

ПРОБЛЕМЫ ОСОБО ОПАСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Научно-практический журнал

Выходит четыре раза в год

Основан в 1968 году

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

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

Выпуск 1

2016

САРАТОВ

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

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

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

С.В.Балахонов, докт. мед. наук, профессор (Иркутск)
В.Е.Безмертны, 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», 2016

2016, Issue 1

Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [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. 2016. Вып. 1. 1–106

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

Подписано в печать 15.03.16. Формат 60×88 1/8. Бумага мелованная. Печать офсетная. Усл. печ. л. 12,9. Гарнитура Таймс. Заказ 207
Журнал отпечатан в типографии ООО «ИППОЛит-XXI век». 410012, Саратов, Б. Казачья, 79/85

Обзоры и прогнозы

Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Топорков А.В., Викторов Д.В., Смелянский В.П., Жуков К.В., Бородай Н.В., Шпак И.М., Куличенко А.Н., Михеев В.Н., Малеев В.В., Шипулин А.Г. Лихорадка Зика: состояние проблемы на современном этапе

5

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., Косилко С.А., Чипанин Е.В., Дубянский В.М., Малецкая О.В., Григорьев М.П., Зенкевич Е.С., Топорков В.П., Балахонov С.В., Куличенко А.Н., Кутырев В.В. Эпизоотическая активность природных очагов чумы Российской Федерации в 2015 г. и прогноз на 2016 г.

13

Титова С.В., Москвитина Э.А., Кругликов В.Д., Самородова А.В., Тюленева Е.Г., Монахова Е.В., Писанов Р.В., Водопьянов А.С., Архангельская И.В., Иванова С.М., Ковалева Т.В., Водопьянов С.О. Холера: оценка эпидемиологической обстановки в мире и России в 2006–2015 гг. прогноз на 2016 г.

20

Кудрявцева Т.Ю., Транквиловский Д.В., Мокриевич А.Н., Попов В.П., Морозова Н.С., Зароченцев М.В., Мазепа А.В., Окунев Л.П., Холин А.В., Косилко С.А., Федоров Ю.М., Храмов М.В., Дятлов И.А. Эпизоотическая и эпидемическая ситуации по туляремии в Российской Федерации в 2015 г. и прогноз на 2016 г.

28

Путинцева Е.В., Смелянский В.П., Бородай Н.В., Мананков В.В., Ткаченко Г.А., Шпак И.М., Викторов Д.В., Топорков А.В. Лихорадка Западного Нила в 2015 г. в мире и на территории Российской Федерации. Прогноз развития эпидемической ситуации в 2016 г.

33

Никитин А.Я., Носков А.К., Андаев Е.И., Пакскина Н.Д., Яценко Е.В., Веригина Е.В., Балахонov С.В. Эпидемиологическая ситуация по клещевому вирусному энцефалиту в Российской Федерации в 2015 г. и прогноз на 2016 г.

40

Волынкина А.С., Котенев Е.С., Лисицкая Я.В., Малецкая О.В., Шапошникова Л.И., Куличенко А.Н. Обзор эпидемической ситуации по Крымской геморрагической лихорадке в Российской Федерации в 2015 г. и прогноз на 2016 г.

44

Марченко В.Ю., Суслопаров И.М., Шиповалов А.В., Михеев В.Н., Рыжиков А.Б. Циркуляция высокопатогенного вируса гриппа птиц в России в 2014–2015 гг.

48

Эпидемиология

Балахонov С.В., Попова А.Ю., Мищенко А.И., Михайлов Е.П., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Денисов А.В., Рождественский Е.Н., Базарова Г.Х., Щучинов Л.В., Зарубин И.В., Семёнова Ж.Е., Маденова Н.М., Дюсенбаев Д.К., Ярыгина М.Б., Чипанин Е.В., Косилко С.А., Носков А.К., Корзун В.М. Случай заболевания человека чумой в Кош-Агачском районе Республики Алтай в 2015 г. Сообщение 1. Клинико-эпидемиологические и эпизоотологические аспекты

55

Reviews and Prognoses

Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Toporkov A.V., Viktorov D.V., Smelyansky V.P., Zhukov K.V., Boroday N.V., Shpak I.M., Kulichenko A.N., Mikheev V.N., Maleev V.V., Shipulin A.G. Zika Fever: The Current State of the Issue

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., Kosilko S.A., Chipanin E.V., Dubyansky V.M., Maletskaya O.V., Grigor'ev M.P., Zenkevich E.S., Toporkov V.P., Balakhonov S.V., Kulichenko A.N., Kutyrev V.V. Epizootic Activity of Natural Plague Foci of the Russian Federation in 2015, and Prognosis for 2016

Titova S.V., Moskvitina E.A., Kruglikov V.D., Samorodova A.V., Tyuleneva E.G., Monakhova E.V., Pisanov R.V., Vodop'yanov A.S., Arkhangel'skaya I.V., Ivanova S.M., Kovaleva T.V., Vodop'yanov S.O. Cholera: Analysis of Epidemiological Situation across the World and in Russia within a Period of 2006–2015

Kudryavtseva T.Yu., Trankvilevsky D.V., Mokrievich A.N., Popov V.P., Morozova N.S., Zarochentsev M.V., Mazepa A.V., Okunev L.P., Kholin A.V., Kosilko S.A., Fedorov Yu.M., Khramov M.V., Dyatlov I.A. Epizootic and Epidemic Situation on Tularemia in the Russian Federation in 2015 and Prognosis for 2016

Putintseva E.V., Smelyansky V.P., Boroday N.V., Manankov V.V., Tkachenko G.A., Shpak I.M., Viktorov D.V., Toporkov A.V. West Nile Fever across the World and in the Russian Federation in 2015. Forecast of the Epidemic Situation Development in 2016

Nikitin A.Ya., Noskov A.K., Andaev E.I., Pakskina N.D., Yatsmenko E.V., Verigina E.V., Balakhonov S.V. Epidemiological Situation on Tick-Borne Viral Encephalitis in the Russian Federation in 2015 and Prognosis for 2016

Volynkina A.S., Kotenev E.S., Lisitskaya Ya.V., Maletskaya O.V., Shaposhnikova L.I., Kulichenko A.N. Review of Epidemiological Situation on Crimean-Congo Hemorrhagic Fever in the Russian Federation in 2015 and Prognosis for 2016

Marchenko V.Yu., Susloparov I.M., Shipovalov A.V., Mikheev V.N., Ryzhikov A.B. Circulation of Highly Pathogenic Avian Flu Virus in the Russian Federation in 2014–2015

Epidemiology

Balakhonov S.V., Popova A.Yu., Mishchenko A.I., Mikhailov E.P., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Denisov A.V., Rozhdestvensky E.N., Bazarova G.Kh., Shchuchinov L.V., Zarubin I.V., Semenova Zh.E., Madenova N.M., Dyusenbaev D.K., Yarygina M.B., Chipanin E.V., Kosilko S.A., Noskov A.K., Korzun V.M. A Case of Human Infection with Plague in the Kosh-Agach Region of the Republic of Altai in 2015. Communication 1. Clinical-Epidemiological and Epizootiological Aspects

Зайцева Н.Н., Парфенова О.В., Пекшева О.Ю., Ефимов Е.И., Потемина Л.П., Абрамян Т.Л. Опыт использования филогенетического анализа в эпидемиологическом расследовании случая заражения ВИЧ-инфекцией..... 61

Колесников Н.В., Храмов Е.Н., Поклонский Д.Л. Разработка средств индивидуальной защиты персонала, работающего в боксах, оборудованных пневмолинией..... 64

Микробиология

Еременко Е.И. Сидерофоры *Bacillus anthracis*..... 68

Замедянская А.С., Сергеев Ал.А., Титова К.А., Кабанов А.С., Булычев Л.Е., Сергеев Ар.А., Нестеров А.Е., Носарева О.В., Галахова Д.О., Шишкина Л.Н., Агафонов А.П., Сергеев А.Н. Оценка чувствительности животных к особо опасным ортопоксвирусам с использованием первичных культур клеток легких..... 75

Осин А.В., Червякова Н.С., Портенко С.А., Абдрашитова А.С., Куклев В.Е. Применение автоматизированных систем идентификации микроорганизмов для верификации таксономической принадлежности коллекционных штаммов патогенных бактерий..... 79

Биотехнология, иммунология

Галахова Д.О., Сергеев Ар.А., Шевцова Е.В., Сергеев Ал.А., Замедянская А.С., Титова К.А., Шишкина Л.Н., Булычев Л.Е., Борисевич С.В., Подкуйко В.Н., Пирожков А.П., Ковальчук А.В., Полянский Я.В., Вахнов Е.Ю., Перекрест В.В., Шевцов В.А., Агафонов А.П., Сергеев А.Н. Купирование побочного действия вируса вакцины у орально привитых мышей против оспы..... 84

Комиссаров А.В., Кочкалова Н.Н., Синицына Н.В., Бадарин С.А., Костылева Н.И., Волох О.А., Клокова О.Д., Никифоров А.К. Исследование процесса сублимационного высушивания иммуногенов холерной химической вакцины.. 90

Комиссаров А.В., Ульянов А.Ю., Волох О.А., Шульгина И.В., Лобовикова О.А., Клокова О.Д., Никифоров А.К. Совершенствование технологии производства готовой лекарственной формы вакцины холерной бивалентной химической таблетированной..... 94

Полунина Т.А., Варшавская Ю.С., Заднова С.П., Краснов Я.М. Применение 2D-электрофореза для получения «белковых портретов» лизатов бактериальных культур возбудителей особо опасных инфекций..... 97

Туманов А.С., Тетерин В.В., Лещенко А.А., Ежов А.В., Бирюков В.В., Багин С.В., Мохов Д.А., Логвинов С.В., Лазыкин А.Г., Белобородов Д.С., Бредихин В.Н., Поздняков И.В. Пути снижения контаминации таблетированной чумной живой вакцины на этапах ее производства.... 102

Zaitseva N.N., Parfenova O.V., Peksheva O.Yu., Efimov E.I., Potemina L.P., Abramyan T.L. Experience in Utilization of Phylogenetic Analysis for Epidemiological Investigation of HIV Infection Case

Kolesnikov N.V., Khramov E.N., Poklonsky D.L. Designing of Individual Protective Equipment for Personnel, Working in Safety Cabinets Instrumented with Pneumatic Line

Microbiology

Eremenko E.I. *Bacillus anthracis* Siderophores

Zamedyanskaya A.S., Sergeev Al.A., Titova K.A., Kabanov A.S., Bulychiev L.E., Sergeev Ar.A., Nesterov A.E., Nosareva O.V., Galakhova D.O., Shishkina L.N., Agafonov A.P., Sergeev A.N. Assessment of Animal Sensitivity to Particularly Dangerous Orthopoxviruses, Using Primary Cultures of Lung Cells

Osin A.V., Chervyakova N.S., Portenko S.A., Abdrashitova A.S., Kuklev V.E. Application of Automated Microorganism Identification Systems for Verification of Taxonomic Appurtenance of the Collection Strains of Pathogenic Bacteria

Biotechnology, Immunology

Galakhova D.O., Sergeev Ar.A., Shevtsova E.V., Sergeev Al.A., Zamedyanskaya A.S., Titova K.A., Shishkina L.N., Bulychiev L.E., Borisevich S.V., Podkuiko V.N., Pirozhkov A.P., Koval'chuk A.V., Polyansky Ya.V., Vakhnov E.Yu., Perekrast V.V., Shevtsov V.A., Agafonov A.P., Sergeev A.N. Approaches to Reduce Adverse Effect of Vaccinia Virus in Orally Immunized Mice

Komissarov A.V., Kochkalova N.N., Sinitsyna N.V., Badarin S.A., Kostyleva N.I., Volokh O.A., Klokova O.D., Nikiforov A.K. Studies of Freeze-Drying of Cholera Chemical Vaccine Immunogens

Komissarov A.V., Ul'yanov A.Yu., Volokh O.A., Shul'gina I.V., Lobovikova O.A., Klokova O.D., Nikiforov A.K. Enhancement of Manufacturing Technology for Finished Dosage Form of Bivalent Chemical Tableted Cholera Vaccine

Polunina T.A., Varshavskaya Yu.S., Zadnova S.P., Krasnov Ya.M. Application of 2-D Electrophoresis for the Construction of "Protein Profiles" of Bacterial Cultures Lysates of Particularly Dangerous Infections Agents

Tumanov A.S., Teterin V.V., Leshchenko A.A., Ezhov A.V., Biryukov V.V., Bagin S.V., Mokhov D.A., Logvinov S.V., Lazykin A.G., Beloborodov D.S., Bredikhin V.N., Pozdnyakov I.V. Strategies for Abatement of Contamination of Tableted Live Plague Vaccine at Different Stages of Manufacturing

А.Ю.Попова^{1,2}, Е.Б.Ежлова¹, Ю.В.Демина¹, А.В.Топорков³, Д.В.Викторов³, В.П.Смелянский³,
К.В.Жуков³, Н.В.Бородай³, И.М.Шпак³, А.Н.Куличенко⁴, В.Н.Михеев⁵, В.В.Малеев⁶, А.Г.Шипулин⁶

ЛИХОРАДКА ЗИКА: СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ

¹Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация; ²Российская медицинская академия последипломного образования, Москва, Российская Федерация;
³ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт», Волгоград, Российская Федерация;
⁴ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт», Ставрополь, Российская Федерация;
⁵ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», п. Кольцово, Российская Федерация; ⁶ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии», Москва, Российская Федерация

В статье приведены основные сведения о текущей эпидемиологической ситуации в мире по лихорадке Зика, данные о распространенности вируса ZIKV, основных путях его передачи, особенностях вызываемой им инфекции, основных подходах в лабораторной диагностике. Учитывая существенное осложнение эпидемиологической ситуации по лихорадке Зика в странах Северной, Центральной, Южной Америки и Карибского региона, а также тенденцию к расширению ареалов эффективных переносчиков вируса, определены основные приоритеты по минимизации эпидемиологических рисков в отношении лихорадки Зика для Российской Федерации.

Ключевые слова: лихорадка Зика, ZIKV, эпидемиологическая ситуация, переносчики, клинические проявления, эпидемиологические риски.

Корреспондирующий автор: Топорков Андрей Владимирович, e-mail: vari2@sprint-v.com.ru

A.Yu.Popova^{1,2}, E.B.Ezhlova¹, Yu.V.Demina¹, A.V.Toporkov³, D.V.Viktorov³, V.P.Smelyansky³, K.V.Zhukov³,
N.V.Boroday³, I.M.Shpak³, A.N.Kulichenko⁴, V.N.Mikheev⁵, V.V.Maleev⁶, A.G.Shipulin⁶

Zika Fever: The Current State of the Issue

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; ³Volgograd Research Anti-Plague Institute, Volgograd, Russian Federation; ⁴Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation; ⁵State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector", Kol'tsovo, Russian Federation; ⁶Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russian Federation

This article provides the basic information on the current epidemiological situation on Zika fever across the world, the data on ZIKV global distribution, its main transmission routes, peculiarities of infection manifestations, and major approaches in the laboratory diagnostics. Taking into account the significant complication of the epidemiological situation on Zika fever in North, Central, and South America and the Caribbean, as well as the tendency towards the expansion of the areals of ZIKV effective vectors, identified are the key priority tasks to minimize epidemiological risks of Zika fever in the Russian Federation.

Keywords: Zika fever, ZIKV, epidemiological situation, vectors, clinical manifestations, epidemiological risks.

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

Corresponding author: Andrey V. Toporkov, e-mail: vari2@sprint-v.com.ru

Citation: Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Toporkov A.V., Viktorov D.V., Smelyansky V.P., Zhukov K.V., Boroday N.V., Shpak I.M., Kulichenko A.N., Mikheev V.N., Maleev V.V., Shipulin A.G. Zika Fever: The Current State of the Issue. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2016; 1:5–12. (In Russ.). DOI:10.21055/0370-1069-2016-1-5-12

Проявления опасных инфекционных болезней вирусной и бактериальной этиологии являются серьезной международной проблемой, поскольку их возможные последствия могут носить глобальный характер. Особенно обращают на себя внимание крупные вспышки опасных вирусных известных, возвращающихся и новых (неизвестных) инфекционных болезней с потенциалом глобального распространения, произошедшие в течении 2-го десятилетия XXI века [3]. Примерами того могут служить вспышки инфекционных болезней, вызванных коронавирусом ближневосточного респираторного синдрома (MERS-CoV) [7], вирусом Эбола [4, 7]. На сегодняшний день такой проблемой стала масштабная вспышка болезни, вызванной вирусом Зика (ZIKV),

что послужило основанием для объявления ВОЗ чрезвычайной ситуацией в области международного здравоохранения [38].

В данном сообщении приведены основные сведения о текущей ситуации по лихорадке Зика в мире, данные о биологии и экологии вируса ZIKV, его основных переносчиках, особенностях вызываемой им инфекции и современных подходах к лабораторной диагностике лихорадки Зика.

Текущая эпидемическая ситуация по лихорадке Зика в мире. Лихорадка Зика привлекла к себе пристальное внимание в 2007 г. после эпидемической вспышки на островах Микронезии, с общим числом заболевших не менее 5000 человек [16]. В 2013–2014 гг. еще более масштабная вспышка лихорадки Зика была зарегистрирована в Бразилии.

радки Зика охватила Французскую Полинезию, где в начале 2014 г. насчитывалось 28000 заболевших, что составляло 11 % населения территории [30].

По данным Европейского центра по контролю и предотвращению заболеваний (European Centre for Diseases Control and Prevention, ECDC), к середине февраля 2016 г. имеется информация из 40 стран и территорий о случаях заболевания лихорадкой Зика в течение последних 9 месяцев в результате местной передачи вируса через укусы комаров (Американское Самоа, Аруба, Барбадос, Боливия, Бразилия, Бонейр, Кабо-Верде, Колумбия, Коста-Рика, Курасао, Доминиканская Республика, Эквадор, Сальвадор, Фиджи, Французская Гвиана, Гваделупа, Гватемала, Гайана, Гаити, Гондурас, Ямайка, Мальдивы, Маршалловы острова, Мартиника, Мексика, Новая Каледония, Никарагуа, Панама, Парагвай, Пуэрто Рико, Сен-Мартен, Самоа, Соломоновы острова, Суринам, Таиланд, Тонга, Тринидад и Тобаго, Вануату, Венесуэла, Виргинские острова) (рис. 1) [18].

Вспышка лихорадки Зика, начавшаяся в 2015 г. в северо-восточных регионах Бразилии, к настоящему времени затронула уже 28 стран Северной, Центральной, Южной Америки и Карибского региона.

Наиболее напряженная эпидемическая ситуация по лихорадке Зика в настоящее время складывается

в Бразилии, где, по оценке национальных органов здравоохранения, к началу 2016 г. выявлено от 497593 до 1482701 случаев заражения вирусом Зика с начала вспышки в 2015 г. [39]. К середине февраля Бразилия проинформировала о 70611 случаях заболевания, Колумбия – о более чем 24000, Сальвадор – более 7000, Венесуэла – более 4600, Суринам – более 1000, Мартиника – более 3900 (таблица) [14].

Всего за период 2015–2016 гг. в мире зарегистрировано более 200 завозных случаев лихорадки Зика. Завозные случаи лихорадки Зика зарегистрированы в странах Европы (Австрия, Дания, Финляндия, Франция, Германия, Ирландия, Италия, Мальта, Нидерланды, Португалия, Испания, Швеция, Словения, Великобритания), США, Китае, Австралии и ряде других государств [10, 18].

Первый завозной случай лихорадки Зика из Доминиканской республики с лабораторным подтверждением диагноза зарегистрирован в Российской Федерации [2].

Общая характеристика вируса и вызываемой им инфекционной болезни. Вирус Зика (ZIKV) относится к семейству *Flaviviridae*, роду *Flavivirus*, подроду *mosquito-borne virus* (вирусы, передаваемые комарами), вирусам серогруппы Спандвени (*Spondweni virus group*). Геном вируса Зика пред-

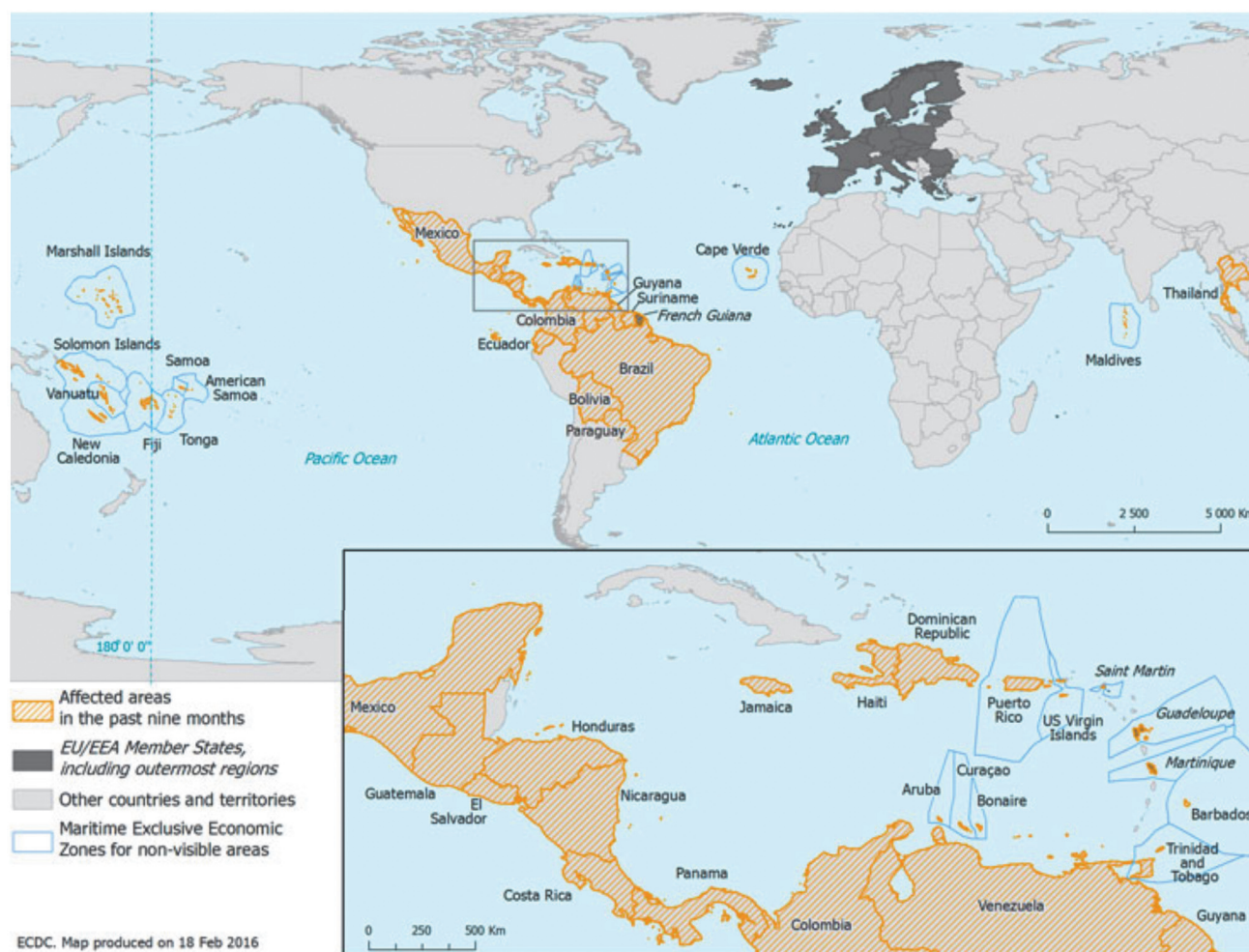


Рис. 1. Страны и территории с выявленной местной передачей вируса Зика через укусы комаров в течение последних 9 месяцев [цит. по 18]

Случаи заболевания лихорадкой Зика в странах (территориях) Северной, Центральной, Южной Америки и Карибского региона (на 21.02.2016)

Страна/территория	Случаи с клинической симптоматикой лихорадки Зика (лабораторное подтверждение)
Северная Америка	
Мексика	65
Центральная Америка	
Гватемала	278 (105)
Гондурас	4590 (2)
Коста-Рика	1
Никарагуа	47
Панама	42
Сальвадор	7923 (3)
Южная Америка	
Боливия	1
Бразилия	70611 (236)
Венесуэла	4696 (4)
Колумбия	24314 (1331)
Парагвай	6
Эквадор	25
Страны Карибского региона	
Аруба	4 (4)
Барбадос	7
Бонейр	1 (1)
Вирджинские острова (США)	1
Гайана	1
Гваделупа	17
Доминиканская Республика	10
Курасао	1
Мартиника (Франция)	3940 (12)
Пуэрто-Рико	30
Республика Гаити	329 (5)
Сен-Мартен	1
Суринам	1097 (6)
Французская Гвиана	430 (88)
Ямайка	1
Итого	118213 (2053)

ставлен РНК размером 10794 п.н., включающей два некодирующих дистальных региона, а также кодирующие последовательности 3 структурных протеинов (белок капсида С, мембранный протеин рМ, белок оболочки Е) и 7 неструктурных белков (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5).

Передача вируса происходит в основном при укусах комаров рода *Aedes*. Кроме основного трансмиссивного пути передачи, зафиксирована внутриутробная передача вируса плоду, передача при половом контакте, перенос вируса при переливании крови и лабораторное заражение [5, 8, 11, 20, 29].

Инфекция, вызванная вирусом ZIKV, приблизительно в 80 % случаев протекает бессимптомно, либо со слабо выраженной симптоматикой. Среди наиболее часто встречаемых симптомов лихорадки Зика от-

мечаются макулопапулезные высыпания (в 90–96 % случаев), лихорадка (62–65 %), миалгии и артралгии (48–65 %), головная боль (45–58 %), негнойный конъюнктивит (38–55 %) и ретро-орбитальные боли (40 %) [11, 16].

Связь лихорадки Зика с неврологическими расстройствами и врожденными аномалиями развития ЦНС стала проследиваться со времени эпидемических проявлений лихорадки Зика во Французской Полинезии 2013–2014 гг. и подъема заболеваемости лихорадкой Зика в Бразилии в 2015 г. [33, 34].

Во Французской Полинезии в 2013–2014 гг. у 74 пациентов задокументировано развитие неврологических синдромов после заболевания вирусной инфекцией. В 42 случаях неврологические расстройства были классифицированы как синдром Гийена-Барре (GBS), из них в 37 случаях в анамнезе отмечена лихорадка Зика [34].

В Бразилии с середины 2015 г. по настоящее время зарегистрировано более 4700 случаев врожденной микроцефалии, тогда как среднегодовые показатели выявляемости данной патологии в предыдущие периоды не превышали 200 случаев в год [17].

В настоящее время рост числа случаев микроцефалии и/или синдрома Гийена-Барре одновременно с выявлением случаев заболевания лихорадкой Зика продолжает регистрироваться в Бразилии, Мартинике, Колумбии, Сальвадоре, Суринаме и Венесуэле [9, 34].

Предполагается, что при лихорадке Зика могут развиваться и другие неврологические синдромы (менингит, менингоэнцефалит, миелит). Об этом свидетельствуют случаи, описанные во время вспышки во Французской Полинезии 2013–2014 гг., а также данные о регистрации случаев энцефаломиелита среди заболевших лихорадкой Зика в Гваделупе в 2016 г. [11].

Распространенность вируса Зика в мире.

Впервые вирус Зика был выделен из крови макаки-резус в Уганде (лес Зика в районе оз. Виктория) в 1947 г., годом позже изолирован в этом же районе из комаров *Aedes africanus*. Позднее, в ходе серологических и энтомологических исследований, вирус был обнаружен в Нигерии (1971, 1975 гг.), Сьерра-Леоне (1972 г.), Габоне (1975 г.), Центрально-Африканской Республике (1979 г.), Сенегале (1988–1991 гг.), Кот д'Ивуаре (1999 г.). В Центральной и Юго-Восточной Азии, а также Тихоокеанском регионе вирус Зика был выделен в Малайзии (1969 г.), Пакистане (1983 г.), Камбодже (2010 г.), Таиланде (2013 г.), Индонезии (1981, 2013 гг.), Микронезии (2007 г.) [22].

В настоящее время вирус Зика распространен в регионах Центральной и Южной Америки (Мексика, Боливия, Бразилия, Колумбия, Гватемала, Доминиканская Республика, Эквадор, Сальвадор и ряд других), островах Карибского бассейна, Африки (Сенегал, Уганда, Нигерия, Габон, Танзания, Египет, ЦАР, Сьерра-Леоне и др.), Центральной, Южной и Юго-Восточной Азии (Камбоджа, Индия, Индонезия,

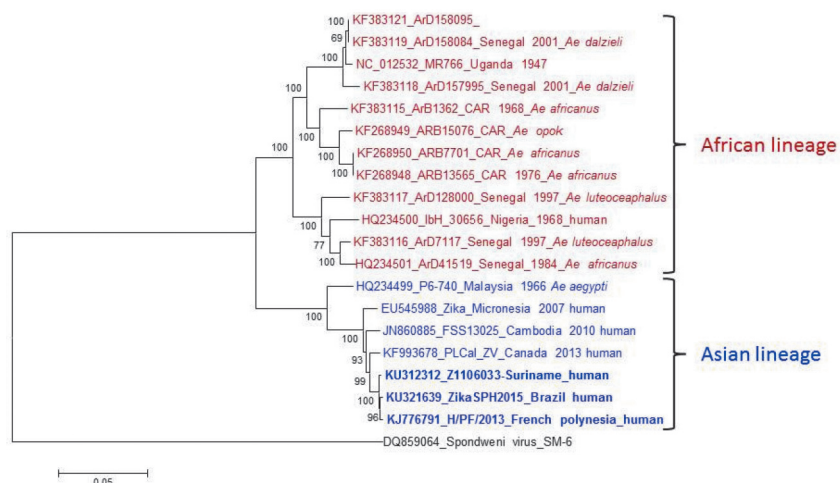


Рис. 2. Основные генетические линии ZIKV. Сравнительный анализ полногеномных последовательностей штаммов вируса методом Neighbour Joining [цит. по 11]

Пакистан, Филиппины, Сингапур, Таиланд, Вьетнам), островах Тихоокеанского региона [28, 35].

Филогения и эволюция вируса Зика. Сопоставление известных полногеномных последовательностей ZIKV указывает на существование двух основных генетических линий вируса – Африканской и Азиатской (рис. 2) [11]. Анализ рекомбинационных событий в различных геномных локусах вируса свидетельствует о его заносе из Восточной Африки в Юго-Восточную Азию более 50 лет назад [19].

Африканская генетическая линия ZIKV неоднородна и представлена, как минимум, двумя генетическими подгруппами, независимо друг от друга распространившимися с востока континента в регионы западного побережья в 30–40-х годах XX века (рис. 3) [19].

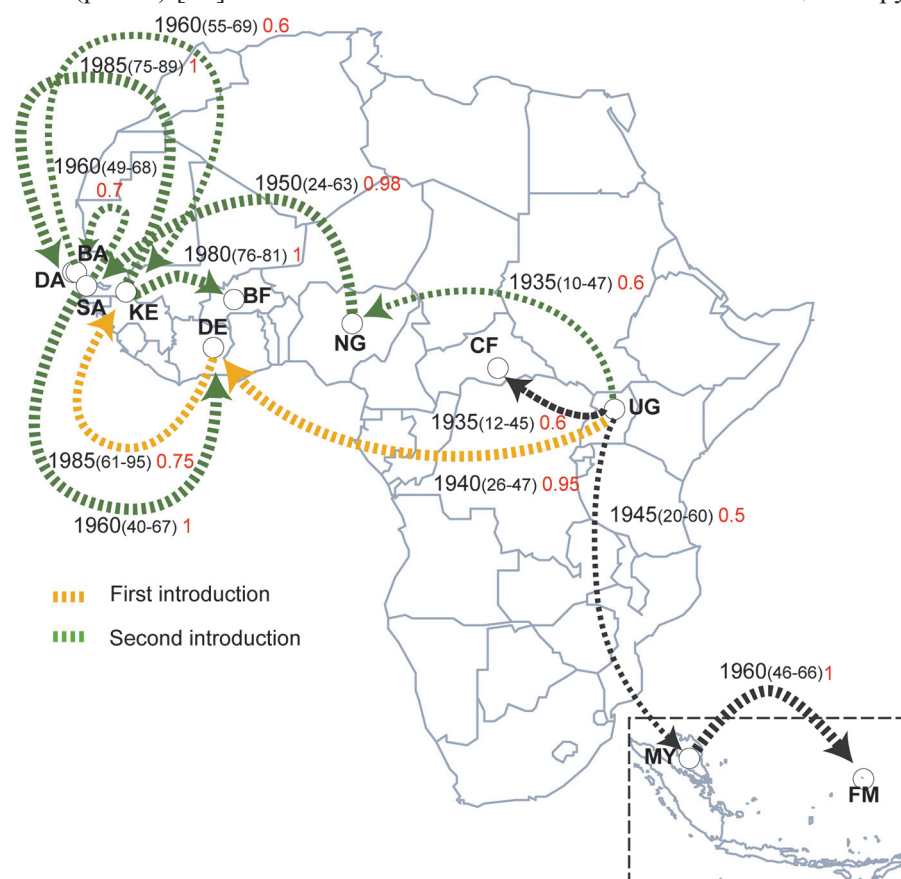


Рис. 3. Распространение различных генетических линий ZIKV с территорий Восточной Африки [цит. по 19]

Штаммы ZIKV азиатской генетической линии также генетически неоднородны. Выявленные полиморфизмы генов структурных белков вируса, как предполагается, могут способствовать адаптации к различным видам переносчиков [19].

Штаммы вируса Зика, изолированные в регионах Центральной и Южной Америки в 2015–2016 гг., принадлежат к Азиатской генетической линии. Степень гомологии геномов штаммов вируса, изолированных в 2015 г. в Бразилии и Суринаме, и вирусов, выделенных в период вспышки лихорадки Зика 2013–2014 гг. во Французской Полинезии, составляет 99,7–99,9 % [6, 11].

Ответ на вопрос, являются ли выявленные генетические полиморфизмы следствием адаптивной эволюции вируса к различным экологическим ни-

шам, требует дальнейших исследований так же, как и вопрос о возможности существования природных резервуаров вируса среди широкого ряда видов животных.

Пути передачи вируса и основные переносчики. В энзоотичный цикл ZIKV в биотопах влажных тропических лесов Восточной Африки вовлечены виды низших приматов и комары рода *Aedes*. В регионах Юго-Восточной Азии, по результатам серологических исследований, ZIKV обнаруживается в более широком круге видов млекопитающих – орангутанах, зебрах, слонах, буйволах, грызунах [22].

По литературным данным, вирус Зика обнаружен в 17 видах комаров рода *Aedes* – *Ae. aegypti*, *Ae. furcifer*, *Ae. jamoti*, *Ae. opok*, *Ae. africanus*, *Ae. flavicollis*, *Ae. grahami*, *Ae. taeniarostris*, *Ae. tarsalis*, *Ae. vitattus*, *Ae. dalzieli*, *Ae. fowleri*, *Ae. luteocephalus*, *Ae. metallicus*, *Ae. minutus*, *Ae. neoafricanus*, *Ae. tarsalis* [22]. Имеются также сведения о выделении вируса Зика из комаров *Mansonia uniformis*, *Culex perfuscus* и *Anopheles coustani* в Сенегале [22].

Из перечисленных видов комаров на сегодняшний день передача вируса Зика за пределами Африки установлена только для *Ae. aegypti*. В период эпидемической вспышки 2007 г. на острове Яп в качестве основного переносчика вируса был *Ae. hensilii*, однако данный вывод не подтвержден находками вируса в комарах. По некоторым данным, *Ae. albopictus* является переносчиком ZIKV, вместе с тем за пределами Африканского континента роль данного вида комаров в распространении вируса Зика пока также не подтверждена [15, 23, 25, 26, 40].

Учитывая, что комары *Ae. aegypti* и *Ae. albopictus* являются эффективными переносчиками возбудителей не только лихорадки Зика, но и целого спектра других арбовирусов, проблема их глобального распространения вызывает особую озабоченность.

Ae. albopictus в настоящее время широко распространился по территории США и ряда стран Европы [26]. Известно, что *Ae. albopictus* может быть переносчиком около 20 видов арбовирусов, в том числе вирусов Зика, денге, желтой лихорадки, лихорадки долины Рифт, японского энцефалита, лихорадки Западного Нила, Синдбис, венесуэльского лошадиного энцефалита и ряда других.

Ae. aegypti встречается в регионах Африки, юго-востока США, Ближнем Востоке, Юго-Восточной Азии, Тихоокеанском регионе, включая Северную Австралию. Будучи широко распространенным на территориях юга Европы ранее, в настоящее время *Ae. aegypti* обнаруживается на Мадейре, а также юго-восточном побережье Черного моря. *Aedes aegypti* известен в качестве переносчика вирусов Зика, денге, желтой лихорадки, Чикунгунья, есть также данные о переносе *Ae. aegypti* вирусов венесуэльского лошадиного энцефалита, лихорадки Западного Нила [26].

На Черноморском побережье Кавказа к югу от Туапсе и до Батуми, в зоне с влажным средиземноморским климатом, в 20–30-е годы XX века наблю-

далась высокая численность комаров *Ae. aegypti*. В последующие годы численность *Ae. aegypti* на этой территории удалось резко снизить в результате интенсивных обработок [37]. В ходе энтомологических исследований в 2001–2007 и 2011–2014 гг. на нескольких участках черноморского побережья в районе Туапсе и Сочи были отмечены находки комаров *Ae. aegypti* и *Ae. albopictus* [1].

Кроме основного трансмиссивного пути передачи вируса, к сегодняшнему дню имеется ряд свидетельств трансплацентарной передачи ZIKV от инфицированной матери [8, 11]. Имеются также сведения о возможности половой передачи вируса Зика. Описаны три случая заражения ZIKV женщин после полового контакта с инфицированными мужчинами, при этом вирус выделялся из спермы в течение, по меньшей мере, 2 недель после начала заболевания [11, 32]. Аналогичные данные получены при исследовании сохранения жизнеспособности вируса в моче [21]. Приводились также сведения о потенциальной возможности передачи ZIKV при гемотрансфузии [5, 20, 29], первый случай инфицирования вирусом Зика в результате переливания крови официально зарегистрирован в феврале 2016 г. [12].

Вирус Зика обнаруживается в сыворотке крови обычно в течение 3–5 дней после начала клинических проявлений, максимальные концентрации вируса при этом соответствуют пику клинической симптоматики [9, 11, 24]. В аналогичные интервалы времени ZIKV обнаруживается и в слюне больных [31]. Установлено также, что вирус Зика обнаруживается в моче больных, при этом в моче вирус достигает более высоких концентраций в сравнении с кровью, пик вирусной нагрузки приходится, как правило, на 5–7-е сутки, а период детекции вируса в моче длится до 20 дней после начала клинических проявлений инфекции [11, 21, 36].

Сведения о динамике иммунного ответа при лихорадке Зика приводятся лишь в отношении небольшого числа исследованных случаев во время эпидемической вспышки в Микронезии [16]. Специфические IgM к ZIKV обнаруживаются обычно на 3-й день после начала клинических проявлений, а в единичных случаях и в более поздние сроки (на 10-й день). Аналогично другим флавивирусным инфекциям, IgM к ZIKV в общем случае обнаруживаются в период до трех месяцев после перенесенной инфекции, хотя описаны случаи с сохранением циркуляции специфических IgM в течение более длительных периодов [16, 27]. Специфические IgG начинают выявляться в течение нескольких дней после начала детекции IgM и сохраняются на протяжении от нескольких месяцев до нескольких лет [11, 13, 16, 27].

Лабораторная диагностика. Лабораторная диагностика лихорадки Зика основана на использовании вирусологического метода (выделение вируса), а также серологических и молекулярно-генетических методов. Материалом для исследования служат: от людей – сыворотка и плазма крови, слюна, моча,

сперма, при необходимости – ликвор, амниотическая жидкость, плацента, пуповинная кровь, в случае летального исхода – образцы внутренних органов (ткани мозга, селезенки, печени, почек, легких); из объектов окружающей среды – комары.

Поскольку заболевания, вызванные вирусами денге и Чикунгунья, имеют общее географическое распространение с лихорадкой Зика, а симптомы инфекций схожи, пациенты, подозрительные на инфицирование вирусом Зика, должны быть исследованы на все три арбовирусные инфекции. Учитывая клиническую симптоматику лихорадки Зика, дифференциальный диагноз включает малярию, краснуху, корь, лептоспироз, риккетсиозы, парвовирусную, аденовирусную, стрептококковую инфекции.

Определение специфических *IgM* обычно рекомендуется на 5–6-й день после начала клинических проявлений. Факт обнаружения специфических *IgM* к ZIKV нуждается в верификации из-за выраженных перекрестных серологических реакций внутри рода флавивирусов [24, 27].

Подтверждение инфекции основывается, главным образом, на обнаружении РНК вируса в сыворотке крови с помощью обратной транскрипции и ПЦР (ОТ-ПЦР). Вирусная РНК может быть обнаружена в сыворотке до 10 дней после появления симптомов [11, 24].

Обнаружение РНК ZIKV также можно проводить в пробах крови и слюны, собранных в острой фазе заболевания. Имеются данные, что обнаружение РНК ZIKV в образцах мочи возможно в течение более длительного периода от момента появления симптомов, чем в образцах сыворотки [11, 36]. Представляет интерес использование образцов слюны, особенно когда образцы крови трудно собрать, например, при обследовании новорожденных. В начальных стадиях заболевания, когда проявление симптомов не выражено, эффективно обнаружение РНК ZIKV в комбинации образцов (кровь/слюна/ моча) [11].

Таким образом, учитывая высокую вероятность завоза инфекции на территорию Российской Федерации, в рамках санитарной охраны территории и эпидемиологического надзора за опасными инфекционными болезнями необходимо проведение постоянного информационного мониторинга эпидемиологической ситуации по лихорадке Зика в мире, реализация всего комплекса регламентированных мер по недопущению завоза и распространения опасных инфекционных болезней на территорию страны, обеспечение готовности лабораторной базы к проведению диагностических исследований клинического материала и объектов окружающей среды на вирус Зика. В рамках данных направлений в настоящее время ведется работа противочумными институтами, ГНЦ ВБ «Вектор», ЦНИИ эпидемиологии, другими научными организациями Роспотребнадзора, а также Институтом медицинской паразитологии и тропической медицины им. Е.И. Марциновского.

