/z (\pm 5 \text{ Da})$): 2245, 2253, 2286, 2455, 3408, 3825, 4066, 4407, 4498, 5537, 6030, 6215, 6745, 6945, 7650, 8110, 8667, 8810, 10073, 10317.

Масс-спектры большинства исследуемых штаммов содержали фрагменты, специфичные для представителей двух видов бруцелл. В частности, для представителей видов *B. melitensis* и *B. canis* были отмечены следующие общие фрагменты ($m/z (\pm 5 \text{ Da})$): 2328, 2410, 2756; *B. melitensis* и *B. suis* ($m/z (\pm 5 \text{ Da})$): 2554, 2680, 4372, 4960, 5230, 5555, 5810, 5840, 6443, 7720, 7848, 9426, 9516, 9647; *B. abortus* и *B. neotomae* ($m/z (\pm 5 \text{ Da})$): 2300, 2387, 2961, 3749, 4107, 4515, 5920, 5940; *B. suis* и *B. ovis* ($m/z (\pm 5 \text{ Da})$): 2266, 2712, 2862, 2918, 3125, 3300, 3320, 4007, 4440, 4871, 5132, 5631.

Наряду с существующей высокой стабильностью родо- и видоспецифичных групп фрагментов, масс-спектры возбудителя бруцеллеза, в ряде случаев (до 30 % исследованных штаммов), содержат значительное количество штаммоспецифичных сигналов, анализ которых позволяет проводить идентификацию патогена до уровня штамма при наличии комплекса родоспецифичных маркеров. Количество уникальных фрагментов в отдельных масс-спектрах варьировало от 1 (*B. abortus* 870) до 10 (*B. melitensis* C-561).

Полученные в результате проведенного исследования данные послужили основанием для разработки алгоритма идентификации возбудителя бруцеллеза с использованием MALDI-TOF MS. Алгоритм включает следующие этапы:

- культивирование микроорганизма на агаре Альбими с соответствующими параметрами в тече-

ние 48 ч;

- обеззараживание образца и пробоподготовка в стандартизированных условиях: одну бактериологическую петлю 48-часовой культуры микроорганизма, выращенной на агаре Альбими, эмульгируют в 300 мкл ультрачистой воды; к полученной суспензии добавляют 900 мкл спирта этилового 96 % и перемешивают, смесь инкубируют при температуре 30 °C в течение 90 мин; после проведенной инактивации образец суспензии дважды центрифугируют в течение 10 мин при 12000 об/мин, супернатант отбрасывают (дальнейшие исследования проводятся, как с обеззараженным материалом);

- белковая экстракция с использованием муравьиной кислоты: образец ресуспендируют в 100 мкл кислоты муравьиной 70 % и 100 мкл ацетонитрила с последующим осаждением центрифугированием в течение 4 мин при 14000 об/мин при температуре 10 °C; супернатант используют для проведения масс-спектрометрического анализа;

- регистрация суммарного масс-спектра образца на масс-спектрометре Microflex (Bruker Daltonics, США);

- оценка качества масс-спектра образца на основании анализа значений абсолютной интенсивности (I), разрешения (R), общего числа идентифицированных пиков, отношения сигнал/шум в программе Bruker Daltonics flexControl (или аналогичной);

- анализ пик-листа полученного масс-спектра образца с целью выявления совокупности родоспецифичных фрагментов в интервале масс 2000–20000 Да;

- поиск видо- и штаммоспецифичных фрагментов в интервале масс 2000–20000 Да в случае обнаружения комплекса родоспецифичных фрагментов;

- заключение о результатах идентификации исследуемого микроорганизма.

Таким образом, в настоящее время внедрение MALDI-TOF масс-спектрометрии в систему экспресс-идентификации патогенных микроорганизмов представляет актуальную задачу лабораторной диагностики особо опасных инфекций, требующую разработки стандартизированных подходов к пробоподготовке, формированию и оценке масс-спектров, интерпретации полученных результатов, а также подготовки соответствующего нормативно-методического документа, регламентирующего проведение всех этапов масс-спектрометрического анализа.

В результате проведенных исследований были оптимизированы и стандартизированы параметры

анализа культур возбудителя бруцеллеза методом MALDI-TOF масс-спектрометрии, определены критерии качества масс-спектров, в среде программы Biotyper v 3.0 сформирована база характерных (эталонных) масс-спектров для 59 культур возбудителя бруцеллеза из коллекции Ставропольского противочумного института.

Семейство *Brucellaceae* включает 6 близких в эволюционном отношении родов микроорганизмов. В связи с этим также представляет интерес сравнительный масс-спектрометрический анализ образцов, содержащих бактерии семейства *Brucellaceae*, с целью уточнения дискриминирующей способности метода.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека. М.: Мир; 1993. Т. 2. 415 с.
2. Wilkins C.L., Lay J.O. Identification of microorganisms by mass spectrometry. Wiley-Blackwell; 2006. 376 p.
3. Ferreira L., Vega S., Sanchez-Juanes F., Gonzalez M., Herrero A., Muñoz M.C., Gonzalez-Buitrago J.M., Muñoz J.L. Identifying bacteria using a matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometer. Comparison with routine methods used in clinical microbiology laboratories. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 2010; 28:492–7.
4. Lista F., Reubsaet F., De Santis R., Parchen R., de Jong A., Kieboom J., van der Laaken A., Voskamp-Visser I., Fillo S., Jansen H-J., van der Plas J., Paauw A. Reliable identification at the species level of *Brucella* isolates with MALDI-TOF-MS. *BMC Microbiology*. 2011; 11:267. DOI: 10.1186/1471-2180-11-267.

References

1. Marry R., Grenner D., Meyes P., Roduell V. [Human Biochemistry]. M.: "Mir"; 1993. Vol. 2. 415 p.
2. Wilkins C.L., Lay J.O. Identification of microorganisms by mass spectrometry. Wiley-Blackwell; 2006. 376 p.
3. Ferreira L., Vega S., Sanchez-Juanes F., Gonzalez M., Herrero A., Muñoz M.C., Gonzalez-Buitrago J.M., Muñoz J.L. Identifying bacteria using a matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometer. Comparison with routine methods used in clinical microbiology laboratories. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 2010; 28:492–7.
4. Lista F., Reubsaet F., De Santis R., Parchen R., de Jong A., Kieboom J., van der Laaken A., Voskamp-Visser I., Fillo S., Jansen H-J., van der Plas J., Paauw A. Reliable identification at the species level of *Brucella* isolates with MALDI-TOF-MS. *BMC Microbiology*. 2011; 11:267. DOI: 10.1186/1471-2180-11-267.