Конфликт интересов. Авторы подтверждают

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дремова В.П., Ганушкина Л.А. Факторы, определяющие распространение и численность *Aedes aegypti* L. и *Aedes albopictus* Skuse. *Пест-менеджмент*. 2011; 2:33–37.
2. О регистрации случая завоза лихорадки Зика на территорию Российской Федерации. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. 15.02.2016 г. http://www.rosпотребнадзор.ru/about/info/news/news_details.php?ELEMENT_ID=5807 (дата обращения 16.02.2016).
3. Онищенко Г.Г., Попова А.Ю., Топорков В.П., Смоленский В.Ю., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Современные угрозы и вызовы в области биологической безопасности и стратегия противодействия. *Пробл. особо опасных инф.* 2015; 3:5–9.
4. Попова А.Ю., Сафронов В.А., Boiro M.Y., Куклев Е.В., Кедрова О.В., Удовиченко С.К., Лопатин А.А., Раздорский А.С., Ежлова Е.Б., Смоленский В.Ю., Кутырев В.В. Эпидемиологические особенности болезни, вызванной вирусом Эбола, в странах Западной Африки в 2013–2015 гг. *Пробл. особо опасных инф.* 2015; 3:42–8.
5. Aubry M., Richard V., Green J., Broult J., Musso D. Inactivation of Zika virus in plasma with amotosalen and ultraviolet A illumination. *Transfusion*. 2016; 56(1):33–40. DOI: 10.1111/trf.13271.
6. Baronti C., Piorkowski G., Charrel R., Boubis L., Leparc-Goffart I., de Lamballerie X. Complete coding sequence of Zika virus from a French Polynesia outbreak in 2013. *Genome Announc.* 2014; 2(3). pii: e00500-14. DOI: 10.1128/genomeA.00500-14.
7. Bekerman E., Einav S. Combating emerging viral threats. *Science*. 2015; 348(6232):282–2. DOI: 10.1126/science.aaa3778.
8. Besnard M., Lastere S., Teissier A., Cao-Lormeau V., Musso D. Evidence of perinatal transmission of Zika virus, French Polynesia, December 2013 and February 2014. *Euro Surveill.* 2014; 19(13). pii: 20751.
9. Campos G., Bandeira A., Sardi S. Zika virus outbreak, Bahia, Brazil. *Emerg. Infect. Dis.* 2015; 21(10):1885–6. DOI: 10.3201/eid2110.150847.
10. Centers for Disease Control and Prevention. Zika virus disease in the United States, 2015–2016. Available from: <http://www.cdc.gov/zika/geo/united-states.html>.
11. Charrel R., Leparc-Goffart I., Pas S., de Lamballerie X., Koopmans M., Reusken C. State of knowledge on Zika virus for an adequate laboratory response. *Bull. World Health Organ.* E-pub: 10 Feb 2016. DOI: 10.2471/BLT.16.171207.
12. CIDRAP. Brazil confirms blood-transfusion Zika; PAHO calls for global support: CIDRAP; 2016 [cited 18 Feb 2016]. Available from: <http://www.cidrap.umn.edu/newsperspective/2016/02/brazil-confirms-blood-transfusion-zika-paho-calls-global-support>.
13. Cleton N., Koopmans M., Reimerink J., Godeke G., Reusken C. Come fly with me: review of clinically important arboviruses for global travelers. *J. Clin. Virol.* 2012; 55(3):191–203. DOI: 10.1016/j.jcv.2012.07.004.
14. Cumulative Zika confirmed and suspected cases reported by countries and territories in the Americas, 2015–2016. Updated February 12, 2016 [cited 18 Feb 2016]. Available from: http://reliefweb.int/sites/reliefweb.int/files/resources/Zika%20Cases_12Feb2016.pdf.
15. Diallo D., Sall A., Diagne C.T., Faye O., Faye O., Ba Y., Hanley K., Buenemann M., Weaver S., Diallo M. Zika virus emergence in mosquitoes in southeastern Senegal, 2011. *PLoS One*. 2014; 9(10):e109442. DOI: 10.1371/journal.pone.0109442.
16. Duffy M., Chen T., Hancock W., Powers A., Kool J., Lanciotti R., Pretrick M., Marfel M., Holzbauer S., Dubray C., Guillaumot L., Griggs A., Bel M., Lambert A., Laven J., Kosoy O., Panella A., Biggerstaff B., Fischer M., Hayes E. Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. *N. Engl. J. Med.* 2009; 360(24):2536–43. DOI: 10.1056/NEJMoa0805715.
17. European Centre for Diseases Control and Prevention, ECDC. ECDC rapid risk assessment. Zika virus disease epidemic: potential association with microcephaly and Guillain-Barre syndrome (first update); 21 January 2016. ECDC; 2016 [cited 28 Jan 2016]. Available from: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/rapid-risk-assessment-zika-virus-first-update-jan-2016.pdf>.
18. European Centre for Diseases Control and Prevention, ECDC. Epidemiological update: Outbreaks of Zika virus and complications potentially linked to the Zika virus infection. 19 February 2016 [cited 20 Feb 2016]. Available from: [http%3A%2F%2Fecdc.europa.eu%2Fen%2Fen%2Fhealthtopics%2Fzika_virus_infection%2Fzika-outbreak%2FPages%2Fepidemiological-situation%2Easpx%3Fpreview%3Dyes%26pdf%3Dyes](http://ecdc.europa.eu/en/press/news/layouts/forms/News_DispForm.aspx?ID=1365&List=8db7286c-fe2d-476c-9133-18ff4cb1b568&Source=http%3A%2F%2Fecdc.europa.eu%2Fen%2Fen%2Fhealthtopics%2Fzika_virus_infection%2Fzika-outbreak%2FPages%2Fepidemiological-situation%2Easpx%3Fpreview%3Dyes%26pdf%3Dyes).
19. Faye O., Freire C., Iamarino A., Faye O., de Oliveira J.,

- Diallo M., Zanutto P., Sall A. Molecular evolution of Zika virus during its emergence in the 20th century. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2014; 8(1):e2636. DOI: 10.1371/journal.pntd.0002636.
20. Foy B., Kobylinski K., Chilson Foy J., Blitvich B., Travassos da Rosa A., Haddow A., Lanciotti R., Tesh R. Probable non-vector-borne transmission of Zika virus, Colorado, USA. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17(5):880–2. DOI: 10.3201/eid1705.101939.
21. Gourinat A., O'Connor O., Calvez E., Goarant C., Dupont-Rouzeyrol M. Detection of Zika virus in urine. *Emerg. Infect. Dis.* 2015; 21(1):84–6. DOI: 10.3201/eid2101.140894.
22. Hayes E. Zika virus outside Africa. *Emerg. Infect. Dis.* 2009; 15(9):1347–50. DOI: 10.3201/eid1509.090442.
23. Lambrechts L., Scott T., Gubler D. Consequences of the expanding global distribution of *Aedes albopictus* for dengue virus transmission. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2010; 4(5):e646. DOI: 10.1371/journal.pntd.0000646.
24. Lanciotti R., Kosoy O., Laven J., Velez J., Lambert A., Johnson A., Stanfield S., Duffy M. Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. *Emerg. Infect. Dis.* 2008; 14(8):1232–9. DOI: 10.3201/eid1408.080287.
25. Li M., Wong P., Ng L., Tan C. Oral susceptibility of Singapore *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus) to Zika virus. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2012; 6(8):e1792. DOI: 10.1371/journal.pntd.0001792.
26. Liu-Helmersson J., Stenlund H., Wilder-Smith A., Rocklöv J. Vectorial capacity of *Aedes aegypti*: effects of temperature and implications for global dengue epidemic potential. *PLoS ONE*. 2014; 9(3):e89783. DOI: 10.1371/journal.pone.0089783.
27. Martin D., Muth D., Brown T., Johnson A., Karabatsos N., Roehrig J. Standardization of immunoglobulin M capture enzyme-linked immunosorbent assays for routine diagnosis of arboviral infections. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 38(5):1823–6.
28. Martinez-Pulgarin D., Acevedo-Mendoza W., Cardona-Ospina J., Rodriguez-Morales A., Paniz-Mondolfi A. A bibliometric analysis of global Zika research. *Travel Med. Infect. Dis.* 2016; 14(1):55–7. DOI: 10.1016/j.tmaid.2015.07.005.
29. Musso D., Nhan T., Robin E., Roche C., Bierlaire D., Zisou K., Shan Yan A., Cao-Lormeau V., Brout J. Potential for Zika virus transmission through blood transfusion demonstrated during an outbreak in French Polynesia, November 2013 to February 2014. *Euro Surveill.* 2014; 19(14):pii 20771.
30. Musso D., Nilles E., Cao-Lormeau V. Rapid spread of emerging Zika virus in the Pacific area. *Clin. Microbiol. Infect.* 2014; 20(10):595–6. DOI: 10.1111/1469-0691.12707.
31. Musso D., Roche C., Nhan T., Robin E., Teissier A., Cao-Lormeau V. Detection of Zika virus in saliva. *J. Clin. Virol.* 2015; 68:53–5. DOI: 10.1016/j.jcv.2015.04.021.
32. Musso D., Roche C., Robin E., Nhan T., Teissier A., Cao-Lormeau V. Potential sexual transmission of Zika virus. *Emerg. Infect. Dis.* 2015; 21(2):359–61. DOI: 10.3201/eid2102.141363.
33. Oehler E., Watrin L., Larre P., Leparc-Goffart I., Lastere S., Valour F., Baudouin L., Mallet H., Musso D., Gahwche F. Zika virus infection complicated by Guillain-Barre syndrome – case report, French Polynesia, December 2013. *Euro Surveill.* 2014; 19(9):pii 20720.
34. Pan American Health Organization / World Health Organization. Epidemiological Update: Neurological syndrome, congenital anomalies and Zika virus infection. 17 January, Washington, D.C.: PAHO/WHO; 2016.
35. Pan American Health Organization. Zika epidemiological alerts and updates. Available from: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=11599&Itemid=41691&lang=en.
36. Shinohara K., Kutsuna S., Takasaki T., Moi M., Ikeda M., Kotaki A., Yamamoto K., Fujiya Y., Mawatari M., Takeshita N., Hayakawa K., Kanagawa S., Kato Y., Ohmagari N. Zika fever imported from Thailand to Japan, and diagnosed by PCR in the urines. *J. Travel Med.* 2016; 23(1):pii tav011. DOI: 10.1093/jtm/tav011.
37. Unlu I., Farajollahi A. Vectors without borders: Imminent arrival, establishment and public health implications of the Asian bush (*Aedes japonicus*) and Asian tiger (*Aedes aegypti*) mosquitoes in Turkey. *Hacettepe J. Biol. Chem.* 2012; 40:23–36.
38. WHO. WHO statement on the first meeting of the International Health Regulations (2005) (IHR 2005) Emergency Committee on Zika virus and observed increase in neurological disorders and neonatal malformations: WHO; 2016 [cited 20 Feb 2016]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/news/statements/2016/1st-emergencycommittee-zika/en/>.
39. World Health Organization. Zika situation report 5 February 2016. Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204348/1/zikasitrep_5Feb2016_eng.pdf?ua=1.
40. Wong P., Li M., Chong C., Ng L., Tan C. *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse): a potential vector of Zika virus in Singapore. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2013; 7(8):e2348. DOI: 10.1371/journal.pntd.0002348.
- ## References
- Dremova V.P., Ganushkina L.A. [Factors affecting dissemination and numbers of *Aedes aegypti* L. and *Aedes albopictus* Skuse]. *Pest-Management.* 2011; 2:33–37.
 - [Concerning reports on an imported case of Zika fever in the territory of the Russian Federation. Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare]. 15 Feb 2016 [cited: 16.02.2016]. Available from: http://www.rospotrebnadzor.ru/about/info/news/news_details.php?ELEMENT_ID=5807.
 - Onishchenko G.G., Popova A.Yu., Toporkov V.P., Smolensky V.Yu., Shcherbakova S.A., Kuttyrev V.V. [Present-day menaces and challenges in the sphere of biological safety and strategy of countermeasures]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2015; 3:5–9.
 - Popova A.Yu., Safronov V.A., Boiro M.Y., Kouklev E.V., Kedrova O.V., Udovichenko S.K., Lopatin A.A., Razdorsky A.S., Ezhlova E.B., Smolensky V.Yu., Kuttyrev V.V. [Epidemiological peculiarities of Ebola virus disease epidemic, 2013–2015 in West Africa countries]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2015; 3:42–8.
 - Aubry M., Richard V., Green J., Brout J., Musso D. Inactivation of Zika virus in plasma with amotosalen and ultraviolet A illumination. *Transfusion.* 2016; 56(1):33–40. DOI: 10.1111/trf.13271.
 - Baronti C., Piorkowski G., Charrel R., Boubis L., Leparc-Goffart I., de Lamballerie X. Complete coding sequence of Zika virus from a French Polynesia outbreak in 2013. *Genome Announc.* 2014; 2(3). pii: e00500-14. DOI: 10.1128/genomeA.00500-14.
 - Bekerman E., Einav S. Combating emerging viral threats. *Science.* 2015; 348(6232):282–2. DOI: 10.1126/science.aaa3778.
 - Besnard M., Lastere S., Teissier A., Cao-Lormeau V., Musso D. Evidence of perinatal transmission of Zika virus, French Polynesia, December 2013 and February 2014. *Euro Surveill.* 2014; 19(13). pii: 20751.
 - Campos G., Bandeira A., Sardi S. Zika virus outbreak, Bahia, Brazil. *Emerg. Infect. Dis.* 2015; 21(10):1885–6. DOI: 10.3201/eid2110.150847.
 - Centers for Disease Control and Prevention. Zika virus disease in the United States, 2015–2016. Available from: <http://www.cdc.gov/zika/geo/united-states.html>.
 - Charrel R., Leparc-Goffart I., Pas S., de Lamballerie X., Koopmans M., Reusken C. State of knowledge on Zika virus for an adequate laboratory response. *Bull. World Health Organ.* E-pub: 10 Feb 2016. DOI: 10.2471/BLT.16.171207.
 - CIDRAP. Brazil confirms blood-transfusion Zika; PAHO calls for global support: CIDRAP; 2016 [cited 18 Feb 2016]. Available from: <http://www.cidrap.umn.edu/newsperspective/2016/02/brazil-confirms-blood-transfusion-zika-paho-calls-global-support>.
 - Cleton N., Koopmans M., Reimerink J., Godeke G., Reusken C. Come fly with me: review of clinically important arboviruses for global travelers. *J. Clin. Virol.* 2012; 55(3):191–203. DOI: 10.1016/j.jcv.2012.07.004.
 - Cumulative Zika confirmed and suspected cases reported by countries and territories in the Americas, 2015–2016. Updated February 12, 2016 [cited 18 Feb 2016]. Available from: http://reliefweb.int/sites/reliefweb.int/files/resources/Zika%20Cases_12Feb2016.pdf.
 - Diallo D., Sall A., Diagne C.T., Faye O., Ba Y., Hanley K., Buenemann M., Weaver S., Diallo M. Zika virus emergence in mosquitoes in southeastern Senegal, 2011. *PLoS One.* 2014; 9(10):e109442. DOI: 10.1371/journal.pone.0109442.
 - Duffy M., Chen T., Hancock W., Powers A., Kool J., Lanciotti R., Pretrick M., Marfel M., Holzbauer S., Dubray C., Guillaumot L., Griggs A., Bel M., Lambert A., Laven J., Kosoy O., Panella A., Biggerstaff B., Fischer M., Hayes E. Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. *N. Engl. J. Med.* 2009; 360(24):2536–43. DOI: 10.1056/NEJMoa0805715.
 - European Centre for Diseases Control and Prevention, ECDC. ECDC rapid risk assessment. Zika virus disease epidemic: potential association with microcephaly and Guillain-Barre syndrome (first update); 21 January 2016. ECDC; 2016 [cited 28 Jan 2016]. Available from: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/rapid-risk-assessment-zika-virus-first-update-jan-2016.pdf>.
 - European Centre for Diseases Control and Prevention, ECDC. Epidemiological update: Outbreaks of Zika virus and complications potentially linked to the Zika virus infection. 19 February 2016 [cited 20 Feb 2016]. Available from: http://ecdc.europa.eu/en/press/news/layouts/forms/News_DispForm.aspx?ID=1365&List=8db7286c-fe2d-476c-9133-18ff4cb1b568&Source=http%3A%2F%2Fecdc.europa.eu%2Fen%2Fhealthtopics%2Fzika-virus-infection%2Fzika-outbreak%2FPages%2Fepidemiologica1-situation%2Easpx%3Fpreview%3Dyes%26pdf%3Dyes.
 - Faye O., Freire C., Iamarino A., Faye O., de Oliveira J., Diallo M., Zanutto P., Sall A. Molecular evolution of Zika virus during its emergence in the 20th century. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2014; 8(1):e2636. DOI: 10.1371/journal.pntd.0002636.
 - Foy B., Kobylinski K., Chilson Foy J., Blitvich B., Travassos da Rosa A., Haddow A., Lanciotti R., Tesh R. Probable non-vector-borne transmission of Zika virus, Colorado, USA. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17(5):880–2. DOI: 10.3201/eid1705.101939.
 - Gourinat A., O'Connor O., Calvez E., Goarant C., Dupont-Rouzeyrol M. Detection of Zika virus in urine. *Emerg. Infect. Dis.* 2015; 21(1):84–6. DOI: 10.3201/eid2101.140894.
 - Hayes E. Zika virus outside Africa. *Emerg. Infect. Dis.* 2009; 15(9):1347–50. DOI: 10.3201/eid1509.090442.
 - Lambrechts L., Scott T., Gubler D. Consequences of the expanding global distribution of *Aedes albopictus* for dengue virus transmission. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2010; 4(5):e646. DOI: 10.1371/journal.pntd.0000646.
 - Lanciotti R., Kosoy O., Laven J., Velez J., Lambert A., Johnson A., Stanfield S., Duffy M. Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. *Emerg. Infect. Dis.* 2008; 14(8):1232–9. DOI: 10.3201/eid1408.080287.
 - Li M., Wong P., Ng L., Tan C. Oral susceptibility of Singapore *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus) to Zika virus. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2012; 6(8):e1792. DOI: 10.1371/journal.pntd.0001792.
 - Liu-Helmersson J., Stenlund H., Wilder-Smith A., Rocklöv J.

Vectorial capacity of *Aedes aegypti*: effects of temperature and implications for global dengue epidemic potential. *PLoS ONE*. 2014; 9(3):e89783. DOI: 10.1371/journal.pone.0089783.

27. Martin D., Muth D., Brown T., Johnson A., Karabatsos N., Roehrig J. Standardization of immunoglobulin M capture enzyme-linked immunosorbent assays for routine diagnosis of arboviral infections. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 38(5):1823–6.

28. Martinez-Pulgarin D., Acevedo-Mendoza W., Cardona-Ospina J., Rodriguez-Morales A., Paniz-Mondolfi A. A bibliometric analysis of global Zika research. *Travel Med. Infect. Dis.* 2016. 14(1):55–7. DOI: 10.1016/j.tmaid.2015.07.005.

29. Musso D., Nhan T., Robin E., Roche C., Bierlaire D., Zisou K., Shan Yan A., Cao-Lormeau V., Brout J. Potential for Zika virus transmission through blood transfusion demonstrated during an outbreak in French Polynesia, November 2013 to February 2014. *Euro Surveill.* 2014; 19(14): pii 20771.

30. Musso D., Nilles E., Cao-Lormeau V. Rapid spread of emerging Zika virus in the Pacific area. *Clin. Microbiol. Infect.* 2014; 20(10):595–6. DOI: 10.1111/1469-0691.12707.

31. Musso D., Roche C., Nhan T., Robin E., Teissier A., Cao-Lormeau V. Detection of Zika virus in saliva. *J. Clin. Virol.* 2015; 68:53–5. DOI: 10.1016/j.jcv.2015.04.021.

32. Musso D., Roche C., Robin E., Nhan T., Teissier A., Cao-Lormeau V. Potential sexual transmission of Zika virus. *Emerg. Infect. Dis.* 2015; 21(2):359–61. DOI: 10.3201/eid2102.141363.

33. Oehler E., Watrin L., Larre P., Leparc-Goffart I., Lastere S., Valour F., Baudouin L., Mallet H., Musso D., Ghawche F. Zika virus infection complicated by Guillain-Barre syndrome – case report, French Polynesia, December 2013. *Euro Surveill.* 2014; 19(9):pii 20720.

34. Pan American Health Organization / World Health Organization. Epidemiological Update: Neurological syndrome, congenital anomalies and Zika virus infection. 17 January, Washington, D.C.: PAHO/WHO; 2016.

35. Pan American Health Organization. Zika epidemiological alerts and updates. Available from: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=11599&Itemid=41691&lang=en.

36. Shinohara K., Kutsuna S., Takasaki T., Moi M., Ikeda M., Kotaki A., Yamamoto K., Fujiya Y., Mawatari M., Takeshita N., Hayakawa K., Kanagawa S., Kato Y., Ohmagari N. Zika fever imported from Thailand to Japan, and diagnosed by PCR in the urines. *J. Travel Med.* 2016; 23(1):pii tav011. DOI: 10.1093/jtm/tav011.

37. Unlu I., Farajollahi A. Vectors without borders: Imminent arrival, establishment and public health implications of the Asian bush (*Aedes japonicus*) and Asian tiger (*Aedes aegypti*) mosquitoes in Turkey. *Hacettepe J. Biol. Chem.* 2012; 40:23–36.

38. WHO. WHO statement on the first meeting of the International Health Regulations (2005) (IHR 2005) Emergency Committee on Zika virus and observed increase in neurological disorders and neonatal malformations: WHO; 2016 [cited 20 Feb 2016]. Available from: <http://www.who.int/media-centre/news/statements/2016/1st-emergencycommittee-zika/en/>.

39. World Health Organization. Zika situation report 5 February 2016. Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204348/1/zikasitrep_5Feb2016_eng.pdf?ua=1.

40. Wong P., Li M., Chong C., Ng L., Tan C. *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse): a potential vector of Zika virus in Singapore. *PLoS Negl.*

Trop. Dis. 2013; 7(8):e2348. DOI: 10.1371/journal.pntd.0002348.

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.

Toporkov A.V., Viktorov D.V., Smelyansky V.P., Zhukov K.V., Boroday N.V., Shpak I.M. Volgograd Research Anti-Plague Institute. 7, Golubinskaya St., Volgograd, 400131, Russian Federation. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru

Kulichenko A.N. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: snipchi@mail.stv.ru

Mikheev V.N. State Research Centre of Virology and Biotechnology "Vector". Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru

Maleev V.V., Shipulin A.G. Central Research Institute of Epidemiology. Moscow, Russia-Federation.

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.

Топорков А.В., Викторов Д.В., Смелянский В.П., Жуков К.В., Бородай Н.В., Шпак И.М. Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 400131, Волгоград, ул. Голубинская, 7. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru

Куличенко А.Н. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: snipchi@mail.stv.ru

Михеев В.Н. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., п. Кольцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru

Малеев В.В., Шипулин А.Г. Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии. Москва, Российская Федерация.

Поступила 29.02.16.

Н.В.Попов¹, В.Е.Безсмертный², А.Н.Матросов¹, Т.В.Князева¹, А.А.Кузнецов¹, Ю.М.Федоров²,
В.П.Попов², Д.Б.Вержущий³, В.М.Корзун³, С.А.Косилко³, Е.В.Чипанин³, В.М.Дубянский⁴,
О.В.Малецкая⁴, М.П.Григорьев⁴, Е.С.Зенкевич⁵, В.П.Топорков¹, С.В.Балахонov³, А.Н.Куличенко⁴,
В.В.Кутырев¹

ЭПИЗООТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПРИРОДНЫХ ОЧАГОВ ЧУМЫ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2015 г. И ПРОГНОЗ НА 2016 г.

¹ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация; ²ФКУЗ «Противочумный центр Роспотребнадзора», Москва, Российская Федерация; ³ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», Иркутск, Российская Федерация; ⁴ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт», Ставрополь, Российская Федерация; ⁵Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация

Целью исследований являлась оценка состояния паразитарных систем и активности природных очагов чумы Российской Федерации в 2015 г. и разработка эпизоотологического прогноза на 2016 г. В 2015 г. эпизоотии чумы выявлены на территории Горно-Алтайского высокогорного, Тувинского горного, Прикаспийского песчаного природных очагов чумы на общей площади 1573,4 км². Выделено 46 штаммов чумного микроба, в том числе от грызунов и зайцеобразных – 18, от блох – 28. Обоснован эпизоотологический прогноз на сохранение в 2016 г. напряженной эпидемиологической обстановки в Горно-Алтайском высокогорном и Тувинском горном природных очагах чумы. Показано, что в результате оперативного проведения профилактических мероприятий (полевая дератизация, дезинсекция) в 2015 г. достигнуто снижение эпизоотической активности Прикаспийского песчаного очага. Отмечено сохранение низкого уровня численности носителей и переносчиков чумы в природных очагах Северного и Северо-Западного Прикаспия, Предкавказья, Кавказа и Забайкалья. Выявлена тенденция роста численности малого суслика в Прикаспийском Северо-Западном степном, Волго-Уральском степном, Дагестанском равнинно-предгорном и Прикаспийском песчаном природных очагах чумы.

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

Корреспондирующий автор: Попов Николай Владимирович, e-mail: rusrapi@microbe.ru

N.V.Popov¹, V.E.Bezsmertny², A.N.Matrosov¹, T.V.Knyazeva¹, A.A.Kuznetsov¹, Yu.M.Fedorov², V.P.Popov²,
D.B.Verzhutsky³, V.M.Korzun³, S.A.Kosilko³, E.V.Chipanin³, V.M.Dubyansky⁴, O.V.Maletskaya⁴,
M.P.Grigor'ev⁴, E.S.Zenkevich⁵, V.P.Toporkov¹, S.V.Balakhonov³, A.N.Kulichenko⁴, V.V.Kutyrev¹

Epizootic Activity of Natural Plague Foci of the Russian Federation in 2015, and Prognosis for 2016

¹Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation; ²Plague Control Center of the Rospotrebnadzor, Moscow, Russian Federation; ³Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russian Federation; ⁴Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation; ⁵Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Moscow, Russian Federation

Objective of the study is to evaluate the state of parasitic systems and activity of natural plague foci of the Russian Federation in 2015 and to develop epizootiological forecast for 2016. In 2015, plague epizooties were detected in the territory of Gorno-Altai high-mountain, Tuva mountain, and Pre-Caspian sandy natural plague foci with a total area amounting to 1573.4 square kilometers. Isolated were 46 strains of plague microbe, including the isolates from rodents and leporines – 18, and from fleas – 28. Substantiated is epizootiological prognosis for sustaining challenging epidemiological situation in Gorno-Altai high-mountain and Tuva mountain natural foci in 2016. Demonstrated is the fact that consequently to effective prompt prophylactic measures (field deratization, disinsection) in 2015 decreased epizootic activity of Pre-Caspian sandy focus is observed. Specified is retention of low numbers of carriers and vectors of plague in natural foci of North and North-Western Caspian Sea Region, Pre-Caucasian, Caucasian, and Transbaikal Territories. Identified is upward trend for numbers of the little souslik in Pre-Caspian North-Western steppe, Volga-Ural steppe, Dagestan lowland-piedmont, and Pre-Caspian sandy natural plague foci.

Key words: natural plague foci, epizootic activity, epizootiological prognosis, plague microbe strains, carriers and vectors of plague, prophylactic measures, and epidemiological hazard.

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

Corresponding author: Nikolay V. Popov, e-mail: rusrapi@microbe.ru

Citation: 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., Kosilko S.A., Chipanin E.V., Dubyansky V.M., Maletskaya O.V., Grigor'ev M.P., Zenkevich E.S., Toporkov V.P., Balakhonov S.V., Kulichenko A.N., Kutyrev V.V. Epizootic Activity of Natural Plague Foci of the Russian Federation in 2015, and Prognosis for 2016. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; 1:13–19. (In Russ.). DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-13-19

В 2015 г. неблагоприятные условия для циркуляции чумного микроба (депрессивное состояние популяций носителей и переносчиков, весенне-летние засухи, длительные зимние оттепели и др.) сложились на энзоотичной территории Кавказа, Предкавказья, Северного и Северо-Западного

Прикаспия, Забайкалья. Это обусловило сохранение межэпизоотического периода в Прикаспийском Северо-Западном, Волго-Уральском и Забайкальском степных, Дагестанском равнинно-предгорном, Терско-Сунженском низкогорном, Волго-Уральском песчаном, Восточно-Кавказском и Центрально-Кавказском высокогорных природных очагах чумы [4, 5]. В регионе Горного Алтая (Республика Алтай, Республика Тыва) в 2015 г. макросиноптическая ситуация, определяющая условия существования паразитарных систем природных очагов чумы, была менее экстремальной [1, 3].

В соответствии с эпизоотологическим прогнозом на 2015 г. эпизоотии чумы на территории Российской Федерации зарегистрированы на Алтае (Республика Алтай, Республика Тыва) и в Северо-Западном Прикаспии (Республика Калмыкия). Культуры чумного микроба (46 штаммов) выделены в Горно-Алтайском высокогорном (23), Тувинском горном (19) и Прикаспийском песчаном (4) очагах. Общая площадь выявленных эпизоотических участков составила 1573,4 км². Из 46 штаммов 18 (39,1 %) изолированы от трех видов грызунов и одного вида зайцеобразных, 28 (60,9 %) – от блох. Из 18 штаммов 14 (77,7 %) были получены от серого сурка, 2 (11,1 %) – от длиннохвостого суслика, 1 (5,6 %) – от монгольской пищухи, 1 (5,6 %) – от полуденной песчанки. Среди зараженных 11 видов блох штаммы (28) распределились следующим образом: *Citellophilus tesquorum* – 12 (43,0 %), *Oropsylla alaskensis* – 2 (7,1 %), *Frontopsylla elatoides* – 2 (7,1 %), *Rhadinopsylla li transbaikalica* – 2 (7,1 %), *Paramonopsyllus scalonae* – 2 (7,1 %), *Ctenophyllus hirticrus* – 2 (7,1 %), *Oropsylla silantiewi* – 2 (7,1 %), *Frontopsylla hetera* – 1 (3,6 %), *Neopsylla mana* – 1 (3,6 %), *Neopsylla setosa* – 1 (3,6 %), *Nosopsyllus laeviceps* – 1 (3,6 %).

Ниже представлены эпизоотологические особенности состояния паразитарных систем 11 природных очагов чумы Российской Федерации в 2015 г. и прогноз на 2016 г.

Горно-Алтайский высокогорный очаг.

Эпизоотии зарегистрированы на территории Кош-Агачского района Республики Алтай на площади 482,4 км². Выделено 23 штамма чумного микроба, из них 6 – *Y. pestis altaica* (1 – от трупа монгольской пищухи, 5 – от снятых с трупа этого зверька блох: *P. scalonae* – 1, *Ct. hirticrus* – 2, *F. hetera* – 1, *N. mana* – 1) и 17 штаммов *Y. pestis pestis* (14 – от серого сурка, в том числе 2 культуры получены от сурков, изъятых из холодильника больного в с. Кызыл-Таш; 2 – от блох *O. silantiewi* с серого сурка, 1 – от блох *P. scalonae* с монгольской пищухи). Обнаружены два новых эпизоотических участка, где выявлена циркуляция *Y. pestis pestis* – вершина р. Бар-Бургазы и окрестности озера Киндыктыкуль (Талдуайрский мезоочаг). В связи с широким распространением основного подвида чумного микроба в поселениях промыслового вида – серого сурка, потенциальная эпидемическая опасность очага рез-

ко возросла. В 2015 г. здесь зарегистрирован случай бубонной чумы у жителя с. Кызыл-Таш. Заражение произошло при разделке сурка, добытого в урочище Сазынкель (участок Середина р. Елангаши) [1].

Численность монгольской пищухи в среднем по очагу в 2015 г. снизилась весной до 2,8 жилых нор на 1 га, осенью – до 4,2 (многолетние показатели 4,9 и 6,8 соответственно). Наиболее значительное сокращение численности нор имело место на территории Уландрыкского (в 2015 г. – 0,9 и 1,6) и Тархатинского мезоочагов (в 2015 г. – 2,6 и 4,6). В Курайском мезоочаге численность монгольской пищухи весной составила 7,2, осенью – 9,0 жилых нор на 1 га. Численность серого сурка в целом по очагу составила весной и осенью 0,7 жилых бутанов на 1 га и находилась на уровне среднеемноголетнего значения (0,7). Наибольшие плотности нор зафиксированы в верховьях рек Уландрык и Большие Шибеты (1,3–1,4 жилых бутанов на 1 га) и на участке Калгуты (1,7 жилых бутанов на 1 га). Численность даурской пищухи весной равна 0,6 жилых нор на 1 га, осенью – 1,2 и находилась на уровне прошлогодней. Численность длиннохвостого суслика в среднем по очагу составила весной и осенью – 5,7 особей на 1 га, что выше прошлогодней (4,9 осенью) и среднеемноголетних показателей (весна – 3,2, осень – 5,5 особей на 1 га). Наиболее высокие показатели численности суслика отмечены на участке Калгуты – 8,6, в верховьях рек Чаган-Бургазы и Бар-Бургазы – до 8,0 особей на 1 га. Показатель численности плоскочерепной полевки по очагу весной равен 8,4 % попадания в орудия лова, осенью – 28,6 %. Весной на стоянках животноводов отлавливали плоскочерепную полевку (3,2 %) и монгольскую пищуху (1,1 %), осенью – плоскочерепную полевку (8,6 %). В населенных пунктах в отловах доминировала домовая мышь, показатели численности составили весной 4,5, осенью – 3,6 % попадания.

Численность блох монгольской пищухи остается на высоком уровне, хотя несколько снизилась по сравнению с прошлым годом. Индекс обилия на зверьке в среднем по очагу весной составил 10,5, осенью – 8,3 (в 2014 г. – 12,7 и 10,7 соответственно). Запас блох в весенний период равен 122 экз. на 1 га, в осенний – 353 (в 2014 г. – 360 и 544). Индекс обилия блох на сером сурке равен 1,0. Абсолютно доминировала блоха *O. silantiewi* (97 %). Наблюдается тенденция повышения индексов обилия блох на даурской пищухе, средний за год показатель – 19,1 (2014 г. – 10,8) и плоскочерепной полевке – 2,1 (1,3). На длиннохвостом суслике обилие эктопаразитов изменилось незначительно – 1,5 (1,8).

В 2016 г. ожидается увеличение численности монгольской пищухи и серого сурка. Численность второстепенных носителей не претерпит существенных изменений. При благоприятных погодных условиях численность основных переносчиков сохранится на уровне прошлого года. Прогнозируется развитие эпизоотий, обусловленное циркуляцией *Y. pestis pestis* в поселениях серого сурка в Уландрыкском,

Тархатинском и Талдуайском мезоочагах. В связи с сохранением высокого риска заражения человека необходимо дальнейшее усиление эпидемиологического надзора и заблаговременное проведение противоэпидемических и профилактических мероприятий в Кош-Агачском районе Республики Алтай.

Тувинский горный очаг. Эпизоотии зарегистрированы на территории Монгун-Тайгинского, Овюрского и Тэс-Хемского кожуунов (районов) Республики Тыва на общей площади 791 км². Выделено 19 штаммов *Y. pestis pestis*: 2 – от длиннохвостого суслика; 10 – от блох из входов нор (7 – от *C. tesquorum*, 1 – *F. elatoides*, 1 – *O. alaskensis*, 1 – *Rh. li transbaikalica*); 5 – от блох с сусликов (4 – от *C. tesquorum*, 1 – *Rh. li transbaikalica*); 2 – от блох из гнезда суслика (*F. elatoides* и *O. alaskensis*). Циркуляция возбудителя чумы установлена в 5 из 7 известных мезоочагов (Кара-Бельдырский, Каргинский, Толайлыгский, Верхне-Барлыкский, Саглинский), а также на территории долины р. Чоза (в 40 км восточнее границы очага). В 2015 г. впервые выявлены два новых эпизоотических участка – Деспен и Аспайты.

Численность длиннохвостого суслика в целом по очагу возросла до 6,5 особей на 1 га (2014 г. – 4,7). Среднегодовая плотность населения тарбагана по очагу составила 2,0 жилых бутана на 1 га (2014 г. – 1,3). В 2015 г. наблюдалось снижение численности монгольской пищухи – средняя за сезон численность по очагу составила 2,6 жилых колоний на 1 га (в 2014 г. – 3,3). Почти в 1,5 раза возрос показатель численности даурской пищухи, составивший 1,4 жилых колоний на 1 га (2014 г. – 0,9). Отмечена низкая численность плоскочерепной полевки – 2 % попадания в орудия лова (2014 г. – 1,5). Возросла численность узкочерепной полевки – средняя плотность составила 0,15 жилых колоний на 1 га (2014 г. – 0,04). На чабанских стоянках в Монгун-Тайгинском мезоочаге в летний период показатель численности грызунов (в основном плоскочерепной полевки) сократился до 3,3 % попадания в орудия лова (2014 г. – 6,2). В п. Мугур-Аксы численность мышевидных грызунов достигла 8,9 % (2014 г. – 3,1).

По всем мезоочагам отмечен рост численности блох длиннохвостого суслика в 1,5–2 раза по сравнению с прошлогодними и среднемноголетними показателями. В Монгун-Тайгинском мезоочаге индекс обилия блох на зверьках равен 6,8, что вдвое выше прошлогоднего (3,4). Во входах нор этот показатель увеличился по сравнению с прошлым годом почти в 4 раза до 0,65 (2014 г. – 0,17). В гнездах индекс обилия поднялся до 97 (2014 г. – 80). Общий запас блох достиг 538 экз. на 1 га (2014 г. – 512), в два с лишним раза превысив среднемноголетний уровень за последние 10 лет (249).

Рост численности блох произошел, в первую очередь, за счет увеличения плотности населения *C. tesquorum* – основного переносчика чумы. В среднем по очагу индекс обилия этих блох на зверьках

поднялся до 6,3 (2014 г. – 3,3); во входах нор – до 0,62 (0,16). В Монгун-Тайгинском мезоочаге индекс обилия этого вида в шерсти зверьков вырос до 5,4 (2014 г. – 2,5), во входах нор – 0,51 (2014 г. – 0,12, среднемноголетний – 0,3), в гнездах – 71, 43 и 32 соответственно. Индексы обилия эктопаразитов на второстепенных носителях продолжали оставаться в 2015 г. на низком уровне. В населенных пунктах на площади 5,5 тыс. м² блохи не обнаружены.

В 2016 г. прогнозируется сохранение высокой численности носителей и переносчиков чумного микроба. Ожидается развитие эпизоотий на территории Монгун-Тайгинского, Овюрского и Тэс-Хемского кожуунов (районов) Республики Тыва. С учетом роста численности тарбагана и эпидемиологического статуса этого промыслового вида необходимо обеспечить проведение всего комплекса профилактических мероприятий в очаге, направленных на снижение риска заражения чумой.

Прикаспийский песчаный очаг. В 2015 г. эпизоотии чумы выявлены на территории Черноземельского района Республики Калмыкия на 3 участках общей площадью 300 км² (2014 г. – 2300 км²). Весной выделено 4 штамма (в 2014 г. – 53) возбудителя чумы: от трупа полуденной песчанки, от блохи *Nos. laeviceps* с полуденной песчанки, от блох *N. setosa* и *C. tesquorum* из нор малого суслика. Стабилизация эпизоотической обстановки явилась следствием оперативного проведения профилактических мероприятий (полевая дератизация, дезинсекция) на локальных участках стойкого проявления чумы в условиях естественной депрессии численности носителей и переносчиков [2].

Численность полуденной и гребенщиковой песчанок в Волго-Кумском междуречье снизилась к весне до 3,7 особей на 1 га, что близко к средней многолетней величине (3,9). Несмотря на весенне-летнее размножение к осени плотность песчанок оказалась ниже многолетнего значения (5,2) и составила 3,0 особи на 1 га. Наиболее низкие показатели численности песчанок отмечены в Терско-Кумском междуречье: весной – 0,6, осенью – 0,7 особей на 1 га. Численность малого суслика в целом по очагу возросла до 3,1 особи на 1 га, что соответствует среднемноголетнему значению (3,0). На Черных землях она даже достигла 5,2, однако в Терско-Кумском междуречье плотность остается низкой – 0,2 особи на 1 га.

Повсеместно снизилась численность фонового вида – общественной полевки, но она по-прежнему доминирует во всех биоценозах. Весной ее плотность составила 5,7 особей на 1 га, к осени увеличилась до 7,1. Численность других мышевидных грызунов в 2015 г. была очень низкой. В целом по очагу в природных биотопах весной она равнялась 2,0, в скирдах – 2,7, в населенных пунктах – 1,8, осенью – 4,5, 3,2 и 3,5 % попадания соответственно. Заселенность строений грызунами – 12,1 %. Общий запас блох в весенний период в смешанных поселениях грызунов в Волго-Кумском междуречье, по

сравнению с 2014 г., резко снизился. Численность блох малых песчанок составила 32 экз. на 1 га, блох малого суслика – 375. Численность блох в поселениях общественной полевки составляла 50 экз. на 1 га. В Терско-Кумском междуречье показатели численности блох также очень низкие: суммарно в смешанных поселениях суслика и песчанок около 20 блох на 1 га, что в 2,5 раза ниже многолетней. Осенние показатели численности блох песчанок снизились в среднем до 18 экз. на 1 га. Среди основных переносчиков явно доминировала блоха *Nos. laeviceps* – 88 %, на долю *Xenopsylla conformis* пришлось 10 %. При обследовании населенных пунктов на заселенность блохами в Кумо-Манычском междуречье (13 жилых домов площадью 8,1 тыс. м²) собрано 4 блохи: 3 экз. *Nos. conformis* и 1 экз. – *N. setosa*.

В 2016 г. прогнозируется низкий уровень численности носителей и переносчиков возбудителя чумы. Сохраняется вероятность выявления единичных зараженных чумой грызунов и их блох.

Прикаспийский Северо-Западный степной очаг. Последние находки зараженных чумой животных зарегистрированы в 1990 г. В 2015 г. здесь отмечена тенденция повышения численности основного носителя чумы – малого суслика и его специфических блох. Средняя численность суслика возросла до 5,3 особей на 1 га (средний многолетний показатель – 9,6). Плотность зверьков составляла в северной части Ергеней – 2,7 особей на 1 га, на центральных Ергенях – 5,2, в Низменно-солонцеватых степях – 6,6, на Черных Землях – 5,6. В последнее десятилетие самым многочисленным видом зональных биоценозов полупустыни стала общественная полевка, средняя численность которой весной составила 4,9 особи на 1 га. Сохраняется низкая численность других второстепенных видов носителей чумы: малых песчанок, мышей и обыкновенной полевки. Весной суммарный показатель численности мелких млекопитающих в природных биотопах составил 3,8, осенью – 9,7 % попадания в орудия лова. В населенных пунктах весной численность домового мыши составила в среднем 2,8, осенью – 4,7 % попадания при заселенности объектов около 16 %.

Рост численности сусликов определил увеличение общего запаса его блох, средний показатель которого достиг 578 экз. на 1 га. При этом в центральных Ергенях он равен 1097, на Черных землях – 393, в Низменно-солонцеватых степях – 334 экз. на 1 га. Индексы обилия блох на мышевидных грызунах остаются низкими. В населенных пунктах блохи не зарегистрированы.

В 2016 г. сохранится тенденция роста численности малого суслика и его блох, но ее уровень не достигнет среднего многолетнего значения. Эпизоотических проявлений не ожидается.

Волго-Уральский степной очаг. В западной части очага на территории Российской Федерации последние находки зараженных чумой животных имели место в 1975 г. на пограничных с Волго-Уральским

песчаным очагом участках. В восточной части очага на территории Казахстана эпизоотии регистрировались до 2001 г. В 2015 г. в очаге (Астраханская, Волгоградская области) отмечена тенденция роста численности малого суслика. Средний показатель его плотности составил 4,3 особи на 1 га (среднемноголетний – 8,8). Численность мышевидных грызунов в интразональных биотопах весной равнялась 14, осенью – 13 % попадания в орудия лова. Численность домового мыши в населенных пунктах в холодный период года составила 4 % при заселенности объектов – 22 %.

Численность блох малого суслика в 2015 г. оставалась низкой. Обилие их составило 129 экз. на 1 га, что втрое уступает уровню многолетнего показателя (368). Численность блох мышевидных грызунов и полевок также очень низкая.

В 2016 г. прогнозируется сохранение низкой численности малого суслика и его блох. Эпизоотических проявлений не ожидается.

Волго-Уральский песчаный очаг. В 2006–2015 гг. зараженных чумой животных на территории очага не зарегистрировано. Весной суммарная плотность полуденной и гребенщиковой песчанок составила 8,4 особи на 1 га, что в 2 раза выше средних многолетних значений. Осенью этот показатель практически не изменился (7,8 особи на 1 га) и оказался ниже многолетнего. Численность малого суслика в локальных поселениях на ашиках равнялась 0,2, желтого суслика – 2,0 особи на 1 га. Средние показатели численности мышевидных грызунов в зональных биотопах весной составляли 2,6 % попадания в орудия лова, осенью – 2,8. В населенных пунктах численность домового мыши весной составила 2,4, осенью – 2,2 % при заселенности строений 19 %.