Authors:

Ul'shina D.V., Kovalev D.A., Bobrysheva O.V., Lyamkin G.I., Khudoleev A.A., Siritse Yu.V., Kulichenko A.N. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: snipchi@mail.stv.ru

Об авторах:

Ульшина Д.В., Ковалев Д.А., Бобрышева О.В., Лямкин Г.И., Худолеев А.А., Сирица Ю.В., Куличенко А.Н. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: snipchi@mail.stv.ru

Поступила 07.04.15.

А.В.Комиссаров, С.А.Еремин, О.А.Волох, О.В.Громова, Ю.А.Алешина, Е.М.Кузнецова, Н.Г.Авдеева,
Л.Ф.Ливанова, А.К.Никифоров

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ В-СУБЪЕДИНИЦЫ ХОЛЕРНОГО ТОКСИНА

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

В статье рассмотрено внедрение современных фильтрационных технологий для масштабированного получения В-субъединицы холерного токсина, продуцируемой рекомбинантным штаммом *Vibrio cholerae* non O1 KM93. Проведен выбор оптимального типа микро- и ультрафильтрационных мембран для использования в технологическом процессе. Исследованы свойства В-субъединицы холерного токсина, полученного по разработанной технологии. Разработанный способ масштабированного получения В-субъединицы холерного токсина делает процесс более технологичным за счет внедрения метода тангенциальной микро- и ультрафильтрации на этапах его очистки и концентрирования позволяет исключить трудоемкие операции хроматографической очистки и сохранить свойства В-субъединицы. Проведенные исследования позволяют получать В-субъединицу холерного токсина в производственных условиях с характеристиками, аналогичными при разработке технологии, и использовать ее в качестве компонента холерной химической вакцины.

Ключевые слова: В-субъединица холерного токсина, тангенциальная фильтрация, свойства.

A.V.Komissarov, S.A.Eremin, O.A.Volokh, O.V.Gromova, Yu.A.Aleshina, E.M.Kuznetsova, N.G.Avdeeva,
L.F.Livanova, A.K.Nikiforov

Improvement of Technology of Cholera Toxin B-Subunit Production

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

Consideration is given to implementation of state-of-the-art filtration technologies for up-scaled manufacturing of cholera toxin B-subunit, produced by recombinant *Vibrio cholerae* non O1 KM93 strain. Selected are micro- and ultra-filtration membranes to be incorporated into manufacturing method. Investigated are the properties of cholera toxin B-subunit, obtained applying the pilot technology. The engineered method for up-scaled manufacturing of cholera toxin B-subunit makes the procedure easier-to-maintain due to tangential micro- and ultra-filtration, performed at the stage of purification and concentration. It excludes labor-consuming chromatographic purification, while retaining B-subunit properties. The studies undertaken make it possible to manufacture cholera toxin B-subunit with the same characteristics as in the case of the pilot technology, but under production conditions, and use it as a component for chemical cholera vaccine.

Key words: cholera toxin B-subunit, tangential filtration, properties.

В-субъединица холерного токсина (В-ХТ) является одним из основных иммуногенных компонентов, формирует антитоксический иммунитет. В-ХТ I типа входит в состав холерной вакцины Дюкорал, лицензированной для применения более чем в 70 странах [11]. В литературе описан способ получения очищенной В-ХТ из рекомбинантного штамма *Vibrio cholerae* [2], при котором основная стадия очистки осуществляется с помощью ионообменной хроматографии на фосфоцеллюлозе. Недостатком этого метода является то, что только небольшая часть от исходной концентрации В-ХТ связывается с катионообменником в процессе хроматографии, а большее количество антигена утрачивается.

Данного недостатка лишен способ, описанный в патенте РФ № 2456996 [3]. В предлагаемом способе получения очищенной В-ХТ применяют следующие последовательно сменяющиеся операции. Проводят глубинное культивирование рекомбинантного штамма *V. cholerae* KM93 – продуцента В-ХТ I типа [4, 8]. Источником В-ХТ служит фильтрат бульонной культуры указанного штамма. Из фильтрата бульонной культуры штамма осаждают общую белковую фракцию снижением pH до 4,0 в присутствии 0,25 % гексаметафосфата натрия, перемешивая в течение 2 ч при комнатной температуре. Далее отделяют осадок центрифугированием и суспендируют его в 0,1 М фос-

фатном буфере (pH 7,0). Затем полученную суспензию диализуют против 50 объемов 0,007 М фосфатного буфера (pH 7,0) в течение 24 ч и удаляют нерастворимые примеси центрифугированием. Полученный препарат подвергают гелпроникающей хроматографии на колонке с TSK-гелем HW-60 в три ступени. Элюцию осуществляют 0,007 М фосфатным буфером (pH 7,0), фракционируя по 5 мл. Фракции спектрофотометрируют при 280 нм и анализируют в реакции иммунодиффузии по Оухтерлони (РИД) с антисывороткой к В-ХТ. На второй ступени фракции, содержащие В-ХТ, объединяют, концентрируют и вновь наносят на колонку. Эту процедуру повторяют до тех пор, пока В-ХТ не сходит с колонки одним самостоятельным пиком. Для этого требуется три ступени очистки на TSK-геле HW-60. Полученный целевой продукт диализуют против 0,9 % хлорида натрия, разливают в ампулы и лиофильно высушивают.

Недостатком вышеуказанного способа, ограничивающим его использование для получения В-ХТ как компонента вакцины, является высокая продолжительность технологического процесса и большое количество стадий процесса.

Одним из перспективных направлений, применяемых в технологиях концентрирования и очистки антигенов, является использование метода тангенциальной фильтрации на установках с плоскостными

фильтрующими элементами [1, 6, 7, 9, 10].

Современный рынок предлагает достаточно широкий спектр биотехнологического оборудования и материалов для методов микро- и ультрафильтрации, обладающих различной производительностью, в том числе и отечественного (Справочник технического директора фармацевтического предприятия, 2009).

Все вышеперечисленное определило перспективность использования новых фильтрационных технологий и оборудования для разработки масштабированного способа получения В-ХТ.

Материалы и методы

Исходным материалом для выделения В-ХТ являлись обработанные формалином центрифугаты бульонной культуры штамма *V. cholerae* KM93 [4, 8], выращенных в пилотном и производственном биореакторах вместимостью 20 и 500 дм³ соответственно, на бульоне из ферментативного гидролизата казеина с 1 % раствора пептона. Очистку и концентрирование В-ХТ проводили с использованием установки для тангенциальной фильтрации на базе фильтродержателя АСФ-009 (Владисарт, Владимир).