Численность блох малых песчанок вдвое уступала среднемноголетним показателям: весной – 190, осенью – 182 экз. на 1 га. Индексы доминирования *X. conformis* – 56, *Nos. laeviceps* – 44 %. Индексы обилия блох на мышевидных грызунах повсеместно низкие. В населенных пунктах блох не выявлено.

В 2016 г. прогнозируется сохранение низкой численности носителей и переносчиков чумы. Эпизоотических проявлений не ожидается.

Забайкальский степной очаг. Эпизоотические проявления в очаге не регистрируются с 1971 г. За период с 1947 г. по настоящее время численность даурского суслика – основного носителя возбудителя чумы – снизилась более чем в 13 раз. В 2015 г. она продолжала оставаться на низком уровне. В весенний период показатель численности составил в среднем 0,3 особи на 1 га. В летне-осенний период он равнялся в среднем 0,4 и лишь в оптимальных местах обитания, вблизи населенных пунктов и стоянок животноводов, достигал 1,5 особей на 1 га. Малочисленные поселения монгольского сурка (тарбагана) приурочены, в основном, к труднодоступным участкам гористой местности. В Олдондинском заказнике плотность нор сурков составляла в среднем 0,6 жилых

бутана на 1 га. Жилые бутаны обнаружены и в местности, прилегающей к заказнику в районе хребта Адун-Челон, в вершине пади Оцолуй, в районе ж/д станции Соктуй и окрестностях с. Ключевское. На локальных участках, примыкающих к государственной границе, число нор сурка достигало 1,0–1,5 жилых бутана на 1 га. Показатель плотности даурской пищухи варьировал весной от 0,1 до 0,6 и в среднем составил 0,4 жилой норы на 1 га, а осенью – 0,1–2,0 и 0,9 соответственно. Численность узкочерепной полевки в среднем составила 0,1 жилых нор на 1 га. В населенных пунктах средняя численность домового мыши равна 1,6 % попадания в орудия лова. Серая крыса обнаружена только в п. Забайкальск, ее численность составила 0,1 % попадания в орудия лова. Индексы обилия блох составляли на даурском суслике 1,4, на даурской пищухе – 1,1, на узкочерепной полевке – 0,1, что значительно ниже прошлогодних показателей.

В 2016 г. сохранится низкий уровень численности носителей и переносчиков возбудителя чумы. Эпизоотические проявления в очаге маловероятны. С учетом эпизоотологического и эпидемиологического статуса тарбагана необходимо контролировать состояние популяций этого вида на территории очага.

Центрально-Кавказский высокогорный очаг.

Последние находки зараженных чумой животных имели место в 2007 г. В 2008–2015 гг. циркуляция *Y. pestis pestis* ежегодно подтверждалась положительными результатами исследования проб полевого материала иммунодиагностическим и генетическим методами. Общая площадь, заселенная горным сусликом, составляет не более 500 км² (1976 г. – 850 км²). Средняя численность горного суслика в целом по очагу составила 22,0 особи на 1 га (2014 г. – 22,5), что близко к многолетнему уровню (20,8). В Кубано-Малкинском и Баксано-Черекском районах численность зверьков возросла в окрестностях кошар частного пользования. На остальной территории, особенно на ксерофитных участках горной степи, численность сусликов не превышает 14–16 особей на 1 га. Показатель численности обыкновенной полевки составил в среднем 7,0 % попадания в орудия лова, что несколько ниже прошлогоднего показателя (7,6 %). Численность лесной и домового мышей на открытых лугах, где распространены поселения горного суслика, не превышала 1,5 % попадания в орудия лова (2014 г. – 2,0 %). Средний показатель численности домового мыши в населенных пунктах к осени в среднем составил 8,2 % попадания в орудия лова (2014 г. – 7,6 %) при колебаниях от 4,0 до 16,0 %.

Основным переносчиком чумы в очаге является блоха *C. tesquorum*. В 2015 г. ее индекс доминирования составил в горной степи 90, субальпийских лугах – 81, альпийских лугах – 83 %. Индексы обилия на горном суслике и в его гнездах равнялись соответственно в горной степи 10 и 17, на субальпийских лугах – 6,6 и 6,8, в альпике – 7,7 и 15,7. Во входах нор индекс обилия колебался по ландшафтно-

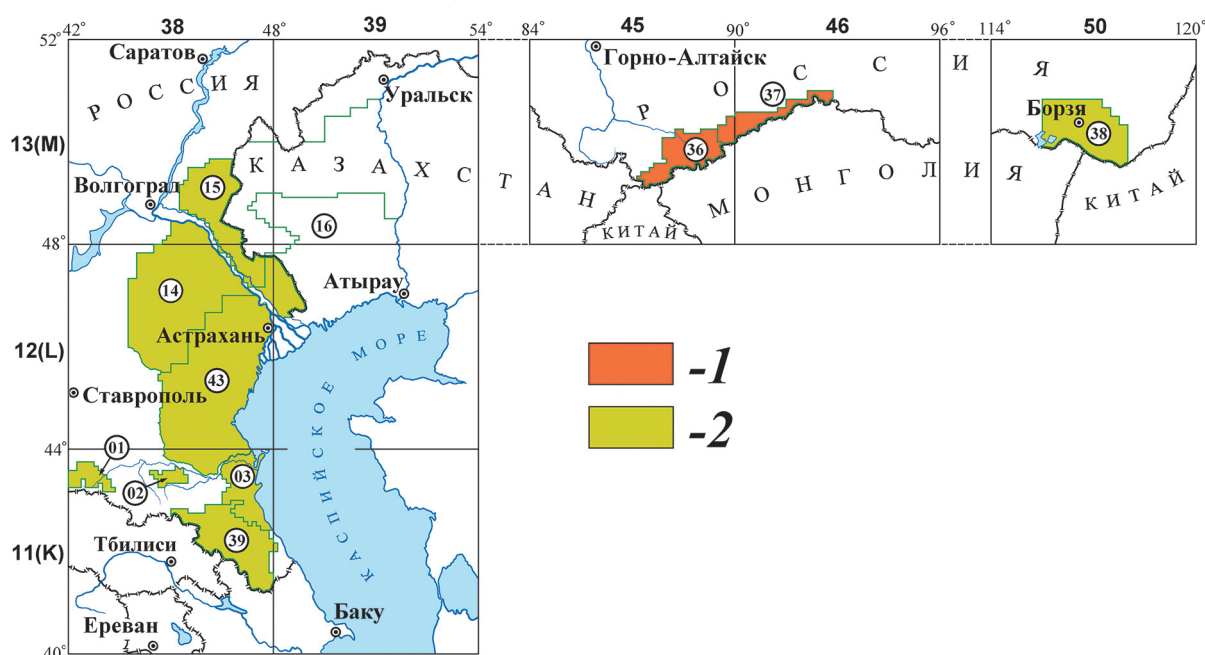
эпизоотологическим районам от 0,2 до 0,8, составив в среднем по очагу 0,3. Запас этого вида на 1 га в горной степи оценивается как средний – 594, при этом произошло его снижение по сравнению с 2014 г., особенно заметное в Верхне-Кубанском районе – с 1005 до 770. В зоне субальпийских лугов обилие основного переносчика, как и в 2014 г., низкое – 273 экз. на 1 га. На альпийских лугах, по сравнению с 2014 г., на всех участках очаговости отмечен рост запаса блох, он характеризуется как средний – 709 экз. на 1 га. В населенных пунктах и жилых помещениях при животноводческих фермах блох не обнаружено.

В 2016 г. показатели численности горного суслика существенно не изменятся. Ожидается рост численности *C. tesquorum* на отдельных участках горной степи и альпийских лугов. Сохраняется вероятность обнаружения единично зараженных животных.

Дагестанский равнинно-предгорный очаг.

Последние находки зараженных чумой животных на территории очага зарегистрированы в 2003 г. В 2015 г. в предгорной зоне средняя плотность малого суслика возросла до 3,1 особи на 1 га (2014 г. – 2,7), но вдвое уступает средней многолетней (6,8). В равнинной зоне численность малого суслика осталась на уровне прошлого года – 4,4 особи на 1 га (в 2014 г. – 4,3). Наиболее крупные поселения сусликов сохранились на севере Аграханского полуострова, в правобережье р. Терек в районе Тамаза-тубе – кутана Шава и кутана Львовское-13. На остальной территории полынно-солончаковой степи Терско-Сулакского междуречья показатель численности малого суслика составляет менее 1 особи на 1 га. Средняя плотность гребенщиковой песчанки весной составила 2,5 особи на 1 га, что ниже показателя прошлого года и среднеемноголетнего значения (5,0 и 6,4). В осенний период показатель численности песчанок возрос до 11,2 особи на 1 га (2014 г. – 2,9, среднеемноголетний – 7,6). Показатель численности мышевидных грызунов весной 2015 г. в предгорной зоне составлял 3,5 % попадания в орудия лова (2014 г. – 2,7, среднеемноголетний – 3,4), а в равнинной зоне – 0,03 (2014 г. – 2,0, среднеемноголетний – 2,1). В осенний период в равнинной зоне этот показатель не превышал 2,1 % попадания в орудия лова (в 2014 г. – 13,9, среднеемноголетний – 8,3), а в предгорной зоне достиг 10,9 % попадания в орудия лова (2014 г. – 6,9, среднеемноголетний – 10,3).

В равнинной части очага сохраняется низкий уровень численности блох малого суслика. Летний запас блох на 1 га равнялся 61 экз. (2014 г. – 52). В одном из локальных поселений суслика отмечена повышенная численность блох – 259 экз. на 1 га. В предгорной зоне очага весенний показатель обилия составил 459 экз. на 1 га (2014 г. – 91, среднеемноголетний – 156). В летний период произошло его значительное снижение до 78 экз. на 1 га (2014 г. – 116, среднеемноголетний – 55). Запас блох малых песчанок на 1 га весной составил 9 экз. (в 2014 г. – 7, среднеемноголетний – 23), в осенний период – 8 экз. на 1 га, что было на уровне 2014 г.,



Прогноз эпизоотической активности природных очагов чумы Российской Федерации на 2016 г.: 1 – сохранение эпизоотической активности; 2 – сохранение межэпизоотического периода

но ниже среднеемноголетнего показателя – 17. В предгорной зоне блохи встречались на лесной и домовой мышах, общественной полевке.

В 2016 г. прогнозируется сохранение тенденции роста численности малого суслика и его блох в равнинной части очага. Сохраняется вероятность единичных находок зараженных чумой животных на локальных участках в комплексных поселениях малого суслика, гребенщиковой песчанки и других грызунов.

Терско-Сунженский низкогорный очаг. С 2001 г. зараженных животных не выявлено. Общая площадь сохранившихся локальных поселений малого суслика составляет около 10 га. В 2015 г. показатель численности суслика не превышал 2,6 особи на 1 га. Процент попадания мышевидных грызунов в природных биотопах весной – 6,0 (2014 г. – 5,9), что в 1,6 раза превзошло многолетний уровень (3,7). В населенных пунктах средняя численность мышевидных грызунов составила 2,5 % попадания в орудия лова при 60 % заселенности домов зверьками. Индекс обилия блох на лесной мыши равнялся 0,3, домовой – 0,4, общественной полевке – 0,5, сером хомячке – 1,0. В населенных пунктах блохи не обнаружены.

В 2016 г. сохранится низкий уровень численности малого суслика и мышевидных грызунов. Эпизоотические проявления не ожидаются.

Восточно-Кавказский высокогорный очаг. В 2015 г. зараженные чумой животные не обнаружены. Средняя плотность обыкновенной полевки весной 2015 г. составила 3,5 особи на 1 га, что соответствует многолетнему значению (3,2), к осени она возросла до 4,6 особи на 1 га (2014 г. – 3,2), что в 2,6

раза ниже среднего многолетнего показателя (11,9). Численность мышевидных грызунов в природных биотопах весной составила 1,5 % попадания в орудия лова (2014 г. – 1,2), осенью – 1,4. В населенных пунктах весенняя численность домовой мыши равнялась 0,9, осенью – 0,4 %. В предгорной зоне осенняя численность мышевидных грызунов в открытых биотопах возросла до 9,8, в населенных пунктах не превышала 1,0 % попадания. Индексы обилия блох обыкновенной полевки повсеместно низкие. Весной запас блох на 1 га не превышал 4,7 экз. при среднеемноголетнем значении 53, осенью повысился с 8,3 (в 2014 г.) до 9,4 (среднеемноголетнее значение – 231). В 2016 г. численность полевки и ее блох в очаге окажется ниже среднего многолетнего значения. Эпизоотические проявления маловероятны.

На основании выполненного анализа состояния паразитарных систем природных очагов чумы Российской Федерации развитие эпизоотий в 2016 г. прогнозируется на территории Горно-Алтайского высокогорного и Тувинского горного природных очагов чумы (рисунок). В остальных природных очагах чумы на территории Российской Федерации не исключается вероятность обнаружения единично зараженных животных.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Балахонов С.В., Попова А.Ю., Мищенко А.И., Михайлов Е.П., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Денисов А.В., Рождественский Н.Н., Базарова Г.Х., Щучинов Л.В., Зарубин И.В., Семенова Ж.Е., Маденова Н.М., Дюсенбаев Д.К., Ярыгина М.Б., Чипанин И.В., Косилко С.А., Носков А.К., Корзун В.М. Случай заболевания человека чумой в Кош-Агачском районе Республики Алтай в

2015 г. Сообщение 1. Клинико-эпидемиологические и эпизоотологические аспекты. *Пробл. особо опасных инф.* 2016; 1:55–60.

2. 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. *Пробл. особо опасных инф.* 2015; 4:22–9.

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

4. 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.

5. 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., Караваева 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.

References

1. Balakhonov S.V., Popova A.Yu., Mishchenko A.I., Mikhailov E.P., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Denisov A.V., Rozhdestvensky N.N., Bazarova G.Kh., Shchuchinov L.V., Zarubin I.V., Semenova Zh.E., Madenova N.M., Dyusenbaev D.K., Yarygina M.B., Chipanin I.V., Kosilko S.A., Noskov A.K., Korzun V.M. [A case of human infection with plague in the Kosh-Agach Region of the Republic of Altai in 2015. Communication 1. Clinical-epidemiological and epidemiological aspects]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2016; 1:55–60.

2. 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., Bammatorov 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]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2015; 4:22–9.

3. Kutyrev V.V., Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Pakskina N.D., Shchuchinov L.V., Mikhailov E.P., Mishchenko A.I., Rozhdestvensky E.N., Bazarova G.Kh., Denisov A.V., Sharova I.N., Popov N.V., Kuznetsov A.A. [Infection of an individual with plague in the Gorno-Altai high-mountain natural focus in 2014. Communication 1. Epidemiological and epidemiological peculiarities of plague manifestations in the Gorno-Altai

high-mountain (Sailyugemsky) natural plague focus]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2014; 4:9–16.

4. 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.

5. Popov N.V., Bezsmertny V.E., Udobikov 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.

Authors:

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

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

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

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

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.

Об авторах:

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

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

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

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

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.

Поступила 21.01.16.

С.В.Титова¹, Э.А.Москвитина¹, В.Д.Кругликов¹, А.В.Самородова¹, Е.Г.Тюленева¹, Е.В.Монахова¹,
Р.В.Писанов¹, А.С.Водошнянов¹, И.В.Архангельская¹, С.М.Иванова², Т.В.Ковалева¹, С.О.Водошнянов¹

ХОЛЕРА: ОЦЕНКА ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ ОБСТАНОВКИ В МИРЕ И РОССИИ В 2006–2015 гг. ПРОГНОЗ НА 2016 г.

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

При оценке эпидемиологической обстановки по холере в мире установлена тенденция снижения заболеваемости в 2015 г. при среднем ежегодном темпе 10,225 % (относительно 2006 г.). Впервые определен эпидемиологический год при холере за 2014–2015 гг. Имевшие место в 2015 г. межгосударственные (Африка, Азия), межконтинентальные завозы холеры из региона Карибского бассейна (Кубы) и Азии в Америку (Канаду) и Европу (Великобританию, Италию, Бельгию и Германию) остаются основными эпидемиологическими рисками в распространении инфекции на глобальном уровне. В 2015 г. выявлена 21 эндемичная по холере административная территория в восьми странах Африки, Америки, в регионе Карибского бассейна и в Азии. Эпидемиологические осложнения обусловлены в основном *V. cholerae* O1 биовара El Tor, продуцирующими холерный токсин классического типа, а также *V. cholerae* O1 биовара Classical и *V. cholerae* O139 серогруппы. Эпидемические проявления холеры в России характеризовались завозами инфекции российскими гражданами, возвратившимися из-за рубежа; выделением из поверхностных водоемов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор *ctxA⁻tcpA⁻*, *ctxA⁻tcpA⁺* и *V. cholerae* O139 *ctxA⁻* и *tcpA⁻*, а также единичных *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор *ctxA⁺tcpA⁺*. Прогноз по холере на глобальном уровне и в России на 2016 г. остается неблагоприятным.

Ключевые слова: холера, эпидемиологическая обстановка, завозы, эндемичные территории, *V. cholerae* O1, *V. cholerae* O1 Classical, *V. cholerae* O139, прогноз.

Корреспондирующий автор: Москвитина Эльза Афанасьевна, e-mail: plague@aaanet.ru

S.V.Titova¹, E.A.Moskvitina¹, V.D.Kruglikov¹, A.V.Samorodova¹, E.G.Tyuleneva¹, E.V.Monakhova¹,
R.V.Pisanov¹, A.S.Vodop'yanov¹, I.V.Arkhangelskaya¹, S.M.Ivanova², T.V.Kovaleva¹, S.O.Vodop'yanov¹

Cholera: Analysis of Epidemiological Situation across the World and in Russia within a Period of 2006–2015. Prognosis for 2016

¹Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation; ²Plague Control Center, Moscow, Russian Federation

In the course of assessment of epidemiological situation around the world in 2015, established has been the tendency to incidence rate reduction, with the annual average tempo – 10.225 % (in reference to 2006). For the first time ever, defined has been equivalent epidemiological year in case of cholera within an interval between 2014–2015. The key epidemiological risks of infection transmission globally are still inter-state (Africa, Asia) and extra-continental imports of cholera from the Caribbean (Cuba) and Asia into America (Canada) and Europe (Great Britain, Italy, Belgium, and Germany), which took place in 2015 too. Identified have been 21 endemic administrative territories in eight countries of Africa, America, the Caribbean, and Asia. Epidemiological complications are mainly caused by *V. cholerae* O1, biovar El Tor, producing cholera toxin of classical type, as well as by *V. cholerae* O1, classical biovar, and *V. cholerae* O139 serogroup. Epidemic manifestations of cholera in the Russian Federation are characterized by import of the infection by citizens returning from abroad; the isolation from surface water bodies of *V. cholerae* O1, biovar El Tor *ctxA⁻tcpA⁻*, *ctxA⁻tcpA⁺* and *V. cholerae* O139 *ctxA⁻* and *tcpA⁻*, as well as of single *V. cholerae* O1, biovar El Tor *ctxA⁺tcpA⁺*. Forecast on cholera world-wide and in Russia for 2016 remains unfavorable.

Key words: cholera, epidemiological situation, import cases, endemic territories, *V. cholerae* O1, *V. cholerae* O1 Classical, *V. cholerae* O139, prognosis.

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

Corresponding author: Elza A. Moskvitina, e-mail: plague@aaanet.ru

Citation: Titova S.V., Moskvitina E.A., Kruglikov V.D., Samorodova A.V., Tyuleneva E.G., Monakhova E.V., Pisanov R.V., Vodop'yanov A.S., Arkhangelskaya I.V., Ivanova S.M., Kovaleva T.V., Vodop'yanov S.O. Cholera: Analysis of Epidemiological Situation across the World and in Russia within a Period of 2006–2015. Prognosis for 2016. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2016; 1:20–27. (In Russ.). DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-20-27

Холера — представляющая угрозу для жизни диарейная болезнь, возбудителем которой являются *Vibrio cholerae* O1 и O139 серогрупп. Холера эндемична в ряде развивающихся стран Азии, Африки и Северной Америки, в регионе Карибского бассейна. Кроме того, холера представляет серьезный риск для здоровья населения как эндемичных, так и не эндемичных по холере стран с недостаточно развитой инфраструктурой

здравоохранения. Постоянное слежение за распространением холеры в странах мира, предусмотренное Международными медико-санитарными правилами (2005 г.) [2], Санитарно-эпидемиологическими правилами СП 3.1.1.2521-09 [6], осуществлялось на глобальном, континентальном и региональном уровнях с оценкой масштабов и характера распространения инфекции, прогноза. В работе исполь-

зованы сведения проблемно-ориентированных баз данных «Холера Эль-Тор. Эпидемиологический анализ заболеваемости в мире», «Холера Эль-Тор. Мир. Административные территории», «Холера Бенгал», «Холера Эль-Тор. Эпидемиологический анализ заболеваемости в СНГ, России», «Холерные вибрионы. Россия». Формирование их проводили с использованием сведений из Wkly Epidemiological Record of World Health Organization [10–18], ProMED-mail post <<http://www.promedmail.org>> (2015 г.), с сайта <http://www.mspp.gouv.ht/site/index.php>. Documentation-MSSP, научных публикаций из поисковой системы PubMed. На основании оперативной информации, поступающей в Референс-центр по мониторингу за холерой из противочумных институтов и станций, Управлений Роспотребнадзора и ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъектах Российской Федерации, паспортных данных на штаммы после их окончательной идентификации, осуществлен анализ данных о выделении холерных вибрионов O1 и O139 серогрупп из поверхностных водоемов и других объектов окружающей среды в субъектах, в том числе различных по типам эпидемических проявлений. Статистическую обработку данных проводили по Е.Д.Савилову [7]. Текстовый и графический материал оформлен на персональном компьютере под управлением операционной системы MS Microsoft XP Professional и офисного пакета MS Office 2007.

Мир. В 2015 г. поступила информация о 98808 больных холерой (неуточненные данные ВОЗ на 31.12.2015 г.) из 31 страны Азии, Африки, Америки и Европы. Установлена тенденция снижения заболеваемости холерой в 2015 г. по прямолинейной, степенной и полиномиальной линиям трендов при среднем ежегодном темпе снижения –10,225 % (относительно 2006 г.). В структуре мировой заболеваемости наибольшая доля больных холерой приходится на Африканский континент – 58,827 %, на Американском континенте она составила – 36,112 %, в Азии – 5,058 %, Европе – 0,003 %. Показатели летальности в мире – 1,57 %, в странах Карибского бассейна – 0,82 %,

в Африке – 1,88 %.

При эпидемиологическом анализе помесечной заболеваемости холерой в мире в 2015 г. выявлено, что показатели заболеваемости в январе–марте (0,221 ‰, 0,159 ‰, 0,168 ‰) превышали среднемесячный уровень, значение которого равнялось 0,136 ‰, с сезонными подъемами в мае – 0,228 ‰ и октябре – 0,199 ‰ (рис. 1). Это было связано с продолжением эпидемий и вспышек, имевших место в декабре 2014 г. в странах Карибского бассейна (Гаити, Доминиканская Республика) и на Африканском континенте (Кот-д’Ивуар, Нигерия, Мозамбик), и эпидемическими проявлениями холеры с января в странах Азии (Индия) и Африки (Гана, Нигер, Того, Демократическая Республика Конго (ДРК). Указанное, в свою очередь, свидетельствовало о том, что сезонность холеры в 2014 г. не укладывалась в календарный год. Это явилось основанием для определения эпидемиологического года (ЭГ) по соответствующему алгоритму [7] при холере за 2014–2015 гг. Установлено, что ЭГ начинался в апреле 2014 г. (показатель заболеваемости – 0,142 ‰ + 0,002), который следовал за месяцем с минимальным уровнем заболеваемости этого года, и завершился в апреле 2015 г. с минимальным уровнем заболеваемости (0,095 ‰ + 0,002). С учетом рассчитанного верхнего предела показателя круглогодичной заболеваемости (1,368 ‰) сезонный подъем холеры в рассматриваемом эпидемиологическом году начинался в июле 2014 г. (показатель заболеваемости – 0,202 ‰) с максимальными показателями в августе, сентябре и октябре – 0,261 ‰, 0,288 ‰ и 0,246 ‰ соответственно (рис. 2).

Необходимо отметить, что активизация эпидемического процесса и его проявлений в странах Азии и Африки, как и в 2014 г. [4], была обусловлена социальными факторами риска – меж- и внутригосударственной миграцией населения вследствие политической нестабильности и военных действий, приведших к заносам холеры в Сирию, Оман, Кувейт и Бахрейн из Ирака [37, 38, 39], где годы вооруженных конфликтов и беспорядков препятствовали разви-



Рис. 1. Годовая динамика заболеваемости холерой в мире. 2015 г.:
— — заболеваемость на 100 тыс. населения; — — среднее месячная заболеваемость на 100 тыс. населения

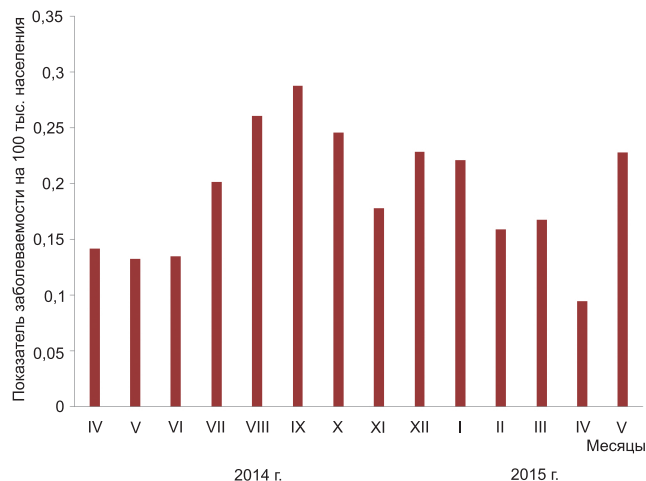


Рис. 2. Динамика заболеваемости холерой в мире в течение эпидемиологического года

тию инфраструктуры водоснабжения и водоотведения в стране [36, 38]. Политическая нестабильность в Восточном регионе Африки, в Бурунди, привела вследствие межгосударственной маятниковой миграции населения к крупным вспышкам в вышеуказанной стране и Танзании в мае, когда было выявлено 3038 и 4195 случаев холеры соответственно. 105000 жителей Бурунди бежали в соседние страны, что дало основание ООН рассматривать создавшуюся ситуацию как гуманитарный кризис [30].

Среди социальных условий, влияющих на ход эпидемического процесса на различных территориальных уровнях, продолжали оставаться значимыми проблемы, связанные с переполненными лагерями для перемещенных гражданских лиц из местного населения в Южном Судане, где в результате начавшейся гражданской войны в 2013 г. более 166 тыс. жителей страны вынуждены были искать убежища в лагерях на миротворческих базах ООН и других, более 2,25 млн человек покинули свои дома [34]; в Гаити в лагерях и лачугах, приспособленных для местного населения, оставшегося без крова до настоящего времени, находятся более 60800 местных жителей [40].

Эпидемиологическая обстановка в мире в 2015 г. на различных континентах была обусловлена также следующими социальными условиями и факторами:

- *низкий уровень санитарии в странах Африки:* Мозамбик, провинция Nampula, Зимбабве, провинции Хараре и Masvingo, ДРК, провинция Katanga, Танзания, регионы Mara и Kigoma, Нигерия, штат Ebonyi, Кения, округа Noma Bay, Nakuru, Baringo [22, 25, 26, 31] и *странах Карибского бассейна,* Гаити, департаменты Artibonite, West, South East, South and North [41];

- *использование воды из загрязненных источников в странах Африки:* Нигерия, штаты Anambra, Bayelsa, Rivers, Ebonyi и Delta; ДРК, провинции South Kivu, Katanga; Кения, округа Migori, Bomet, Mombasa и Nairobi [19, 20, 21, 22, 23, 26, 27, 28]; *контаминация Vibrio cholerae O1 источников водоснабжения в странах Карибского бассейна,* Гаити [41];

- *аварии в системе водоснабжения и, как следствие, контаминация питьевой воды V. cholerae O1 в Азии,* в Индии, штаты Odisha и Chandigarh [24, 33];

- *недостаток квалифицированной медицинской помощи, самолечение в странах Африки:* Нигерия, штаты Bayelsa, Ebonyi и Delta, Демократическая республика Конго, провинция Katanga, Кения, округ Migori [20, 22, 27, 28] и *странах Карибского бассейна:* Гаити, департаменты Quest, Artibonite, Centre Sud-Est [36], что обуславливает летальность в этих странах.

Активизации эпидемического процесса в 2015 г. способствовали природные условия, связанные с сезонами дождей в странах Азии: в Непале — с августа [27], в регионе Карибского бассейна, в Гаити — с октября [40], в Африке: в Мозамбике — с октября 2014 г. по март 2015 г., в Кении, Нигерии — с апреля–мая; наводнениями (Мозамбик — с декабря 2014 г. по январь

2015 г.; Малави, Зимбабве — с марта–апреля), в том числе обусловленными феноменом Эль-Ниньо (Уганда, Танзания — с октября) и как следствие — нарушение инфраструктуры населенных мест, вынужденное проживание в лагерях, широкое географическое распространение, в том числе на свободные от холеры административные территории [22, 25, 29, 42].

С 2006 по 2015 год в мире отмечен 1741 импортированный случай холеры с наибольшим числом межгосударственных завозов в Азии — 1182 (67,89 %); межконтинентальных и межгосударственных завозов на Американском континенте — 241 (13,84 %), в Европе — 250 (14,36 %), в Африке — 66 (3,79 %) и Австралии с Океанией — 2 (0,11 %). Имевшие место в 2015 г. межгосударственные заносы холеры в Африке — из Нигерии в Камерун и Танзанию [30], межгосударственные и межконтинентальные — из Кубы в Канаду (январь) [54], Великобританию и Италию (июль) [32], из Индии в Бельгию (август) [37], из Филиппин в Германию (декабрь) [43] остаются основными эпидемиологическими рисками в распространении холеры на глобальном уровне.

В 2015 г. выявлена 21 эндемичная административная территория по холере в шести странах, в том числе в Африке: в Нигерии (штаты Kano, Lagos, Plateau, Ebonyi), Гане (регионы Greater Accra, Accra, Ashanti), в ДРК (провинции Katanga, South Kivu: в регионе Карибского бассейна, в Гаити (департаменты Artibonite, Grande-Anse, Centre, Ouest, Sud-Est, Sud, Nippes, Nord) и Доминиканской Республике (провинции Santiago, Santo Domingo, San-Pedro-de-Makoris) и в Азии: в Индии (штаты Odisha, Gujarat), Непале (округ Centre), Бангладеш. Указанное определяет неблагоприятные тенденции в дальнейшем развитии событий в регионе Карибского бассейна, Западного и Центрального регионов Африки и Южной Азии, существование реальных угроз выноса инфекции с эндемичных территорий. Следует отметить, что при наличии в странах различных континентов ранее эндемичных административных территорий (2006–2012 гг.) характерно распространение инфекции на новые территории, в том числе сопредельных стран.

Эпидемии и вспышки в последнее десятилетие вызваны *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, сероваров Огава и Инаба, продуцирующими холерный токсин классического типа и содержащими аллели гена В-субъединицы СТ *ctxB1* или *ctxB7*. Представляют интерес штаммы, выделенные в 2011 г. во время вспышки холеры в Палаване (Филиппины) когда заболело более 500 человек, 20 из них умерли [49]. Исследования штаммов проводили с использованием основных идентификационных тестов, мультилокусного анализа числа вариабельных tandemных повторов (MLVA) и полногеномного секвенирования для определения источника вспышки. Установлено, что штаммы обладали уникальными генотипами по результатам MLVA. При секвенировании трех штаммов *V. cholerae* O1 определено, что они являлись гибридными штаммами *V. cholerae* O1 Эль Тор и были лишены элемента SXT,

который обуславливает резистентность к стрептомицину, сульфаметоксазол/триметоприму и хлорамфениколу [47]. Ранее SXT рассматривался как основной генетический элемент, обеспечивающий селективное преимущество измененным штаммам *V. cholerae* Эль Тор в их глобальном распространении [51]. Отсутствие SXT в изучаемых штаммах, по мнению авторов, может объяснять ограниченное распространение их в водной экосистеме Филиппин. Штамм из окружающей среды имел высокую гомологию с клиническими штаммами, подтверждая факт, что окружающая среда была резервуаром *V. cholerae*, обеспечивая реализацию соответствующего пути передачи возбудителя инфекции во время вспышки.

Наряду с этим имеются сообщения K.R. Rai *et al.* [56] о выделении *V. cholerae* O1 Classical сероваров Гикошима (n=10) и Огава (n=1) в Непале в 2008 г. из сточной воды канализационной системы в долине Катманду. Небезынтересны данные об изоляции от госпитализированных в больницу тропических и инфекционных болезней Sukraraj, Катманду, больных острой водянистой диареей *V. cholerae* O1, обладающих фенотипическими свойствами классического биовара [54]. В. Bakhshi *et al.* [8] при изучении штаммов *V. cholerae*, выделенных во время вспышки холеры в Иране в 2012 г., определили принадлежность одного из 11 штаммов к классическому биовару, что дало исследователям основание предполагать о его завозном происхождении, поскольку ранее (1998–2011 гг.) не было сообщений о выделении холерных вибрионов классического биовара в этом регионе.

По данным ВОЗ, штаммы *V. cholerae* O139 серогруппы, появившиеся в Бенгальском заливе в 1992 г., до настоящего времени имеют распространение, ограниченное, в основном, странами Юго-Восточной Азии. В 2014 г. Филиппины информировали ВОЗ о крупной вспышке (4547 случаев холеры), обусловленной *V. cholerae* O139 и O1 серогрупп. В Китае в этом же году было зарегистрировано 24 подтвержденных случая холеры, 17 из них были вызваны *V. cholerae* O139 серогруппы, а 7 – *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, серовара Огава [18].

Азия. В 2015 г. отмечена тенденция роста заболеваемости холерой при среднем ежегодном темпе 6,778 % (относительно 2006 г.). Число пораженных стран – 31 с крупными вспышками в Центральной Азии: в Афганистане – 4384 случаев холеры (2008 г.), 3733 (2011 г.), 45481 (2014 г.); в Западной Азии: в Ираке – 4969 (2007 г.), 2810 (2015 г.); в Южной – в Индии – 2680 (2008 г.), 4031 (2014 г.), Пакистане – 1218 (2014 г.) и в Непале – 933 (2014 г.); в Юго-Восточной Азии: на Филиппинах – 1928 (2012 г.), 4547 (2014 г.), в Таиланде – 1974 (2010 г.), Малайзии – 586 (2011 г.).

Clemens J.D., Qadri F., сотрудники Международного Центра исследований диарейных болезней в Бангладеш (ICDDR,B; Centre for Vaccine Sciences, Bangladesh), в статье «Cholera in Bangladesh» [44] констатируют, что «... Холера эндемична в Бангладеш с древних времен и в XXI веке продолжает вызывать

ежегодные эпидемии и вспышки по всей стране. ... в Бангладеш ежегодно регистрируется 109502 больных холерой, а население в 66495209 человек подвергается риску инфицирования ... и летальности 3 %, что равнозначно приблизительно 4 тыс. смертей». Насколько достоверна эта информация, судить трудно, так как в этой же работе отмечено, что «... на национальном уровне не проводится эпидемиологический надзор для определения показателя подтвержденных методом посева случаев холеры».

В 2015 г. ВОЗ получила уведомление от национального координатора Ирака по ММСП о 2810 подтвержденных случаях холеры, выявленных в 17 из 19 провинций страны [42]. Вспышка холеры, начавшаяся в Ираке в середине сентября 2015 г., распространилась в истерзанную войной Сирию, где были выявлены единичные случаи холеры в двух городах, которые в ноябре контролировались Исламским государством (ИГИЛ – террористическая организация, запрещенная в России).

Поступившие сообщения о вспышках холеры в Индии, в эндемичных по холере штатах Орисса и Гуджарат, в Непале, Бирме, Ираке, о регистрации единичных случаев в Таиланде, Сирии, о завозе инфекции в Оман свидетельствовали об активизации территориальных и временных эпидемиологических рисков и неблагоприятном прогнозе на континенте на 2016 г.

Африка. В 2015 г. отмечена тенденция снижения в динамике заболеваемости холерой на континенте при среднегодовом темпе 6,778 % (относительно 2006 г.). За последние десять лет сообщения в ВОЗ о холере поступили из 47 стран всех регионов, преимущественно Западного, Восточного и Центрального, где было поражено 15, 17 и 9 (87, 2 %) стран соответственно, с эпидемиями и крупными вспышками: в Нигерии – 44456 случаев холеры (2010 г.), 35996 (2014 г.), 5127 (2015 г.), Гане – 3357 (2006 г.), 6989 (2012 г.), Сьерра-Леоне – 20736 (2012 г.), Либерии – 3063 (2007 г.), Мозамбике – 19679 (2009 г.), 8161 (2015 г.), Зимбабве – 60055 и 68153 (2008 и 2009 гг.), Танзании – 4469 (2010 г.), 10412 (2015 г.) и других. В 2015 г. отмечено продолжающееся ежегодное неблагополучие в странах Центральной Африки: в ДРК – 30150 случаев холеры (2008 г.), 22203 (2014 г.), 19705 (2015 г.), Анголе – 67257 (2006 г.), 1810 (2011 г.), Камеруне – 22433 (2011 г.), 3355 (2014 г.), Чад – 6395 и 17267 (2010 и 2011 гг.), в бассейнах озера Чад, р. Конго и Гвинейского залива. Эпидемические проявления холеры имели место в Южном Судане (регион Северной Африки) в 2014 и 2015 гг., когда было зарегистрировано 6421 и 1818 случаев холеры.

Несмотря на наметившиеся тенденции снижения в динамике заболеваемости холерой в Африке, связанные с достигнутыми некоторыми успехами в снабжении населения доброкачественной водой, усилением мер по лечению и профилактике холеры, в том числе проводимой ВОЗ и швейцарской организацией «Врачи без границ» вакцинацией населения (Гвинея, Южный Судан, 2014–2015 гг.), прогноз на

2016 г. остается неблагоприятным.

Америка. Холера отмечена в странах Карибского бассейна, Южной и Центральной Америки, имели место ежегодные завозы инфекции в США и Канаду.

Страны Карибского бассейна. В Гаити, Доминиканской Республике и на Кубе в 2015 г. продолжалось намечившееся в 2014 г. снижение уровня заболеваемости.

Гаити. По данным Pan American Health Organization/World Health Organization (ПАНО/WHO), с 18.10.2010 по 12.11.2015 г. зарегистрировано 754735 случаев холеры, летальных исходов – 9068. В настоящее время болезнь находится в эндемичной фазе [45]. В Гаити у 42 % населения нет доступа к источникам доброкачественной питьевой воды и только у 25,7 % имеется доступ к современным санитарным удобствам. Национальный рабочий план по ликвидации холеры (2012–2022 гг.), для выполнения которого необходимо 2 млрд долларов США, остается основой проведения незамедлительных и среднесрочных мероприятий [53]. Вместе с тем в «Докладе Генерального секретаря о Миссии Организации Объединенных Наций по стабилизации в Гаити» (ООН, 2015) отмечено, что «Гуманитарная ситуация на Гаити существенно ухудшилась в отчетный период (с 04.03.2015 по 31.08.2015 г.). Потребности Национального плана искоренения холеры удовлетворены на 13 процентов...» [1]. Кампании по вакцинации ОХВ, несмотря на их ограниченность (375 тыс. человек вакцинировано на сентябрь 2015 г.), дали положительные результаты, планируется вакцинировать большее число подверженных риску людей в районах с высокой заболеваемостью в сочетании с реализацией тщательно разработанных проектов по водоснабжению, канализации и повышению уровня гигиены [53].

Доминиканская Республика и Куба. По данным ПАНО WHO [47], выявлено 509 случаев холеры, 13 с летальным исходом (2,6 %), на Кубе – 65. Как было указано выше, из Кубы зарегистрированы завозы в Канаду и Великобританию.

Центральная Америка. Мексика. Выявлен один случай холеры в штате Сонора.

Южная Америка. По данным ПАНО WHO [35], Бразилия сообщила о выделении токсигенных *V. cholerae* O1 Огава в пробах воды из очистного сооружения в Федеральном районе, что было подтверждено Национальной Референс-лабораторией диагностики кишечных бактериальных инфекций Фонда им. О.Круса в Рио-де-Жанейро.

Европа. За анализируемый период в ВОЗ поступила информация о завозах холеры: в Швейцарию и Швецию (2006 г.), Великобританию (2006–2011, 2013–2015 гг.), Францию (2006–2009, 2011, 2014 гг.), Германию (2006–2007, 2010, 2011, 2014–2015 гг.), Испанию (2006–2007, 2008, 2010 гг.), Норвегию (2006–2007 гг.), Финляндию, Нидерланды, Данию (2006, 2008 гг.), Италию (2006–2007, 2013, 2015 гг.), Словению (2007 г.), Украину (2007, 2011 гг.), Бельгию (2015 г.). Распространения инфекции, кроме Украины

(2011 г.), в странах Европы не отмечено.

Австралия с Океанией. За анализируемый период зарегистрированы крупные вспышки холеры в Папуа-Новая Гвинея – 1957 случаев холеры (2009 г.), 8997 (2010 г.) и 1535 (2011 г.) Имели место завозы в Австралию без распространения возбудителя инфекции (2007, 2010–2011, 2013–2014 гг.).

Страны СНГ. В 2015 г. сообщений о холере в вышеуказанных источниках информации не было.

Россия. Эпидемические проявления по холере характеризовались завозами инфекции российскими гражданами, возвратившимися из Индии в 2006, 2008, 2010, 2012, 2014 гг., без последующего распространения возбудителя инфекции. В этот период, наряду с выделением 676 штаммов *V. cholerae* O1 *ctxA⁺ tcpA⁺*, *ctxA⁺ tcA⁺* и *V. cholerae* O139 *ctxA⁺ tcpA⁺* в 30 субъектах Российской Федерации, были изолированы из поверхностных водоемов два штамма *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, *ctxA⁺ tcpA⁺* (Ростовская область, 2011, 2014 гг.).

Из воды поверхностных водоемов были изолированы 33 штамма *V. cholerae* O1 *ctxA⁺ tcpA⁺* в Ростовской области (2007 и 2015 гг.), в Республике Калмыкия (2007, 2011–2015 гг.), в Алтайском (2011 г.) и Хабаровском (2013 г.) краях. Такие штаммы холерных вибрионов не обладают эпидемическим потенциалом, но могут вызывать спорадические случаи и локальные вспышки [5] за счет продукции не только TCP, кодируемых кластером генов в составе острова патогенности VPI [46], но и других факторов патогенности, детерминанты которых были выявлены в их геномах в различных сочетаниях [3]: продукты генов коровой области профага pre-CTX *sep*, *ace* и *zot*; высокомолекулярный цитотоксин MARTX; гемолизин/цитотоксин HlyA (VCC); контакт-зависимые системы секреции третьего и шестого типов T3SS и T6SS; термостабильный токсин ST; цитотонический фактор Cef; дополнительный фактор колонизации, кодируемый геном *acsfB*, входящим в состав VPI [9]. Не доказана, но не исключена непосредственная роль в патогенезе таких факторов, как нейраминидаза и продукты других генов острова патогенности VPI-2 [48]; гемагглютинин/протеаза HarA; сериновая протеаза, Cholix токсин [3, 50]; маннозо-чувствительные пили MSHA, [3]; коллагеназа VchC [52].

Двенадцать штаммов *V. cholerae* O139 *ctxA⁺ tcpA⁺* были изолированы в Москве (2006, 2008 гг.), Иркутской (2006 г.) и Челябинской (2010, 2012 гг.) областях.

За последние 10 лет на территориях I типа по эпидемическим проявлениям холеры изолировано 79 (11,7 %) штаммов *V. cholerae* O1, II типа – 409 (60,5 %), III типа подтипа А – 119 (17,6 %), III типа подтипа Б – 69 (10,2 %). Штаммы *V. cholerae* O1 *ctxA⁺ tcpA⁺* были выделены на территориях I типа, *V. cholerae* O139 – на территориях III типа подтипа А. Сезон обнаружения – с мая (Ростовская область, 2006 г.) по сентябрь (Краснодарский край, 2015 г.).

В 2015 г. из поверхностных водоемов изолиро-

вано 127 штаммов *V. cholerae* O1, в том числе *V. cholerae* O1 *ctxA*⁻ *tcpA*⁻ (121) и *V. cholerae* O1 *ctxA*⁻ *tcA*⁺ (6). Все штаммы идентифицированы по основным таксономическим признакам как *V. cholerae* O1 El Tor серовара Огава – 12 и серовара Инаба – 115, атоксигенные, гемолизположительные. В связи с выделением атоксигенных штаммов холерных вибрионов в Краснодарском крае (Сочи), Хостинском районе из р. Агура в стационарных (с 29.07.15 г.) и дополнительных (с 02.08.15 г.) точках по 27.09.2015 г. сделано предположение об имевшей место контаминации холерными вибрионами в 2015 г. подземного горизонта минеральной сульфидной воды с последующим поступлением последней в р. Агура. Имевшие место ливни в начале июля 2015 г. в городе Сочи могли явиться пусковым механизмом нарушения санитарно-экологических условий в районе р. Агура с попаданием сточных вод и контаминацией сульфидных вод подземного горизонта.

Проведено полногеномное секвенирование 13 атоксигенных штаммов *V. cholerae* O1 El Tor *ctxA*⁻ *tcpA*⁻, выделенных из р. Агура в 1975 г. (штамм № 9339), 1980–1981 гг. (№ 11739 и № 12026), 2007 г. (№ 18984), 2015 г. (№ 434, Краснодарский край, Сочи, Хостинский район), от больных диареей в 2004 г. (№ 18748, Краснодарский край, Сочи), в 1999 г. (№ 17920, Краснодарский край, Адлер) и из водных объектов в Ростове-на-Дону в 2008, 2010 и 2013 гг. (№ 19051, 19178 и 19430); в Астраханской области в 2012 г. (№ 19308), в Республике Калмыкия в 2014 г. (№ 19673) и в Псковской области в 2014 г. (№ 19758).

Для установления филогенетических связей взятых в исследование штаммов было проведено их SNP-типирование с помощью авторского программного обеспечения GeneExpert 2.0, разработанного в ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора (рис. 3). Установлено, что штаммы, выделенные из р. Агура в 1975–1981 гг. и в 2007 г., как и штаммы от больных (1999 и 2004 гг.), составили отдельный кластер вместе со штаммами



Рис. 3. Дендрограмма, построенная на основе анализа данных полногеномного секвенирования штаммов *V. cholerae* O1 *ctxA*⁻ *tcpA*⁻

из Ростова-на-Дону, Псковской области в отличие от штамма *V. cholerae* O1 № 434, который оказался наиболее генетически близок к штаммам, выделенным в Астраханской области (2012 г.) и в Республике Калмыкия (2014 г.). Сравнительный анализ данных по ПЦР и VNTR показал идентичность полученных результатов. Полногеномные последовательности штаммов зарегистрированы в «Базе данных генетических последовательностей», <http://genomes.antiplague.ru>.

Представляет интерес тот факт, что штамм 434 был одним из 83 (выборочно взятых) идентичных (по результатам ПЦР-типирования) штаммов, выделенных в Сочи в течение 2015 г. Отличительной чертой данной группы явилось наличие гена *cholix*-токсина 1 типа (*chxA1*), который отсутствовал у всех изученных штаммов, выделенных в этом регионе ранее. Ген *chxA* встречается у *V. cholerae* O1 довольно редко, поэтому в нашем случае может считаться генетическим маркером клона, способного к выживанию и размножению в указанный период времени. Возможно, такое необычное распространение представителей одного и того же клона было отчасти или полностью обусловлено именно экспрессией *chxA*, поскольку *cholix*-токсин относят к факторам колонизации, способствующим персистенции холерных вибрионов в ассоциации с водными организмами [50]. Идентичный по нуклеотидной последовательности ген *chxA* был также выявлен у единственного штамма из Астраханской области (2012 г.), который, как отмечено выше, сходен с 434 и по структуре других участков генома.

Ежегодное выделение атоксигенных холерных вибрионов указывает на необходимость выявления потенциальных и реальных рисков контаминации холерными вибрионами O1/O139 серогрупп водных объектов и их устранения.

Приведенные данные по эпидемиологической обстановке по холере в 2015 г. указывают на сохранение значимости проблемы на глобальном уровне. Наличие эндемичных очагов на различных континентах мира, регистрация крупных вспышек и эпидемий, вызванных геновариантами холерных вибрионов Эль Тор с эпидемическим и пандемическим потенциалом, указывают в целом на неблагоприятный прогноз по холере в мире на 2016 г. Это обуславливает возможность завоза инфекции в Россию и диктует необходимость обеспечения выполнения в полном объеме мероприятий, предусмотренных действующими СП «Профилактика холеры. Общие требования к эпидемиологическому надзору за холерой в Российской Федерации» [6].

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Доклад Генерального секретаря о Миссии Организации Объединенных Наций по стабилизации в Гаити. S/215/667. Организация Объединенных наций. Совет Безопасности. <http://daccess-dds-ny.un.org/doc/UNDOC/GEN/N15/259/73/PDF/N1525973.pdf> (дата обращения 07.01.2016 г.).
2. Международные медико-санитарные правила (2005 г.).

Всемирная организация здравоохранения. Женева; 2006. 79 с.

3. Монахова Е.В. Стратегия вирулентности холерных вибрионов и пути ее реализации. *Пробл. особо опасн. инф.* 2013; 4:60–8.

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 г. Прогноз на 2015 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2015; 1:18–25.

5. Онищенко Г.Г., Ломов Ю.М., Москвитина Э.А., Подосинникова Л.С., Водяницкая С.Ю., Прометной В.И., Монахова Е.В., Водопьянов С.О., Телесманич Н.Р., Дудина Н.А. Холера, обусловленная *Vibrio cholerae* O1 ctxAB⁺ terA⁺. *Журн. микробиол. эпидемиол. и иммунобиол.* 2007; 1:23–9.

6. Профилактика холеры. Общие требования к эпидемиологическому надзору за холерой в Российской Федерации. СП 3.1.1.2521-09. М.; 2009.

7. Савилов Е.Д., Мамонтова Л.М., Астафьев В.А., Жданова С.Н. Применение статистических методов в эпидемиологическом анализе. М.: МЕДпресс-информ; 2004. 112 с.

8. Bakhshi B., Boustanshenas M., Mahmoudi-Aznaveh A. Emergence of *Vibrio cholerae* O1 classical biotype in 2012 in Iran. *Lett. Appl. Microbiol.* 2014; 58(2):145–9. DOI: 10.1111/lam.12167.

9. Chaparro A.P., Ali S.K., Klose K.E. The ToxT-dependent methyl-accepting chemoreceptors AcfB and TcpI contribute to *Vibrio cholerae* intestinal colonization. *FEMS Microbiol. Lett.* 2010; 302(2):99–105. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2009.01835.x.

10. Cholera, 2006. *Wkly Epidem. Rec.* 2007; 82(31):273–84.

11. Cholera, 2007. *Wkly Epidem. Rec.* 2008; 83(31):269–84.

12. Cholera: global surveillance summary, 2008. *Wkly Epidem. Rec.* 2009; 84(31):309–24.

13. Cholera, 2009. *Wkly Epidem. Rec.* 2010; 85(31):293–308.

14. Cholera, 2010. *Wkly Epidem. Rec.* 2011; 86(31):325–40.

15. Cholera, 2011. *Wkly Epidem. Rec.* 2012; 87(31):289–304.

16. Cholera, 2012. *Wkly Epidem. Rec.* 2013; 88(31):321–6.

17. Cholera, 2013. *Wkly Epidem. Rec.* 2014; 89(31):345–56.

18. Cholera, 2014. *Wkly Epidem. Rec.* 2015; 90(40):517–29.

19. Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (02): Africa, Asia, 2015 [Internet]. 16 Jan 2015 [cited 16 Jan 2015]. Archive Number: 20150116.3097021. Available from: <http://www.promed-mail.org>.

20. Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (03): Nigeria, 2015 [Internet]. 28 Jan 2015 [cited 28 Jan 2015]. Archive number: 20150128.3126223. Available from: <http://www.promedmail.org>.

21. Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (09): Africa, 2015 [Internet]. 04 Mar 2015 [cited 04 Mar 2015]. Archive number: 20150304.3193920. Available from: <http://www.promedmail.org>.

22. Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (11): Africa, 2015 [Internet]. 15 Mar 2015 [cited 15 Mar 2015]. Archive number: 20150315.3230175. Available from: <http://www.promedmail.org>.

23. Cholera, diarrhea & dysentery update 2015 (12): Africa, Americas, 2015 [Internet]. 23 Mar 2015 [cited 23 Mar 2015]. Archive number: 20150323.3249609. Available from: <http://www.promed-mail.org>.

24. Cholera, diarrhea & dysentery update 2015 (14): Africa, Asia, Americas, 2015 [Internet]. 04 Apr 2015 [cited 04 Apr 2015]. Archive number: 20150412.3292841. Available from: <http://www.promedmail.org>.

25. Cholera, diarrhea & dysentery update 2015 (15): Africa, 2015 [Internet]. 15 Apr 2015 [cited 15 Apr 2015]. Archive number: 20150415.3300099. Available from: <http://www.promedmail.org>.

26. Cholera, diarrhea & dysentery update 2015 (16): Africa, 2015 [Internet]. 20 Apr 2015 [cited 20 Apr 2015]. Archive number: 20150420.3310224. Available from: <http://www.promedmail.org>.

27. Cholera, diarrhea & dysentery update 2015 (17): Africa, Americas, 2015 [Internet]. 30 Apr 2015 [cited 30 Apr 2015]. Archive number: 20150430.3331226. Available from: <http://www.promed-mail.org>.

28. Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (18): Africa, 2015 [Internet]. 05 May 2015 [cited 05 May 2015]. Archive number: 20150505.3342405. Available from: <http://www.promedmail.org>.

29. Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (19): Africa, 2015 [Internet]. 10 May 2015 [cited 10 May 2015]. Archive number: 20150510.3350090. Available from: <http://www.promedmail.org>.

30. Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (21): Africa, 2015 [Internet]. 27 May 2015 [cited 27 May 2015]. Archive number: 20150527.3387447. Available from: <http://www.promedmail.org>.

31. Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (23): Africa, 2015 [Internet]. 13 Jun 2015 [cited 13 Jun 2015]. Archive number: 20150613.3428823. Available from: <http://www.promedmail.org>.

32. Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (24): Americas, 2015 [Internet]. 27 Jun 2015 [cited 27 Jun 2015]. Archive number: 20150703.3480336. Available from: <http://www.promedmail.org>.

33. Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (26): Americas, Africa, Asia, 2015 [Internet]. 20 Aug 2015 [cited 20 Aug 2015]. Archive number: 20150820.3583702. Available from: <http://www.promedmail.org>.

34. Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (27): Americas, Africa, 2015 [Internet]. 09 Sep 2015 [cited 09 Sep 2015].

Archive number: 20150909.3632026. Available from: <http://www.promedmail.org>.

35. Cholera, diarrhea & dysentery update 2015 (28): Americas, 2015 [Internet]. 03 Oct 2015 [cited 03 Oct 2015]. Archive Number: 20151003.3650056. Available from: <http://www.promedmail.org>.

36. Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (29): Iraq, WHO, 2015 [Internet]. 13 Oct 2015 [cited 13 Oct 2015]. Archive number: 20151013.3712369. Available from: <http://www.promed-mail.org>.

37. Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (30): Haiti, Belgium ex India, 2015 [Internet]. 13 Oct 2015 [cited 13 Oct 2015]. Archive number: 20151013.3712607. Available from: <http://www.promedmail.org>.

38. Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (31): Middle East (Syria, Iraq), 2015 [Internet]. 26 Oct 2015 [cited 26 Oct 2015]. Archive number: 20151026.3744230. Available from: <http://www.promedmail.org>.

39. Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (35): Middle East (Syria, Iraq), 2015 [Internet]. 26 Oct 2015 [cited 26 Oct 2015]. Archive number: 20151026.3744230. Available from: <http://www.promedmail.org>.

40. Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (37): Middle East (Syria), 2015 [Internet]. 11 Nov 2015 [cited 11 Nov 2015]. Archive number: 20151208.3849360. Available from: <http://www.promedmail.org>.

41. Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (38): Americas, 2015 [Internet]. 22 Nov 2015 [cited 22 Nov 2015]. Archive number: 20151122.3804308. Available from: <http://www.promedmail.org>.

42. Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (40): Middle East, Iraq, 2015 [Internet]. 08 Dec 2015 [cited 08 Dec 2015]. Archive number: 20151213.3857856. Available from: <http://www.promed-mail.org>.

43. Cholera, diarrhea and dysentery update 2016 (02): Europe, Africa, Oceania, 2016 [Internet]. 7 Jan 2016 [cited 7 Jan 2016]. Archive number: 20160110.3924966. Available from: <http://www.promedmail.org>.

44. Clemens J.D., Qadri F. Cholera in Bangladesh. *Wkly Epidem. Rec.* 2015; 90(40):539–42.

45. Epidemiological Update. Cholera. 23 December, 2015 [cited 07 Jan 2016] Available from: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&Itemid=270&gid=32623&lang=en.

46. Faruque S.M., Asadulghani, Saha M.N., Alim A.R., Albert M.J., Islam K.M., Mekalanos J.J. Analysis of clinical and environmental strains of nontoxicogenic *Vibrio cholerae* for susceptibility to CTXφ: molecular basis for origination of new strains with epidemic potential. *Infect. Immun.* 1998; 66(12):5819–25.

47. Hochhut B., Lotfi Y., Mazel D., Faruque S.M., Woodgate R., Waldor M.K. Molecular analysis of antibiotic resistance gene clusters in *Vibrio cholerae* O139 and O1 SXT constans. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2001; 45(11):2991–3000. DOI: 10.1128/AAC.45.11.2991-3000.2001.

48. Jermyn W.S., Boyd E.F. Characterization of a novel *Vibrio* pathogenicity island (VPI-2) encoding neuraminidase (nanH) among toxigenic *Vibrio cholerae* isolates. *Microbiology.* 2002; 148(11):3681–93.

49. Klinzing D.C., Choi S.Y., Hasan N.A., Matias R.R., Tayag E., Geronimo J., Skowronski E., Rashed S.M., Kawashima K., Rosenzweig C.N., Gibbons H.S., Torres B.C., Liles V., Alfon A.C., Juan M.L., Natividad F.F., Cebula T.A., Colwell R.R. Hybrid *Vibrio cholerae* El Tor lacking SXT identified as the cause of a cholera outbreak in the Philippines. *MBio.* 2015; 6(2):e00047–15. DOI: 10.1128/mBio.00047-15.

50. Lugo M.R., Merrill A.R. The father, son and Cholix toxin: the third member of the DT group mono-ADP-ribosyltransferase toxin family. *Toxins.* 2015; 7(8):2757–72. DOI: 10.3390/toxins7082757.

51. Mutreja A., Kim D.W., Thomson N.R., Connor T.R., Lee J.H., Kariuki S., Croucher N.J., Choi S.Y., Harris S.R., Lebens M., Niyogi S.K., Kim E.J., Ramamurthy T., Chun J., Wood J.L., Clemens J.D., Czerkinsky C., Nair G.B., Holmgren J., Parkhill J., Dougan G. Evidence for several waves of global transmission in the seventh cholera pandemic. *Nature.* 2011; 477(7365):462–5. DOI: 10.1038/nature10392.

52. Park B.R., Zielke R.A., Wierzbicki I.H., Mitchell K.C., Withey J.H., Sikora A.E. A metalloprotease secreted by the type II secretion system links *Vibrio cholerae* with collagen. *J. Bacteriol.* 2015; 197(6):1051–64. DOI: 10.1128/JB.02329-14.

53. Poncelet J.-L. Cholera in Haiti: successes and challenges in a low income country. *Wkly Epidem. Rec.* 2015; 90(40):542–4.

54. Public Health Agency of Canada: Travel Health Notice: Cholera in Cuba, Dominican Republic and Haiti. Updated: September 28, 2015. Available from: <http://phac-aspc.gc.ca/travel-pmv/notices-avis/notices-avis-eng.php?id=111> [cited 14 Dec 2015].

55. Pun S.B. The first appearance of classical-like phenotype *Vibrio cholerae* in Nepal. *N. Am. J. Med. Sci.* 2014; 6(4):183–4. DOI: 10.4103/1947-2714.131248.

56. Rai K.R., Rai S.K., Bhatt D.R., Kurokuwa M., Ono K., Magar D.T. Study of medically important *Vibrios* in the sewage of

Katmandu Valley, Nepal. *Nepal Med. Coll. J.* 2012; 14(3):212–5.

References

- [Secretary General Report on United Nations Stabilization Mission in Haiti]. S/215/667. United Nations Organization. Security Council. [Cited 07 Jan 2016]. Available from: <http://daccess-dds-ny.un.org/doc/UNDOC/GEN/N15/259/73/PDF/N1525973.pdf?OpenDocument>.
- [International Health Regulations (2005)]. World Health Organization. Geneva; 2006. 79 p.
- Monakhova E.V. [Cholera vibrio virulence strategy and ways of its realization (Scientific review)]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 4:40–8.
- Moskvitina E.A., Adamenko O.L., Anisimova G.B., 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.
- Onishchenko G.G., Lomov Yu.M., Moskvitina E.A., Podosinnikova L.S., Vodyanitskaya S.Yu., Prometnoy V.I., Monakhova E.V., Vodopyanov S.O., Telesmanich N.R., Dudina N.A. [Cholera caused by *Vibrio cholerae* O1 ctxAB⁺ tcpA⁺]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2007; 1:23–9.
- [Cholera prophylaxis. General requirements to epidemiological surveillance over cholera in the Russian Federation]. SR 3.1.1.2521-09. M.; 2009.
- Savilov E.D., Mamontova L.M., Astaf'ev V.A., Zhdanova S.N. [Statistical Methods in Epidemiological Analysis]. M.: MEDpress-inform; 2004. 112 p.
- Bakhshi B., Boustanshenas M., Mahmoudi-Aznavah A. Emergence of *Vibrio cholerae* O1 classical biotype in 2012 in Iran. *Lett. Appl. Microbiol.* 2014; 58(2):145–9. DOI: 10.1111/lam.12167.
- Chaparro A.P., Ali S.K., Klose K.E. The ToxT-dependent methyl-accepting chemotaxis receptors AcfB and TcpI contribute to *Vibrio cholerae* intestinal colonization. *FEMS Microbiol. Lett.* 2010; 302(2):99–105. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2009.01835.x.
- Cholera, 2006. *Wkly Epidem. Rec.* 2007; 82(31):273–84.
- Cholera, 2007. *Wkly Epidem. Rec.* 2008; 83(31):269–84.
- Cholera: global surveillance summary, 2008. *Wkly Epidem. Rec.* 2009; 84(31):309–24.
- Cholera, 2009. *Wkly Epidem. Rec.* 2010; 85(31):293–308.
- Cholera, 2010. *Wkly Epidem. Rec.* 2011; 86(31):325–40.
- Cholera, 2011. *Wkly Epidem. Rec.* 2012; 87(31):289–304.
- Cholera, 2012. *Wkly Epidem. Rec.* 2013; 88(31):321–6.
- Cholera, 2013. *Wkly Epidem. Rec.* 2014; 89(31):345–56.
- Cholera, 2014. *Wkly Epidem. Rec.* 2015; 90(40):517–29.
- Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (02): Africa, Asia, 2015 [Internet]. 16 Jan 2015 [cited 16 Jan 2015]. Archive Number: 20150116.3097021. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (03): Nigeria, 2015 [Internet]. 28 Jan 2015 [cited 28 Jan 2015]. Archive number: 20150128.3126223. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (09): Africa, 2015 [Internet]. 04 Mar 2015 [cited 04 Mar 2015]. Archive number: 20150304.3193920. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (11): Africa, 2015 [Internet]. 15 Mar 2015 [cited 15 Mar 2015]. Archive number: 20150315.3230175. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (12): Africa, Americas, 2015 [Internet]. 23 Mar 2015 [cited 23 Mar 2015]. Archive number: 20150323.3249609. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (14): Africa, Asia, Americas, 2015 [Internet]. 04 Apr 2015 [cited 04 Apr 2015]. Archive number: 20150412.3292841. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (15): Africa, 2015 [Internet]. 15 Apr 2015 [cited 15 Apr 2015]. Archive number: 20150415.3300099. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (16): Africa, 2015 [Internet]. 20 Apr 2015 [cited 20 Apr 2015]. Archive number: 20150420.3310224. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (17): Africa, Americas, 2015 [Internet]. 30 Apr 2015 [cited 30 Apr 2015]. Archive number: 20150430.3331226. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (18): Africa, 2015 [Internet]. 05 May 2015 [cited 05 May 2015]. Archive number: 20150505.3342405. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (19): Africa, 2015 [Internet]. 10 May 2015 [cited 10 May 2015]. Archive number: 20150510.3350090. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (21): Africa, 2015 [Internet]. 27 May 2015 [cited 27 May 2015]. Archive number: 20150527.3387447. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (23): Africa, 2015 [Internet]. 13 Jun 2015 [cited 13 Jun 2015]. Archive number: 20150613.3428823. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (24): Americas, 2015 [Internet]. 27 Jun 2015 [cited 27 Jun 2015]. Archive number: 20150703.3480336. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (26): Americas, Africa, Asia, 2015 [Internet]. 20 Aug 2015 [cited 20 Aug 2015]. Archive number: 20150820.3583702. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (27): Americas, Africa, 2015 [Internet]. 09 Sep 2015 [cited 09 Sep 2015]. Archive number: 20150909.3632026. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (28): Americas, 2015 [Internet]. 03 Oct 2015 [cited 03 Oct 2015]. Archive Number: 20151003.3650056. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (29): Iraq, WHO, 2015 [Internet]. 13 Oct 2015 [cited 13 Oct 2015]. Archive number: 20151013.3712369. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (30): Haiti, Belgium ex India, 2015 [Internet]. 13 Oct 2015 [cited 13 Oct 2015]. Archive number: 20151013.3712607. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (31): Middle East (Syria, Iraq), 2015 [Internet]. 26 Oct 2015 [cited 26 Oct 2015]. Archive number: 20151026.3744230. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (35): Middle East (Syria, Iraq), 2015 [Internet]. 26 Oct 2015 [cited 26 Oct 2015]. Archive number: 20151026.3744230. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (37): Middle East (Syria), 2015 [Internet]. 11 Nov 2015 [cited 11 Nov 2015]. Archive number: 20151208.3849360. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (38): Americas, 2015 [Internet]. 22 Nov 2015 [cited 22 Nov 2015]. Archive number: 20151122.3804308. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea and dysentery update 2015 (40): Middle East, Iraq, 2015 [Internet]. 08 Dec 2015 [cited 08 Dec 2015]. Archive number: 20151213.3857856. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Cholera, diarrhea and dysentery update 2016 (02): Europe, Africa, Oceania, 2016 [Internet]. 7 Jan 2016 [cited 7 Jan 2016]. Archive number: 20160110.3924966. Available from: <http://www.promedmail.org>.
- Clemens J.D., Qadri F. Cholera in Bangladesh. *Wkly Epidem. Rec.* 2015; 90(40):539–42.
- Epidemiological Update. Cholera. 23 December, 2015 [cited 07 Jan 2016]. Available from: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&Itemid=270&gid=32623&lang=en.
- Faruque S.M., Asadulghani, Saha M.N., Alim A.R., Albert M.J., Islam K.M., Mekalanos J.J. Analysis of clinical and environmental strains of nontoxicogenic *Vibrio cholerae* for susceptibility to CTX ϕ : molecular basis for origination of new strains with epidemic potential. *Infect. Immun.* 1998; 66(12):5819–25.
- Hochhut B., Lotfi Y., Mazel D., Faruque S.M., Woodgate R., Waldor M.K. Molecular analysis of antibiotic resistance gene clusters in *Vibrio cholerae* O139 and O1 SXT constains. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2001; 45(11):2991–3000. DOI: 10.1128/AAC.45.11.2991-3000.2001.
- Jermyn W.S., Boyd E.F. Characterization of a novel *Vibrio* pathogenicity island (VPI-2) encoding neuraminidase (nanH) among toxigenic *Vibrio cholerae* isolates. *Microbiology*. 2002; 148(11):3681–93.
- Klinzing D.C., Choi S.Y., Hasan N.A., Matias R.R., Tayag E., Geronimo J., Skowronski E., Rashed S.M., Kawashima K., Rosenzweig C.N., Gibbons H.S., Torres B.C., Liles V., Alfon A.C., Juan M.L., Natividad F.F., Cebula T.A., Colwell R.R. Hybrid *Vibrio cholerae* El Tor lacking SXT identified as the cause of a cholera outbreak in the Philippines. *MBio*. 2015; 6(2):e00047–15. DOI: 10.1128/mBio.00047-15.
- Lugo M.R., Merrill A.R. The father, son and Cholix toxin: the third member of the DT group mono-ADP-ribosyltransferase toxin family. *Toxins*. 2015; 7(8):2757–72. DOI: 10.3390/toxins7082757.
- Mutreja A., Kim D.W., Thomson N.R., Connor T.R., Lee J.H., Kariuki S., Croucher N.J., Choi S.Y., Harris S.R., Lebens M., Niyogi S.K., Kim E.J., Ramamurthy T., Chun J., Wood J.L., Clemens J.D., Czerkinsky C., Nair G.B., Holmgren J., Parkhill J., Dougan G. Evidence for several waves of global transmission in the seventh cholera pandemic. *Nature*. 2011; 477(7365):462–5. DOI: 10.1038/nature10392.
- Park B.R., Zielke R.A., Wierzbicki I.H., Mitchell K.C., Withey J.H., Sikora A.E. A metalloprotease secreted by the type II secretion system links *Vibrio cholerae* with collagen. *J. Bacteriol.* 2015; 197(6):1051–64. DOI: 10.1128/JB.02329-14.
- Poncelet J.-L. Cholera in Haiti: successes and challenges in a low income country. *Wkly Epidem. Rec.* 2015; 90(40):542–4.
- Public Health Agency of Canada: Travel Health Notice: Cholera in Cuba, Dominican Republic and Haiti. Updated: September 28, 2015. Available from: <http://phac-aspc.gc.ca/tmtp-pmv/notices-avis/notices-avis-eng.php?id=111> [cited 14 Dec 2015].
- Pun S.B. The first appearance of classical-like phenotype *Vibrio cholerae* in Nepal. *N. Am. J. Med. Sci.* 2014; 6(4):183–4. DOI: 10.4103/1947-2714.131248.
- Rai K.R., Rai S.K., Bhatt D.R., Kurokuwa M., Ono K., Magar D.T. Study of medically important *Vibrios* in the sewage of Katmandu Valley, Nepal. *Nepal Med. Coll. J.* 2012; 14(3):212–5.

Authors:

Titova S.V., Moskvitina E.A., Kruglikov V.D., Samorodova A.V., Tyuleneva E.G., Monakhova E.V., Pisanov R.V., Vodopyanov A.S., Arkhangel'skaya I.V., Kovaleva T.V., Vodopyanov S.O. Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute. 117/40, M.Gor'kogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation. E-mail: plague@aaanet.ru
Ivanova S.M. Plague Control Center. 10, Musurgskogo St., B. 4, Moscow, 119121, Russian Federation. E-mail: protivochym@nl.nu

Об авторах:

Титова С.В., Москвитина Э.А., Кругликов В.Д., Самородова А.В., Тюленева Е.Г., Монахова Е.В., Писанов Р.В., Водопьянов А.С., Архангельская И.В., Ковалева Т.В., Водопьянов С.О. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 344002, Ростов-на-Дону, ул. М.Горького, 117/40. E-mail: plague@aaanet.ru

Иванова С.М. Противочумный центр. Российская Федерация, 119121, Москва, ул. Мусоргского, 10, с. 4. E-mail: protivochym@nl.nu

Поступила 20.01.16..

Т.Ю.Кудрявцева¹, Д.В.Транквилевский², А.Н.Мокриевич¹, В.П.Попов³, Н.С.Морозова², М.В.Зароченцев²,
А.В.Мазепа⁴, Л.П.Окунев⁴, А.В.Холин⁴, С.А.Косилко⁴, Ю.М.Федоров³, М.В.Храмов¹, И.А.Дятлов¹

ЭПИЗООТИЧЕСКАЯ И ЭПИДЕМИЧЕСКАЯ СИТУАЦИИ ПО ТУЛЯРЕМИИ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2015 г. И ПРОГНОЗ НА 2016 г.

¹ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», Оболensk, Российская Федерация; ²ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии», Москва, Российская Федерация; ³ФКУЗ «Противочумный центр», Москва, Российская Федерация; ⁴ФКУЗ «Научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», Иркутск, Российская Федерация

Проанализированы данные эпизоотологического и эпидемиологического обследования очагов туляремии на территориях 85 субъектов Российской Федерации. О циркуляции и активности инфекции в регионах судили по сведениям о положительных находках при исследовании мелких млекопитающих, иксодовых клещей, комаров, слепней и других объектов внешней среды, полученных при помощи иммунологических и молекулярно-генетических методов исследования, по данным о выделении культур возбудителя туляремии и заболеваемости людей. В 2015 г. в стране зарегистрирован 71 случай заболевания человека туляремией. Дана краткая характеристика активности природных очагов туляремии и эпидемической ситуации на территории Российской Федерации в 2015 г. Показаны субъекты Российской Федерации, в которых низкий объем вакцинопрофилактики. Представлена дифференциация территорий по риску заболевания инфекцией в 2016 г.

Ключевые слова: туляремия, природные очаги, эпидемическая ситуация.

Корреспондирующий автор: Мокриевич Александр Николаевич, e-mail: mokrievich@obolensk.ru

T.Yu.Kudryavtseva¹, D.V.Trankvilevsky², A.N.Mokrievich¹, V.P.Popov³, N.S.Morozova², M.V.Zarochentsev²,
A.V.Mazepa⁴, L.P.Okunev⁴, A.V.Kholin⁴, S.A.Kosilko⁴, Yu.M.Fedorov³, M.V.Khramov¹, I.A.Dyatlov¹

Epizootic and Epidemic Situation on Tularemia in the Russian Federation in 2015 and Prognosis for 2016

¹State Scientific Center of Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russian Federation; ²Federal Center of Hygiene and Epidemiology, Moscow, Russian Federation; ³Plague Control Center, Moscow, Russian Federation; ⁴Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russian Federation

Analyzed are the data on epizootiological and epidemiological surveillance of tularemia foci, situated in the territory of 85 constituent entities of the Russian Federation. Positive findings, obtained in the process of examination of small mammals, Ixodidae ticks, mosquitoes, and environmental objects, using immunological and molecular-genetic methods; isolated tularemia agent cultures; as well as tularemia incidence rates among the population have made provisions for the assessment of circulation and infection activity in the Regions. In period of 2015, 71 cases of human infection with tularemia have been registered. Given is a brief characteristics of activity of the natural tularemia foci and epidemic situation in the territory of the Russian Federation in 2015. Specified are the regions where preventive vaccination is on a low level. Given is the differentiation of RF territories according to the risk of exposure to tularemia infection for 2016.

Key words: tularemia, natural foci, epidemic situation.

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

Corresponding author: Aleksander N. Mokrievich, e-mail: mokrievich@obolensk.ru

Citation: Kudryavtseva T.Yu., Trankvilevsky D.V., Mokrievich A.N., Popov V.P., Morozova N.S., Zarochentsev M.V., Mazepa A.V., Okunev L.P., Kholin A.V., Kosilko S.A., Fedorov Yu.M., Khramov M.V., Dyatlov I.A. Epizootic and Epidemic Situation on Tularemia in the Russian Federation in 2015 and Prognosis for 2016. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; 1:28–32. (In Russ.). DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-28-32

Туляремия эндемична или потенциально эндемична в 47 странах. Природные очаги инфекции существуют в Северной Америке, Европе, Австралии и значительной части Азии. В эндемичных по туляремии Швеции и Финляндии обычно регистрируются спорадические случаи заболевания. Однако в 2012 и в 2015 гг. наблюдались эпизоотии туляремии среди зайцев и случаи заболевания у людей. В течение 11 месяцев 2015 г. на территории США зарегистрировано 235 случаев туляремии, один смертельный исход [11]. Впервые после 2009 г. зарегистрирован случай заболевания человека на Аляске (США), после 2003 г. – в Канаде. На территории Косово зарегистрировано

206 случаев туляремии с 1 января по 11 февраля 2015 г., что свидетельствует о вспышке этой инфекции в данном регионе [12].

Туляремия в Российской Федерации в последние десятилетия проявляется спорадической заболеваемостью, групповыми случаями и эпидемическими вспышками. Прослеживается четкая направленность к расширению территорий, где регистрируется активность природных очагов туляремии и заболеваемость среди населения, обнаруживаются новые подвиды туляремийного микроба. Так, в 2011 г. впервые на территории Алтайского края обнаружены три изолята подвида *F. tularensis subspecies mediasiatica*,

который до этого обнаруживался только в Средней Азии. К настоящему времени выделено 24 штамма данного подвида в Алтайском крае и Республике Алтай. Полученные данные свидетельствуют о циркуляции двух подвидов туляремийного микроба на территории Российской Федерации [6].

За последние 20 лет динамика заболеваемости людей туляремией в Российской Федерации имела волнообразный характер с резким ростом от 50–100 до 800–1000 случаев каждые 8–10 лет (1995, 2005, 2013 гг.). Осложнения эпидемической ситуации, как правило, наблюдались в регионах с низким уровнем иммунной прослойки уязвимых контингентов населения. Во время подъема заболеваемости в 1995 г. 67 % случаев туляремии зарегистрировано в Смоленской и Ярославской областях, а также в Москве. В 2005 г. зарегистрировано 880 больных, более 72 % из них в Московской, Рязанской, Нижегородской, Владимирской, Свердловской областях и Москве. В 2013 г. из 1063 случаев в РФ 1005 выявлено в Ханты-Мансийском автономном округе. Необходимо сказать, что актуальность проблемы туляремии (природно-очаговой, полигостальной и поливекторной инфекции) отмечается в последние годы в целом ряде работ, в которых уделяется особое внимание эпизоотической ситуации в различных ландшафтах разных территорий Российской Федерации [2, 3, 4, 5, 7, 8].

Результаты эпизоотологического мониторинга в природных очагах туляремии на территории Российской Федерации показывают высокую степень риска заражения населения в естественных условиях и резко возрастающую в антропогенных ландшафтах, что хорошо демонстрируют показатели

ежегодной заболеваемости туляремией среди жителей Москвы и Санкт-Петербурга. Необходимо отметить, что заражение горожан, не вакцинированных от опасной природно-очаговой инфекции, как правило, происходит при посещении природных территорий и в последние годы имеет особое значение в связи с активным развитием экотуризма [9]. В 2015 г. на территории РФ зарегистрирован 71 случай заболевания людей туляремией. Для сравнения, в 2014 г. зарегистрировано 96 больных (рис. 1). В 2015 г. 84 % больных проживало в четырех федеральных округах: ПФО, ЦФО, СЗФО и ДФО (рис. 2). В 2014 г. 81 % заболевших туляремией зарегистрирован в трех округах – СЗФО, УФО и ЦФО.

Недостаточное знание врачами особенностей клиники и диагностики туляремии, множество механизмов заражения человека и путей передачи возбудителя инфекции, разнообразные клинические формы этой болезни, широкое применение антибиотикотерапии при разных патологиях, по клинике схожих с туляремийной инфекцией, приводит к тому, что диагностируют туляремию далеко не всегда. Следовательно, зарегистрированных случаев данной болезни может быть гораздо больше.

Критически высокая эпидемичность территорий обусловлена частыми и острыми эпизоотиями туляремии среди мелких млекопитающих, высокой вирулентностью и устойчивостью циркулирующих штаммов возбудителя и особенностями быта и хозяйственной деятельности местного населения. Активность природных очагов туляремии в 2015 г. отмечена в 61 субъекте Российской Федерации, где при помощи иммунологических и молекулярно-генетических методов выявлены инфицированные



Рис. 1. Заболеваемость людей туляремией в 2014 г. (черные квадраты). Выделены регионы, в которых проводится вакцинация (зеленый цвет)



Рис. 2. Заболеваемость людей туляремией в 2015 г. (черные квадраты). Выделены регионы, в которых значительный объем вакцинопрофилактики (зеленый цвет)

биотические и абиотические объекты окружающей среды (мелкие млекопитающие, кровососущие членистоногие, подснежные гнезда грызунов, погадки хищных птиц и помет млекопитающих, пробы ила, воды открытых водоемов и др.). Выделено 42 культуры туляремийного микроба в ЦФО(1), СЗФО(1), СКФО(2), СФО(7), ДФО(31).

При проведении учетов относительной численности мелких млекопитающих в летне-осенний период 2015 г. более 15 % попадания выявлены в околоводных (влажных) стациях в 10 субъектах Российской Федерации: Рязанской, Ярославской и Воронежской областях (ЦФО), Кировской и Оренбургской областях, Пермском крае и Удмуртской Республике (ПФО), Алтайском крае и Новосибирской области (СФО), Хабаровском крае (ДФО). Необходимо отметить, что учету водяной полевки, играющей важную роль в природных очагах пойменно-болотного типа, уделяется незначительное внимание [7]. *Arvicola amphibius* отловлена или следы ее жизнедеятельности обнаружены в 10 субъектах Российской Федерации: во Владимирской, Ивановской, Рязанской областях (ЦФО), Калининградской области (СЗФО), Республике Дагестан (СКФО), Республике Марий Эл (ПФО), Курганской области (УФО), Республике Алтай, Новосибирской и Омской областях (СФО). На основании приведенных данных полевых зоологических учетов, с условием благоприятных факторов среды обитания в холодное время 2015–2016 гг. для популяций мелких млекопитающих, включая водяную полевку, с определенной долей вероятности можно говорить о существующем риске обострения эпизоотической и осложнения эпидемической ситуации на приведенных территориях, особенно во вто-

рой половине лета 2016 г.

В 2016 г. возможно обострение эпизоотической ситуации с выявлением локальных эпизоотий в Смоленской, Рязанской, Тверской, Тульской и Ярославской областях (ЦФО), Волгоградской области (ЮФО), Ставропольском крае (СКФО), отдельных районах Крыма (КФО), Пензенской области (ПФО), Алтайском и Красноярском краях, Республике Алтай, Новосибирской, Томской и Иркутской (Нижеудинский район) областях, Ханты-Мансийском автономном округе (СФО), а также продолжение эпизоотий в Архангельской (СЗФО), Челябинской и Курганской областях (УФО), Хабаровском крае (ДФО).

Активизация эпизоотического процесса в природных очагах туляремии может приводить к увеличению риска возникновения заболеваемости этой инфекцией. Часто предвестником осложнения эпизоотической ситуации служит увеличение численности мелких млекопитающих. При учетах мелких млекопитающих открытых луго-полевых стаций более 15 % попадания зарегистрировано в 19 субъектах Российской Федерации: Рязанской, Смоленской и Воронежской областях (ЦФО), Калининградской области и Санкт-Петербурге (СЗФО), Карачаево-Чеченской Республике (СКФО), Самарской, Ульяновской и Оренбургской областях, Удмуртской Республике (ПФО), Республиках Бурятия и Алтай, Новосибирской и Томской областях (СФО), Еврейской автономной области, Камчатском и Хабаровском краях (ДФО), Республике Крым. В этих субъектах, а также на других территориях, где в отдельных линиях ловушек отмечены серые полевки и другие высоковосприимчивые и высокочувствительные виды

по отношению к туляремийной инфекции, возможны локальные эпизоотии туляремии в зимний период года, что не исключает возникновения единичных случаев туляремии среди населения.

Необходимо отметить, что по разным и достаточно описанным причинам [1], существующим и в настоящее время на некоторых территориях, при ведении эпизоотологического мониторинга допущены недочеты, из-за которых отсутствуют достоверные данные об эпизоотической ситуации. Исследования зоолого-энтомологического материала не проводили в Республиках Чечня, Дагестан, Ингушетия и Карачаево-Черкессия (СКФО), Республике Хакасия, Чукотском автономном округе и Сахалинской области (ДФО). Кроме того, лабораторные исследования не завершены в полном объеме в Республике Карелия и Вологодской области (СЗФО), Свердловской и Челябинской областях (УФО). Не могут достоверно характеризовать численность мелких млекопитающих приведенные данные на территориях Архангельской, Псковской, Мурманской, Новгородской областей и Республике Коми (СЗФО), Волгоградской области (ЮФО), Республики Адыгея (ЮФО), Московской, Орловской и Ивановской областей (ЦФО) Магаданской области (ДФО). Представленные материалы из Республик Чувашия (ПФО), Дагестан (СКФО) и Ханты-Мансийского автономного округа (ХМАО) не содержат все необходимые данные, которые позволяли бы оценить активность и прогнозировать изменения эпизоотической ситуации при обеспечении эпидемиологического надзора за зоонозами на данных территориях.

Эпидемическое благополучие региона по туляремии определяется уровнем иммунной прослойки населения. Вакцинация считается единственной результативной мерой борьбы с туляремией. Объемы вакцинации в Российской Федерации за последние 5 лет сократились на треть, хотя численность населения за это время выросла почти на 4 млн человек.

Оценка риска заболевания туляремией включает большое количество показателей, чья эпидемиологическая значимость и информативность различна. Анализ подверглись данные по заболеваемости людей туляремией за 2015 г., эпизоотическая ситуация в летне-осенний период (с июня по октябрь) в Российской Федерации и данные по вакцинации, полученные из Федерального центра гигиены и эпидемиологии (Москва), а также обзор: «Эпизоотолого-эпидемическая ситуация в природных очагах туляремии Сибири и Дальнего Востока Российской Федерации в 2015 году и прогноз на 2016 год», представленный сотрудниками ФКУЗ НИПЧИ Сибири и Дальнего Востока (Иркутск) в Референс-центр по мониторингу за туляремией (таблица).

Нами анализировались основные эпидемиологически важные параметры: зарегистрированные случаи заболевания людей туляремией за 2015 г.; положительные находки при исследовании мелких

млекопитающих, иксодовых клещей, комаров, слепней и других объектов внешней среды, полученные при помощи иммунологических и молекулярно-генетических методов исследования; уровень вакцинации и ревакцинации населения в различных регионах нашей страны за последние 5 лет; результаты выделения культур возбудителя туляремии за 2015 г.

В результате определены территории Российской Федерации с высоким риском заболевания туляремией в 2016 г. Наиболее вероятны случаи заболевания туляремией в 2016 г. на территориях: Москвы, Рязанской и Ярославской областей (ЦФО); Ленинградской, Мурманской, Архангельской областей, Санкт-Петербурга, Калининградской, Новгородской областей, Республики Карелия (СЗФО); Кировской и соседних областей, Самарской, Ульяновской областей, а также Республики Татарстан, Удмуртия и Чувашия (ПФО); Кемеровской, Томской, Новосибирской областей, Республики Алтай, Красноярского и Алтайского краев (СФО); Хабаровского, Приморского краев, Амурской области и Еврейской автономной области (ДФО); Республики Крым (КФО).