Содержание В-ХТ определяли в РИД с антихолерогенной сывороткой (АХС) и иммуноферментным методом с GM₁ ганглиозидами (GM₁-ELISA) [14]. Иммунохимическую активность *in vitro* устанавливали с применением дот-иммуноанализа (ДИА), используя конъюгат диагностикума эритроцитарного холерного антителного с коллоидным золотом. Молекулярную массу определяли методом электрофореза по U.K.Laemmli [12] в 12 % полиамаксидном геле в присутствии додецил сульфата натрия с использованием системы «Bio-Rad» (США) для белкового электрофореза и маркеров молекулярной массы «Fermentas» (Литва). Для обнаружения белков использовали окраску Кумасси синим R-250. Определение концентрации белка осуществляли по Лоури [13].

Результаты и обсуждение

Технологический процесс фракционирования и концентрирования складывался из ряда последовательно выполняющихся операций:

- отделение балластных примесей методом тангенциальной микрофильтрации с использованием мембран с порогом отсечки 0,22 мкм. При этом целевым продуктом является фильтрат. Кроме того, на данной стадии происходит полное удаление клеток холерного вибриона из В-ХТ;

- выделение В-ХТ методом тангенциальной ультрафильтрации с использованием мембран с номинальной отсечкой по молекулярной массе (НОММ) 100 кДа. В фильтрате, полученном после проведения процесса, отсутствует О-антиген;

- концентрирование В-ХТ методом тангенциальной ультрафильтрации с использованием мембран с НОММ 10 кДа. После концентрирования В-ХТ проводится диафильтрация 10 объемами 0,1 М фосфатного буфера с pH 7,0±0,1.

По разработанной методике были получены 4

Фракционирование и концентрирование безмикробного центрифугата штамма *V. cholerae* KM93

Образец	Белок, мг/мл	РДП, титр	GM ₁ ELISA, мкг/мл	Объем, дм ³
Сырье	0,64	1/2	2,65	14,0
0,2 мкм	0,2	1/2	2,65	14,0
100 кДа	0,18	1/2	2,65	14,0
10 кДа:				
фильтрат	0,04	0	0	-
концентрат	3,0	1/16	20,1	2,0
концентрат после диафильтрации	0,33	1/16	20,1	2,0

экспериментально-производственные серии препарата В-ХТ, характеристика которых представлена ниже.

Анализируя данные таблицы, можно констатировать о том, что последовательное применение мембран 0,2 мкм и 100 кДа позволяет проводить очистку В-ХТ от балластных примесей без его потерь. Использование мембран 10 кДа позволяет проводить концентрирование и диафильтрацию В-ХТ с сохранением количества целевого продукта и его дополнительной очисткой.

Далее белковую фракцию, содержащую В-ХТ, осаждали из концентрата гексаметафосфатом натрия в кислой среде (pH 4,0±0,1). Для установки необходимого уровня pH использовали 18,5 % раствор соляной кислоты. После инкубации в течение 2 ч при комнатной температуре и 4 ч при 4 °С проводили центрифугирование при 12000 об/мин в течение 20 мин. Полученный осадок растворяли в 0,1 М фосфатном буфере (pH 7,0±0,1) и проводили диализ против 0,01 М фосфатного буфера (pH 7,0±0,1) при 4 °С в течение 24 ч с последующим центрифугированием при 3000 об/мин для освобождения от нерастворенных частиц. Полученный препарат стерилизовали через фильтры 0,22 мкм и лиофильно высушивали.

Содержание белка в сухом препарате в среднем составляло (82±2) %. Все серии препарата проявляли высокую иммунохимическую активность – титр в дот-иммуноанализе 1/512–1/1024 (0,5–1 мкг) (рис. 1).

В-ХТ представляет собой белок молекулярной массой 58 кДа, с мономерами молекулярной массой 11,6 кДа, которые образуют димеры, тримеры, тетрамеры и пентамеры, регистрируемые в электрофоретическом анализе. Используемый в работе рекомбинантный штамм-продуцент синтезирует В-ХТ в виде пентамера, который в белковом электрофорезе регистрировался в виде полос с молекулярной массой 58 кДа и может содержать полосы с молекулярной массой 34, 23 кДа (рис. 2).

Иммунохимическая специфичность всех полученных серий В-ХТ была подтверждена в иммуноблоттинге со специфической поливалентной кроли-

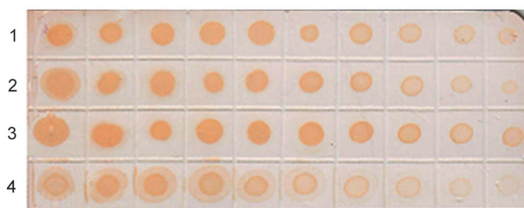


Рис. 1. Дот-иммуноанализ серий В-субъединицы холерного токсина: 1 – серия 1; 2 – серия 2; 3 – серия 3; 4 – серия 4

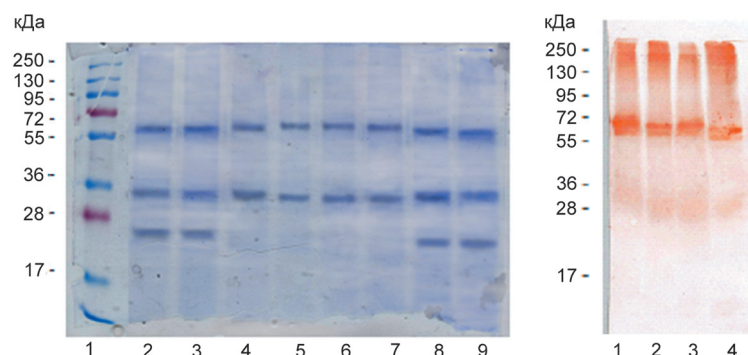


Рис. 2. Электрофореграмма (а) и иммуноблоттинг (б) серий В-субъединицы холерного токсина:

(а) окраска Кумасси R-250: 1 – маркеры молекулярной массы «Fermentas» (Литва); 2, 3 – серия 1; 4, 5 – серия 2; 6, 7 – серия 3; 8, 9 – серия 4. (б) 1 – серия 1; 2 – серия 2; 3 – серия 3; 4 – серия 4

чей сывороткой к В-ХТ (рис. 2).

По разработанной экспериментальной технологии из обработанной формалином центрифугата бульонной культуры штамма *V. cholerae* KM93 в количестве 250 дм³, выращенного в производственном биореакторе, была получена серия В-ХТ с показателями, аналогичными при разработке технологии. Это дает основание для внедрения описанного способа получения В-ХТ в технологический процесс производства.

В подтверждение разработанных методических приемов говорят результаты иммунобиологической оценки препаратов В-ХТ, полученных различными способами: по предложенному в данной статье; полученный с помощью технологии дифференциальной ультрафильтрации; хроматографически очищенная В-ХТ. Было показано, что все препараты В-ХТ не токсичны для биомоделей и не вызывают в их органах и тканях значимых патоморфологических изменений, а также способны инициировать иммунитет по наличию синтеза антител к В-ХТ [5].

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бракт К., Каталевский Е.Е., Савельева С.П. Фильтрация кросс-флоу. *Фармацевтические технологии и упаковка*. 2009; 6:47–51.
2. Захарова Т.Л., Ливанова Л.Ф., Заднова С.П., Смирнова Н.И. Получение очищенной В-субъединицы холерного токсина из рекомбинантного штамма *Vibrio cholerae*. *Биотехнология*. 2003; 5:53–56.
3. Захарова Т.Л., Киреев М.Н., Ливанова Л.Ф., Заднова С.П., Смирнова Н.И. Способ получения очищенной В-субъединицы холерного токсина из рекомбинантного штамма *Vibrio cholerae*. Патент 2456996 РФ, опубл. 27.07.2012 г. Бюл. № 21.
4. Ильина Т.С., Смирнов Г.Б., Смирнова Н.И., Ливанова Л.Ф. Рекомбинантная плазмидная ДНК pIEM3, кодирующая синтез В-субъединицы холерного токсина, способ ее конструирования и штамм бактерий *Vibrio cholerae* – продуцент В-субъединицы холерного токсина. Авторское свидетельство 1505022 СССР, опубл. 15.10.1991 г. Бюл. № 28.
5. Ключева С.Н., Шуковская Т.Н., Шмелькова Т.П., Кравцов А.Л., Бугоркова С.А., Смирнова Н.И., Волох О.А., Захарова Т.Л., Белякова Н.И., Еремин С.А., Никифоров А.К. Иммунобиологическая характеристика В-субъединицы холерного токсина. *Пробл. особо опасных инф.* 2012; 3(113):67–70.
6. Комиссаров А.В., Еремин С.А., Ульянов А.Ю., Аleshina 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.
7. Комиссаров А.В., Еремин С.А., Аleshina 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.
8. Смирнова Н.И., Крепостнова И.М., Ливанова Л.Ф., Заднова С.П., Еремин С.А., Ильина Т.С. Авирулентный штамм *Vibrio cholerae* – продуцент В-субъединицы холерного токсина: получение и молекулярно-генетический анализ. *Мол. генет., микробиол. и вирусол.* 2007; 4:7–13.
9. 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.

10. 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.

11. Cholera vaccines: WHO position paper. *Wkly Epidemiol Rec.* 2010; 85(13):117–28.

12. Laemmli U.K. Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *Nature*. 1970; 227:680–5.

13. Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 1951; 193:265–75.

14. Svennerholm A.M., Holmgren J. Identification of *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin by means of a ganglioside immunosorbent assay (GM1-ELISA) procedure. *Curr. Microbiol.* 1978; 1:19–23.

References

1. Brakht K., Katalevsky E.E., Savel'eva S.P. [Cross-flow filtration]. *Farmatsevt. Tekhnol. Upakovka*. 2009; 6:47–51.
2. Zakharova T.L., Livanova L.F., Zadnova S.P., Smirnova N.I. [Production of purified cholera toxin B-subunit from recombinant *Vibrio cholerae* strain]. *Biotechnologia*. 2003; 5:53–6.
3. Zakharova T.L., Kireev M.N., Livanova L.F., Zadnova S.P., Smirnova N.I. [Method for the production of purified cholera toxin B-subunit from recombinant *Vibrio cholerae* strain]. RF Patent 2456996, 27.07.2012.
4. Il'ina T.S., Smirnov G.B., Smirnova N.I., Livanova L.F. [Recombinant plasmid pIEM3 DNA, encoding cholera toxin B-subunit synthesis, method for its construction and *Vibrio cholerae* strain – producer of cholera toxin B-subunit]. USSR Certificate of Authorship 1505022. 15.10.1991.
5. Klyueva S.N., Shchukovskaya T.N., Shmel'kova T.P., Kravtsov A.L., Bugorkova S.A., Smirnova N.I., Volokh O.A., Zakharova T.L., Belyakova N.I., Eremin S.A., Nikiforov A.K. [Immunobiological characteristics of cholera toxin B-subunit]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2012; 3(113):67–70.
6. Komissarov A.V., Eremin S.A., Ulyanov A.Yu., Aleshina Yu.A., Nikiforov A.K., Vasin Yu.G., Klokova 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.
7. Komissarov A.V., Eremin S.A., Aleshina Yu.A., Vasin Yu.G., Klokova 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.
8. Smirnova N.I., Krepostnova I.M., Livanova L.F., Zadnova S.P., Eremin S.A., Il'ina T.S. [A virulent *Vibrio cholerae* strain – producer of cholera toxin B-subunit: engineering and molecular-genetic analysis]. *Mol. Genet. Mikrobiol. Virusol.* 2007; 4:7–13.
9. 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.
10. 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.
11. Cholera vaccines: WHO position paper. *Wkly Epidemiol Rec.* 2010; 85(13):117–28.
12. Laemmli U.K. Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *Nature*. 1970; 227:680–5.
13. Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 1951; 193:265–75.
14. Svennerholm A.M., Holmgren J. Identification of *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin by means of a ganglioside immunosorbent assay (GM1-ELISA) procedure. *Curr. Microbiol.* 1978; 1:19–23.

Authors:

Komissarov A.V., Eremin S.A., Volokh O.A., Gromova O.V., Aleshina Yu.A., Kuznetsova E.M., Avdeeva N.G., Livanova L.F., Nikiforov A.K. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Об авторах:

Комиссаров А.В., Еремин С.А., Волох О.А., Громова О.В., Аleshina Ю.А., Кузнецова Е.М., Авдеева Н.Г., Ливанова Л.Ф., Никифоров А.К. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Поступила 03.04.14.