Информативности использованных параметров достаточно для первоначальной дифференциации территории Российской Федерации по риску заболевания туляремией, но недостаточно для прогноза реализации этого риска. Из данных за 2015 г. видно, что активны природные очаги в 61 регионе, численность мелких млекопитающих на некоторых территориях высокая, при этом вакцинация против туляремии находится на низком уровне в 52 субъектах Российской Федерации. Достаточно субъектов, в которых не в полном объеме учитывалась заболеваемость туляремией. На фоне глобальных климатических изменений усложняется задача оценки влияния абиотических факторов среды обитания на все сочленены природных паразитарных экосистем, эпизоотический процесс в природных очагах туляремии, лоймопотенциал этих очагов и, следовательно, на качество и своевременность принятия управленческих решений и проведения эпидемиологического контроля в субъектах Российской Федерации. Поэтому необходимо учитывать, что реализация трехкомпонентной системы управления эпидемическим процессом [10] при зоонозах должна осуществляться с учетом мониторинговых исследований – эпидемиологического надзора, ключевой и первостепенной частью которого является эпизоотологический мониторинг природных очагов инфекций. Ежемесячные наблюдения, проводимые в природных очагах инфекций, зоолого-энтомологическими подразделениями ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии», использование данных о ситуации на территориях, закрепленных за Противочумными станциями, а также своевременный лабораторный анализ зоолого-энтомологического материала на инфицированность возбудителями зоонозов позволит своевременно проводить наблюдения за туляремией на территории Российской Федерации.

Статья подготовлена в рамках выполнения отраслевой НИР № 048 «Изучение механизмов патогенеза и иммуногенеза туляремии и мониторинг за циркуляцией возбудителя в отдельных регионах Российской Федерации», и деятельности референс-центра ФБУН ГНЦ ПМБ по мониторингу за тулярией.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Вержущий Д.Б. Современное состояние зоологической работы по обеспечению эпидемиологического благополучия России. *Байкальский зоол. журн.* 2013; 1(12):109–12.
2. Мещерякова И.С., Демидова Т.Н., Горшенко В.В., Добровольский А.А. Трансмиссивные эпидемические вспышки (групповые заболевания) туляремии в России в XXI веке. *Дальневосточный журн. инф. патол.* 2014; 25:53–5.
3. Мещерякова И.С., Транквиловский Д.В., Квасов Д.А., Михайлова Т.В., Кормилицына М.И., Демидова Т.Н., Степкин Ю.И., Жуков В.И. Оценка современной эпизоотической активности природных очагов туляремии в Воронежской области с помощью иммуно-серологического и молекулярно-генетического исследования основных носителей возбудителя. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* 2015; 1:11–7.
4. Михайлова Т.В., Мещерякова И.С., Демидова Т.Н., Кормилицына М.И., Квасов Д.А., Степкин Ю.И., Транквиловский Д.В. Особенности биотопического распределения различных видов мелких млекопитающих и их роль в поддержании природных очагов туляремии в северо-восточной части Воронежской области. *Эпидемиол. и вакцинопрофилактика.* 2015; 3(82):37–41.
5. Михайлова Т.В., Мещерякова И.С., Транквиловский Д.В., Кормилицына М.И., Демидова Т.Н. Характеристика природных очагов туляремии на северо-востоке Воронежской области. *Дальневосточный журн. инф. патол.* 2014; 25:58–60.
6. Мокриевич А.Н., Тимофеев В.С., Кудрявцева Т.Ю., Уланова Г.И., Карбышева С.Б., Миронова Р.И., Вахрамеева Г.М., Губарева Т.И., Павлов В.М., Дятлов И.А. Выделение среднеазиатского подвида тулярийного микроба на территории Алтайского края. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 1:66–9.
7. Транквиловский Д.В., Борисов С.А., Киселева Е.Ю., Матросов А.Н., Удовиков А.И., Захаров К.С., Сурков А.В., Кузубов А.В., Жуков В.И., Корсаков М.Н., Бережная Т.В., Бережной А.В., Трегубов О.В., Шефтель Б.И. О результатах наблюдений за водной полевой (*Arvicola amphibius* Linnaeus, 1758) на территории Российской Федерации в 2011–2014 гг. по данным учреждений Роспотребнадзора. *Пест-Менеджмент.* 2014; 4(92):14–6.
8. Транквиловский Д.В., Квасов Д.А., Мещерякова И.С., Михайлова Т.В., Кормилицына М.И., Демидова Т.Н., Ананьина Ю.В., Савельева О.В., Малкин Г.А., Мутных Е.С., Коротина Н.А., Дзагурова Т.К., Простаков Н.И., Сурков А.В., Куропал С.А., Клепиков О.В., Степкин Ю.И., Чубирко М.И., Жуков В.И. Вопросы организации мониторинга природных очагов инфекций опасных для человека. Планирование, проведение и анализ результатов полевых наблюдений. *Здоровье населения и среда обитания.* 2014; 8(257):38–43.
9. Транквиловский Д.В., Квасов Д.А., Ромашова Н.Б., Ромашов Б.В., Родионова С.А., Лавров В.Л., Простаков Н.И., Труфанова Е.И., Манжурина О.А., Сурков А.В., Трегубов О.В., Кузубов А.В., Клепиков О.В., Степкин Ю.И., Чубирко М.И., Паренко В.А., Жуков В.И. Вопросы профилактики природно-очаговых инфекций в условиях развития экотуризма центрального Черноземья. *Здоровье населения и среда обитания.* 2013; 7(244):27–30.
10. Черкасский Б.Л., Симонова Е.Г. Современные представления о системе управления эпидемическим процессом. *Эпидемиол. и инф. бол.* 2006; 5:4–7.
11. Tularemia in the US: Increase in cases, different states hardest hit. Posted by R.Herriman, December 4, 2015 [cited 01 Feb 2016]. Available from: <http://www.theglobaldispatch.com/tularemia-in-the-us-increase-in-cases-different-states-hardest-hit-12828/>
12. Tularemia outbreak in Kosovo, 206 cases this year to date. Posted by Robert Herriman, February 12, 2015 [cited 01 Feb 2016]. Available from: <http://outbreaknewstoday.com/tularemia-outbreak-in-kosovo-206-cases-this-year-to-date-65093/>

References

1. Verzhutsky D.B. [Current state of zoological investigations aimed at the provision of epidemiological welfare in Russia]. *Baikal. Zool. Zh.* 2013; 1(12):109–12.
2. Meshcheryakova I.S., Demidova T.N., Gorshenko V.V., Dobrovolsky A.A. [Transmissible epidemic outbreaks (clustered cases) of tularemia in Russia in the XXI century]. *Dal'nevost. Zh. Infek. Patol.* 2014; 25:53–5.
3. Meshcheryakova I.S., Trankilevsky D.V., Kvasov D.A., Mikhailova T.V., Kormilitsyna M.I., Demidova T.N., Stepkin Yu.I., Zhukov V.I. [Assessment of the existent epizootic activity of the natural tularemia foci in the Voronezh Region, applying immune-serological and molecular-genetic investigations of the main agent carriers]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2015; 1:11–7.
4. Mikhailova T.V., Meshcheryakova I.S., Demidova T.N., Kormilitsyna M.I., Kvasov D.A., Stepkin Yu.I., Trankilevsky D.V. [Peculiarities of biotype dissemination of different small mammals' species and their role in the sustaiment of natural tularemia foci in the north-eastern part of the Voronezh Region]. *Epidemiol. Vaksino profilakt.* 2015; 3(82): 37–41.
5. Mikhailova T.V., Meshcheryakova I.S., Trankilevsky D.V., Kormilitsyna M.I., Demidova T.N. [Characteristics of the natural tularemia foci in the North-East of the Voronezh Region]. *Dal'nevost. Zh. Infek. Patol.* 2014; 25:58–60.
6. Mokrievich A.N., Timofeev V.S., Kudryavtseva T.Yu., Ulanova G.I., Karbyшева S.B., Mironova R.I., Vakhrameeva G.M., Gubareva T.I., Pavlov V.M., Dyatlov I.A. [Isolation of Central Asian subspecies of tularemia agent in the Altai Territory]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 1:66–9.
7. Trankilevsky D.V., Borisov S.A., Kiseleva E.Yu., Matrosov A.N., Udobikov A.I., Zakharov K.S., Surkov A.V., Kutuzov A.V., Zhukov V.I., Korsak M.N., Berezhnaya T.V., Berezhnoy A.V., Tregubov O.V., Sheftel' B.I. [Results of the surveillance over the water vole (*Arvicola amphibius* Linnaeus, 1758) in the territory of the Russian Federation in 2011–2014 in accordance with the data available from the Rospotrebnadzor institutions]. *Pest Management.* 2014; 4(92):14–6.
8. Trankilevsky D.V., Kvasov D.A., Meshcheryakova I.S., Mikhailova T.V., Kormilitsyna M.I., Demidova T.N., Anan'ina Yu.V., Savelyeva O.V., Malkin G.A., Mutnykh E.S., Korotina N.A., Dzagurova T.K., Prostavok N.I., Surkov A.V., Kurolap S.A., Klepikov O.V., Stepkin Yu.I., Chubirko M.I., Zhukov V.I. [Management of monitoring over natural foci of infections, which are hazardous for human health]. *Zdor. Naseleniya. Sreda Obit.* 2014; 8(257):38–43.
9. Trankilevsky D.V., Kvasov D.A., Romashova N.B., Romashov B.V., Rodionova S.A., Lavrov V.L., Prostavok N.I., Trufanova E.I., Manzhurina O.A., Surkov A.V., Tregubov O.V., Kutuzov A.V., Klepikov O.V., Stepkin Yu.I., Chubirko M.I., Tsarenko V.A., Zhukov V.I. [Prophylaxis of natural-focal infections against the background of the development of ecological tourism in the Central Black Earth Region]. *Zdor. Naseleniya. Sreda Obit.* 2013; 7(244):27–30.
10. Cherkassky B.L., Simonova E.G. [Current views on the epidemic process management system]. *Epidemiol. Infek. Bol.* 2006; 5:4–7.
11. Tularemia in the US: Increase in cases, different states hardest hit. Posted by R.Herriman, December 4, 2015 [cited 01 Feb 2016]. Available from: <http://www.theglobaldispatch.com/tularemia-in-the-us-increase-in-cases-different-states-hardest-hit-12828/>
12. Tularemia outbreak in Kosovo, 206 cases this year to date. Posted by Robert Herriman, February 12, 2015 [cited 01 Feb 2016]. Available from: <http://outbreaknewstoday.com/tularemia-outbreak-in-kosovo-206-cases-this-year-to-date-65093/>

Authors:

Kudryavtseva T.Yu., Mokrievich A.N., Khramov M.V., Dyatlov I.A. State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology. Obolensk, Moscow Region, 142279, Russian Federation. E-mail: info@obolensk.org
 Trankilevsky D.V., Morozova N.S., Zarochentsev M.V. Federal Center of Hygiene and Epidemiology. 19 a, Varshavskoe Highway. Moscow, 117105, Russian Federation. E-mail: gsen@fcgie.ru
 Popov V.P., Fedorov Yu.M. Plague Control Center. 4, Musorgskogo St., Moscow, 127490, Russian Federation. E-mail: protivochym@nl.ru
 Mazepa A.V., Okunev L.P., Kholin A.V., Kosilko S.A. 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:

Кудрявцева Т.Ю., Мокриевич А.Н., Храмов М.В., Дятлов И.А. Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии. Российская Федерация, 142279, Московская обл., п. Оболensk. E-mail: info@obolensk.org
 Транквиловский Д.В., Морозова Н.С., Зароченцев М.В. Федеральный центр гигиены и эпидемиологии. Российская Федерация, 117105, Москва, Варшавское шоссе д.19 а. E-mail: gsen@fcgie.ru
 Попов В.П., Федоров Ю.М. Противочумный центр. Российская Федерация, 127490, Москва, ул. Мусоргского, 4. E-mail: protivochym@nl.ru
 Мазепа А.В., Окунев Л.П., Холин А.В., Косилко С.А. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока. Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилессера, 78. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Поступила 10.02.16.

**Е.В.Путинцева, В.П.Смелянский, Н.В.Бородай, В.В.Мананков, Г.А.Ткаченко, И.М.Шпак,
Д.В.Викторов, А.В.Топорков**

ЛИХОРАДКА ЗАПАДНОГО НИЛА В 2015 г. В МИРЕ И НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ. ПРОГНОЗ РАЗВИТИЯ ЭПИДЕМИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ В 2016 г.

*ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт», Волгоград,
Российская Федерация*

Интенсивность эпидемических проявлений по ЛЗН в Российской Федерации в сезон 2015 г. была низкой, заболеваемость населения соответствовала межэпидемическому периоду. Всего зарегистрирован 41 случай болезни в 9 субъектах РФ. Заболеваемость ЛЗН населения в Европе и на Северо-Американском континенте несколько превышала показатели заболеваемости 2014 г., однако также не достигала эпидемических значений. Сезонное развитие эпидемического процесса ЛЗН на территории РФ демонстрирует тенденцию смещения пика заболеваемости населения на период начала осени в течении двух последних лет. Наличие маркеров ВЗН установлено в 2015 г. на 11 территориях РФ, а наличие иммунитета у населения к ВЗН – на 27. По данным молекулярно-генетического мониторинга, в 2015 г. на территории РФ продолжалась циркуляция ВЗН генотипов 1а и 2. Продолжающаяся тенденция изменения климатических условий в сторону потепления определяет высокую вероятность дальнейшего выявления циркуляции ВЗН в объектах внешней среды и появления случаев болезни на более северных территориях страны. Вероятность усиления интенсивности эпидемических проявлений ЛЗН в 2016 г. остается незначительной.

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

Корреспондирующий автор: Путинцева Елена Викторовна, e-mail: vari2@sprint-v.com.ru

**E.V.Putintseva, V.P.Smelyansky, N.V.Boroday, V.V.Manankov, G.A.Tkachenko, I.M.Shpak, D.V.Viktorov,
A.V.Toporkov**

West Nile Fever across the World and in the Russian Federation in 2015. Forecast of the Epidemic Situation Development in 2016

Volgograd Research Anti-Plague Institute, Volgograd, Russian Federation

The intensity of epidemic West Nile fever (WNF) manifestations in the Russian Federation during the season, 2015 was low; morbidity rates coincided with those characteristic of inter-epidemic period. It total, 41 cases in 9 RF constituent entities were registered. WNF incidence rates among the population in the territory of Europe and North-American continent slightly exceeded morbidity rates, 2014, but then again did not reach epidemic levels. During the past two years seasonal development of WNF epidemic process in Russia has had a tendency to defer the incidence climax to early autumn. The presence of West Nile virus (WNV) markers was established in 11 entities of the Russian Federation in 2015, and existence of immunity to WNV in the population – in the 27 territories. According to the results of molecular-genetic surveillance, in the territory of the Russian Federation in 2015 circulation of WNV genotype 1a and 2 continued. The ongoing changes of climatic conditions towards warming predetermine high probability of further WNV circulation in the environment and emergence of infection cases in areas of the country far to the north. However probability of WNF epidemic manifestations intensification in 2016 remains insignificant.

Keywords: West Nile fever, West Nile virus, epidemic situation.

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

Corresponding author: Elena V. Putintseva, e-mail: vari2@sprint-v.com.ru

Citation: Putintseva E.V., Smelyansky V.P., Boroday N.V., Manankov V.V., Tkachenko G.A., Shpak I.M., Viktorov D.V., Toporkov A.V. West Nile Fever across the World and in the Russian Federation in 2015. Forecast of the Epidemic Situation Development in 2016. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; 1:33–39. (In Russ.). DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-33-39

По данным Европейского центра по предотвращению и контролю за заболеваниями (*European Centre for Disease Prevention and Control, ECDC*, <http://ecdc.europa.eu/>), на 23.11.2015 г. в государствах, входящих в Европейский союз (ЕС), зарегистрировано 108 случаев лихорадки Западного Нила и 162 – в сопредельных странах (за исключением Российской Федерации). В 2014 г. на этих территориях зарегистрировано 195 случаев ЛЗН. Наибольшая заболеваемость в сезон 2015 г. зарегистрирована в Израиле – 123 случая (в 2014 г. – 31), Италии – 61 (в 2014 г. – 24), Сербии – 28 (в 2014 г. – 76), Румынии – 19 (2014 г. – 23), Венгрии – 18 (2014 г. – 11) [7].

Заболеваемость населения ЛЗН в 2015 г. на Северо-Американском континенте была следующей. В США, по данным Центра по контролю и предотвращению заболеваний США (*Centers for Disease Control and Prevention, CDC*, <http://www.cdc.gov/>), на 17.11.2015 г. зарегистрировано 1812 случаев ЛЗН, из них 65 % с нейроинвазивной формой инфекции (в 2014 г. – 1935 случаев, из них 59,4 % – нейроинвазивная ЛЗН) [5]. В Канаде в сезон 2015 г., по данным Агентства общественного здравоохранения (*Public Health Agency of Canada, PHAC*, <http://www.publichealth.gc.ca>), выявлено 78 случаев ЛЗН (в сезон 2014 г. – 21) [6].

Число выявленных больных ЛЗН в субъектах РФ в 2015 г. (в сравнении с 2014 г.)

Субъекты РФ	2015 г.		2014 г.	
	Всего больных	В том числе летальных	Всего больных	В том числе летальных
Центральный федеральный округ	5	-	5	-
Белгородская область	0	-	1	-
Воронежская область	3	-	4	-
Липецкая область	1	-	-	-
Калужская область	1	-	-	-
Северо-Западный Федеральный округ	1	-	0	-
Санкт-Петербург	1	-	-	-
Южный федеральный округ	21	-	11	-
Астраханская область	15	1	5	-
Волгоградская область	0	-	5	-
Краснодарский край	1	-	-	-
Ростовская область	5	-	1	-
Приволжский федеральный округ	14	-	10	-
Саратовская область	10	-	1	-
Самарская область	4	-	9	-
Уральский федеральный округ	0	-	1	-
Челябинская область	0	-	1	-
<i>Итого:</i>	41	1	27	0

По данным, предоставленным Управлениями Роспотребнадзора по субъектам Российской Федерации (РФ) в Референс-центр по мониторингу за возбудителем ЛЗН на базе Волгоградского научно-исследовательского противочумного института, в 2015 г. на территории страны зарегистрирован 41 случай (в 2014 г. – 27) [3] лихорадки Западного Нила в 9 субъектах РФ (в 2014 г. – в 8) четырех федеральных округов, из них в Центральном – 5, Северо-Западном – 1, Южном – 21, Приволжском – 14. Сведения о числе зарегистрированных случаев ЛЗН в субъектах РФ приведены в таблице.

В феврале 2015 г. зарегистрирован 1 завозной случай ЛЗН – заражение жителя Санкт-Петербурга при посещении Таиланда.

По данным эпидемиологического расследования специалистов ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» (далее ЦГиЭ) в субъектах РФ, отмечены случаи завоза ЛЗН внутри Российской Федерации: в Ростовскую область – с заражением на территории Дагестана, в Краснодарский край – с заражением в Ростовской области, в Калужскую область – с заражением в Краснодарском крае (в 2014 г.).

Эпидемическая ситуация по лихорадке Западного Нила в 2015 г. в России характеризовалась следующими проявлениями. В сезон 2015 г., как и в 2014 г., не наблюдалось выраженного эпидемического подъема заболеваемости. Интенсивность эпидемических проявлений ЛЗН была низкой, заболеваемость регистрировалась только в старых очагах (Астраханской, Ростовской, Воронежской, Саратовской, Самарской, Липецкой областях и Краснодарском крае).

Эпидемический сезон продолжался с мая по сентябрь, как и в 2014 и 2013 гг. [1, 2]. В течение

сезона заболеваемость населения регистрировалась неравномерно, пик заболеваемости, как и в 2014 г., наблюдался в сентябре (53,6 % от зарегистрированных случаев), всего на период август–сентябрь пришлось 78 % от общего числа случаев заболевания. Наблюдения за сезонным развитием эпидемических проявлений ЛЗН на территории России отчетливо демонстрируют тенденцию смещения пиков заболеваемости населения на период конца лета – начала осени в течении двух последних лет, тогда как в предыдущие годы основное число случаев ЛЗН наблюдалось в июле–августе с абсолютным пиком в августе, например, в сезон 2013 г. в июле–августе зарегистрировано 82 % от общего числа случаев ЛЗН, а максимум заболеваемости отмечен в августе (53 % от общего числа случаев).

Как и в предыдущие сезоны, в структуре заболеваемости преобладали клинические формы ЛЗН без поражения центральной нервной системы (в среднем по России – 83 %, в 2014 г. – 86 %). Нейроинвазивные формы ЛЗН в 2015 г. составили в среднем по РФ 17 % (в 2014 г. – 14 %). Однако в отдельных субъектах значительно преобладали нейроинвазивные формы. Так, в Ростовской области из 5 выявленных больных у троих (60 %) имелись поражения центральной нервной системы, а в Липецкой области выявлен один (100 %) больной ЛЗН с нейроинвазивной формой.

Преобладающими клиническими формами течения ЛЗН в сезон 2015 г. были среднетяжелые, которые составили в среднем по России 75,6 % (в 2014 г. – 67 %); в том числе в Краснодарском крае – 100 %, Астраханской области – 93, Ростовской – 60. Завозной случай ЛЗН из Таиланда (Санкт-Петербург) также имел среднетяжелое течение.

Доля заболеваний с тяжелым клиническим течением составила в 2015 г. 9,8 % (в 2014 г. – 3 %). Летальный исход зарегистрирован в Астраханской области у больного 78 лет, что составило 2,4 % в среднем по России (в 2014 г. летальных случаев ЛЗН не зарегистрировано).

Доля городского населения среди заболевших ЛЗН в сезон 2015 г. составила более половины от зарегистрированного числа случаев – 68 %, как и в сезон 2014 г. В Ростовской, Воронежской, Липецкой областях и Краснодарском крае этот показатель составил 100 %, в Саратовской – 90. Данные показатели свидетельствуют прежде всего о более высоком качестве диагностики ЛЗН в крупных городах, однако в отдельных регионах, например, в Астраханской области, система диагностики ЛЗН эффективно налажена и в населенных пунктах сельской местности, о чем свидетельствует то обстоятельство, что большинство из зарегистрированных случаев ЛЗН выявлено в данном регионе среди сельских жителей (67 % от общего числа случаев в 2015 г., 67 % – в 2014 г.).

Анализ эпидемической ситуации по ЛЗН в целом по России позволил выявить тенденцию изменения возрастной структуры больных, наметившуюся в последние годы. Так, доля выявляемых больных до 49 лет постепенно увеличивается: в эпидсезон 2015 г. она составила 53,7 %, в 2014 г. – 52, 2013 г. – 48. Уменьшается доля больных возрастной категории 60 и более лет. Если в 2013 г. она составляла 25 %, то в 2014 г. – 22, а в 2015 г. – 19. Наибольшая доля выявленных больных ЛЗН в 2015 г. была в возрастной категории 50–59 лет и составила 26,8 % (в 2014 г. – 26 %, в 2013 г. – 17). Однако эпидемические проявления на разных территориях имеют свои особенности, которые необходимо учитывать при планировании конкретных профилактических мероприятий. Например, в Ростовской области среди выявленных больных преобладает возрастная категория 30–39 лет, на долю которой приходится 60 % всех случаев, а в Самарской области больные этого возраста составили 50 %. В Астраханской и Самарской областях среди заболевших значительна (20–25 %) доля детей от 1 до 14 лет, в то время как в целом по России заболеваемость детей до 14 лет составила в 2015 г. 9 %.

При анализе показателя социальной и профессиональной принадлежности выявленных больных ЛЗН установлено, что 36,5 % (наибольший показатель в среднем по РФ в 2015 г.) составляли неработающие граждане трудоспособного возраста, а рабочих и служащих (в равных долях – по 14,6 %) было больше, чем в группе пенсионеров (12 %). Эти показатели также имеют особенности на разных территориях: в Саратовской области больные ЛЗН среди неработающего населения трудоспособного возраста составили 70 %, в Липецкой – 100.

Впервые за весь период наблюдения за ЛЗН число заболевших мужчин (в среднем по РФ за 2015 г.) значительно превысило число заболевших женщин (61 и 39 % соответственно); мужчины составляли

в Воронежской области – 100 %, Ростовской – 80, Саратовской – 70.

По результатам эпидемиологического расследования случаев ЛЗН в 2015 г. установлено, что 61 % заболевших заразились по месту проживания: как в городах, так и в сельских поселениях (в 2014 г. по месту проживания заразилось 74 %, а в 2013 г. – 48) [2, 3]. Заражение по месту проживания в городе составило 29 % (в 2014 г. – 37 %), а в загородных местах массового отдыха – 14,6 % (в 2014 г. – 11 %). За пределами РФ заражение произошло в 2,4 % случаях (в 2014 г. – 3,7 %).

Климатические характеристики эпидемического сезона по ЛЗН 2015 г. соотносятся с общим трендом климатических изменений последнего десятилетия, для которого характерно постепенное сокращение продолжительности весеннего сезона, раннее наступление лета, которое на значительной территории России было жарким, а также удлинение зимнего периода. Анализ колебаний температурных режимов демонстрирует продолжающуюся тенденцию потепления во все сезоны, кроме зимнего в отдельных географических регионах, в частности, в Восточной Сибири. Наиболее заметное потепление в зимнее время происходит на западе европейской территории РФ и востоке Якутии, зимой и весной – на юге Краснодарского края и в Предбайкалье, весной и осенью – на Чукотке и в Магаданской области.

Обозначенные климатические особенности различных сезонных периодов 2015 г. в РФ, безусловно, оказали влияние на численность популяций основных переносчиков ЛЗН. Наблюдаемое в 2015 г. снижение численности переносчиков на большей части эндемичных по ЛЗН территорий в Южном, Приволжском, Центральном и Северо-Западном федеральных округах, явилось ведущим фактором, определившим развитие эпидемической ситуации по ЛЗН.

Так, в эпидемический сезон 2015 г. в Волгоградской области, наиболее интенсивном очаге ЛЗН, больных не выявлено. Это, вероятно, было следствием климатических и гидрологических условий весны и лета, которые были неблагоприятными для переносчиков и резервуаров ВЗН (кровососущих комаров и перелетных водоплавающих птиц). Паводок на реках области был маловодным, сброс воды в Волго-Ахтубинскую пойму оказался минимальным. В июне–августе при полном отсутствии осадков и высоких температурах воздуха произошло резкое сокращение площадей или пересыхание постоянных водоемов – мест выплода основных переносчиков ВЗН и гнездования диких водоплавающих птиц. Последние были вынуждены мигрировать в регионы с более комфортными гидрологическими условиями и богатой кормовой базой. Сходная ситуация сложилась в Калмыкии, где из-за пересыхания существенно сократилась площадь Сарпинских озер – основного места гнездования перелетных птиц. В то же время в ряде регионов климатические условия оказались более благоприятными. В Саратовской и Самарской

областях (Приволжский федеральный округ) в апреле, мае и июне осадков выпало до 182 % средних годовых норм, в Ростовской и Астраханской областях (Южный федеральный округ) – до 211 %.

Во всех регионах Южного Федерального округа, которые представили в Референс-центр сведения по энтомологическим наблюдениям, показатели численности комаров рода *Culex* были ниже среднееголетних. В Волгоградской области при учете автоматическими ловушками в период максимальной активности переносчиков в городских условиях среднесезонный показатель численности (ССП) 2015 г. составил 59,2 экз., ССП 2014 г. – 157,1; в природных биотопах – 11,3 и 23,2 соответственно. В Ростовской области при учете по методу Гуцевича в природных биотопах ССП – 0,4 экз., среднееголетний – 1,0.

В большинстве регионов Приволжского Федерального округа ССП численности комаров рода *Culex* в 2015 г. был незначительно ниже среднееголетних показателей. В Республике Башкортостан в городских условиях на дневке он составил 1,2 экз. на 1 м², среднееголетний – 1,4, в природных биотопах на 1 взмах сачка – 7,1 экз., среднееголетний – 8,6. В Самарской области в природных биотопах – 2,7 экз., среднееголетний – 3,8 (без определения рода комаров).

В Уральском Федеральном округе мониторинг численности комаров рода *Culex* проводился только в Курганской области. В этом регионе ССП в городских условиях и природных биотопах были на уровне среднееголетних значений.

В Северо-Кавказском Федеральном округе ССП превысил среднееголетние показатели в городских условиях в Ставропольском крае и Республике Ингушетия, в природных биотопах – в Республике Северная Осетия-Алания.

В Сибирском Федеральном округе ССП численности имаго в Республике Хакасия и Забайкальском крае в городских и природных биотопах были на уровне среднееголетних показателей, а в Красноярском крае ССП численности личинок в городских биотопах был выше и составил 4,3 экз. на 1 м² при среднееголетнем – 2,6.

В большинстве регионов Центрального Федерального округа показатели численности комаров рода *Culex* в городских условиях и природных биотопах были ниже среднееголетних показателей. В Брянской области при учете по методу Гуцевича ССП имаго комаров этого рода в городских условиях составил 3,6 экз., среднееголетний – 61,8; в природных биотопах – 3,5 и 126 экз. соответственно. В Липецкой области в городских биотопах среднесезонный показатель – 8,8 экз., среднееголетний – 21,7.

В Новгородской области (Северо-Западный федеральный округ) ССП составил 0,7 экз. на м², что ниже среднееголетнего показателя – 1,6.

Наибольшее количество больных ЛЗН в эпидемический сезон 2015 г. выявлено в группе больных,

имеющих симптоматику и первоначальный диагноз «ОРВИ», что соответствует многолетним данным.

Все больные в 2015 г. имели лабораторное подтверждение ЛЗН выявлением ТИФМ IgM в титре выше диагностического. В материале от больного из Саратовской области и умершего из Астраханской области выявлена РНК ВЗН методом ОТ-ПЦР. При исследовании выделенного фрагмента РНК из материала от умершего больного из Астраханской области методом секвенирования участков геномных локусов *ProtC*, *NS3*, *ProtE*, *NS5* установлен 1а генотип ВЗН.

Активное выявление больных лихорадкой Западного Нила среди лихорадящих больных и больных, имеющих другие симптомы, сходные с ЛЗН, проводилось в 2015 г. в лечебно-профилактических учреждениях 49 субъектов РФ (в 2014 г. – 53, 2013 г. – 77). Анализ данных показателей за последние три года демонстрирует сокращение числа субъектов РФ, участвующих в этой работе и, как следствие, снижение количества обследованных больных, включая очаговые территории. Так, в 2015 г. количество обследованных на ЛЗН в Волгоградской области составило 191 человек (в 2014 г. – 215, 2013 г. – 1216), Астраханской – 798 (в 2014 г. – 965, 2013 г. – 1982), в Краснодарском крае – 51 человек (в 2014 г. – 390, 2013 г. – 522). В Ставропольском крае выявление больных ЛЗН по-прежнему остается на низком уровне. В 2015 г. обследовано всего 2 человека (в 2014 г. – 2, 2013 г. – 9); в других субъектах Северо-Кавказского федерального округа, как и Крымского, эта работа не проводится совсем.

Результаты мониторинга возбудителя ЛЗН, проведенные учреждениями Роспотребнадзора: ФКУЗ ЦГиЭ в субъектах, Региональными центрами по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней на базе научно-исследовательских противочумных институтов, противочумными станциями были представлены в Референс-центр из 71 субъекта РФ (в 2014 г. – 65, в 2013 г. – 61) [2, 3]. Мониторинг возбудителя ЛЗН в объектах внешней среды проводился в сезон 2015 г. в 71 субъекте РФ (в 2014 г. – в 61) [3]. Маркеры ВЗН в носителях обнаружены на территории 11 субъектов (в 2014 г. – 9). Антигены ВЗН выявлены в материале: от клещей *Dermacentor marginatus* в Республике Ингушетия; комаров *An. maculipennis* в Краснодарском крае; кряквы и комаров *Aedes bechningi* в Воронежской области; от общественной полевки, сороки, большого баклана, комаров *Aedes cinereus* в Ростовской области; клещей *Dermacentor marginatus*, лесных мышей в Самарской области; чайки серебристой, большой синицы и варкуши в Саратовской области. РНК ВЗН обнаружена в материале от клещей *Hyalomma marginatus* в Республике Калмыкия; утки-касатки в Хабаровском крае; комаров *Culex pipiens* и *Culex modestus*, а также от лошадей в Астраханской области; чайки серебристой в Волгоградской области; комаров *Culex pipiens* в Липецкой области.

При исследовании Референс-центром вирусной РНК, выделенной из суспензии головного мозга большой синицы из Саратовской области, методом секвенирования участков геномных локусов 5'UTR-*protC*, *ProtE*, *NS3* установлен 2-й генотип ВЗН.

В эпидемический сезон 2015 г. мониторинг возбудителя ЛЗН при обследовании отдельных здоровых групп населения проводился в 57 субъектах (в 2014 г. – 58). Антитела IgG к ВЗН найдены у населения в 27 субъектах РФ (в 2014 г. – 25) [2].

При обследовании доноров специфические антитела к ВЗН выявлены у 2 % обследованных лиц в Ивановской, 0,5 – в Липецкой, 8 – в Смоленской областях, 1 – в Республике Коми, 3 – в Красноярском крае, 14,5 – в Астраханской, 16,4 – Волгоградской, 4,2 – Ростовской, 1,3 – Нижегородской, 6 – Саратовской, 8,3 – Челябинской областях. У животноводов IgG антитела к ВЗН найдены в 3,7 % от обследованных лиц в Рязанской области, 20 % – в Мурманской области. При сероэпидемиологическом обследовании взрослого населения отдельных территорий IgG к ВЗН выявлены в 1 % от обследованных лиц в Брянской области, 5,9 – Воронежской, 5 – Московской, 2 – Орловской, 1,3 – Архангельской, 3,4 – Мурманской областях, 45 – Республике Алтай, 44 – Красноярском крае, 60 – Республике Хакасия, 4 – Забайкальском крае, 5,8 – Пензенской, 5 – Самарской, 2,4 – Саратовской областях, 17,2 – Республике Удмуртия, 2 – Ульяновской, 2,9 – Курганской, 4 – Тюменской областях, 0,2 – Санкт-Петербурге. Во Владимирской области при обследовании медицинских работников ЛПУ в 3 % случаев найдены антитела IgG к ВЗН.

Наличие IgG к ВЗН у здорового населения свидетельствует о продолжающейся циркуляции ВЗН на территориях субъектов РФ. На территориях, эндемичных по клещевому энцефалиту, данные о серопозитивности в отношении ЛЗН нуждаются в дополнительной верификации, ввиду выраженных перекрестных иммунологических реакций в группе арбовирусов.

В результате анализа данных мониторинга за возбудителем ЛЗН на территории РФ в период 1999–2015 гг. установлено, что маркеры ВЗН выявлялись в 61 субъекте Российской Федерации. Выявлена циркуляция нескольких геновариантов ВЗН. В европейской части России циркулирует 1а, 2-й и 4-й геноварианты вируса.

В 2010–2011 гг. Референс-центром методом секвенирования РНК ВЗН, выделенных от больных из Волгоградской, Воронежской и Ростовской областей, определен генотип 2 (*lineage 2*) ВЗН, а от больных из Астраханской области – генотип 1 (1а). В 2012 г. ВЗН генотипа 1а выделен из материала от больных из Ставропольского края. Важно отметить, что в этот же период на территории Астраханской области в комарах видов *C. richardii* и *A. hyrcanus* в единичных случаях выявлен ВЗН генотипа 2. В 2013 г. из материала от больных Волгоградской и Саратовской областей выделен генотип 2 (*lineage 2*) ВЗН, а

Астраханской области – ВЗН генотипа 1а. Генотип 2 (*lineage 2*) ВЗН определен в пулах комаров рода *Aedes* из Волгоградской области. В 2014 г. генотип 2 (*lineage 2*) ВЗН выделен в материале от больных людей и комаров рода *Cx. pipiens* и *Cx. modestus* из Волгоградской области. В 2015 г. из материала умершего жителя Астраханской области выделен генотип 1а, а от синицы из Саратовской области – генотип 2 (*lineage 2*) ВЗН. Генотип 4 вируса ЛЗН ранее выявлен в клещах *Dermacentor marginatus* в Краснодарском крае, комарах *Uranotaenia unguiculata* и озерных лягушках *Rana ridibunda* в Волгоградской области [1].

На территории Западной Сибири, по данным Омского научно-исследовательского института природно-очаговых инфекций и Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, в Омской, Курганской и Новосибирской областях выделен ВЗН как 1а, так и 2 генотипов [4]. Так, в северных лесостепных биотопах Омской области генотипы 1а и 2 ВЗН выявлены в материале нидиколов из гнезд грачей и береговых ласточек, пробах органов грачей (взрослых особей и птенцов). В южной лесостепи Омской области вирус ЛЗН генотипов 1а и 2 обнаружен в нидиколах из гнезда береговой ласточки, клещах *Ixodes lividus*, *Ixodes persulcatus*. В Новосибирской области, в Приобье, 2-ой генотип ВЗН выявлен в клещах *Ixodes pavlovskyi*, в северной лесостепи в нидиколах из гнезд грачей – генотип 1а ВЗН. В Курганской области в пробах органов ондатры *Ondatra zibethicus* выявлен 1а генотип [4].

Ранее установлена циркуляция ВЗН генотипа 1а, сходного с астраханским геновариантом, как среди мигрирующих, так и среди оседлых видов птиц на юге Западной Сибири, в Красноярском и Приморском краях. ВЗН генотипа 1а также выявлен в пробах от диких перелетных и оседлых птиц, мелких млекопитающих и иксодовых клещей в Новосибирской области, в частности, в Томске и пригородах. ВЗН 1а генотипа обнаружен в клещах *Ixodes pavlovskyi* и *Ixodes persulcatus* [1].

Таким образом, в эпидемический сезон 2015 г. на территории РФ зарегистрирован 41 случай ЛЗН в 9 субъектах РФ. Один летальный случай – в старшей возрастной категории (старше 70 лет). Интенсивность эпидемических проявлений ЛЗН была низкой, характерной для межэпидемического периода. В работу по мониторингованию возбудителя ЛЗН и его маркеров включены, в той или иной степени, учреждения Роспотребнадзора 71 субъекта Российской Федерации. Наличие маркеров вируса лихорадки Западного Нила установлено в 2015 г. на 11 территориях РФ, а наличие иммунитета у населения к ВЗН – на 27. Всего за период наблюдения 1999–2015 гг. маркеры ВЗН обнаружены на территории 61 субъекта РФ. Исследованиями Референс-центра по мониторингу за возбудителем ЛЗН установлено, что в 2015 г. на территории Астраханской области циркулировал 1а генотип ВЗН, а на территории Саратовской области – 2-й генотип.

Следует отметить, что в ряде субъектов РФ результаты мониторингирования возбудителя ЛЗН, проводимые учреждениями Роспотребнадзора, недостаточно учитываются медицинскими учреждениями, которые не проводят лабораторные исследования на ЛЗН у больных, что может иметь негативные последствия при активизации эпидемического процесса.

В отношении прогноза развития эпидемиологической ситуации по ЛЗН в 2016 г. необходимо отметить следующее. По оценкам Всемирной метеорологической организации, Всемирного банка реконструкции и развития, других международных организаций, а также Института глобального климата и экологии Росгидромета РФ и РАН, в различных климатических зонах в разные сезоны года изменения гидрометеорологического режима (температурного режима, режима осадков, гидрологического режима рек и водохранилищ, режима морей и устьев рек) будут проявляться по-разному. На большей части территории России ожидается дальнейшее повышение температуры воздуха зимой примерно на 1 °С с определенными вариациями в различных регионах страны. Летом, в целом, ожидаемое потепление будет слабее, чем зимой. В среднем оно составит 0,4 °С. Температурная аномалия для всей территории страны за последние 20 лет составила +1,98 °С, а в Восточной Сибири средняя за лето температура была выше на 2,0–3,0 °С, в Сибири продолжается рост средних летних температур на 1,1 °С.

Основной причиной положительных температурных аномалий является глобальное потепление. С начала постоянных наблюдений за климатом (1880 г.) все чаще фиксируются температурные «выбросы», а высокие среднегодовые температуры следуют друг за другом: в 1995, 1997, 1998, 2005, 2010, 2014, 2015 гг. Ряд экспертов предполагает, что и 2016 г. может стать аномально жарким. Свою лепту внесет феномен Эль-Ниньо – аномальное повышение температуры в экваториальной части Тихого океана, которое оказывает огромное влияние на формирование мирового климата. По оценкам МЧС России, в 2016 г. на большей части территории России температура будет соответствовать среднемноголетним показателям.

Климатические изменения оказывают комплексное и часто неоднозначное воздействие на ареалы распространения инфекционных болезней и интенсивность эпидемического процесса. В аномально теплые годы, сезоны, отдельные месяцы создаются благоприятные условия для резкого повышения распространенности трансмиссивных инфекций. Региональные изменения климата, особенно повышение температуры и выпадение осадков, будут влиять на разнообразную совокупность физических и биологических систем носителей, определяющих эпидемическую ситуацию по ЛЗН на территории каждого субъекта.

В связи с продолжающейся общей тенденцией изменения климатических условий в Российской Федерации в сторону потепления, следует ожидать

дальнейшего выявления циркуляции ВЗН в объектах внешней среды и появления случаев заболевания на более северных территориях.

За период наблюдения за эпидемическим процессом ЛЗН установлено, что маркеры ВЗН выявляются практически на большей части территории РФ. Данный факт подтверждает потенциальную опасность инфицирования населения ЛЗН при благоприятных для развития эпидемического процесса температурных режимах и гидрологических условиях на большей части территории страны.

Интенсивность эпидемических проявлений на территории старых очагов европейской части России, наиболее вероятно, будет невысокой, характерной для межэпидемического периода. Количество выявленных легких и среднетяжелых форм ЛЗН будет зависеть от качества их выявления в лечебно-профилактических учреждениях. Учитывая тенденцию сокращения объемов обследований на ЛЗН больных, проводимых ЛПУ, будет увеличиваться удельный вес нейроинвазивных форм и случаев тяжелого клинического течения.

Выявление больных ЛЗН среди населения на территориях Северо-Кавказского, Крымского, Центрального, а также южных территориях Дальневосточного и Сибирского федеральных округов возможно при создании условий в ЛПУ для диагностики больных, включая подготовку медицинских кадров и активизацию организационной работы Управлений Роспотребнадзора.

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

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Путинцева Е.В., Антонов В.А., Викторов Д.В., Смелянский В.П., Жуков К.В., Мананков В.В., Погасий Н.И., Ткаченко Г.А., Шпак И.М., Снатенков Е.А. Особенности эпидемической ситуации по лихорадке Западного Нила в 2012 г. на территории Российской Федерации. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 1:25–9.
2. Путинцева Е.В., Антонов В.А., Смелянский В.П., Пакскина Н.Д., Скударева О.Н., Викторов Д.В., Ткаченко Г.А., Пак В.А., Жуков К.В., Монастырский М.В., Бородай Н.В., Мананков В.В., Погасий Н.И., Шпак И.М., Савченко С.С., Лемасова Л.В., Бондарева О.С., Замарина Т.В., Баркова И.А. Особенности эпидемической ситуации по лихорадке Западного Нила в 2013 г. в мире и на территории Российской Федерации и прогноз ее развития в 2014 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2014; 2: 33–9.
3. Путинцева Е.В., Смелянский В.П., Пак В.А., Бородай Н.В., Жуков К.В., Мананков В.В., Погасий Н.И., Ткаченко Г.А., Лемасова Л.В., Леденева М.Л., Пакскина Н.Д., Викторов Д.В., Антонов В.А. Эпидемическая ситуация по лихорадке Западного Нила в 2014 г. в мире и на территории Российской Федерации и прогноз ее развития в 2015 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2015; 1:36–41.
4. Якименко В.В., Ткачев С.Е., Макенов М.Т., Василенко А.Г., Тикуннова Н.В. Обнаружение вируса лихорадки Западного Нила

на юге Западной Сибири. В кн.: Сб. трудов Российской научно-практической конференции в связи с 50-летием со дня организации Тюменского научно-исследовательского института краевой инфекционной патологии. Тюмень; 2015. Т. 2. С. 224–32.