И.В.Шиленко, С.П.Ярков, Е.К.Шаулина, А.А.Титов, А.Н.Бровкина, Е.Н.Храмов

**РАЗРАБОТКА МУЛЬТИАНАЛИТНОГО ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО УСТРОЙСТВА
ДЛЯ ИНДИКАЦИИ ТОКСИНОВ***ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт биологического приборостроения»,
Москва, Российская Федерация*

Целью работы было создание иммунохроматографического устройства для индикации пяти видов токсинов в едином цикле анализа и изучение его возможностей при анализе смывов с объектов окружающей среды и в продуктах питания. Были получены конъюгаты моноклональных антител с наночастицами коллоидного золота и сформированы мембранные композиты для осуществления иммунохроматографии в «сэндвич-формате» для индивидуальных токсинов. На основе полученных индивидуальных тестов было сконструировано иммунохроматографическое устройство для осуществления мультианализа, содержащее в своем составе мультианалитный индикаторный элемент, тампон для смыва пробы с поверхностей и емкость с буфером анализа. Разработанное мультианалитное иммунохроматографическое устройство позволяет определять в едином цикле анализа ботулинические токсины типов А и В в концентрации 5 и 10 нг/мл соответственно, стафилококковый энтеротоксин типа В – 40 нг/мл, холерный экзотоксин – 500 нг/мл, рицин – 80 нг/мл. Показана возможность индикации токсинов в смывах с поверхности объектов окружающей среды, а также в продуктах питания. Описана предварительная подготовка проб продуктов питания к анализу.

Ключевые слова: мультианалитная иммунохроматография, токсины.

I.V.Shilenko, S.P.Yarkov, E.K.Shaulina, A.A.Titov, A.N.Brovkina, E.N.Khramov

Development of Multi-Analytical Immune-Chromatographic Device for Toxin Indication*State Research Institute of Biological Engineering, Moscow, Russian Federation*

Objective of the work was to construct immune-chromatographic device for indication of five toxin types in a single processing cycle and investigation of its capacities regarding environment sample analysis and food testing. Obtained were the conjugates of monoclonal antibodies with nano-particles of colloid gold, formed were membrane composites for sandwich immune-chromatography of separate toxins. On the basis of distinct test panels designed was immune-chromatographic device for multiple analyses, which contained multi-analytical detection element, swab for surface sampling, and storage vessel with test buffer. This device allowed for concurrent identification of botulinic toxins A, B types concentrated up to 5 and 10 ng/ml, respectively; staphylococcal toxin B type – 40 ng/ml, cholera toxin – 500 ng/ml, and ricin – 80 ng/ml, within a single processing cycle. Demonstrated was the possibility of toxin detection in washings from ambient object surfaces, as well as in foodstuffs. Described was preliminary food sample preparation procedure.

Key words: multi-analytical immune-chromatography, toxins.

Определение биологических токсинов в объектах окружающей среды имеет важное прикладное значение. Индикация токсинов актуальна при ликвидации последствий террористических актов с использованием патогенных микроорганизмов и их токсинов. Индикация токсинов в продуктах питания позволяет контролировать гигиенические показатели в процессе их изготовления и хранения. Иммунохроматографические тесты можно рассматривать как экспресс-метод индикации токсинов [1]. Несомненными преимуществами иммунохроматографических тестов являются проведение анализа в одну стадию, чувствительность в диапазоне от единиц до десятков нг/мл, быстрое действие и возможность визуальной регистрации результатов анализа. Современной тенденцией в технике иммунохимического анализа, в целом, и иммунохроматографии, в частности, является развитие мультианалитного анализа, позволяющего в едином цикле определять два и более анализируемых вещества, что еще в большей степени подчеркивает достоинства метода [5].

Ранее нами был разработан мультианалитный

иммунохроматографический тест для определения ботулинических токсинов типов А и В, в котором аналитические зоны теста располагались на одной тест-полоске последовательно [2, 3]. Физические размеры теста и аппаратура для нанесения антител ограничивают возможность получения большого количества аналитических зон в виде полосок, как это было показано при определении микотоксинов [5]. Альтернативой является формирование аналитических зон иммунохроматографического теста в виде рядов точек на одной иммунохроматографической мембране, однако изготовление такого теста требует специальной аппаратуры для микродозирования, а корректная регистрация результатов анализа – применения приборов [6].

Продуктивным подходом мультианализа является объединение нескольких иммунохроматографических моноаналитных тестов в единой оправе с возможностью равномерного распределения жидкого анализируемого образца. Подобный подход позволяет определять пять и более аналитов в едином цикле, сохраняя все достоинства иммунохроматографии.

В настоящей работе исследованы аналитические характеристики созданного мультианалитного иммунохроматографического устройства (МИУ), позволяющего определять в едином цикле анализа ботулинические токсины типов А и В, стафилококковый энтеротоксин типа В, холерный экзотоксин, рицин. Исследована чувствительность разработанного МИУ при искусственной контаминации токсинами поверхностей и продуктов питания.

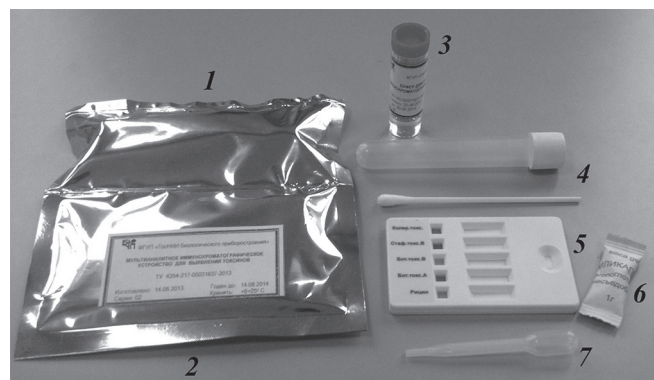
Материалы и методы

Для изготовления иммунохроматографических тестов использовали аналитические нитроцеллюлозные мембраны, а также другие мембранные материалы фирмы Millipore (США). Наночастицы коллоидного золота (НКЗ), полученные цитратным методом, конъюгировали с моноклональными антителами (МКА) против токсинов. Подробно процедура изготовления иммунохроматографических тестов, состав используемых буферных растворов и процедура регистрации результатов анализа описаны в работе [2]. Формировали полосы мультимембранного композита, состоящие из подложки для нанесения жидкого образца, подложки с конъюгатом, аналитической мембраны, на которой нанесена одна аналитическая и контрольная зоны, и подложки для впитывания жидкости. В аналитической зоне находятся МКА к аналиту, а в контрольной – кроличьи иммуноглобулины против иммуноглобулинов мыши, либо иммуноглобулины козы против иммуноглобулинов кролика.

Моноаналитные иммунохроматографические тесты представляют собой одну полосу мультимембранного композита, помещенную в пластиковую оправу, снабженную отверстиями для нанесения образца и наблюдения результатов анализа.

Для получения мультианалитных иммунохроматографических тестов полосы мультимембранного композита укладывали в специальную оправу, разработанную для МИУ (ИП «Попов», Россия), рассчитанную на пять полосок мультимембранного композита (рисунок, поз. 5) с единым отверстием для нанесения образца. Каждое отверстие для наблюдения результатов анализа маркировалось надписями в верхней части оправы и отличалось цветографическим кодом. Регистрация результатов анализа осуществлялась визуально, по появлению (отсутствию) окрашенных в вишневый цвет полос в аналитической и контрольной зонах теста.

Для получения иммунохроматографических тестов применяли МКА клоны RA999 и RB999 к А- и В-цепям рицина соответственно, ВТА151 и ВТА232 к ботулиническим токсинам типа А, ВТВ224 и КВВ18 к ботулиническим токсинам типа В, S222 и S643 к стафилококковому энтеротоксину типа В, кроличьи антитела к иммуноглобулинам мыши, козы антитела к иммуноглобулинам кролика. В иммунохроматографическом тесте для индикации холерного экзотоксина использовали кроличью антисыворотку к холер-



Внешний вид и состав мультианалитного иммунохроматографического устройства для выявления токсинов:

1 – отделение упаковки, содержащее средства подготовки пробы к анализу и ее нанесения на индикаторный элемент, 2 – отделение упаковки, содержащее мультианалитный индикаторный элемент, 3 – буфер для проведения иммунохроматографического анализа, 4 – стерильный тампон в упаковке, 5 – мультианалитный индикаторный элемент, 6 – осушитель, 7 – одноразовая пластиковая пастеровская пипетка

ному экзотоксину (Sigma, С3062).

В экспериментах по определению чувствительности иммунохроматографических тестов использовали паспортизованные препараты очищенных ботулинических анатоксинов типа А и В («НПО «Микроген»), вакцину холерную бивалентную химическую (ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», рег. уд. ЛС № Р N001465/01-220708), препарат стафилококкового энтеротоксина типа В, полученный из ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии, препарат рицина, выделенный и очищенный из бобов клещевины, произрастающей в Краснодарском крае (ФГУП «ГосНИИОХТ»). Для приготовления образцов применяли буфер для проведения иммунохроматографического анализа производства ФГУП «ГосНИИБП» (далее – буфер анализа).

Твердые поверхности искусственно контаминировали растворами токсинов (анатоксинов) с помощью ручного пульверизатора и давали высохнуть при комнатной температуре. Сбор токсинов с поверхности осуществляли путем протирания тампоном из нетканого материала, увлажненным буфером анализа, 100 см² поверхности и последующего споласкивания тампона в 2,0 мл буфера анализа. Полученный смыв использовали для внесения в моно- и мультианалитные тесты.

Для изучения возможности выявления токсинов в продуктах питания иммунохроматографическим методом искусственно контаминировали продукты питания токсинами (анатоксинами), добываясь гомогенного распределения в объеме. Для этого на 1 г измельченного образца твердого продукта добавляли 4 мл 0,1 М фосфатного буфера, pH 7,8, и токсины (анатоксины) из расчета 0,1–50,0 мкг/г смеси. В консервированные продукты и молоко вносили известные количества ботулинических анатоксинов типов А и В, либо стафилококковый энтеротоксин типа В. Этот же энтеротоксин вносили в сливочный крем и измельченный сыр. Холерный экзотоксин добавляли

в молоко и рыбный фарш. В качестве контроля использовали те же продукты питания, не содержащие токсины (анатоксины).

Подготовку продуктов питания к иммунохроматографическому анализу осуществляли следующим образом. К 1 мл молока добавляли 5 мл 0,1 М фосфатного буфера, pH 7,4. Доводили 1 М раствором соляной кислоты до pH 4,5 и тщательно перемешивали. Для контроля pH использовали индикаторные бумаги. Смесь центрифугировали 30 мин при 7000 g при температуре 10–15 °С. Из супернатанта отбирали средний слой жидкости, не захватывая слой жира.

Навеску 5 г подготовленных, как это описано выше, контаминированных мясных, рыбных и овощных консервов, рыбного фарша, сыра и сливочного крема обрабатывали в полости излучателя ультразвукового дезинтегратора Labsonic-2000 (В. Braun, Германия) в течение 60 с при значении мощности «High», затем добавляли приблизительно 1,4 мл раствора 1 М HCl до достижения pH 4,5. Центрифугировали при 7000 g в течение 30 мин при температуре 10–15 °С. Из супернатанта отбирали средний слой жидкости, не захватывая слой жира.

Далее в чистую пробирку вносили 1,0 мл отобранной из супернатанта жидкости, добавляли к ней 20 мкл 20 % раствора Твин-20 и 1 мл буфера анализа, перемешивали, доводили pH до 7,5–8,0 раствором 1 М NaOH. Полученную жидкость использовали для нанесения на иммунохроматографические тесты.

Результаты и обсуждение

Внешний вид и состав МИУ приведен на рисунке. Газонепроницаемая полимерная упаковка разделена на 2 отсека, в одном – находится мультианалитный иммунохроматографический тест и пастеровская пластиковая пипетка, пакет с силикагелевым осушителем, в другом – стерильный тампон, пробирка с буфером анализа. В таком варианте МИУ может быть использовано для взятия мазков с поверхности объектов окружающей среды оператором и проведения индикации по пяти токсинам. Удобная компактная аналитическая система МИУ может рассматриваться как индивидуальное средство контроля биологической обстановки. Масса МИУ в упаковке составляет 32,0 г, срок хранения при температуре 10–25 °С не

менее года. Допускается однократное замораживание до –70 °С, без утраты индикационных свойств. Чувствительность индикации в растворе составила: 5 нг/мл для ботулинического токсина типа А, 10 нг/мл для ботулинического токсина типа В, 40 нг/мл для стафилококкового энтеротоксина типа В, 500 нг/мл для холерного экзотоксина и 80 нг/мл для рицина. МИУ были специфичны по отношению к токсинам, которые они определяют, а также к столбнячному, дифтерийному и ботулиническому анатоксину типа Е, взятым в концентрации 5,0 мкг/мл. При индикации токсинов в смывах с поверхностей МИУ показали следующие значения: ботулинические анатоксины типов А и В индицируются при поверхностной плотности контаминации 0,6 и 0,4 нг/см² соответственно, а холерный эндотоксин – 40,0 нг/см². При этом чувствительность индикации практически не зависела от природы загрязненной токсинами поверхности – ламинированной древесно-стружечной плиты, фаянса, окрашенного металла или линолеума. Необходимо отметить, что присутствие почвенной пыли в образцах до концентрации 1,0 мг/мл не давало ложноположительных результатов, а присутствие бытовой (комнатной) пыли в анализируемых образцах не давало ложноположительных результатов до концентрации 10,0 мг/мл.