5. Preliminary Maps & Data for 2015 [Internet]. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), USA [cited 29 Dec 2015]. Available from: <http://www.cdc.gov/westnile/statsMaps/preliminary-MapsData/index.html>.

6. Surveillance of West Nile Virus 2015 [Internet]. Public Health Agency of Canada [cited 21 Dec 2015]. Available from: <http://healthycanadians.gc.ca/diseases-conditions-maladies-affections/disease-maladie/west-nile-nil-occidental/surveillance-eng.php#s1>.

7. West Nile virus - Multistate (Europe) – Monitoring season 2015 [Internet]. Communicable Disease Threats Report (CDTR), Week 47, 15–21 November 2015 [cited 21 Dec 2015]. The European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Available from: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/communicable-disease-threats-report-21-nov-2015.pdf>References.

References

1. Putintseva E.V., Antonov V.A., Viktorov D.V., Smelyansky V.P., Zhukov K.V., Manankov V.V., Pogasy N.I., Tkachenko G.A., Shpak I.M., Sntenkov E.A. [Peculiarities of epidemiological situation on West Nile fever in 2012 in the territory of the Russian Federation]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 1:25–9.

2. Putintseva E.V., Antonov V.A., Smelyansky V.P., Pakskina N.D., Skudareva O.N., Viktorov D.V., Tkachenko G.A., Pak V.A., Zhukov K.V., Monastirskiy M.V., Boroday N.V., Manankov V.V., Pogasy N.I., Shpak I.M., Savchenko S.S., Lemasova L.V., Bondareva O.S., Zamarina T.V., Barkova I.A. [The features of West Nile fever epidemiological situation in the world and Russia in 2013 and prognosis of its development in 2014]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2014; 2:33–9.

3. Putintseva E.V., Smelyansky V.P., Pak V.A., Borodai N.V., Zhukov K.V., Manankov V.V., Pogasy N.I., Tkachenko G.A., Lemasova L.V., Ledeneva M.L., Pakskina N.D., Viktorov D.V., Antonov V.A. [Epidemic situ-

ation on West Nile fever in 2014 in the territory of the Russian Federation and around the world, and prognosis for its development in 2015]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2015; 1:36–41.

4. Yakimenko V.V., Tkachev S.E., Makenov M.T., Vasilenko A.G., Tikunova N.V. [West Nile virus detection in the south of West Siberia]. In: [Collected Works of the Russian Scientific-Practical Conference, Devoted to the 50th Anniversary since the Day of Establishment of Tyumen Research Institute of Territorial Infectious Pathology]. Tyumen; 2015. Vol. 2. P. 224–32.

5. Preliminary Maps & Data for 2015 [Internet]. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), USA [cited 29 Dec 2015]. Available from: <http://www.cdc.gov/westnile/statsMaps/preliminaryMapsData/index.html>.

6. Surveillance of West Nile Virus 2015 [Internet]. Public Health Agency of Canada [cited 21 Dec 2015]. Available from: <http://healthycanadians.gc.ca/diseases-conditions-maladies-affections/disease-maladie/west-nile-nil-occidental/surveillance-eng.php#s1>.

7. West Nile virus - Multistate (Europe) – Monitoring season 2015 [Internet]. Communicable Disease Threats Report (CDTR), Week 47, 15–21 November 2015 [cited 21 Dec 2015]. The European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Available from: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/communicable-disease-threats-report-21-nov-2015.pdf>References.

Authors:

Putintseva E.V., Smelyansky V.P., Boroday N.V., Manankov V.V., Tkachenko G.A., Shpak I.M., Viktorov D.V., Toporkov A.V. Volgograd Research Anti-Plague Institute. 7, Golubinskaya St., Volgograd, 400131, Russian Federation. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru

Об авторах:

Путинцева Е.В., Смелянский В.П., Бородай Н.В., Мананков В.В., Ткаченко Г.А., Шпак И.М., Викторов Д.В., Топорков А.В. Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 400131, Волгоград, ул. Голубинская, 7. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru

Поступила 26.01.16.

А.Я.Никитин¹, А.К.Носков¹, Е.И.Андаев¹, Н.Д.Пакскина², Е.В.Яценко², Е.В.Веригина³,
С.В.Балахонov¹

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО КЛЕЩЕВОМУ ВИРУСНОМУ ЭНЦЕФАЛИТУ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2015 г. И ПРОГНОЗ НА 2016 г.

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

Проанализирована эпидемиологическая ситуация и меры, осуществленные по профилактике клещевого вирусного энцефалита на территории России в 2015 г. Показано, что число случаев присасывания клещей к людям в большинстве субъектов страны выросло. При этом меры специфической и неспецифической профилактики болезни в 2015 г. проведены в меньших объемах по сравнению с 2014 г. Наряду с природными факторами, это могло явиться причиной роста заболеваемости населения клещевым вирусным энцефалитом. Всего в стране зарегистрировано 2116 больных КВЭ и 24 летальных случая. На основе материалов о заболеваемости населения клещевым вирусным энцефалитом в федеральных округах России за 2009–2015 гг. дан прогноз интенсивных показателей проявления клинических форм болезни в 2016 г. Показатель заболеваемости КВЭ в РФ на 2016 г. составит $(1,90 \pm 0,21) \text{‰}_{0000}$. С 95 % вероятностью он будет находиться в диапазоне от 1,4 до 2,4 ‰_{0000} .

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

Корреспондирующий автор: Никитин Алексей Яковлевич, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

A.Ya.Nikitin¹, A.K.Noskov¹, E.I.Andaev¹, N.D.Pakskina², E.V.Yatsmenko², E.V.Verigina³, S.V.Balakhonov¹

Epidemiological Situation on Tick-Borne Viral Encephalitis in the Russian Federation in 2015 and Prognosis for 2016

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

Analyzed has been epidemiological situation and measures, performed for prophylaxis of tick-borne viral encephalitis in the territory of Russia in 2015. It is shown that the number of humans bitten by ticks increased in the majority of the constituent entities of the country. But specific and nonspecific preventive operations in 2015 were realized to a lesser extent as compared to 2014. Along with the natural factors, it might be the reason for increase in human tick-borne viral encephalitis morbidity rates. In total, 2116 patients with tick-borne viral encephalitis and 24 lethal cases were registered in the country. On the basis of the data regarding tick-borne viral encephalitis (TBVE) incidence rate among the population across the Federal Districts of Russia over a period of 2009–2015, forecasted have been intensive indicators of the clinical forms' manifestations for 2016. TBVE morbidity rate in RF will amount to $(1.90 \pm 0.21) \text{‰}_{0000}$. With 95 % probability it will be retained within a range of 1.4–2.4 ‰_{0000} .

Key words: tick-borne encephalitis, morbidity, prophylaxis, prognosis.

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

Corresponding author: Aleksey Ya. Nikitin, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Citation: Nikitin A.Ya., Noskov A.K., Andaev E.I., Pakskina N.D., Yatsmenko E.V., Verigina E.V., Balakhonov S.V. Epidemiological Situation on Tick-Borne Viral Encephalitis in the Russian Federation in 2015 and Prognosis for 2016. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2016; 1:40–43. (In Russ.). DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-40-43

На протяжении многих лет одной из наиболее опасных и широко распространенных среди природно-очаговых болезней в Российской Федерации (РФ) остается клещевой вирусный энцефалит (КВЭ) [1, 2, 4–9].

Цель работы – анализ эпидемиологической обстановки по КВЭ и мер, осуществленных по профилактике болезни на территории страны в 2015 г., прогноз заболеваемости населения на 2016 г.

Анализ эпидемиологической ситуации в 2015 г. основан на материалах еженедельного оперативного мониторинга, осуществляемого учреждениями Роспотребнадзора в субъектах РФ, представляемых в Федеральную службу по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека и в Референс-центр по мониторингу природно-очаговых инфекци-

онных заболеваний бактериальной и вирусной этиологии ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора. Статистическая обработка проведена стандартными методами вариационной статистики с применением программы Excel.

По данным мониторинга, в эпидемический сезон 2015 г. в РФ зарегистрировано 2116 больных (1,45 ‰_{0000}) и 24 летальных исхода (2014 г. – 23) от КВЭ. По сравнению с 2014 г. количество заболевших увеличилось на 138 человек (6,5 %), что свидетельствует об ухудшении эпидемиологической ситуации на фоне наблюдающегося с начала XXI века тренда на снижение эпидемических проявлений КВЭ [1, 6, 7, 8]. Необходимо подчеркнуть, что рост заболеваемости наблюдался во всех эндемичных по КВЭ

Таблица 1

Эпидемиологическая ситуация и меры профилактики заболеваемости населения клещевым вирусным энцефалитом в высокоэндемичных федеральных округах Российской Федерации в 2015 г. (по данным эпидемиологического мониторинга) в сравнении с 2014 г.

Федеральный округ	Количество заболевших (абс.)		Заболеваемость (‰)		Количество летальных случаев (абс.)		Количество присасываний клещей (абс.)		Объем вакцинации (абс.)		Объем экстренной иммунопрофилактики (абс.)		Площадь акарицидных обработок (тысяч га)	
	2014 г.	2015 г.	2014 г.	2015 г.	2014 г.	2015 г.	2014 г.	2015 г.	2014 г.	2015 г.	2014 г.	2015 г.	2014 г.	2015 г.
ЦФО	38	61	0,10	0,16	0	1	66067	97181	36611	31258	6430	9268	21,1	13,9
СЗФО	249	300	1,83	2,17	4	6	49235	71719	212014	218464	11240	13221	8,9	8,8
ПФО	295	440	0,99	1,48	2	4	87564	101312	335662	348099	13715	14226	53,4	25,4
УФО	270	215	2,24	1,75	4	2	88256	63373	1024306	1025760	61260	46225	35,6	37,3
СФО	768	1057	3,99	5,47	11	10	107938	142177	911452	1015706	61718	81610	29,9	34,7
ДФО	25	34	0,40	0,55	2	1	15389	21504	223446	210864	3987	5460	3,8	4,0
Всего по РФ*	1978	2116	1,15	1,45	23	24	438563	536756	2835240	2957043	158350	170732	141,1	158,9

* Приведены данные по всем субъектам РФ.

федеральных округах, за исключением Уральского (УФО), где показатель снизился на 32,2 %.

Уровни заболеваемости населения КВЭ за 2014–2015 гг., а также материалы по профилактике болезни в высокоэндемичных округах, для которых ранее регулярно проводили анализ и прогноз [1, 5–8], представлены в табл. 1.

Как и в предшествующие годы, основное количество случаев болезни зарегистрировано в Сибирском федеральном округе (СФО), значительно меньше в Приволжском федеральном округе (ПФО) и Северо-Западном федеральном округе (СЗФО), рисунок. Закономерно, что наибольшее число субъектов с уровнем заболеваемости выше среднего по РФ отмечено на этих территориях.

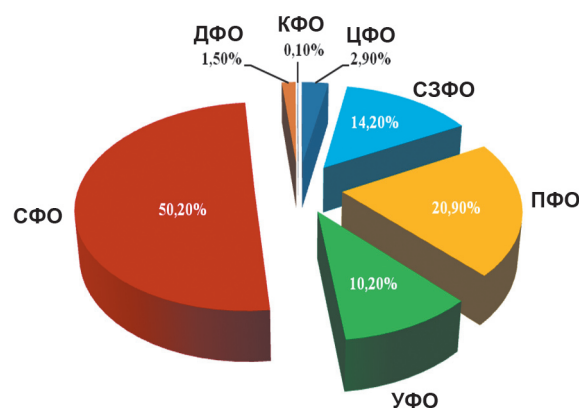
Высокий уровень проявления КВЭ в СФО обусловлен комплексом факторов, в том числе природно-климатического и социально-экономического характера. По нашему мнению, при условии эффективного проведения мероприятий по специфической и неспецифической профилактике на территории СФО, можно добиться ощутимого снижения уровня заболеваемости по стране, так как эпидемиологическая ситуация в округе по КВЭ является для РФ определяющей (рисунок).

В 2015 г. клинические проявления инфекции зарегистрированы в 42 субъектах РФ (в 2014 г. – 51), 97,5 % всех случаев КВЭ приходится на 30 из них, а в остальных наблюдается спорадическая заболеваемость (до 10 случаев).

Уровень заболеваемости КВЭ выше, чем в 2014 г., но значительно ниже среднего по стране. Зарегистрирован в субъектах Дальневосточного (0,55 ‰), Центрального (0,16 ‰) и Крымского (0,13 ‰) федеральных округов (табл. 1; рисунок). И только в Костромской области (ЦФО) заболеваемость (4,59 ‰) превысила общероссийский показатель.

Рост заболеваемости КВЭ в РФ в 2015 г., вероятно, обусловлен увеличением контактов населения с переносчиком в природных станциях, который оцени-

вают по количеству лиц, пострадавших от присасывания клещей. В 2015 г. 536756 человек обратились в ЛПО с присосавшимися иксодовыми клещами (в 2014 г. – 438563). Доля детей среди них составила 23,1 % (123777). Рост обращаемости населения по поводу присасывания клещей регистрировали во всех федеральных округах, за исключением Уральского федерального округа (УФО), где, вероятно, из-за этого произошло снижение заболеваемости населения КВЭ (табл. 1). Из 12 субъектов СФО только в Омской области, характеризующейся минимальным в округе уровнем проявления КВЭ (1,11 ‰), произошло уменьшение числа людей, пострадавших от присасывания клещей.



Доля случаев клещевого вирусного энцефалита, наблюдавшихся в 2015 г. по отдельным округам Российской Федерации (отражено секторами), а также список субъектов, где уровень заболеваемости выше среднего по стране:

ЦФО – Центральный федеральный округ (Костромская область – 4,6 ‰); **СЗФО** – Северо-Западный федеральный округ (Вологодская область – 6,7 ‰; Архангельская область – 5,6; Республика Карелия – 3,95; Псковская область – 2,6; Ленинградская – 2,54); **ПФО** – Приволжский федеральный округ (Кировская область – 10,2 ‰; Пермский край – 7,2; Удмуртская Республика – 4,4); **УФО** – Уральский федеральный округ (Тюменская область – 3,6 ‰; Свердловская область – 2,1; Курганская область – 1,7); **СФО** – Сибирский федеральный округ (Красноярский край – 12,2 ‰; Республика Алтай – 7,96; Республика Хакасия – 6,5; Новосибирская область – 5,8; Томская область – 5,7; Иркутская область – 5,4; Кемеровская область – 4,95; Республика Бурятия – 4,8; Республика Тыва – 4,5; Забайкальский край – 3,5; Алтайский край – 2,1); **ДФО** – Дальневосточный федеральный округ; **КФО** – Крымский федеральный округ

Важным параметром, влияющим на уровень проявления КВЭ, является вирусофорность переносчика. По результатам иммуноферментного анализа в 2015 г. средняя по стране инфицированность клещей, снятых с людей, составила 6,1 %, а особей, собранных в природе, – 4,8 %. По округам у клещей, снятых с людей, доля особей с антигеном вируса колебалась от 4,1 % в Дальневосточном федеральном округе (ДФО) до 8,3 % в СФО с максимальным значением в Республике Тыва – 55,1 %. Зараженность клещей из природы варьировала от 0,2 % (ДФО) до 8,4 % (СФО). Значения вирусофорности, превышающие средние по России, отмечены в Республиках Бурятия, Тыва, Самарской, Ярославской и Свердловской областях.

КВЭ относится к управляемым инфекциям. Анализ мер специфической профилактики показал, что иммунная прослойка населения, сформированная за счет цикла вакцинации и ревакцинации (2013–2015 гг.), по сравнению с 2012–2014 гг., практически не изменилась и составила 6,0 % от всего населения страны. Снижение этого показателя в 2015 г., по сравнению с 2014 г., произошло в Удмуртской Республике, Республиках Алтай, Хакасия, Пермском, Алтайском, Приморском, Хабаровском краях, Курганской, Челябинской, Новосибирской, Амурской и Еврейской автономной областях. Объем финансовых средств, выделенных в 2015 г. на специфическую профилактику КВЭ, был ниже плановых показателей (83,9 %), однако и они не полностью освоены (86,4 %).

Экстренная специфическая серопротекция проводилась преимущественно по эпидемиологическим показаниям на основе лабораторного исследования присосавшихся клещей. На закупку противоклещевого иммуноглобулина финансовые средства выделены в запланированном объеме, но освоены от них 91 %. Всего противоклещевой иммуноглобулин в 2015 г. получили 170732 человека, то есть 31,8 % от общего количества пострадавших. Наибольшее количество лиц, получивших противоклещевой иммуноглобулин, отмечено в СФО (особенно в Кемеровской области) и УФО (Тюменская область), на которые пришлось 74,8 % от общего по стране числа людей с проведенной серопротекцией.

Важной частью комплекса мер предотвращения заболеваемости населения КВЭ является неспецифическая профилактика, включающая борьбу с переносчиком в природных станциях, а также индивидуальную (личную) защиту населения от присасывания клещей [9]. Одной из причин роста случаев присасывания клещей в 2015 г. могло стать снижение, по сравнению с 2014 г., на 18,7 % площади акарицидных обработок в высоко эндемичных округах страны (табл. 1). Это произошло вопреки тому, что финансирование работ по отношению к плановым показателям выросло на 4,9 %. Однако выделенные средства освоены не полностью. Плановые показатели объемов акарицидных работ в 2015 г. не выполнены в ЦФО, СФО, СЗФО, где наблюдали рост числа случаев присасывания клещей и клинических прояв-

лений КВЭ (табл. 1).

Анализ наиболее важных мер профилактики КВЭ в 2015 г. (вакцинация, серопротекция, акарицидные обработки) показал снижение внимания к их проведению, не достаточно эффективное использование отпущенных финансовых средств, что, по нашему мнению, в комплексе с естественно-биологическими циклическими факторами привело к ухудшению эпидемиологической ситуации в стране. Для предотвращения дальнейшего ее неблагоприятного развития необходимо правильное планирование и строгое выполнение мероприятий по специфической и неспецифической профилактике болезней, передаваемых клещами. Это касается вопросов определения приоритетных участков, сроков и кратности акарицидных обработок, лиц, подлежащих вакцинации и профилактическому лечению, выделения и эффективного использования финансовых средств на специфическую и неспецифическую профилактику.

Прогноз заболеваемости позволяет принять превентивные меры по стабилизации эпидемиологической обстановки. Анализ серии наших публикаций, посвященных прогнозу развития эпидемического процесса по КВЭ [1, 5–9], подтверждает верность двух тезисов, положенных в основу его проведения. Первое – прогноз осуществляется по федеральным округам на основе среднесрочных данных, второе – при устойчивой эпидемиологической обстановке он базируется на анализе непродолжительных отрезков времени и ограничивается обозначением верхних и нижних границ доверительного интервала, в рамках которого может изменяться показатель заболеваемости. При этом территориальные службы здравоохранения при планировании мер профилактики КВЭ должны ориентироваться на верхние границы возможного уровня проявления болезни.

В табл. 2 дан прогноз заболеваемости населения КВЭ на 2016 г. по округам и для РФ. Ранее в работе [3] подчеркивалось, что средний уровень заболеваемости является отражением действия стабильных неустраняемых в данный период времени факторов, формирующих ее многолетний уровень. Таким образом, если заболеваемость КВЭ в 2016 г. будет находиться по каждому из округов РФ в пределах границ доверительного интервала (табл. 2), то следует считать, что эпидемиологическая обстановка в отношении этой инфекции стабильная. Если же показатели заболеваемости значимо выйдут за верхнюю границу, то эпидемиологическая ситуация должна рассматриваться как неблагоприятная, а в отдельных случаях – чрезвычайная, и для принятия управленческих решений, направленных на стабилизацию эпидемического процесса, потребуется анализ механизмов, вызвавших этот эффект. Вместе с тем не меньшее значение имеет анализ причин, обуславливающих выход показателя уровня заболеваемости населения за нижнюю границу доверительного интервала, так как это должно учитываться при планировании прио-

Таблица 2

**Прогноз интенсивных показателей заболеваемости КВЭ
по федеральным округам Российской Федерации на 2016 г.**

Федеральный округ	Заболеваемость КВЭ (‰), ожидаемая в 2016 г. (средний показатель ± ошибка среднего по данным за 2009–2015 гг.)	95 % доверительный интервал ожидаемого уровня заболеваемости КВЭ (‰)	
		Нижняя граница	Верхняя граница
ЦФО	0,20 ± 0,037	0,10	0,29
СЗФО	2,55 ± 0,270	1,88	3,23
ПФО	1,59 ± 0,215	1,05	2,13
УФО	3,59 ± 0,666	1,92	5,25
СФО	6,94 ± 0,656	5,30	8,59
ДФО	0,67 ± 0,087	0,46	0,89
РФ	1,90 ± 0,208	1,38	2,42

ритетных направлений и объемов профилактических мероприятий.

По данным 2009–2015 гг. прогнозируется, что показатель заболеваемости КВЭ в РФ на 2016 г. составит $(1,90 \pm 0,21) \text{‰}$. С 95 % вероятностью он будет находиться в диапазоне от 1,4 до 2,4 ‰. Как выше показано, ослабление внимания в 2015 г. к комплексу профилактических мероприятий, осуществляемому на территории субъектов РФ, привело к ухудшению эпидемиологической ситуации. Если при этом циклические проявляющиеся естественно-биологические факторы (численность переносчика и их прокормителей, вирусофорность клещей и т.п.) будут способствовать росту интенсивности эпизоотического процесса, то возможен рост заболеваемости КВЭ выше максимальных значений доверительного интервала. Чтобы не допустить подобного изменения эпидемиологической обстановки, ослабление внимания к комплексу профилактических мероприятий является недопустимым.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Балахонов С.В., Пакскина Н.Д., Никитин А.Я., Носков А.К., Андаев Е.И., Чеснокова М.В., Шашина Н.И., Германт О.М., Сидорова Е.А. Эпидемиологическая ситуация по клещевому вирусному энцефалиту в Российской Федерации в 2012 г. и прогноз на 2013 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 1:34–7.
2. Веригина Е.В., Симонова Е.Г., Чернявская О.П., Пакскина Н.Д. Современная эпидемиологическая ситуация и некоторые результаты мониторинга за клещевым энцефалитом в Российской Федерации. *Эпидемиол. и вакцинопрофилактик.* 2013; 4(71):14–20.
3. Колпаков С.Л., Яковлев А.А. О методологии оценки эпидемиологической ситуации. *Эпидемиол. и инф. бол.* 2015; 4(20):34–9.
4. Коренберг Э.И., Помелова В.Г., Осин Н.С. Природно-очаговые инфекции, передающиеся иксодовыми клещами. М.: 2013. 463 с.
5. Никитин А.Я., Балахонов С.В., Андаев Е.И., Хазова Т.Г., Евтушок Г.А., Козловский Л.И., Иванова Е.В. Эпидемиологи-

ческая обстановка по клещевому энцефалиту, ее прогноз и основные направления профилактических мероприятий в регионах Сибири. *Пробл. особо опасных инф.* 2008; 4(98):21–4.

6. 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.

7. Носков А.К., Никитин А.Я., Пакскина Н.Д., Сидорова Е.А., Чеснокова М.В., Андаев Е.И. Эпидемиологическая ситуация по клещевому вирусному энцефалиту в Российской Федерации (2009–2011 гг.) и прогноз на 2012 год. *Пробл. особо опасных инф.* 2012; 1(111):30–3.

8. Носков А.К., Ильин В.П., Андаев Е.И., Пакскина Н.Д., Веригина Е.В., Балахонов С.В. Заболеваемость клещевым вирусным энцефалитом в Российской Федерации и по федеральным округам в 2009–2013 гг., эпидемиологическая ситуация в 2014 г. и прогноз на 2015 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2015; 1:46–50.

9. Шашина Н.И., Германт О.М. Биологические особенности таежного клеща (*Ixodes persulcatus*, Ixodidae) и методы защиты людей. *Зоол. журн.* 2010; 1(89):115–21.

References

1. Balakhonov S.V., Pakschina N.D., Nikitin A.Ya., Noskov A.K., Andae E.I., Chesnokova M.V., Shashina N.I., Germant O.M., Sidorova E.A. [Epidemiological situation on tick-borne viral encephalitis in the territory of the Russian Federation in 2012 and prognosis for 2013]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 1:34–7.
2. Verigina E.V., Simonova E.G., Chernyavskaya O.P., Pakschina N.D. [Current epidemiological situation and certain results of monitoring over tick-borne encephalitis in the Russian Federation]. *Epidemiol. Vaksino profilakt.* 2013; 4(71):14–20.
3. Kolpakov S.L., Yakovlev A.A. [Concerning methodology of epidemiological situation assessment]. *Epidemiol. Infek. Bol.* 2015; 4(20):34–9.
4. Korenberg E.I., Pomelova V.G., Osin N.S. [Natural-Focal Tick-Borne Infections]. М.: 2013. 463 p.
5. Nikitin A.Ya., Balakhonov S.V., Andae E.I., Khazova T.G., Evtushok G.A., Kozlovsky L.I., Ivanova E.V. [Tick-borne encephalitis epidemiological situation, its prognostication and main trends of preventive measures in Siberian regions]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2008; 4(98):21–4.
6. Nikitin A.Ya., Sidorova E.A., Andae 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.
7. Noskov A.K., Nikitin A.Ya., Pakschina N.D., Sidorova E.A., Chesnokova M.V., Andae E.I. [Epidemiological situation on the tick-borne viral encephalitis in the Russian Federation in 2009–2011 and prognosis for 2012]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2012; 1(111):30–3.
8. Noskov A.K., Il'in V.P., Andae E.I., Pakschina N.D., Verigina E.V., Balakhonov S.V. [Morbidity rates as regards tick-borne viral encephalitis in the Russian Federation and across Federal Districts in 2009–2013. Epidemiological situation in 2014 and prognosis for 2015]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2015; 1:46–50.
9. Shashina N.I., Germant O.M. [Biological peculiarities of taiga ticks (*Ixodes persulcatus*, Ixodidae) and methods for population protection]. *Zool. Zh.* 2010; 1(89):115–21.

Authors:

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

Pakschina N.D., Yatsmenko E.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.

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

Об авторах:

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

Пакскина Н.Д., Яценко Е.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.

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

Поступила 18.01.16.

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

ОБЗОР ЭПИДЕМИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО КРЫМСКОЙ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКЕ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2015 г. И ПРОГНОЗ НА 2016 г.

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

В работе представлен анализ эпидемиологической ситуации по Крымской геморрагической лихорадке (КГЛ) в России в 2015 г., обобщены результаты эпизоотологического обследования территории природного очага КГЛ на юге европейской части России. В 2015 г. в Российской Федерации зарегистрировано 139 случаев КГЛ. Наиболее значительный рост заболеваемости отмечен в Ставропольском крае и Ростовской области. Выявлен заносной случай КГЛ в Воронеж из Крымского федерального округа. Отмечено вовлечение новых административных территорий в эпидемически активную зону природного очага КГЛ. Обострение эпидемиологической обстановки по КГЛ на юге России связано, главным образом, с благоприятными для развития клещей *H. marginatum* погоднo-климатическими условиями зимы 2014–2015. В 2016 г. в случае благоприятных для перезимовки иксодид погоднo-климатических условий зимы 2015–2016 гг., а также при неэффективном проведении акарицидных обработок возможно увеличение численности *H. marginatum* по сравнению с 2015 г., что может вызвать рост заболеваемости людей.

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

Корреспондирующий автор: Волынкина Анна Сергеевна, e-mail: snipchi@mail.stv.ru

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

Review of Epidemiological Situation on Crimean-Congo Hemorrhagic Fever in the Russian Federation in 2015 and Prognosis for 2016

Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

This paper presents analysis of epidemiological situation on Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) in Russia in 2015; summarized are the results of epidemiological survey of the territory of the natural CCHF focus in the south of the European part of Russia. In 2015, the Russian Federation reported 139 cases of CCHF. The most significant increase in the incidence of CCHF occurred in the Stavropol Territory and Rostov Region. Identified was CCHF case in Voronezh city imported from the Crimean Federal District. Marked is the involvement of new administrative areas in the epidemic core of the natural focus. The aggravation of the epidemiological situation in the South of Russia was mainly due to the favorable for dissemination of ticks, *H. marginatum*, climatic conditions in winter 2014–2015. In 2016, in the case of successful Ixodids wintering, as well as ineffectively exercised acaricide treatments, the numbers of *H. marginatum* may increase compared to 2015, which may become the cause of augmented incidence among the population.

Key words: Crimean-Congo hemorrhagic fever, epidemic situation, epizootiological monitoring, morbidity, prognosis.

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

Corresponding author: Anna S. Volynkina, e-mail: snipchi@mail.stv.ru

Citation: Volynkina A.S., Kotenev E.S., Lisitskaya Ya.V., Maletskaya O.V., Shaposhnikova L.I., Kulichenko A.N. Review of Epidemiological Situation on Crimean-Congo Hemorrhagic Fever in the Russian Federation in 2015 and Prognosis for 2016. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2016; 1:44–47. (In Russ.). DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-44-47

С целью оценки эпидемиологической обстановки по Крымской геморрагической лихорадке (КГЛ) в Российской Федерации в 2015 г. и составления прогноза развития эпидемической ситуации в 2016 г. проведен анализ данных о 139 лабораторно подтвержденных случаях КГЛ и результатов эпизоотологического обследования территории на основании еженедельной и ежеквартальной информации о мониторинге возбудителя КГЛ, представляемой Управлениями Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека и ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъектах ЮФО, СКФО и КФО.

В Российской Федерации сохраняется эпидемически неблагоприятная обстановка по КГЛ [1, 3]. В период с 1999 по 2015 год в Южном федеральном округе (ЮФО) и Северо-Кавказском федеральном

округе (СКФО) выявлено 1884 больных, у 76 из них (4,03 %) болезнь закончилась летальным исходом [1, 2, 3, 4]. Наибольшее количество случаев отмечено в Ставропольском крае – 674, из них 23 летальных (35,77 % от всех случаев КГЛ в РФ), Ростовской области – 565, из них 22 летальных (29,9 %), Республике Калмыкия – 312, из них 8 летальных (16,6 %).

Заболеваемость КГЛ нарастала с 1999 г., наибольшее число больных выявлено в 2006–2008 гг. В 2009–2010 гг. уровень заболеваемости снизился, с 2012 г. вновь отмечается рост числа случаев болезни, что свидетельствует о сохранении неблагоприятной эпидемиологической обстановки по КГЛ в регионе (рис. 1).

В 2015 г. эпидемические проявления КГЛ зарегистрированы в 8 субъектах ЮФО, СКФО и Крымском федеральном округе (КФО). Выявлено 139 случаев

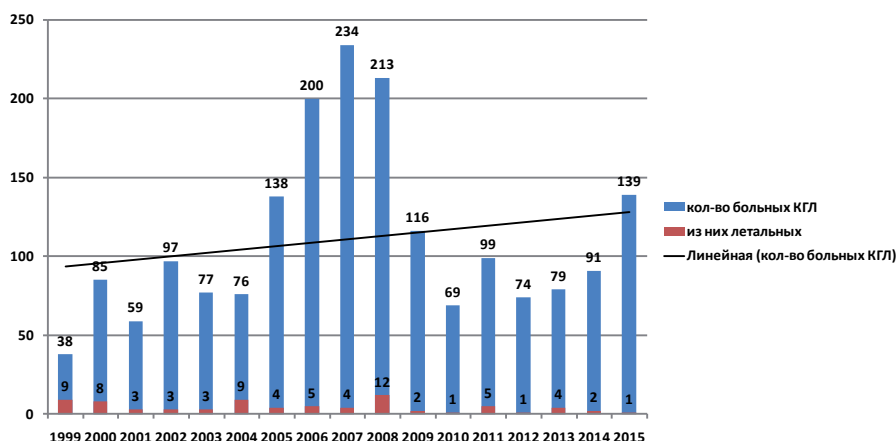


Рис. 1. Динамика заболеваемости КГЛ в РФ в 1999–2015 гг.

КГЛ, в том числе 1 летальный, что на 52,8 % больше, чем в 2014 г. (91 случай, 1 летальный). Наибольшее число больных отмечено в Ростовской области – 79 (1 летальный) и Ставропольском крае – 43. Кроме того, зарегистрировано 9 случаев заболевания в Республике Калмыкия, 3 – в Волгоградской области, 2 – в Республике Дагестан, 1 – в Астраханской области, 1 – в Карачаево-Черкесской Республике. В Воронежской области выявлен 1 заносной случай КГЛ из Крымского федерального округа.

Наиболее значительный рост заболеваемости КГЛ отмечен в Ставропольском крае – количество больных увеличилось на 59,3 % (27 случаев в 2014 г.), Ростовской области – на 46,3 % (54 случая в 2014 г.), Республике Калмыкия – в 3,5 раза (2 случая в 2014 г.). В Волгоградской области количество заболевших снизилось на 50 % (6 случаев в 2014 г.). В Карачаево-Черкесской Республике заболеваемость КГЛ выявлена после длительного перерыва с 2008 г. В Ростовской области наблюдается вовлечение новых административных районов в эпидемически активную территорию очага КГЛ, в 2015 г. заболеваемость КГЛ впервые зарегистрирована в Милютинском, Мясниковском, Неклиновском, Родионово-Несветайском районах (по 1 случаю), а также в Обливском районе (1 случай), где не регистрировались эпидемические проявления КГЛ с 2009 г. (2009 г. – 27 случаев). Территория природного очага КГЛ с зарегистрированными эпидемическими проявлениями в 2015 г. представлена на рис. 2.

Наиболее высокий показатель заболеваемости на 100 тыс. населения в 2015 г. в Республике Калмыкия (3,15), Ростовской области (2,75) и в Ставропольском крае (1,54).

Сезонность заболеваемости во всех субъектах ЮФО и СКФО, эндемичных по КГЛ, соответствовала многолетней. Первый больной (по дате заболевания) зарегистрирован во 2-й декаде апреля в х. Новоисеевский Ростовской области. Заболеваемость нарастала с апреля, пик пришелся на май–июнь (35,9 и 40,3 % от всех больных), спад – на июль–август (14,4 и 4,3 %). Последний случай отмечен во 2-й декаде августа в Сальске Ростовской области.

Заболеваемость регистрировалась во всех возрастных группах, наиболее высокий уровень заболеваемости отмечался в возрастной группе 50–59 лет (25,9 % от всех случаев), в Ростовской области выявлен 1 случай заболевания ребенка до 14 лет.

В профессиональном составе больных КГЛ, как и в прошлые годы, преобладали безработные (38,1 %) и лица пенсионного возраста (19,4 %), как правило, являющиеся владельцами индивидуального поголовья сельскохозяйственных животных, а также работники фермерских хозяйств: фермеры (6,4 %), механизаторы (7,2 %). Повысилась доля представителей других профессий, связанных с пребыванием в природных биотопах при выполнении работ, – строителей, смотрителей железнодорожных путей.

Инфицирование людей в 66,9 % случаев произошло при укусе клещом, в 22,3 – при снятии и раздавливании клещей, в 10,9 – путь заражения не установлен. Контакт с клещом отмечен в 30,9 % случаев при уходе за сельскохозяйственными животными, в 13,3 – при выполнении полевых работ и 3,6 – при нахождении в природных биотопах.

Анализ клинических проявлений КГЛ показал, что у 75,5 % больных наблюдалась клиническая форма без геморрагических проявлений. Преобладающей являлась средне-тяжелая форма течения болезни (81,3 % от всех случаев), в 2,1 % случаев отмечалась легкая клиническая форма, доля случаев тяжелого течения болезни составила 16,5 %.

Погодно-климатические условия зимы 2014–2015 г. были благоприятными для перезимовки иксодовых клещей. Первые случаи нападения иксодид на людей, пребывающих в природных биотопах, отмечались в первых числах марта, что на 18 дней раньше, чем в 2014 г. Единичные случаи нападения зарегистрированы во время февральских оттепелей (в III декаде).

Активизация *Hyalomma marginatum* – основного переносчика вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки (вирус ККГЛ) – в 2015 г. произошла в те же сроки, что и в 2014 г. и зарегистрирована с первой декады апреля.

Показатели численности иксодовых клещей в

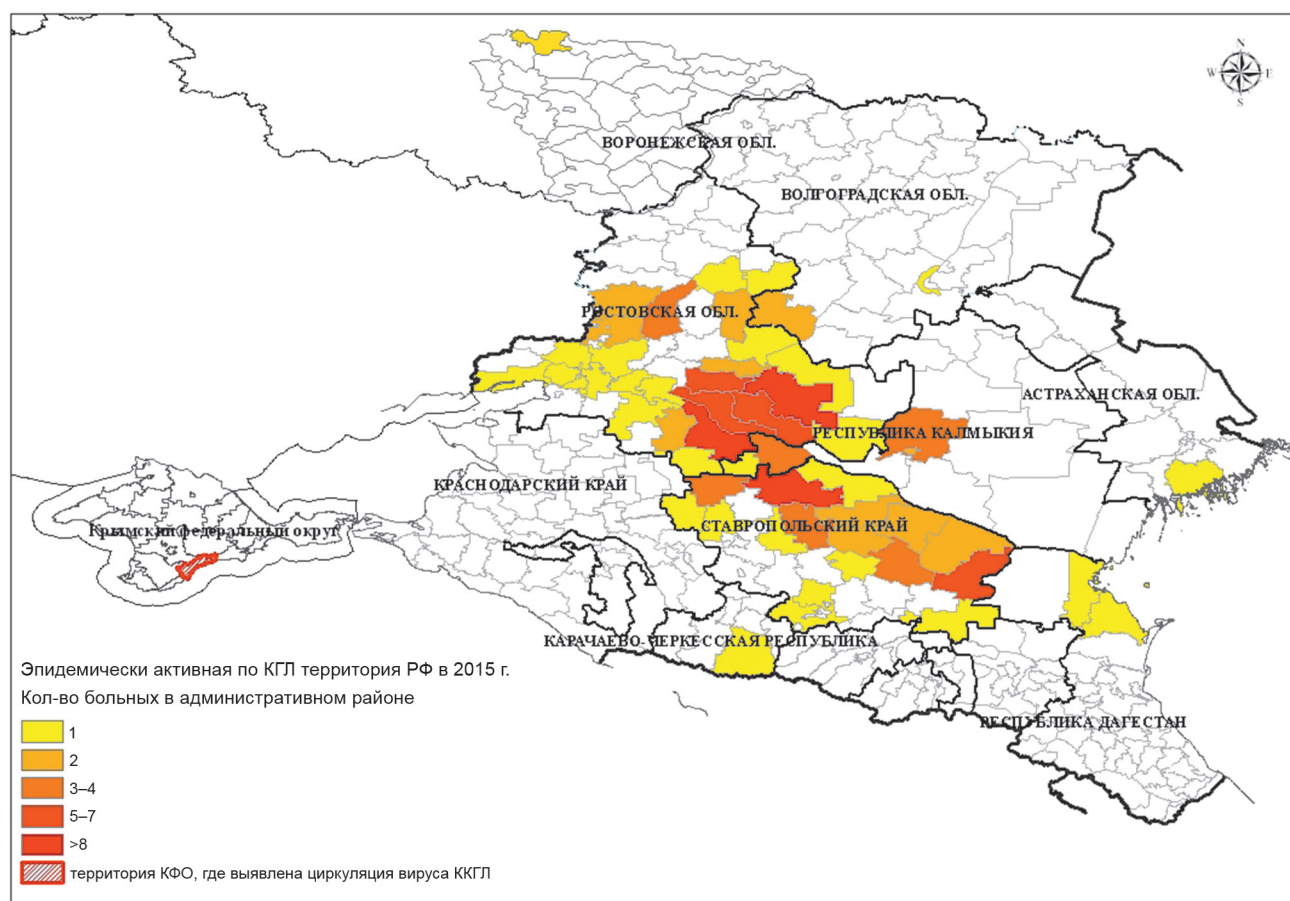


Рис. 2. Эпидемические проявления КГЛ в РФ в 2015 г.

2015 г. оставались на уровне средних многолетних (2008–2014 гг.). В Ставропольском крае индексы обилия клещей *H. marginatum* на крупном и мелком рогатом скоте (КРС и МРС) достигали 6,2, в КФО – 14, Астраханской области – 10,5, Волгоградской – 5,5, и превышали эпидемически значимый индекс обилия *H. marginatum* (до 3) в 1,8 и более раз. Количество клещей *H. marginatum*, нападающих на наблюдателя за 1 ч, в природных биотопах Ставропольского края достигало 42,7, Ростовской области – 25,2, Астраханской области – 10,5, Волгоградской области – 12, КФО – 16, Республики Калмыкия – 0,7.

С начала эпидсезона КГЛ на базе лабораторий особо опасных инфекций ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» и противочумных станций в ЮФО, СКФО и КФО методом ПЦР и ИФА на наличие антигена и РНК вируса ККГЛ исследована 1861 проба иксодовых клещей, выявлено 94 положительные пробы (5,1 %), в 2013 г. доля зараженных клещей составила 5,8 %, в 2014 г. – 2,7. Уровень зараженности иксодовых клещей в 2015 г. в Ростовской области увеличился до 16,9 % (в 2014 г. – 12,1), в Республике Дагестан – до 4,8 (в 2014 г. – 1,5), Ставропольском крае снизился до 3,2 % (в 2014 г. – 6,0), Республике Калмыкия – до 2,7 (в 2014 г. – 7,7), Волгоградской области – до 0,4 (в 2014 г. – 1,5), Астраханской области – 0,72 (в 2014 г. – 0,5), в КФО – 3,0.

На энзоотичных территориях ЮФО и СКФО проводились акарицидные обработки КРС и МРС,

пастбищ, дезинсекционные и дератизационные мероприятия, велась информационно-разъяснительная работа с населением. В Ставропольском крае акарицидными обработками охвачено 500 % КРС и 130 % МРС, в Ростовской области – 370 и 225 соответственно, Республике Калмыкия – 142 и 114, Астраханской области – 107 и 35, Республике Дагестан – 268 и 68, Волгоградской области – 178 и 125, в КЧР – 102 и 115 (с учетом повторных акарицидных обработок).

Следует отметить, что, несмотря на высокие показатели объема акарицидных обработок, в отдельных районах Ростовской, Астраханской, Волгоградской областей, Ставропольского края в течение эпидемического сезона сохранялась высокая степень эпизоотической опасности инфицирования вирусом ККГЛ и регистрировалась высокая численность иксодовых клещей (индексы обилия клещей *H. marginatum* на КРС/МРС превышали 3, количество клещей *H. marginatum*, нападающих на учетчика за 1 ч, составляло 12–42), что свидетельствует о недостаточной эффективности акарицидных мероприятий. Кроме того, в субъектах ЮФО, СКФО и КФО в 2015 г. увеличилось количество обращений в лечебно-профилактические организации по поводу укусов клещами и составило 35708, в том числе 12211 обращений по поводу укусов детей (в 2014 г. – 20974, в том числе 7513 детей). В Республиках Дагестан, Северная Осетия-Алания число укушенных возросло в 1,3 раза, Ставропольском и Краснодарском

краях, Кабардино-Балкарской Республике – в 1,5, Ростовской, Волгоградской, Астраханской областях – в 1,8, Республике Калмыкия, Карачаево-Черкесской Республике – в 2 раза.

Таким образом, в 2015 г. на юге России наблюдается обострение эпидемиологической обстановки по КГЛ, связанное, главным образом, с благоприятными для развития клещей *H. marginatum* погодноклиматическими условиями зимы 2014–2015 гг. (отсутствие низких температур, наличие снежного покрова), а также весны и лета 2015 г. (позднее наступление жаркого и засушливого периода), что привело к увеличению периода активности клещей данного вида в эпидсезон 2015 г. Отмечено вовлечение новых административных территорий в эпидемически активную зону природного очага КГЛ.

В точках одновременного наблюдения за природным очагом КГЛ индексы обилия преимагинальных фаз *H. marginatum* в 2015 г. в 1,7 раза превысили аналогичные показатели 2014 г., что, при благоприятных для перезимовки иксодид погодноклиматических условиях зимы 2015–2016 гг., а также в случае несвоевременного проведения акарицидных обработок природных биотопов и сельскохозяйственных животных, в марте–апреле 2016 г. может привести к увеличению показателей численности *H. marginatum* по сравнению с 2015 г., которое наряду с высоким уровнем зараженности клещей вирусом ККГЛ может вызвать увеличение заболеваемости людей. С целью повышения эффективности акарицидных обработок домашних животных и природных биотопов контролирующим органам Роспотребнадзора субъектов, территория которых эндемична по КГЛ, следует заблаговременно обеспечить условия проведения надзора за данными мероприятиями, разработать критерии и порядок контроля их эффективности.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Василенко Н.Ф., Смоленский В.Ю., Волынкина А.С., Варфоломеева Н.Г., Заикина И.Н., Малецкая О.В., Ашибов У.М., Тохов Ю.М., Ермаков А.В., Куличенко А.Н. Особенности эпидемиологической обстановки по Крымской геморрагической лихорадке в Российской Федерации в 2011 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2012; 1(111):22–5.
2. Волынкина А.С., Котенев Е.С., Малецкая О.В., Заикина И.Н., Шапошникова Л.И., Куличенко А.Н. Эпидемиологическая ситуация по Крымской геморрагической лихорадке в Российской Федерации в 2012 г. и прогноз на 2013 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 1:30–3.
3. Куличенко А.Н., Малецкая О.В., Василенко Н.Ф., Бейер А.П., Санникова И.В., Пасечников В.Д., Ковальчук И.В., Ермаков А.В., Бутаев Т.М., Смирнова С.Е., Карань Л.С., Малеев В.В., Платонов А.Е. Крымская геморрагическая лихорадка в Евразии в XXI веке: эпидемиологические аспекты. *Эпидемиол. и инф. бол. Акту. вопр.* 2012; 3:42–53.
4. Малецкая О.В., Куличенко А.Н., Бейер А.П., Харченко Т.В., Исмаилова Г.К., Чумакова И.В. Современные особенности эпиднадзора за Крымской геморрагической лихорадкой. *Дез. дело.* 2009; 2:40–4.

References

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

Authors:

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

Об авторах:

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

Поступила 22.01.16.

В.Ю.Марченко, И.М.Суслопаров, А.В.Шиповалов, В.Н.Михеев, А.Б.Рыжиков

ЦИРКУЛЯЦИЯ ВЫСОКОПАТОГЕННОГО ВИРУСА ГРИППА ПТИЦ В РОССИИ В 2014–2015 гг.

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

Приведены данные по циркуляции высокопатогенного вируса гриппа А/Н5 за последние два года. Рассмотрено современное состояние по гриппу Н5 на территории Российской Федерации, где в 2014–2015 гг., впервые с 2010 г., было зафиксировано выделение высокопатогенного вируса гриппа субтипов Н5N1 и Н5N8. Показано, что территория России играет важную роль в трансконтинентальном переносе вирусов гриппа дикими птицами из Юго-Восточной Азии в Европу и Северную Америку, а также сделано предположение о возможном продолжении циркуляции высокопатогенных вирусов на территории России.

Ключевые слова: вирус гриппа птиц, Н5N1, Н5N8, Россия.

Корреспондирующий автор: Марченко Василий Юрьевич, e-mail: marchenko_vyu@vector.nsc.ru

V.Yu.Marchenko, I.M.Susloparov, A.V.Shipovalov, V.N.Mikheev, A.B.Ryzhikov

Circulation of Highly Pathogenic Avian Flu Virus in the Russian Federation in 2014–2015

State Scientific Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Kol'tsovo, Russian Federation

Given are the data on the circulation of highly pathogenic flu virus, A/H5, within the last two years. Discussed is the current state of the situation on H5 flu in the territory of the Russian Federation, where during 2014–2015, for the first time since 2010, registered has been the isolation of highly pathogenic flu virus, H5N1 and H5N8 subtypes. It is demonstrated that the territory of Russia plays a significant role in trans-continental transfer of flu viruses by wild birds from South-Eastern Asia into Europe and North America. Moreover, an assumption is made that a continued circulation of highly pathogenic viruses in the territory of the country is quiet possible.

Key words: avian flu virus, H5N1, H5N8, Russia.

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

Funding: The study was financially supported by Russian Foundation for Basic Research, under scientific project No 16-34-60073 mol_a_dk.

Corresponding author: Vasily Yu. Marchenko, e-mail: marchenko_vyu@vector.nsc.ru

Citation: Marchenko V.Yu., Susloparov I.M., Shipovalov A.V., Mikheev V.N., Ryzhikov A.B. Circulation of Highly Pathogenic Avian Flu Virus in the Russian Federation in 2014–2015. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; 1:48–54. (In Russ.). DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-48-54

Вирусы гриппа А (ВГА) способны инфицировать различные виды млекопитающих и птиц, но основным хозяином и природным резервуаром ВГА являются дикие, преимущественно водоплавающие птицы [4, 24]. Вирусы гриппа подразделяются на субтипы на основании антигенных различий в поверхностных гликопротеинах. На сегодняшний день известно 18 субтипов гемагглютинина и 11 субтипов нейраминидазы ВГА [18, 19]. Тем не менее среди широкого разнообразия вариантов данного инфекционного агента лишь определенные субтипы ВГА показали способность преодолевать межвидовой барьер и вызывать заболевание человека, и лидирующую позицию в этом вопросе занимает вирус гриппа Н5N1-субтипа, ввиду его высокой вирулентности и высокого процента летального исхода вызванного им заболевания.

С момента первого случая регистрации высокопатогенного вируса гриппа Н5N1 в Гонконге в 1996 г. данный инфекционный агент широко распространился по всему миру. Регулярно поступают сообщения о новых вспышках среди сельскохозяйственных животных, в основном в странах Африки и Юго-Восточной Азии [29], для которых вирус Н5N1 является эндемичным, а также регистрируются случаи за-

ражения и гибели людей. Так, по данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), на 14 декабря 2015 г. зарегистрировано 844 случая заражения людей вирусом Н5N1, из которых 449 имели летальный исход, что составляет более 50 % [28].

Благодаря своим генетическим особенностям, вирус гриппа постоянно изменяется, приобретая уникальные мутации, которые способствуют распространению вируса гриппа, образованию генетических линий, клад и субклад Н5N1, а также формированию различных вариантов вируса гриппа Н5-субтипа гемагглютинина [25]. За последние два года в мире циркулировало несколько различных линий вируса Н5 (таблица), сменяя друг друга с течением времени или социркулируя в различных регионах мира. Так, по данным ВОЗ [27], генетическая клада 1.1.2 регистрировалась в Камбодже и Вьетнаме до сентября 2014 г., затем циркуляции вируса Н5N1 данной клады не выявлено. Клада 2.2.1 была зарегистрирована в первой половине 2014 г. на территории Ливии и Египта, вызвав вспышки среди сельскохозяйственной птицы, а также случаи заражения и гибели людей.

Затем вирус данной клады распространился в Израиль и Палестину, явившись причиной вспышки

среди сельскохозяйственной птицы. В 2015 г. вирус продолжил свою циркуляцию в вышеупомянутых странах, однако уже в качестве представителя субклады 2.2.1.2. В других регионах циркуляция вирусов данной кланды, которая считается эндемичной для Египта, или ее субклад не выявлены. Следует особо отметить циркуляцию в 2014–2015 гг. различных генетических вариантов вируса H5N1 кланды 2.3.2.1.

Впервые вирусы кланды 2.3.2.1 были выделены от белокрылой цапли в Гонконге [26]. Затем вирусы данной кланды широко распространились в Азии, и в 2011–2012 гг. была отмечена циркуляция новых генетических вариантов данной кланды – субклад 2.3.2.1a и 2.3.2.1b. В 2014–2015 гг. представители кланды 2.3.2.1a были выделены в Бангладеш, Бутане, Индии и Индонезии, выделения же кланды 2.3.2.1b не отме-

чено. Однако ранее социркуляция этих вариантов вируса H5N1 привела к их реассортации, появлению и распространению во Вьетнаме в 2012 г. кланды 2.3.2.1c, которая затем стала преобладающей [10]. Также выделение вируса H5N1 кланды 2.3.2.1c регистрировалось в 2010 г. в Европе, среди сельскохозяйственной и дикой птицы в Болгарии и Румынии, но данные случаи были спорадическими и развития не получили [16]. Глобальное распространение в 2014–2015 гг. получили вирусы гриппа кланды 2.3.2.1c, которые являются реассортантами между субтипами H5N1 и H9N2 по сегменту PB2 [15]. Выделение вирусов данной кланды было зарегистрировано во время вспышек среди сельскохозяйственной птицы в Нигерии и Западно-Африканских странах [14], а также в Центральной, Юго-Восточной Азии и Европе [29]. Помимо вспышек среди сельскохозяйственной и дикой птицы, была также отмечена межвидовая передача вируса H5N1 кланды 2.3.2.1c, которая характеризовалась заражением человека в Канаде (A/Alberta/01/2014) [15], а также других видов млекопитающих (A/tiger/Jiangsu/01/2013) [6]. Выделение вируса гриппа кланды 2.3.2.1c было отмечено и в России.

Надо сказать, что на территории России первая эпизоотия высокопатогенного вируса гриппа H5N1 была зафиксирована в 2005 г. [12], затем в период 2005–2007 гг. были зарегистрированы вспышки на территории Западной Сибири и в Центрально-Европейской части России. Эти вспышки были вызваны генетическим вариантом вируса H5N1 кланды 2.2. [12, 17]. В 2008 г. на территории Приморского края была зафиксирована эпизоотия высокопатогенного вируса гриппа H5N1 современной циркулирующей генетической группы – кланды 2.3.2. В дальнейшем вирусы данной кланды выделялись в 2009 и 2010 гг. на территории оз. Убсу-Нур в республике Тыва [17]. Информация о циркуляции в России вируса H5N1 в 2010–2013 гг. отсутствует. Однако осенью 2014 г. на территории Алтайского края среди сельскохозяйственных птиц была зафиксирована вспышка, вызванная штаммом вируса гриппа H5N1.

Весной 2015 г. данный субтип вируса также зафиксирован у диких птиц в Астраханской области, где была отмечена гибель диких пеликанов. От диких птиц вирус H5N1 был выделен в Забайкальском крае и республике Тыва [29]. В мае 2015 г. в ходе мониторинга вируса гриппа H5N1 несколько изолятов было выделено от диких птиц на территории Новосибирской области. Исследования показали, что данные штаммы относятся к продолжающей циркулировать кланде 2.3.2.1c (рис. 1). Филогенетический анализ данных штаммов показал их высокую степень идентичности со штаммами, выделенными в странах Африки и Европы, что позволило отнести их к Африканско-Европейской линии.

В 2014 г., наряду с циркуляцией вируса гриппа H5N1, широкое распространение вируса гриппа H5N8-субтипа в Европе и Азии поставило мировое сообщество перед вопросом о возникновении нового субтипа

Данные ВОЗ по циркуляции вируса гриппа H5 за 2014–2015 гг.

Страна	Хозяин	Генетическая линия вируса H5
Англия	C/x птица	2.3.4.4 (H5N8)
Бангладеш	C/x птица	2.3.2.1a
Болгария	Дикая птица	2.3.2.1c
Буркина-Фасо	C/x птица	2.3.2.1c
Бутан	C/x птица	2.3.2.1a
Вьетнам	C/x птица	1.1.2, 2.3.2.1c, 2.3.4.4 (H5N1/N6)
Гана	C/x птица	2.3.2.1c
Германия	C/x птица, дикая птица	2.3.4.4 (H5N8)
Гонконг	Дикая птица	2.3.4.4 (H5N6)
Египет	C/x птица, человек	2.2.1, 2.3.2.1c, 2.3.4.4 (H5N1/2/3/6/8/9)
Израиль	C/x птица	2.2.1, 2.2.1.2
Индия	C/x птица, дикая птица	2.3.2.1a, 2.3.2.1c
Индонезия	C/x птица, человек	2.1.3.2a, 2.3.2.1c
Иран	C/x птица	неизвестна
Италия	C/x птица	2.3.4.4 (H5N8)
Казахстан	Дикая птица	2.3.2.1c
Камбоджа	C/x птица, человек	1.1.2, 2.3.2.1, 2.3.2.1c
Канада	C/x птица, дикая птица	2.3.4.4 (H5N1/2/8)
КНДР	C/x птица	неизвестна
Китай	C/x птица, человек	2.3.2.1, 2.3.2.1c, 2.3.4.4 (H5N1/2/3/6/8/9)
Кот-д'Ивуар	C/x птица	2.3.2.1c
Лаос	C/x птица	2.3.2.1c, 2.3.4.4 (H5N8)
Ливия	C/x птица	2.2.1
Мьянма	C/x птица	2.3.4.2
Нигер	C/x птица	2.3.2.1c
Нигерия	C/x птица	2.3.2.1c
Нидерланды	C/x птица, дикая птица	2.3.4.4 (H5N8)
Палестина	C/x птица	2.2.1, 2.2.1.2
Россия	C/x птица, дикая птица	2.3.2.1c, 2.3.4.4 (H5N8)
Румыния	Дикая птица	2.3.2.1c
США	C/x птица, дикая птица	2.3.4.4 (H5N1/2/8)
Турция	C/x птица	2.3.2.1c
Южная Корея	C/x птица, дикая птица	2.3.4.4 (H5N8)
Япония	C/x птица, дикая птица	2.3.4.4 (H5N8)

вируса гриппа с пандемическим потенциалом.

Выделение высокопатогенного вируса гриппа А(Н5N8) регистрируется с 2010 г., когда в Китае впервые была зафиксирована изоляция вируса гриппа этого субтипа от домашней утки [30]. Широкое распространение данный субтип ВГА получил в 2014 г., когда стали поступать сообщения о гибели домашней

птицы на территории Юго-Восточной Азии, Европы и США. С начала 2014 г. в азиатской части были зафиксированы вспышки среди домашних и диких птиц на территории Южной Кореи, Китая и Японии [5, 8, 9, 11]. Был выделен и описан ряд штаммов Н5N8, которые представляли собой новый реассортант трех субтипов: H4N2 (A/duck/Hunan/8-19/2009),

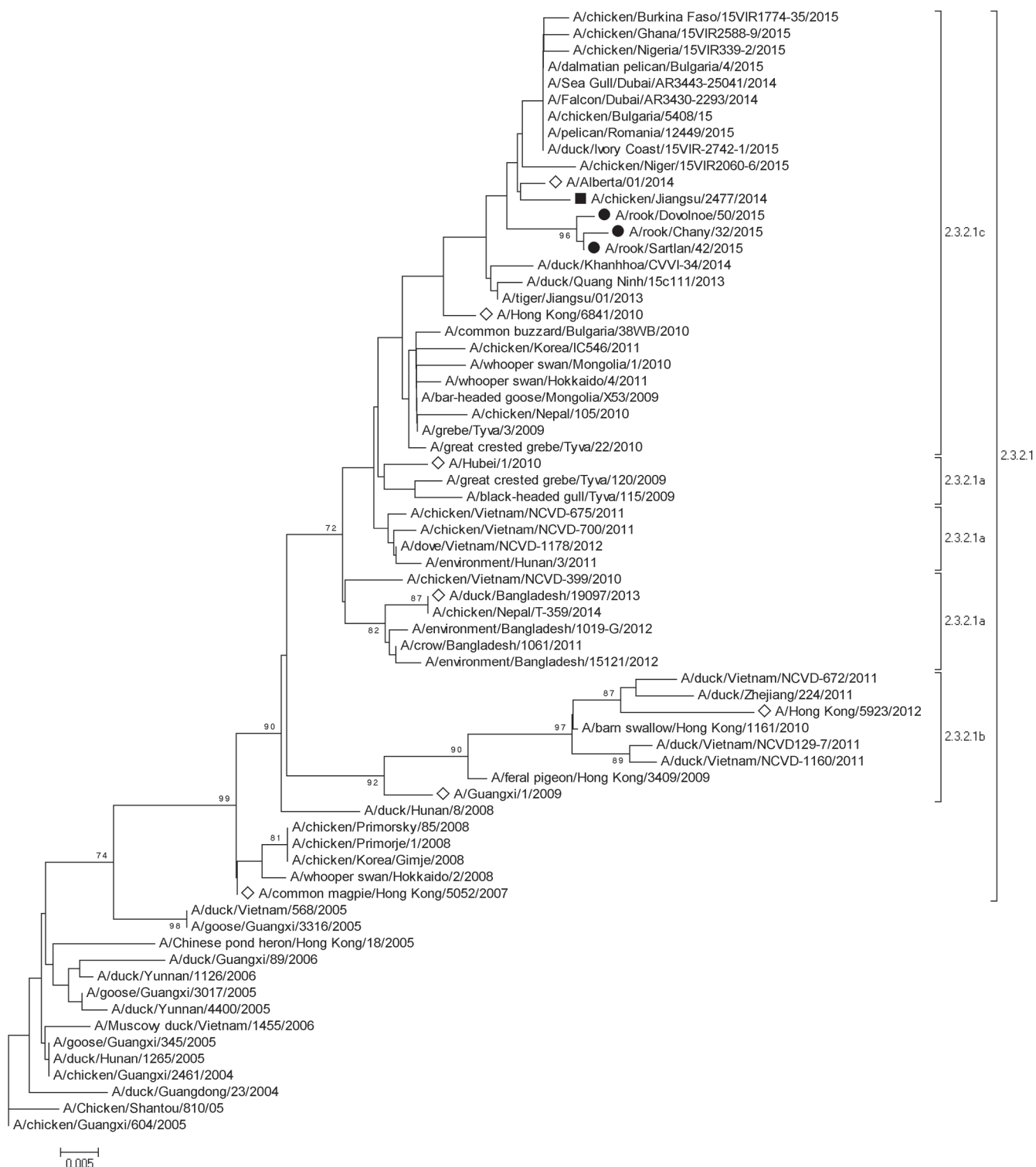


Рис. 1. Филогенетическое дерево гена НА штаммов вируса гриппа А(Н5N1). Штаммы, выделенные на территории Новосибирской области отмечены кружками. Референс-штаммы, использованные для определения генетических групп/подгрупп отмечены ромбами. Штамм реассортант (H5N1-H9N2 2014) отмечен квадратом. Филогенетическое дерево построено с помощью программного обеспечения MEGA версии 5.0 (www.megasoftware.net/) с использованием метода neighbor-joining (1,000 повторов) с Kimura 2-parameter model

H5N8 (A/duck/Jiangsu/k1203/2010) и H11N9 (A/environment/Jiangxi/28/2009) [30]. В Европе с ноября 2014 г. высокопатогенный вирус гриппа H5N8 поразила фермы домашней птицы на территории Германии, Венгрии, Италии, в Нидерландах и Англии [29]. Предположительно, после первой вспышки в январе 2014 г. в Южной Корее вирус распространился в Европу перелетными птицами. Это подтверждается выделением штамма данного субтипа вируса от нескольких видов диких птиц [3, 22]. На этот факт также указывает выделение вируса гриппа H5N8-субтипа на территории Канады и США [7, 29].

На территории Российской Федерации вирус H5N8 был выделен от дикой утки в октябре 2014 г. в ходе мониторинга гриппа птиц на территории республики Саха (Якутия) в районе поселка Белая Гора [1, 13]. Исследования штамма A/wigeon/Sakha/1/2014 (H5N8) показали его высокую инфекционность и патогенность для некоторых видов лабораторных животных. Филогенетический анализ гена НА выделенного штамма и штаммов других субтипов H5 указывает на его принадлежность к генетической кладе 2.3.4.4 (линия Фуджиан-подобных вирусов клады 2.3.4), рис. 2. Таким образом, на территории России в 2014–2015 гг. циркулировали две генетические линии высокопатогенного вируса гриппа. Осенью 2014 г. на территории республики Саха (Якутия) был выделен высокопатогенный вирус гриппа H5N8 генетической клады 2.3.4.4, а весной 2015 г. был зарегистрирован ряд вспышек среди диких и сельскохозяйственных птиц, вызванных высокопатогенным вирусом гриппа

H5N1 клады 2.3.2.1.с.

Проблема распространения высокопатогенного вируса гриппа H5N1 не теряет своей актуальности. С момента своего появления H5N1 распространился по многим странам и континентам, вызывая вспышки среди сельскохозяйственных животных, а также случаи заболевания и гибели людей. В связи с этим особое внимание необходимо уделять вопросам экологии и эволюции этого вируса. С этой целью на территории России была сформирована комплексная система мониторинга ВГА. В данной программе участвуют ГНЦ ВБ «Вектор» и 37 региональных учреждений Роспотребнадзора. Региональные учреждения Роспотребнадзора организуют взаимодействие с местными лечебными учреждениями и ветеринарной службой, которые собирают биологический материал от птиц и животных и направляют его для дифференциальной диагностики в региональный Центр гигиены и эпидемиологии. Все пробы, в которых обнаруживается РНК вируса гриппа А, направляются в ГНЦ ВБ «Вектор» для изоляции вируса гриппа и углубленного изучения. Только за 2014–2015 гг. было собрано и исследовано около 13000 образцов биологического материала от диких и домашних птиц, свиней и морских млекопитающих. Данная система мониторинга позволила своевременно выявить циркуляцию на территории России высокопатогенного вируса гриппа H5N1 и H5N8-субтипов, продолжающих циркулировать в северном полушарии [29].

Выделение высокопатогенного вируса гриппа в отдельных регионах России указывает на несомнен-

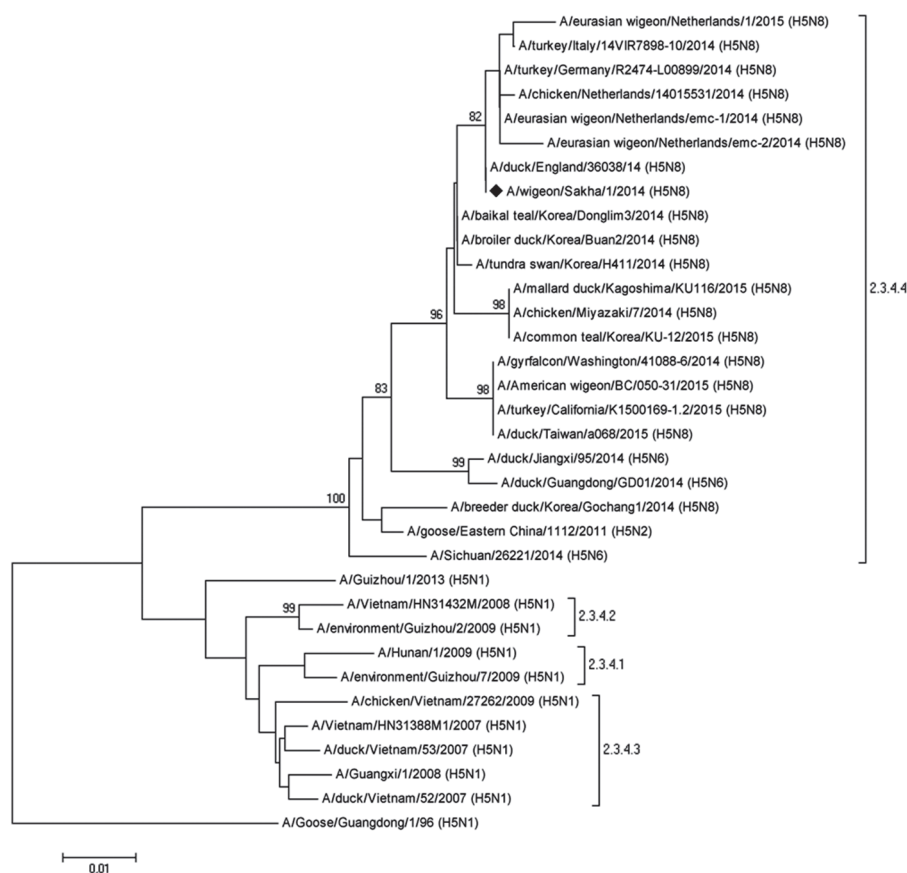


Рис. 2. Филогенетическое дерево гена гемагглютинина НА штамма A/wigeon/Sakha/1/2014 (H5N8). Филогенетическое дерево построено с помощью программного обеспечения MEGA версии 5.0 (www.megasoftware.net/) с использованием метода neighbor-joining (1,000 повторов) с Kimura 2-parameter model

ную важность этих территорий в экологии вируса гриппа. Так, например, территория Республики Саха, где в 2014 г. был выделен вирус гриппа H5N8, располагается на пересечении нескольких пролетных путей диких птиц. На территории республики обитает более 300 видов диких птиц, из которых около 220 являются мигрирующими [23]. Это указывает на широкие территориальные связи различных видов птиц, в частности водоплавающих, которые являются основным резервуаром вируса гриппа птиц [24]. Выделение штамма A/wigeon/Sakha/1/2014 (H5N8) в России, очевидно, указывает на его распространение мигрирующими дикими птицами из Юго-Восточной Азии. Он, предположительно, был занесен в 2014–2015 гг. в Европу и Северную Америку [21, 22].

На территории Новосибирской области, где весной 2015 г. нами был выделен ряд штаммов вируса гриппа H5N1, также расположено огромное количество рек и озер, находящихся на путях миграции многих видов птиц и являющихся гнездовыми ареалами большого числа видов, экологически связанных с водоемами. Территориальные связи западно-сибирских птиц, формирующиеся в процессе сезонных миграций, весьма обширны. На юге Западной Сибири сходятся миграционные потоки птиц, зимующих в различных регионах мира – Европе, Африке, на Ближнем Востоке и в Средней Азии, Индостане и Юго-Восточной Азии. Таким образом, юг Западной Сибири представляет собой территорию, на которой гнездятся и останавливаются во время перелетов миллионы птиц [2]. Территорию юга Западной Сибири пересекают три перелетных пути, основным из которых является Центрально-Азиатский.

Хронология и характер вспышек высокопатогенного вируса H5N1 и H5N8 в Юго-Восточной Азии, Европе, Северной Америке и появление его на территории России в очередной раз указывает на ключевую роль диких перелетных птиц в переносе вируса гриппа. Представленные данные филогенетического анализа новых изолятов вируса гриппа птиц H5 с учетом путей миграции позволяют сделать предположение, что в районах Северной Азии происходит обмен вирусами гриппа между птицами, мигрирующими по различным пролетным путям.

Можно предположить, что вирус гриппа H5N8 клады 2.3.4.4 был перенесен дикими птицами из Кореи вместе с птицами, мигрирующими по Восточно-Азиатскому пути, проник в северные районы Республики Саха, затем по Восточно-Атлантическому пути распространился среди домашней птицы в странах Западной Европы и Северной Америки, используя приполярный путь миграции через Российское побережье Северного Ледовитого океана. Эта гипотеза также подтверждается проведенными ранее исследованиями [1, 7, 13, 21, 22]. При анализе имеющейся информации можно предположить, что вирусы гриппа H5N1 клады 2.3.2.1с распространяются в обоих направлениях между Юго-Восточной Азией, Европой и Африкой с ди-

кими птицами, которые используют миграционные маршруты, пересекающиеся и проходящие через территорию Западной Сибири [20], что, в свою очередь, также согласуется с предложенной ранее гипотезой. Вирус гриппа H5N1 на птицах, мигрирующих по Восточно- или Центрально-Азиатскому пути из стран Южной Азии (Вьетнам, Бангладеш) попадает в районы Сибири, откуда проникает с миграцией птиц по Восточно-Африканскому или Черноморскому пути на Аравийский полуостров и в страны Восточной Европы (Болгария, Румыния) и, в конечном итоге, обнаруживается в странах Центральной и Западной Африки (Нигерия, Кот-д'Ивуар, Буркина-Фасо). Таким образом, в 2015 г. сформировался Европейско-Африканский кластер вируса гриппа H5N1 клады 2.3.2.1с.

Информация о видах диких птиц, от которых были выделены изучаемые вирусы гриппа, указывает на возможное дальнейшее распространение этого вируса по территории России, а также в соседние государства, так как все эти виды являются мигрирующими. Важно отметить, что большинство вирусов H5N1 выделены в России от клинически здоровых грачей, следовательно, в организме птиц вирус H5N1 может сохраняться, не вызывая заболевания, что также способствует географическому распространению вируса гриппа, а равно сохранению угрозы возникновения новых вспышек.

На сегодняшний день в России не зарегистрировано ни одного случая заражения человека вирусом гриппа H5N8 или H5N1, но продолжающаяся циркуляция данных субтипов ВГА в мире и регулярно поступающие сообщения о заражении людей подчеркивают важность комплексного мониторинга ВГА с целью своевременного выявления его современных циркулирующих вариантов и принятия соответствующих мер по контролю над распространением вируса гриппа птиц на территории Российской Федерации.

Прогноз. Несомненно, мониторинг высокопатогенного вируса гриппа необходимо проводить в местах, наиболее важных в аспекте распространения вируса гриппа. Так, на территории России можно выделить несколько ключевых регионов, которые играют особую роль в экологии вируса гриппа. Выделение ВГА на территории Дальнего Востока показало, что она связана миграционными маршрутами диких птиц не только со странами Юго-Восточной Азии, но и с североамериканским континентом, и в 2016 г. во время весенней миграции диких птиц возможен повторный занос ВГА на территорию России. Среди высокопатогенных штаммов наиболее вероятно появление на Дальнем Востоке вируса H5N1 клады 2.3.2.1, так как представители данной генетической группы продолжают широко циркулировать в ряде стран Юго-Восточной Азии, хотя не исключен занос других вариантов вируса гриппа H5-субтипа, выделение которых отмечено в последние месяцы [29]. Так, до сих пор сохраняется возможность повторного выделения ВГА H5N8, однако в последнее

время регистрация данного субтипа в мире носит спорадический характер и занос его на территорию России менее вероятен.

Особое внимание необходимо обратить на территорию республики Тыва, где также сохраняется возможность возникновения повторной вспышки вируса гриппа H5N1 в весенний период. В данном регионе с 2005 г. неоднократно регистрировалась гибель диких птиц [17], вызванная высокопатогенным ВГА, что говорит о том, что физико-географические характеристики, а также особенности орнитофауны данной территории создают благоприятные условия для распространения вируса гриппа, таким образом, сохраняя угрозу возникновения в 2016 г. повторной вспышки.

Природные особенности Новосибирской области также создают предпосылки для сохранения и распространения высокопатогенного ВГА, переносимого дикими птицами. На данную территорию возможен занос вируса как с восточной части России, так и с западной, что и было отмечено в 2015 г., поэтому в 2016 г. возможны повторные вспышки H5N1 как в Новосибирской области, так и в регионах, расположенных на основных миграционных маршрутах диких птиц, проходящих через данную территорию, среди которых можно выделить Краснодарский край и Астраханскую область, где в 2015 г. была отмечена гибель диких птиц.

Таким образом, в 2016 г., особенно в весенний период, наиболее вероятны повторные вспышки вируса гриппа H5N1 клэды 2.3.2.1 на территории Дальнего Востока, Республики Тыва, Новосибирской, Астраханской областей и в Краснодарском крае. Тем не менее возникновение вспышек высокопатогенного ВГА возможно и осенью 2016 г., когда во время миграций на зимовку на вышеуказанных территориях будут образовываться массовые скопления диких птиц в местах их обитания и создаваться благоприятные условия для распространения ВГА. Однако ситуация по гриппу в осенний период будет, отчасти, складываться из ситуации весной 2016 г., а также многих других факторов, участвующих в экологии высокопатогенного вируса гриппа птиц.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научно-го проекта № 16-34-60073 мол.а.дк.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Марченко В.Ю., Сулопаров И.М., Колосова Н.П., Гончарова Н.И., Шиповалов А.В., Дурманов А.Г., Ильичева Т.Н., Будацыренова Л.В., Иванова В.К., Игнатьев Г.А., Ершова С.Н., Тюляхова В.С., Михеев В.Н., Рыжиков А.Б. Выделение высокопатогенного вируса гриппа А субтипа H5N8 на территории республики Саха (Якутия). *Дальневосточный журн. инф. патол.* 2015; 28:38–43.
2. Юрлов К.Т. Экология и биоценоотические связи перелетных птиц Западной Сибири. Новосибирск: Наука, 1981. 364 с.
3. Adlhoeh C., Gossner C., Koch G., Brown I., Bouwstra R., Verdonck F., Penttinen P., Harder T. Comparing introduction to Europe of highly pathogenic avian influenza viruses A(H5N8) in 2014 and A(H5N1) in 2005. *Euro Surveill.* 2014; 19(50):pii=20996. DOI: 10.2807/1560-7917.ES2014.19.50.20996.

4. Alexander D.J. A review of avian influenza in different bird species. *Vet. Microbiol.* 2000; 74(1–2):3–13. DOI: 10.1016/S0378-1135(00)00160-7.
5. Fan S., Zhou L., Wu D., Gao X., Pei E., Wang T., Gao Y., Xia X. A novel highly pathogenic H5N8 avian influenza virus isolated from a wild duck in China. *Influenza Other Respir. Viruses.* 2014; 8(6):646–53. DOI: 10.1111/iuv.12289.
6. He S., Shi J., Qi X., Huang G., Chen H., Lu C. Lethal infection by a novel reassortant H5N1 avian influenza A virus in a zoo-housed tiger. *Microbes Infect.* 2015; (1):54–61. DOI: 10.1016/j.micinf.2014.10.004.
7. Ip H.S., Torchetti M.K., Crespo R., Kohrs P., DeBruyn P., Mansfield K.G., Baszler T., Badcoe L., Bodenstein B., Shearn-Bochsler V., Killian M.L., Pedersen J.C., Hines N., Gidlewski T., Deliberto T.J., Sleeman J.M. Novel eurasian highly pathogenic avian influenza A H5 viruses in wild birds, Washington, USA, 2014. *Emerg. Infect. Dis.* 2015; 21(5):886–90. DOI: 10.3201/eid2105.142020.
8. Jeong J., Kang H.M., Lee E.K., Song B.M., Kwon Y.K., Kim H.R., Choi K.S., Kim J.Y., Lee H.J., Moon O.K., Jeong W., Choi J., Baek J.H., Joo Y.S., Park Y.H., Lee H.S., Lee Y.J. Highly pathogenic avian influenza virus (H5N8) in domestic poultry and its relationship with migratory birds in South Korea during 2014. *Vet. Microbiol.* 2014; 173(3–4):249–57. DOI: 10.1016/j.vetmic.2014.08.002.
9. Ku K.B., Park E.H., Yum J., Kim J.A., Oh S.K., Seo S.H. Highly pathogenic avian influenza A(H5N8) virus from waterfowl, South Korea, 2014. *Emerg. Infect. Dis.* 2014; 20(9):1587–8. DOI: 10.3201/eid2009.140390.
10. Lee E.K., Kang H.M., Kim K.I., Choi J.G., To T.L., Nguyen T.D., Song B.M., Jeong J., Choi K.S., Kim J.Y., Lee H.S., Lee Y.J., Kim J.H. Genetic evolution of H5 highly pathogenic avian influenza virus in domestic poultry in Vietnam between 2011 and 2013. *Poult. Sci.* 2015; 94:650–61. DOI: 10.3382/ps/pev036.
11. Lee Y.J., Kang H.M., Lee E.K., Song B.M., Jeong J., Kwon Y.K., Kim H.R., Lee K.J., Hong M.S., Jang I., Choi K.S., Kim J.E., Lee H.J., Kang M.S., Jeong O.M., Baek J.H., Joo Y.S., Park Y.H., Lee H.S. Novel reassortant influenza A(H5N8) viruses, South Korea, 2014. *Emerg. Infect. Dis.* 2014; 20(6):1087–9. DOI: 10.3201/eid2006.140233.
12. Lvov D.K., Shchelkanov M.Y., Prilipov A.G., Vlasov N.A., Fedyakina I.T., Deryabin P.G., Alkhovsky S.V., Grebennikova T.V., Zaberezhny A.D., Suarez D.L. Evolution of highly pathogenic avian influenza H5N1 virus in natural ecosystems of northern Eurasia (2005–08). *Avian Dis.* 2010; 54(1 Suppl):483–95. DOI: 10.1637/8893-042509-Review.1.
13. Marchenko V.Y., Susloparov I.M., Kolosova N.P., Goncharova N.I., Shipovalov A.V., Durymanov A.G., Ilyicheva T.N., Budatsirenova L.V., Ivanova V.K., Ignatyev G.A., Ershova S.N., Tulyahova V.S., Mikheev V.N., Ryzhikov A.B. Influenza A(H5N8) virus isolation in Russia, 2014. *Arch. Virol.* 2015; 160(11):2857–60. DOI: 10.1007/s00705-015-2570-4.
14. Monne I., Meseko C., Joannis T., Shittu I., Ahmed M., Tassoni L. (2015). Highly pathogenic avian influenza A(H5N1) virus in poultry, Nigeria, 2015. *Emerg. Infect. Dis.* 2015; 21(7):1275–7. DOI: 10.3201/eid2107.150421.
15. Pabbaraju K., Tellier R., Wong S., Li Y., Bastien N., Tang J.W., Drews S.J., Jang Y., Davis C.T., Fonseca K., Tipples G.A. Full-genome analysis of avian influenza A(H5N1) virus from a human, North America. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 20:887–91. DOI: 10.3201/eid2005.140164.
16. Reid S.M., Shell W.M., Barboi G., Onita I., Turcitu M., Cioranu R., Marinova-Petkova A., Goujgoulova G., Webby R.J., Webster R.G., Russell C., Slomka M.J., Hanna A., Banks J., Alton B., Barrass L., Irvine R.M., Brown I.H. First reported incursion of highly pathogenic notifiable avian influenza A H5N1 viruses from clade 2.3.2 into European poultry. *Transbound. Emerg. Dis.* 2011; 58(1):76–8. DOI: 10.1111/j.1865-1682.2010.01175.x.
17. Sharshov K., Romanovskaya A., Uzhachenko R., Durymanov A., Zaykovskaya A., Kurskaya O., Ilinykh P., Silko N., Kulak M., Alekseev A., Zolotykh S., Shestopalov A., Drozdov I. Genetic and biological characterization of avian influenza H5N1 viruses isolated from wild birds and poultry in Western Siberia. *Arch. Virol.* 2010; 155(7):1145–50. DOI: 10.1007/s00705-010-0676-2.
18. Tong S., Li Y., Rivailler P., Conrardy C., Castillo D.A., Chen L.M., Recuenco S., Ellison J.A., Davis C.T., York I.A., Turmelle A.S., Moran D., Rogers S., Shi M., Tao Y., Weil M.R., Tang K., Rowe L.A., Sammons S., Xu X., Frace M., Lindblade K.A., Cox N.J., Anderson L.J., Rupprecht C.E., Donis R.O. A distinct lineage of influenza A virus from bats. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2012; 109:4269–74. DOI: 10.1073/pnas.1116200109.
19. Tong S., Zhu X., Li Y., Shi M., Zhang J., Bourgeois M., Yang H., Chen X., Recuenco S., Gomez J., Chen L.M., Johnson A., Tao Y., Dreyfus C., Yu W., McBride R., Carney P.J., Gilbert A.T., Chang J., Guo Z., Davis C.T., Paulson J.C., Stevens J., Rupprecht C.E., Holmes E.C., Wilson I.A., Donis R.O. New world bats harbor diverse influenza A viruses. *PLoS Pathog.* 2013; 9(10):e1003657. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003657.
20. Veen J., Yurlov A.K., Delany S.N., Mihantiev A.I., Selivanova M.A., Boere G.C. An atlas of movements of Southwest Siberian waterbirds. *Wetlands International*; 2005. 60 p. Available

from: <http://www.wetlands.org/Portals/0/publications/Analyses/West%20Siberia%20flyway.pdf>.

21. Verhagen J.H., Herfst S., Fouchier R.A.M. How a virus travels the world. *Science*. 2015; 347(6222):616–7. DOI: 10.1126/science.aaa6724.

22. Verhagen J.H., van der Jeugd H.P., Nolet B.A., Slaterus R., Kharitonov S.P., de Vries P.P., Vuong O., Majoer F., Kuiken T., Fouchier R.A. Wild bird surveillance around outbreaks of highly pathogenic avian influenza A(H5N8) virus in the Netherlands, 2014, within the context of global flyways. *Euro Surveill*. 2015; 20(12):pii=21069. DOI: 10.2807/1560-7917.ES2015.20.12.21069

23. Vladimirtseva M.V., Germogenov N.I. Birds of Yakutia: Fauna Diversity, Ecology, Role in Ecosystems and Human Life. *J. Biodivers. Endanger Species*. 2013; 1:114. DOI: 10.4172/2332-2543.1000114.

24. Webster R.G., Bean W.J., Gorman O.T., Chambers T.M., Kawaoka Y. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol. Rev*. 1992; 56(1):152–79.

25. WHO, OIE, FAO, H5N1 Evolution Working Group. Toward a unified nomenclature system for highly pathogenic avian influenza virus (H5N1). *Emerg. Infect. Dis*. 2008; 14(7):e1. DOI: 10.3201/eid1407.071681.

26. WHO/OIE/FAO H5N1 Evolution Working Group. Continued evolution of highly pathogenic avian influenza A(H5N1): Updated nomenclature. *Influenza Other Respir. Viruses*. 2012; 6(1):1–5. DOI: 10.1111/j.1750-2659.2011.00298.x.

27. World Health Organization (WHO). Antigenic and genetic characteristics of zoonotic influenza viruses and candidate vaccine viruses developed for potential use in human vaccines. September 2015 [cited 20.10.2015]. Available from: http://www.who.int/influenza/vaccines/virus/characteristics_virus_vaccines/en.

28. World Health Organization (WHO). Cumulative number of confirmed human cases of avian influenza A(H5N1) reported to WHO. [Cited 14.12.2015]. Available from: http://www.who.int/influenza/human_animal_interface/H5N1_cumulative_table_archives/en/.

29. World organization for animal health (OIE). Update on highly pathogenic avian influenza in animals (type h5 and h7). Paris: OIE; 2015 [cited 11.01.2016]. Available from: <http://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/update-on-avian-influenza/2016/>.

30. Wu H., Peng X., Xu L., Jin C., Cheng L., Lu X., Xie T., Yao H., Wu N. Novel reassortant influenza A(H5N8) viruses in domestic ducks, eastern China. *Emerg. Infect. Dis*. 2014; 20(8):1315–8. DOI: 10.3201/eid2008.140339.

References

1. Marchenko V.Yu., Susloparov I.M., Kolosova N.P., Goncharova N.I., Shipovalov A.V., Durymanov A.G., Il'yicheva T.N., Budatsirenova L.V., Ivanova V.K., Ignat'ev G.A., Ershova S.N., Tyulyakhova V.S., Mikhchev V.N., Ryzhikov A.B. [Isolation of highly pathogenic A flu virus, subtype H5N8, in the territory of the Republic of Sakha (Yakutia)]. *Dal'nevost. Zh. Infek. Patol*. 2015; 28:38–43.

2. Yurlov K.T. [Ecology and Biocenotic Relations of Migrating Birds Habitat in West Siberia]. Novosibirsk: "Nauka"; 1981. 364 p.

3. Adlhoef C., Gossner C., Koch G., Brown I., Bouwstra R., Verdonck F., Penttinen P., Harder T. Comparing introduction to Europe of highly pathogenic avian influenza viruses A(H5N8) in 2014 and A(H5N1) in 2005. *Euro Surveill*. 2014; 19(50):pii=20996. DOI: 10.2807/1560-7917.ES2014.19.50.20996.

4. Alexander D.J. A review of avian influenza in different bird species. *Vet. Microbiol*. 2000; 74(1–2):3–13. DOI: 10.1016/S0378-1135(00)00160-7.

5. Fan S., Zhou L., Wu D., Gao X., Pei E., Wang T., Gao Y., Xia X. A novel highly pathogenic H5N8 avian influenza virus isolated from a wild duck in China. *Influenza Other Respir. Viruses*. 2014; 8(6):646–53. DOI: 10.1111/iuv.12289.