Основные результаты индикации с помощью МИУ токсинов в продуктах питания приведены в таблице. Видно, что процедура пробоподготовки снижает чувствительность индикации в продуктах питания, по сравнению с чистыми растворами токсинов, в 20–100 раз. Тем не менее иммунохроматографический метод может быть применен для экспресс-индикации токсинов, особенно в случаях, когда объем исходного образца достаточен для получения репрезентативной пробы, содержащей значительное количество токсина. При выявлении токсинов с помощью иммунохроматографии весьма велико влияние матрикса вещества, в котором он находится. Большую роль играет наличие сильных электролитов, жиров, pH среды и ее вязкость. Перечисленные факторы могут снизить эффективность иммунохимического взаимодействия (чувствительность теста), либо привести к ложноположительным результатам. Особенно это справедливо по отношению к продуктам питания, которые содержат такие биополимеры,

Чувствительность выявления токсинов в продуктах питания с помощью МИУ

Наименование продукта питания	Чувствительность выявления, мкг/г			
	Ботулинический анатоксин типа А	Ботулинический анатоксин типа В	Стафилококковый энтеротоксин типа В	Холерный экзотоксин
Молоко 2,5 % жирности	0,6	0,6	1,2	10,0
Говядина тушеная консервированная ГОСТ 54033-2010	0,1	0,5	2,0	-
Сайра тихоокеанская натуральная с добавлением масла ГОСТ 13865-2000	0,5	0,7	2,0	-
Горошек зеленый консервированный	0,5	5,0	10,0	-
Сливочный крем, содержащий сливочное масло и консервированное сгущенное молоко	-	-	10,0	-
Сыр твердый	-	-	2,0	-
Фарш из пресноводной рыбы	-	-	-	20,0

как белки, сахара, клетчатку, жиры, а также красители и консерванты, поваренную соль, бензоат натрия, другие вещества. Примененная нами схема пробоподготовки была направлена на полноценную экстракцию токсинов в жидкую фазу, понижение вязкости образца, уменьшение содержания жира, солей и твердых частиц в обработанном образце продуктов питания и поддержания уровня pH, при котором иммунохроматографический процесс был эффективен. Нами не наблюдалось ложноположительных результатов ни для одного из токсинов после осуществления пробоподготовки. Общее время подготовки проб продуктов питания к анализу составляло 35–40 мин, длительность самого иммунохроматографического процесса – 20 мин. Объем вносимой в иммунохроматографический тест пробы составлял 150 мкл для моноаналитных тестов и 500 мкл для МИУ.

Было проведено экспериментальное сравнение чувствительности моноаналитных иммунохроматографических тестов для выявления токсинов с МИУ. Показатели чувствительности были практически идентичными. Это экспериментальное наблюдение хорошо согласуется с теоретическими представлениями об иммунохроматографическом анализе [7].

Мультианалитные иммунохроматографические тесты имеют ряд преимуществ по сравнению с моноаналитными. МИУ позволяют оператору за один цикл анализа выявлять 5 токсинов, кратно увеличивая производительность анализа за счет уменьшения промежуточных манипуляций. Себестоимость расходных материалов при использовании МИУ ниже стоимости пяти моноаналитных тестов, т.к. уменьшается количество расходных материалов. Вышесказанное позволяет рассматривать МИУ как эффективный и удобный инструмент экспресс-индикации токсинов.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Германчук В.Г., Уткин Д.В., Щербак С.А. Анализ современных методов и средств экспрессной индикации токсинов.

Пробл. особо опасных инф. 2012; 1(112):51–4.

2. Титов А.А., Шиленко И.В., Морозов А.А., Ярков С.П., Злобин В.Н. Разработка и оптимизация иммунохроматографических тестов для выявления ботулинических токсинов. *Прикладная биохим. и микробиол.* 2012; 48(2):249–56.

3. Шиленко И.В., Титов А.А., Ярков С.П., Злобин В.Н. Разработка мультианалитного иммунохроматографического теста для выявления ботулинических токсинов. *Пробл. особо опасных инф.* 2011; 3(109):68–70.

4. Dzantiev B.B., Byzova N.A., Urusov A.E., Zherdev A.V. Immunochromatographic methods in food analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2014; 55:81–93. DOI: 10.1016/j.trac.2013.11.007

5. Lattanzio V.M.T., Nivarlet N., Lippolis V., Della Gatta S., Huet A.C., Delahaut P., Granier, A., Visconti B. Multiplex dipstick immunoassay for semi-quantitative determination of Fusarium mycotoxins in cereals. *Anal. Chim. Acta*. 2012; 718:99–108.

6. Taranova N.A., Byzova N.A., Zaiko V.V., Starovoitova T.A., Vengerov Y.Y., Zherdev A.V., Dzantiev B.B. Integration of lateral flow and microarray technologies for multiplex immunoassay: application to the determination of drugs of abuse. *Microchim. Acta*. 2013; 180:1165–72.

7. Wong R.C., Tse H.Y., editors. Lateral flow immunoassay. New York: Humana Press; 2009. 223 p.

References

1. Germanchuk V.G., Utkin D.V., Shcherbakova S.A. [Analysis of the modern methods and means for rapid toxin indication]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2012; 112(2):51–4.

2. Titov A.A., Shilenko I.V., Morozov A.A., Yarkov S.P., Zlobin V.N. [Development and optimization of immune-chromatographic tests for botulinic toxins detection]. *Prikladnaya Biokhim. Mikrobiol.* 2012; 48(2):249–56.

3. Shilenko I.V., Titov A.A., Yarkov S.P., Zlobin V.N. [Development of the multi-analyte test for immune-chromatographic detection of botulinic toxins]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2011; 109(3):68–70.

4. Dzantiev B.B., Byzova N.A., Urusov A.E., Zherdev A.V. Immunochromatographic methods in food analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2014; 55:81–93. DOI: 10.1016/j.trac.2013.11.007

5. Lattanzio V.M.T., Nivarlet N., Lippolis V., Della Gatta S., Huet A.C., Delahaut P., Granier, A., Visconti B. Multiplex dipstick immunoassay for semi-quantitative determination of Fusarium mycotoxins in cereals. *Anal. Chim. Acta*. 2012; 718:99–108.

6. Taranova N.A., Byzova N.A., Zaiko V.V., Starovoitova T.A., Vengerov Y.Y., Zherdev A.V., Dzantiev B.B. Integration of lateral flow and microarray technologies for multiplex immunoassay: application to the determination of drugs of abuse. *Microchim. Acta*. 2013; 180:1165–72.

7. Wong R.C., Tse H.Y., editors. Lateral flow immunoassay. New York: Humana Press; 2009. 223 p.

Authors:

Shilenko I.V., Yarkov S.P., Shaulina E.K., Titov A.A., Brovkina A.N., Khranov E.N. State Research Institute of Biological Engineering. Building 1, 75, Moscow, Volokolamskoye Highway, 125424, Russian Federation. E-mail: niibp@dol.ru

Об авторах:

Шиленко И.В., Ярков С.П., Шаулина Е.К., Титов А.А., Бровкина А.Н., Хранов Е.Н. Государственный научно-исследовательский институт биологического приборостроения. Российская Федерация, 125424, Москва, Волоколамское шоссе, 75, к. 1. E-mail: niibp@dol.ru

Поступила 24.03.15..

**РЕЦЕНЗИЯ НА КОЛЛЕКТИВНУЮ МОНОГРАФИЮ
ПОД РЕДАКЦИЕЙ АКАДЕМИКА РАН Г.Г.ОНИЩЕНКО, ПРОФЕССОРА А.Н.КУЛИЧЕНКО
«XXII ОЛИМПИЙСКИЕ ЗИМНИЕ ИГРЫ И XI ПАРАЛИМПИЙСКИЕ ЗИМНИЕ ИГРЫ 2014 ГОДА
В Г. СОЧИ. ОБЕСПЕЧЕНИЕ САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО БЛАГОПОЛУЧИЯ»**

Организация крупных международных спортивных мероприятий связана с привлечением большого количества людей со всего мира, что способствует увеличению риска возникновения осложнений в области общественного здравоохранения, требует дополнительных усилий по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия населения.

Об актуальности обеспечения эпидемиологической безопасности в условиях массовых мероприятий говорилось в докладе генерального директора ВОЗ Маргарет Чен (2010 г.), в котором сказано, что «Массовое скопление людей может стать идеальным местом для возникновения вспышки инфекционной болезни...». Следовательно, обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения при организации и проведении крупных политических, культурных, спортивных мероприятий – «массовых мероприятий», предупреждение реализации современных угроз и вызовов является одной из важнейших проблем здравоохранения и одним из приоритетных направлений в области международного сотрудничества.

В Российской Федерации данная проблема приобрела особую актуальность в связи с организацией в стране таких массовых мероприятий, как саммит АТЭС (Владивосток, 2012 г), Универсиада (Казань, 2013), XXII Олимпийские зимние игры и XI Паралимпийские зимние игры 2014 г. Местом проведения Олимпийских и Паралимпийских игр был выбран город Сочи, где нужно было заново создать всю необходимую инфраструктуру. На территории курорта были развернуты беспрецедентные по объему строительные работы, в ходе которых требовалось обеспечить соблюдение всех санитарно-гигиенических требований к возводимым объектам.

В связи с этим во время подготовки и проведения Олимпийских и Паралимпийских зимних игр в Сочи специалистам Роспотребнадзора требовалось усовершенствовать систему санитарно-эпидемиологического надзора с учетом особенностей предстоящих мероприятий, для чего необходимо было определить приоритетные направления деятельности, создать современную нормативно-методическую базу, разработать профилактические программы, выработать меры, направленные на обеспечение охраны здоровья участников и гостей игр, а также местного населения. Выполнение всего комплекса мероприятий нуждалось в координации действий санитарно-эпидемиологической службы с различными компетентными структурами, ве-

домствами и организациями. Все эти важнейшие моменты нашли подробное освещение в представленной монографии.

Монография содержит девять глав, в которых рассматриваются основные принципы обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия в период подготовки и проведения XXII Олимпийских и XI Паралимпийских зимних игр 2014 г. в Сочи. Представлен обобщенный опыт работы специалистов Роспотребнадзора, органов и учреждений здравоохранения, а также других государственных структур, принимавших участие в организации противоэпидемического и медицинского обеспечения, профилактических мероприятий и биологической безопасности. Представлена оценка рисков внешних и внутренних угроз возникновения чрезвычайных ситуаций санитарно-эпидемиологического характера. Широко освещены аспекты межведомственного взаимодействия в период подготовки и проведения массовых мероприятий. Показано приоритетное значение профилактических мероприятий в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия.

Также в монографию включен блок приложений, в которых содержатся документы, отражающие все моменты практической деятельности большого круга специалистов, решавших одну из важнейших задач в составе сложного комплекса организационных мер при подготовке и проведении Олимпийских игр.

Монография подготовлена авторским коллективом с участием ведущих специалистов Роспотребнадзора и других ведомств.

Подводя итоги, нужно отметить, что разработанная и реализованная многоплановая тактика обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия участников и гостей игр, населения Сочи во время проведения XXII Олимпийских и XI Паралимпийских зимних игр в 2014 г., основанная на взаимодействии учреждений Роспотребнадзора, Министерства здравоохранения Российской Федерации и других компетентных органов исполнительной власти, показала свою высокую эффективность. Нет сомнений, что этот ценный опыт будет в дальнейшем использован при организации новых массовых мероприятий, проведение которых способствует повышению международного престижа России.

Директор ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский институт» Роспотребнадзора докт. мед. наук профессор Балахонов С.В.

ПАМЯТИ ВАЛЕНТИНЫ ЕВДОКИМОВНЫ ТАРАСОВОЙ



Валентина Евдокимовна посвятила всю свою жизнь противочумной службе Советского Союза. Ее научные труды, опубликованные во многих изданиях, являются неотъемлемой частью общего научного наследия многих поколений чумологов, которое продолжает служить делу борьбы с особо опасными инфекциями.

После окончания Новосибирского медицинского института в 1948 году В.Е.Тарасова начала свою работу в противочумной системе нашей страны. В 1953 году она защитила кандидатскую диссертацию по теме «Возможность заноса и укоренения чумы на Алтае». В 1974 году защитила докторскую диссертацию «Природная очаговость чумы в Горном Алтае». В.Е.Тарасова стала первой женщиной – доктором медицинских наук в Ставропольском научно-исследовательском противочумном институте, где она работала с 1968 года и до

выхода на пенсию.

Большой раздел в трудовой деятельности Валентины Евдокимовны составляла педагогическая работа. За многие годы работы в институте она подготовила не одно поколение врачей-чумологов, которые и сегодня стоят на страже эпидемиологической безопасности страны.

В.Е.Тарасова неоднократно участвовала в проведении противэпидемических мероприятий по борьбе с чумой в Монгольской народной республике и холерой в Каракалпакии и Дагестанской АССР.

За достигнутые успехи в области охраны здоровья советского народа и развитие медицинской науки В.Е.Тарасова награждена медалями «За трудовую доблесть», «Ветеран труда» и знаком «Отличник здравоохранения», отмечена почетными грамотами Президиума Верховного Совета Дагестанской АССР, почетными грамотами и благодарностями института.

Редакционная коллегия и редакционный совет журнала «Проблемы особо опасных инфекций» выражают искреннее соболезнование семье и близким покойной, ее друзьям и соратникам.