6. He S., Shi J., Qi X., Huang G., Chen H., Lu C. Lethal infection by a novel reassortant H5N1 avian influenza A virus in a zoo-housed tiger. *Microbes Infect*. 2015; 1(1):54–61. DOI: 10.1016/j.micinf.2014.10.004.

7. Ip H.S., Torchetti M.K., Crespo R., Kohrs P., DeBruyn P., Mansfield K.G., Baszler T., Badcoe L., Bodenstein B., Shearn-Bochsler V., Killian M.L., Pedersen J.C., Hines N., Gidlewski T., Deliberto T.J., Sleeman J.M. Novel Eurasian highly pathogenic avian influenza A H5 viruses in wild birds, Washington, USA, 2014. *Emerg. Infect. Dis*. 2015; 21(5):886–90. DOI: 10.3201/eid2105.142020.

8. Jeong J., Kang H.M., Lee E.K., Song B.M., Kwon Y.K., Kim H.R., Choi K.S., Kim J.Y., Lee H.J., Moon O.K., Jeong W., Choi J., Baek J.H., Joo Y.S., Park Y.H., Lee H.S., Lee Y.J. Highly pathogenic avian influenza virus (H5N8) in domestic poultry and its relationship with migratory birds in South Korea during 2014. *Vet. Microbiol*. 2014; 173(3–4):249–57. DOI: 10.1016/j.vetmic.2014.08.002.

9. Ku K.B., Park E.H., Yum J., Kim J.A., Oh S.K., Seo S.H. Highly pathogenic avian influenza A(H5N8) virus from waterfowl, South Korea, 2014. *Emerg. Infect. Dis*. 2014; 20(9):1587–8. DOI: 10.3201/eid2009.140390.

10. Lee E.K., Kang H.M., Kim K.I., Choi J.G., To T.L., Nguyen T.D., Song B.M., Jeong J., Choi K.S., Kim J.Y., Lee H.S., Lee Y.J., Kim J.H. Genetic evolution of H5 highly pathogenic avian influenza virus in domestic poultry in Vietnam between 2011 and 2013. *Poult. Sci*. 2015; 94:650–61. DOI: 10.3382/ps/pev036.

11. Lee Y.J., Kang H.M., Lee E.K., Song B.M., Jeong J., Kwon Y.K., Kim H.R., Lee K.J., Hong M.S., Jang I., Choi K.S., Kim J.E., Lee H.J., Kang M.S., Jeong O.M., Baek J.H., Joo Y.S., Park Y.H., Lee H.S. Novel reassortant influenza A(H5N8) viruses, South Korea, 2014. *Emerg. Infect. Dis*. 2014; 20(6):1087–9. DOI: 10.3201/eid2006.140233.

12. Lvov D.K., Shchelkanov M.Y., Prilipov A.G., Vlasov N.A.,

Fedyakina I.T., Deryabin P.G., Alkhovsky S.V., Grebennikova T.V., Zaberezhny A.D., Suarez D.L. Evolution of highly pathogenic avian influenza H5N1 virus in natural ecosystems of northern Eurasia (2005–08). *Avian Dis*. 2010; 54(1 Suppl):483–95. DOI: 10.1637/8893-042509-Review.1.

13. Marchenko V.Y., Susloparov I.M., Kolosova N.P., Goncharova N.I., Shipovalov A.V., Durymanov A.G., Il'yicheva T.N., Budatsirenova L.V., Ivanova V.K., Ignatyev G.A., Ershova S.N., Tyulyakhova V.S., Mikhchev V.N., Ryzhikov A.B. Influenza A(H5N8) virus isolation in Russia, 2014. *Arch. Virol*. 2015; 160(11):2857–60. DOI: 10.1007/s00705-015-2570-4.

14. Monne I., Meseko C., Joannis T., Shittu I., Ahmed M., Tassoni L. (2015). Highly pathogenic avian influenza A(H5N1) virus in poultry, Nigeria, 2015. *Emerg. Infect. Dis*. 2015; 21(7):1275–7. DOI: 10.3201/eid2107.150421.

15. Pabbaraju K., Tellier R., Wong S., Li Y., Bastien N., Tang J. W., Drews S.J., Jang Y., Davis C.T., Fonseca K., Tipples G.A. Full-genome analysis of avian influenza A(H5N1) virus from a human, North America. *Emerg. Infect. Dis*. 2013; 20:887–91. DOI: 10.3201/eid2005.140164.

16. Reid S.M., Shell W.M., Barboi G., Onita I., Turcitu M., Cioranu R., Marinova-Petkova A., Goujgoulova G., Webby R.J., Webster R.G., Russell C., Slomka M.J., Hanna A., Banks J., Alton B., Barrass L., Irvine R.M., Brown I.H. First reported incursion of highly pathogenic notifiable avian influenza A H5N1 viruses from clade 2.3.2 into European poultry. *Transbound. Emerg. Dis*. 2011; 58(1):76–8. DOI: 10.1111/j.1865-1682.2010.01175.x.

17. Sharshov K., Romanovskaya A., Uzhachenko R., Durymanov A., Zaykovskaya A., Kurskaya O., Il'yikh P., Silko N., Kulak M., Alekseev A., Zolotykh S., Shestopalov A., Drozdov I. Genetic and biological characterization of avian influenza H5N1 viruses isolated from wild birds and poultry in Western Siberia. *Arch Virol*. 2010; 155(7):1145–50. DOI: 10.1007/s00705-010-0676-2.

18. Tong S., Li Y., Rivailler P., Conrardy C., Castillo D.A., Chen L-M., Recuenco S., Ellison J.A., Davis C.T., York I.A., Turmelle A.S., Moran D., Rogers S., Shi M., Tao Y., Weil M.R., Tang K., Rowe L.A., Sammons S., Xu X., Frace M., Lindblade K.A., Cox N.J., Anderson L.J., Rupprecht C.E., Donis R.O. A distinct lineage of influenza A virus from bats. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2012; 109:4269–74. DOI: 10.1073/pnas.1116200109.

19. Tong S., Zhu X., Li Y., Shi M., Zhang J., Bourgeois M., Yang H., Chen X., Recuenco S., Gomez J., Chen L-M., Johnson A., Tao Y., Dreyfus C., Yu W., McBride R., Carney P.J., Gilbert A.T., Chang J., Guo Z., Davis C.T., Paulson J.C., Stevens J., Rupprecht C.E., Holmes E.C., Wilson I.A., Donis R.O. New world bats harbor diverse influenza A viruses. *PLoS Pathog*. 2013; 9(10):e1003657. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003657.

20. Veen J., Yurlov A.K., Delany S.N., Miantiev A.I., Selivanova M.A., Boere G.C. An atlas of movements of Southwest Siberian waterbirds. Wetlands International; 2005. 60 p. Available from: <http://www.wetlands.org/Portals/0/publications/Analyses/West%20Siberia%20flyway.pdf>.

21. Verhagen J.H., Herfst S., Fouchier R.A.M. How a virus travels the world. *Science*. 2015; 347(6222):616–7. DOI: 10.1126/science.aaa6724.

22. Verhagen J.H., van der Jeugd H.P., Nolet B.A., Slaterus R., Kharitonov S.P., de Vries P.P., Vuong O., Majoer F., Kuiken T., Fouchier R.A. Wild bird surveillance around outbreaks of highly pathogenic avian influenza A(H5N8) virus in the Netherlands, 2014, within the context of global flyways. *Euro Surveill*. 2015; 20(12):pii=21069. DOI: 10.2807/1560-7917.ES2015.20.12.21069

23. Vladimirtseva M.V., Germogenov N.I. Birds of Yakutia: Fauna Diversity, Ecology, Role in Ecosystems and Human Life. *J. Biodivers. Endanger Species*. 2013; 1:114. DOI: 10.4172/2332-2543.1000114.

24. Webster R.G., Bean W.J., Gorman O.T., Chambers T.M., Kawaoka Y. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol. Rev*. 1992; 56(1):152–79.

25. WHO, OIE, FAO, H5N1 Evolution Working Group. Toward a unified nomenclature system for highly pathogenic avian influenza virus (H5N1). *Emerg. Infect. Dis*. 2008; 14(7):e1. DOI: 10.3201/eid1407.071681.

26. WHO/OIE/FAO H5N1 Evolution Working Group. Continued evolution of highly pathogenic avian influenza A(H5N1): Updated nomenclature. *Influenza Other Respir. Viruses*. 2012; 6(1):1–5. DOI: 10.1111/j.1750-2659.2011.00298.x.

27. World Health Organization (WHO). Antigenic and genetic characteristics of zoonotic influenza viruses and candidate vaccine viruses developed for potential use in human vaccines. September 2015 [cited 20.10.2015]. Available from: http://www.who.int/influenza/vaccines/virus/characteristics_virus_vaccines/en.

28. World Health Organization (WHO). Cumulative number of confirmed human cases of avian influenza A(H5N1) reported to WHO. [Cited 14.12.2015]. Available from: http://www.who.int/influenza/human_animal_interface/H5N1_cumulative_table_archives/en/.

29. World organization for animal health (OIE). Update on highly pathogenic avian influenza in animals (type h5 and h7). Paris: OIE; 2015 [cited 11.01.2016]. Available from: <http://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/update-on-avian-influenza/2016/>.

30. Wu H., Peng X., Xu L., Jin C., Cheng L., Lu X., Xie T., Yao H., Wu N. Novel reassortant influenza A(H5N8) viruses in domestic ducks, eastern China. *Emerg. Infect. Dis*. 2014; 20(8):1315–8. DOI: 10.3201/eid2008.140339.

Authors:

Marchenko V.Yu., Susloparov I.M., Shipovalov A.V., Mikhchev V.N., Ryzhikov A.B. State Research Centre of Virology and Biotechnology "Vector". Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru

Об авторах:

Марченко В.Ю., Суслопаров И.М., Шиповалов А.В., Михеев В.Н., Рыжиков А.Б. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., п. Кольцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru

Поступила 18.01.16.

С.В.Балахонов¹, А.Ю.Попова^{2,3}, А.И.Мищенко⁴, Е.П.Михайлов⁴, Е.Б.Ежлова², Ю.В.Демина²,
А.В.Денисов⁴, Е.Н.Рождественский⁴, Г.Х.Базарова⁴, Л.В.Щучинов⁵, И.В.Зарубин⁵, Ж.Е.Семёнова⁶,
Н.М.Маденова⁶, Д.К.Дюсенбаев⁶, М.Б.Ярыгина¹, Е.В.Чипанин¹, С.А.Косилко¹, А.К.Носков¹,
В.М.Корзун¹

СЛУЧАЙ ЗАБОЛЕВАНИЯ ЧЕЛОВЕКА ЧУМОЙ В КОШ-АГАЧСКОМ РАЙОНЕ РЕСПУБЛИКИ АЛТАЙ В 2015 г. СООБЩЕНИЕ 1. КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ И ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

¹ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт», Иркутск, 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;
⁴ФКУЗ «Алтайская противочумная станция», Горно-Алтайск, Российская Федерация; ⁵Управление Роспотребнадзора
по Республике Алтай, Горно-Алтайск, Российская Федерация; ⁶БУЗ Республики Алтай «Кош-Агачская районная
больница», Кош-Агачский район, Российская Федерация

Цель работы – описание случая заболевания человека чумой в 2015 г. на территории Горно-Алтайского высокогорного природного очага, анализ выполненных мероприятий, связанных с локализацией и ликвидацией эпидемического очага. **Материалы и методы.** Использованы данные отчетной и первичной документации ФКУЗ «Алтайская противочумная станция», документы Управления Роспотребнадзора по Республике Алтай, материалы ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт». **Результаты и выводы.** Заражение произошло при разделке тушки серого сурка, добытого в долине р. Елангаш, на фоне напряженной эпизоотической ситуации, вызванной распространением в очаге возбудителя чумы основного подвида. Результаты исследования клинического материала, проведенного бактериологическим и молекулярно-генетическим методом, оказались отрицательными. Серологическим методом в системе РНГА/РНАг в сыворотках крови, полученных при госпитализации, выявлены специфические антитела к чумному микробу в низких титрах, расцененные как поставкациальные. В сыворотке крови, забранной через 7 дней, обнаружены антитела в высоких титрах, что позволило подтвердить клинический диагноз «Чума, бубонная форма». Благодаря эффективному взаимодействию учреждений Роспотребнадзора, медицинских организаций, органов местного самоуправления удалось не допустить дальнейшего развития антропонозного распространения чумы и в короткие сроки локализовать и ликвидировать эпидемический очаг этой опасной инфекционной болезни в Кош-Агачском районе Республики Алтай.

Ключевые слова: чума, заболевание человека, эпидемический очаг, противоэпидемические мероприятия, Горно-Алтайский высокогорный природный очаг чумы.

Корреспондирующий автор: Балахонов Сергей Владимирович, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

S.V.Balakhonov¹, A.Yu.Popova^{2,3}, A.I.Mishchenko⁴, E.P.Mikhailov⁴, E.B.Ezhlova², Yu.V.Demina², A.V.Denisov⁴,
E.N.Rozhdestvensky⁴, G.Kh.Bazarova⁴, L.V.Shchuchinov⁵, I.V.Zarubin⁵, Zh.E.Semenova⁶, N.M.Madenova⁶,
D.K.Dyusenbaev⁶, M.B.Yarygina¹, E.V.Chipanin¹, S.A.Kosilko¹, A.K.Noskov¹, V.M.Korzun¹

A Case of Human Infection with Plague in the Kosh-Agach Region of the Republic of Altai in 2015. Communication 1. Clinical-Epidemiological and Epizootiological Aspects

¹Irkutsk Research Anti-Plague Institute, Irkutsk, Russian Federation; ²Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, ³Russian Medical Academy for Post-Graduate Training, Moscow, Russian Federation;
⁴Altai Plague Control Station, Gorno-Altai, Russian Federation; ⁵Rospotrebnadzor Administration in the Republic of Altai, Gorno-Altai, Russian Federation; ⁶State-Financed Healthcare Institution of the Republic of Altai "Kosh-Agach District Hospital", Kosh-Agach Region, Russian Federation

Objective of the study is to characterize the case of human plague in the territory of Gorno-Altai high-mountain natural focus in 2015 and to analyze the initiated measures, associated with localization and elimination of epidemic focus. **Materials and methods.** Utilized are the data contained in reporting and source (primary) documentation of the FGHI "Altai Plague Control Station", records of the Rospotrebnadzor Administration in the Republic of Altai, and information collected by the FGHI "Irkutsk Research Anti-Plague Institute". **Results and conclusions.** Human infection occurred as a result of gray marmot dressing, which was caught in the Elangash River-Valley, against the background of unfavorable epizootic situation, caused by proliferation of the plague agent of main subspecies in the territory of the focus. Clinical material investigations, performed by means of bacteriological and molecular-genetic methods, showed negative findings. Applying serological method within the system of indirect hemagglutination test (IHAT)/antigen neutralization test (ANT), in blood sera, obtained at the time of hospitalization, low-titred specific antibodies to plague microbe (recognized as post-vaccinal ones) were detected. In blood serum sample, obtained 7 days later, identified were high-titer antibodies, which allowed for confirmation of clinical diagnosis - "bubonic plague". Due to efficient cooperation between Rospotrebnadzor institutions and medical facilities, as well as municipal authorities it was possible to avoid further development of anthropogenic transmission of plague; to localize and eliminate epidemic outbreak of this dangerous infectious disease in Kosh-Agach Region of the Republic of Altai in the shortest possible time.

Key words: plague, human infection, epidemic focus, anti-epidemic measures, Gorno-Altai high-mountain natural plague focus.

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

Corresponding author: Sergey V. Balakhonov, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Citation: Balakhonov S.V., Popova A.Yu., Mishchenko A.I., Mikhailov E.P., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Denisov A.V., Rozhdestvensky E.N., Bazarova G.Kh., Shchuchinov L.V., Zarubin I.V., Semenova Zh.E., Madenova N.M., Dyusenbaev D.K., Yarygina M.B., Chipanin E.V., Kosilko S.A., Noskov A.K., Korzun V.M. A Case of Human Infection with Plague in the Kosh-Agach Region of the Republic of Altai in 2015. Communication 1. Clinical-Epidemiological and Epizootiological Aspects. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; 1:55–60. (In Russ.). DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-55-60

Большая часть Кош-Агачского района Республики Алтай эндемична по чуме. Здесь расположен Горно-Алтайский высокогорный природный очаг, который представляет собой северную (российскую) часть Сайлюгемского природного очага, южная часть которого находится в Монголии [4]. В 2012–2015 гг., в связи с выявлением совместной циркуляции алтайского и основного подвидов чумного микроба, эпидемический потенциал очага, ранее считавшийся невысоким, резко возрос. За это время учреждениями Роспотребнадзора были приняты разносторонние меры по снижению потенциальных рисков заражения людей этой опасной инфекционной болезнью. Однако распространенный среди местного населения охотопромысел (как лицензионный, так и браконьерский) и употребление в пищу эпидемически значимого промыслового серого сурка не позволили в полной мере их минимизировать: в августе 2015 г. в природном очаге был зарегистрирован второй случай заражения чумой человека.

Цель настоящего сообщения – описание случая заболевания человека чумой в 2015 г. на территории Горно-Алтайского высокогорного природного очага и анализ выполненных мероприятий, связанных с локализацией и ликвидацией эпидемического очага.

В работе использованы данные отчетной и первичной документации ФКУЗ «Алтайская противочумная станция», документы Управления Роспотребнадзора по Республике Алтай, материалы ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт».

Характеристика эпизоотической и эпидемической ситуации, предшествующей заболеванию. Эпизоотические проявления в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге чумы известны с 1961 г. В течение текущего столетия наблюдается резкое увеличение эпизоотической активности очага [4]. Долгое время считалось, что эпидемический потенциал Горно-Алтайского природного очага чумы невысокий [5, 8]. Это связывали с комплексом обстоятельств, среди которых приводили избирательную вирулентность чумного микроба алтайского подвида *Yersinia pestis* ssp. *altaica*, циркулирующего в очаге.

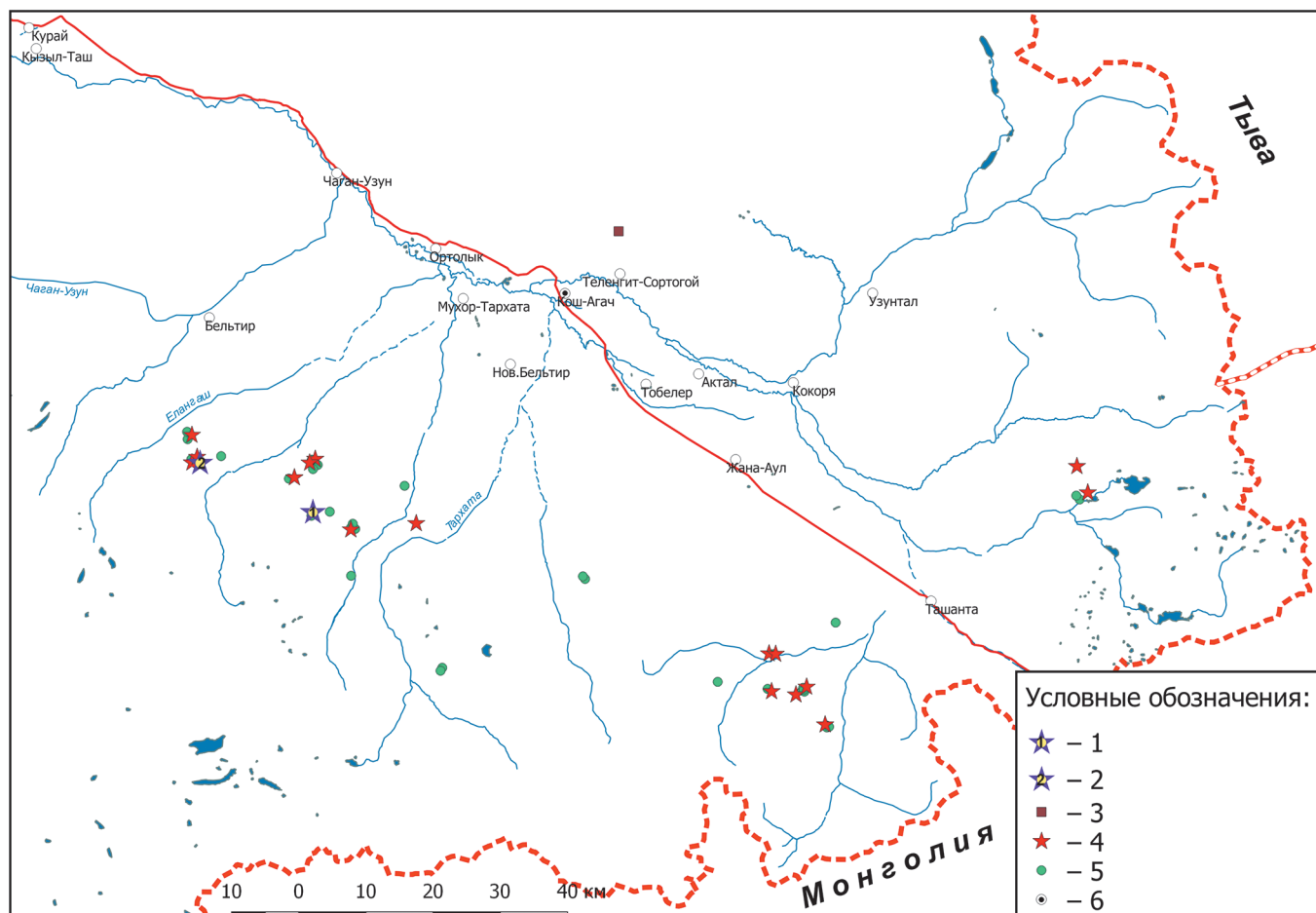
В 2012 г. в урочище Большие Сары-Гобо впервые на территории очага, был изолирован штамм возбудителя чумы основного подвида *Y. pestis* ssp. *pestis* с высокой универсальной вирулентностью [2]. Это событие заставило изменить мнение об эпидемическом потенциале очага и сделать заключение о возрастании рисков возникновения случаев заболеваний чумой среди населения [1, 3]. Следствием увеличения эпизоотической активности Горно-Алтайского высоко-

горного природного очага, появления в нем высоковирулентного варианта возбудителя основного подвида следует считать случай заболевания человека чумой (бубонная форма) в сентябре 2014 г., всестороннему анализу которого было уделено пристальное внимание [6, 7].

Эпизоотическая ситуация в 2015 г. на территории Горно-Алтайского высокогорного природного очага, предшествующая второму случаю заболевания человека чумой, оценивалась как напряженная (рисунок). К моменту заболевания локальные эпизоотии были выявлены на общей площади 302,4 кв. км в центральной части Курайского хребта (Курайский мезоочаг), в долинах рек Ирбисту и Елангаш (Тархатинский мезоочаг), в верхней части долины р. Бар-Бургазы. На последнем участке эпизоотии были обнаружены впервые, и эта территория выделена в новый мезоочаг – Талдуайрский. Из 12 изолированных штаммов чумного микроба 6 относились к основному подвиду и были получены от серого сурка и его эктопаразитов, 6 штаммов алтайского подвида выделены от монгольской пищухи и ее блох в Курайском мезоочаге. Кроме того, методом ПЦР обнаружена ДНК чумного микроба основного подвида на других участках Тархатинского мезоочага (Середина Тархаты, Правый берег Чаган-Бургазы, Кок-Озек) и в долине р. Уландрык (Уландрыкский мезоочаг). Особо акцентируем внимание на том, что протекание эпизоотии зарегистрировано в долине р. Елангаш, в районе, где был добыт серый сурок, от которого произошло заражение человека. Таким образом, на территории очага в весенне-летний период 2015 г. сложились объективные предпосылки для возникновения эпидемических осложнений. Следует отметить, что эпизоотии с циркуляцией возбудителя основного подвида протекали и позднее – в сентябре. В это время было изолировано еще 9 штаммов, в том числе один на новом эпизоотическом участке, в окрестностях озера Киндыктыкуль (Талдуайрский мезоочаг), а общая площадь эпизоотий в 2015 г. составила в итоге 482,4 кв. км.

Клинические и эпидемиологические особенности заболевания. Несмотря на проведенные осенью 2014 г. и в весенне-летний сезон 2015 г. широкомасштабные профилактические мероприятия, в том числе и информационно-разъяснительную работу среди населения Кош-Агачского района Республики Алтай, в августе 2015 г. в природном очаге произошел новый случай заражения чумой человека.

М., 1956 г. рождения, житель с. Кызыл-Таш Кош-Агачского района, заболел вечером 12 августа 2015 г., остро, почувствовал озноб, жар, сильную сла-



Характеристика эпизоотической и эпидемической ситуации в Горно-Алтайском высокогорном очаге чумы в 2015 г.

1 – место добычи сурков, от которых произошло заражение человека в 2014 г.; 2 – место добычи сурков, от которых произошло заражение человека в 2015 г.; 3 – точка выделения штаммов *Y. pestis* ssp. *altaica*; 4 – точки выделения штаммов *Y. pestis* ssp. *pestis*; 5 – точки получения ДНК *Y. pestis* ssp. *pestis* методом ПЦР; 6 – Кош-Агачская районная больница

бость. Неоднократно принимал аспирин, состояние улучшалось кратковременно. На следующий день температура поднялась до 39,5 °С, ощущал слабость, головную боль, недомогание, проявлялись озноб и потливость. Обратил внимание на появившийся на внутренней поверхности правого плеча инфильтрат, размером до 1,5 см в диаметре, болезненный при надавливании. Два дня на дому принимал жаропонижающие средства. Около 15 ч 13 августа вызвал медсестру поселкового фельдшерско-акушерского пункта (ФАП), которой была сделана инъекция «литической» смеси, после чего больной почувствовал себя лучше. Утром 14 августа обратил внимание на увеличенные умеренно болезненные лимфоузлы в подмышечных впадинах, после чего принял решение обратиться в Кош-Агачскую районную больницу, куда добрался на собственном автотранспорте. В 12 ч 30 мин обратился к участковому терапевту с вышеуказанными жалобами. На момент поступления – состояние средней тяжести, температура тела 38 °С. В области правого плеча в средней трети очаг гиперемии 5,5×3 см с уплотнением 1,5×1 см в центре. Подмышечные узлы с обеих сторон размером до 2 см, эластичные, плотные, с припухлостью окружающей клетчатки и гиперемией кожи 3×3 см. После

осмотра и сбора эпиданамнеза установлено, что заболевший в период, предшествующий заболеванию, занимался охотой на сурков. О выявленном больном было немедленно сообщено и.о. главного врача Кош-Агачской районной больницы, введен в действие оперативный план больницы. Для консультации в кабинет участкового терапевта направлены инфекционист и хирург, которые при осмотре больного были одеты в защитную одежду (противочумный костюм первого типа). После осмотра больной был изолирован в бокс инфекционного отделения с автономной системой приточно-вытяжной вентиляции. По совокупности клинических проявлений и эпидемиологического анамнеза поставлен предварительный диагноз: «Лимфаденит неясной этиологии. Чума, бубонная форма?». В отделении введен строгий противоэпидемический режим. Главным врачом незамедлительно направлено сообщение по схеме оповещения. Медсестрой инфекционного отделения, в присутствии врачей – инфекциониста, хирурга и эпидемиолога – забран клинический материал для лабораторного исследования: кровь, моча, мокрота, пунктат бубона. Материал машиной Кош-Агачской районной больницы в сопровождении специалистов по особо опасным инфекционным болезням направ-

лен в лабораторию ФКУЗ «Алтайская противочумная станция». Сделана обзорная рентгенография легких, патологии не выявлено. После взятия материала начато лечение, которое включало дезинтоксикационную и антибиотикотерапию (ципрофлоксацин, 400 мг в/в, 2 раза в сутки). Эпидгруппой из территориального отдела Управления Роспотребнадзора по Республике Алтай в Кош-Агачском, Улаганском районах из холодильника в доме больного изъяты две тушки сурка, которые в ночь на 15 августа направлены в лабораторию ФКУЗ «Алтайская противочумная станция». Выявлены контактировавшие лица и составлен их список, в него вошли жена заболевшего М. и проживающая с ними мать жены, приняты меры к их изоляции.

При эпидемиологическом расследовании установлено, что больной М. вместе с братом 11 августа охотились на сурков в урочищах Анаяк и Сазын-Кель в долине р. Елангаш и добыли с помощью отстрела пять животных. При снятии шкур М. порезал большой палец левой руки. Один сурок им был приготовлен и употреблен в пищу 12 августа, два – заморожены в холодильнике дома, два – отданы брату, который приготовил их в этот же день и употребил в пищу. Шкурки сурков были помещены в мешок с бытовыми отходами и в дальнейшем выброшены на свалку. Одна шкурка (впоследствии изъятая и исследованная с отрицательным результатом) осталась у брата заболевшего. Участие брата в охоте больной скрыл.

Результаты исследования клинического материала, проведенного бактериологическим и молекулярно-генетическим методом (ПЦР), оказались отрицательными. Серологическим методом в системе РНГА/РНАг в сыворотках крови, полученных 14 и 16 августа, выявлены специфические антитела к чумному микробу в титрах 1:32, расцененные как поствакцинальные (заболевший был привит 14 апреля 2015 г.). В сыворотке от 21 августа обнаружены антитела в системе РНГА/РНАг в титрах 1:320/1:1280. Нарастание титра антител в 10 раз с превышением РНАг над РНГА в четыре раза позволило подтвердить клинический диагноз «Чума, бубонная форма». Из обеих тушек сурков, изъятых из холодильника М., выделены штаммы чумного микроба основного подвида.

Комплекс мероприятий по локализации и ликвидации эпидемического очага. Противоэпидемические, профилактические мероприятия проводились на основании комплексного плана по санитарной охране территории Республики Алтай на 2015–2017 гг., утвержденного распоряжением Правительства Республики Алтай от 13.05.2015 г. № 239-р, комплексного плана мероприятий по предотвращению заноса и распространения чумы из ее природного очага на территории Кош-Агачского района, утвержденного распоряжением администрации МО «Кош-Агачский район» от 02.04.2015 г. № 135, плана мероприятий по локализации и ликвидации очага бубонной чумы в селе Кызыл-Таш Кош-

Агачского района Республики Алтай, принятого 15 августа 2015 г. на заседании СПК Кош-Агачского района и утвержденного 17.08.2015 г. СПК при правительстве Республики Алтай, и в соответствии с Распоряжением Администрации МО «Кош-Агачский район» от 18.08.2015 г. «О мерах по предупреждению распространения заболеваемости чумой на территории Кош-Агачского района Республики Алтай», проект которого был подготовлен 15 августа 2015 г. на внеочередном заседании СПК Кош-Агачского района. Для координации действий на заседании республиканской СПК 17 августа утвержден состав Республиканского штаба, основной задачей которого стало обеспечение взаимодействия заинтересованных служб по вопросам предупреждения распространения чумы, проведения профилактических и противоэпидемических мероприятий в Кош-Агачском районе. Штаб возглавил первый заместитель Председателя Правительства Республики Алтай, в него вошли заместитель Председателя Правительства республики, руководители органов и учреждений Роспотребнадзора субъекта, ветеринарной службы, заместитель Министра регионального развития, начальник отдела охраны и обеспечения общественного порядка МВД по Республике Алтай, директор Алтайской противочумной станции, Министр здравоохранения республики.

В соответствии с комплексным планом в Кош-Агачской районной больнице была развернута госпитальная база, в которую вошли специализированный госпиталь на 8 коек, размещенный в инфекционном отделении, провизорный госпиталь (20 коек), под который задействовано терапевтическое отделение. Подготовлен изолятор на 20 коек в школьном интернате при СОШ с. Тобелер. В случае осложнения эпидемической обстановки в очаге предусмотрено поэтапное увеличение коечного фонда госпитальной базы.

Контактировавшие с больным М. его жена и мать были помещены в изолятор, где им назначено профилактическое лечение доксициклином по 0,2 г два раза в сутки продолжительностью курса 7 дней. После их изоляции в домовладении М. проведена заключительная дезинфекция специалистами филиала ФБУЗ «ЦГиЭ в РА» в Кош-Агачском районе. Домашние животные, обитающие на подворье больного М., с его согласия переданы ближайшим родственникам для ухода за ними. За медсестрой ФАП и участковым терапевтом установлено медицинское наблюдение с правом выхода на работу.

В с. Кызыл-Таш, где выявлен больной чумой, проживает 764 человека, из социальных объектов – ФАП, детский сад. На обоих объектах проводилась регулярная дератизация, при учете и контроле численности мелких млекопитающих, проведенных в мае, грызунов в данном населенном пункте не выявлено. Иммунизация против чумы в с. Кызыл-Таш проходила с 10 по 14 апреля 2015 г., всего привито 291 человек из контингентов высокого риска зараже-

ния (медицинские и ветеринарные работники, работники образования, охотники, животноводы и члены их семей). Из медицинского персонала были сформированы группы медицинского наблюдения за жителями с. Кызыл-Таш, которые на протяжении 6 дней от момента госпитализации больного М., осуществляли подворные обходы. Во время обходов производился опрос, осмотр, термометрия селян с целью раннего выявления и изоляции больных с клиническими проявлениями, не исключая чуму, в провизорный госпиталь для дифференциальной диагностики и профилактического лечения.

В ходе эпидемиологического расследования 20 августа 2015 г. был установлен другой участник охоты – брат больного М. М.В., 1952 г. рождения, также житель с. Кызыл-Таш, проживающий с женой, оба 14.04.2015 г. привитые против чумы. Они с 14 августа находились на сенокосе (летняя стоянка в урочище Сырой, вне эпизоотической территории). Оба были доставлены в село и осмотрены медицинским работником. Учитывая отсутствие каких-либо клинических симптомов, а также то, что с момента охоты и разделки сурков прошло более 6 сут, было принято решение оставить их под медицинским наблюдением. Обнаруженная в домовладении шкурка сурка была направлена для лабораторного исследования на чуму. После изъятия шкурки сурка в домовладении М.В. проведена заключительная дезинфекция специалистами филиала ФБУЗ «ЦГиЭ в РА» в Кош-Агачском районе. Результаты лабораторного исследования изъятых шкурок сурков – отрицательные.

В связи с возникновением эпидемического очага было принято решение об обследовании с. Кызыл-Таш на наличие грызунов и блох на площади 5 тыс. кв. м с последующей поселковой дератизацией на площади 24,8 тыс. кв. м. Проведена дератизация четырех стоянок животноводов на участке Середина Елангаша, полевая дезинсекция вокруг них путем глубокой dustации нор грызунов и зайцеобразных. Общая площадь буферных зон составила 0,81 кв. км, в том числе вокруг с. Кызыл-Таш – 0,6 кв. км. Кроме того, выполнена полевая дезинсекция вокруг полигона твердых бытовых отходов площадью 10 тыс. кв. м, с последующей его буртовкой (здесь были найдены 7 шкурок сурков, от одной получены положительные результаты на F1 чумного микроба в системе реакций РНГА/РНАт). В 186 дворах проведена обработка туалетов и выгребных ям сухим гипохлоритом кальция. Силами ветеринарной службы Кош-Агачского района проведена профилактическая дезинфекция животноводческих помещений, принадлежащих административной территории Кызыл-Ташского сельского поселения (13 объектов) общей площадью 2,3 тыс. кв. м. Организован визуальный осмотр на наличие клинических проявлений 380 голов верблюдов, содержащихся на территории района, для раннего выявления больных животных. Были запрещены вывоз и перевозка кормов и сена, перемещения верблюдов.

По эпидемическим показаниям вакцинированы

456 человек, относящихся к контингентам высокого риска заражения, таким образом, общее количество привитых в Кош-Агачском районе составило в 2015 г. 4085 человек.

В соответствии с распоряжением Администрации МО «Кош-Агачский район» от 18.08.2015 г. «О мерах по предупреждению распространения заболеваемости чумой на территории Кош-Агачского района Республики Алтай» во всех населенных пунктах района проведены сходы жителей с разъяснением сложившейся эпидемической и эпизоотической ситуации и призывом к гражданам отказаться от охоты на сурков, а добытых ранее сдать на исследование. После этого населением были сданы 1 тушка сурка и 8 шкурок сурков – результаты лабораторного исследования на чуму отрицательные.

Для медицинских работников был проведен семинар по клинике, эпидемиологии, мерам личной безопасности и действиям при выявлении больного с подозрением на чуму, а также организована внеочередная проверка противоэпидемической готовности всех медицинских организаций района, инструктажи их сотрудников и работников ветеринарных станций, служащих государственных учреждений и организаций. В районе выполнена масштабная санитарно-просветительная работа, прочитаны лекции в организованных коллективах, школах, проведены беседы с животноводами, проживающими на энзоотической территории, распространены 11538 листовок на русском и алтайском языках, опубликована статья в газете «Чуйские зори», выставлено 10 предупреждающих плакатов на дорогах.

После проведенного лечения М. 24 августа был выписан в удовлетворительном состоянии под наблюдение участкового терапевта и инфекциониста. Следует отметить, что в целом заболевание протекало более доброкачественно, чем у аналогичного больного, зарегистрированного в сентябре 2014 г. в с. Мухор-Тархата, не привитого против чумы. После назначения антибактериальной, патогенетической и симптоматической терапии с 16 августа температура тела нормализовалась, с 17 августа исчезла гиперемия вокруг подмышечных лимфоузлов и в средней трети правого плеча, лимфоузлы эластичной консистенции, безболезненные, до 0,6 см в диаметре.

На заседании республиканского оперативного штаба при Правительстве Республики Алтай 24 августа 2015 г. был рассмотрен ход выполнения Плана мероприятий по локализации и ликвидации очага чумы в с. Кызыл-Таш, по его итогам принято решение о завершении санитарно-противоэпидемических мероприятий в Кош-Агачском районе в связи с ликвидацией эпидемического очага чумы.

Таким образом, благодаря эффективному взаимодействию учреждений Роспотребнадзора, медицинских организаций, органов местного самоуправления удалось не допустить дальнейшего развития антропонозного распространения чумы, и в короткие сроки локализовать и ликвидировать эпидемический

очаг этой опасной инфекционной болезни в Кош-Агачском районе Республики Алтай.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Альясурэн З., Цэрэнноров Д., Отгонбаатар Д., Балахонov С.В., Иннокентьева Т.И., Агиймаа Ш., Косилко С.А. Клинико-эпидемиологические особенности чумы в Монголии. *Пробл. особо опасных инф.* 2010; 1:30–3.
2. Балахонov С.В., Афанасьев М.В., Шестопалов М.Ю., Остяк А.С., Витязева С.А., Корзун В.М., Вержуцкий Д.Б., Михайлов Е.П., Мищенко А.И., Денисов А.В., Ивченко Н.И., Рождественский Е.Н., Висков Е.Н., Фомина Л.А. Первый случай выделения *Yersinia pestis* subsp. *pestis* в Алтайском горном природном очаге чумы. Сообщение 1. Микробиологическая характеристика, молекулярно-генетическая и масс-спектрометрическая идентификация изолята. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 1:60–5.
3. Балахонov С.В., Корзун В.М., Вержуцкий Д.Б., Михайлов Е.П., Рождественский Е.Н., Денисов А.В. Первый случай выделения *Yersinia pestis* subsp. *pestis* в Алтайском горном природном очаге чумы. Сообщение 2. Вероятные пути и механизмы заноса возбудителя чумы основного подвида на территорию очага. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 2:5–10.
4. Балахонov С.В., Корзун В.М., редакторы. Горно-Алтайский природный очаг чумы: Ретроспективный анализ, эпизоотологический мониторинг, современное состояние. Новосибирск: Наука-Центр, 2014. 272 с.
5. Голубинский Е.П., Жовтый И.Ф., Лемешева Л.Б. О чуме в Сибири. Иркутск: Изд-во Иркутского ун-та, 1987. 243 с.
6. Кутырев В.В., Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Пакскина Н.Д., Щучинов Л.В., Михайлов Е.П., Мищенко А.И., Рождественский Е.Н., Базарова Г.Х., Денисов А.В., Шарова И.Н., Попов Н.В., Кузнецов А.А. Заболевание человека чумой в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге в 2014 г. Сообщение 1. Эпидемиологические и эпизоотологические особенности проявлений чумы в Горно-Алтайском высокогорном (Сайлюгемском) природном очаге чумы. *Пробл. особо опасных инф.* 2014; 4:9–16.
7. Кутырев В.В., Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Пакскина Н.Д., Шарова И.Н., Мищенко А.И., Рождественский Е.Н., Базарова Г.Х., Михайлов Е.П., Ерошенко Г.А., Краснов Я.М., Куклева Л.М., Черкасов А.В., Оглодин Е.Г., Куклев В.Е., Одинок Г.Н., Щербакoва С.А., Балахонov С.В., Афанасьев М.В., Витязева С.А., Шестопалов М.Ю., Климов В.Т. Заболевание человека чумой в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге в 2014 г. Сообщение 2. Особенности лабораторной диагностики и молекулярно-генетическая характеристика выделенных штаммов. *Пробл. особо опасных инф.* 2014; 4:43–51.
8. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Природные очаги чумы Кавказа, Прикаспия, Средней Азии и Сибири. М.: Медицина, 2004. 192 с.

References

1. Ad'yasuren Z., Tserennorov D., Otgonbaatar D., Balakhonov S.V., Innokentyeva T.I., Agiymaa Sh., Kosilko S.A. [Clinical-epidemiological features of plague in Mongolia]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2010; 1:30–3.
2. 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., Ivchenko 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.
3. Balakhonov S.V., Korzun V.M., Verzhutsky D.B., Mikhaylov E.P., Rozhdestvensky E.N., Denisov A.V. [The first case of *Yersinia pestis* subsp. *pestis* isolation in the territory of the Altai mountain natural plague focus. Communication 2. Probable ways and mechanisms of plague agent main subspecies importation into the territory of the focus]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 2:5–10.

4. Balakhonov S.V., Korzun V.M., editors. [Gorno-Altai Natural Plague Focus: Retrospective Analysis, Epizootiological Monitoring, and Current State]. Novosibirsk: "Nauka-Tsentr"; 2014. 272 p.
5. Golubinsky E.P., Zhovty I.F., Lemesheva L.B. [Concerning Plague in Siberia]. Irkutsk: Publishing House of the Irkutsk University, 1987. 243 p.
6. Kutyrev V.V., Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Pakschina N.D., Shchuchinov L.V., Mikhailov E.P., Mishchenko A.I., Rozhdestvensky E.N., Bazarova G.Kh., Denisov A.V., Sharova I.N., Popov N.V., Kuznetsov A.A. [Infection of an individual with plague in the Gorno-Altai high-mountain natural focus in 2014. Communication 1. Epidemiological and epizootiological peculiarities of plague manifestations in the Gorno-Altai high-mountain (Sailyugemsky) natural plague focus]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2014; 4:9–16.
7. Kutyrev V.V., Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Pakschina N.D., Sharova I.N., Mishchenko A.I., Rozhdestvensky E.N., Bazarova G.Kh., Mikhailov E.P., Eroshenko G.A., Krasnov Ya.M., Kukleva L.M., Cherkasov A.V., Oglodin E.G., Kulev V.E., Odiokov G.N., Shcherbakova S.A., Balakhonov S.V., Afanas'ev M.V., Vityazeva S.A., Shestopalov M.Yu., Klimov V.T. [Infection of an individual with plague in the Gorno-Altai high-mountain natural focus in 2014. Communication 2. Peculiarities of laboratory diagnostics and molecular-genetic characterization of the isolated strains]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2014; 4:43–51.
8. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors. [Natural Plague Foci in the Territory of the Caucasus, Caspian Sea Region, Central Asia and Siberia]. M.: "Meditsina"; 2004. 192 p.

Authors:

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

Mishchenko A.I., Mikhailov E.P., Denisov A.V., Rozhdestvensky E.N., Bazarova G.Kh. Altai Plague Control Station. 2, Zavodskaya St., Gorno-Altai, 649002, Russian Federation. E-mail: chuma@mail.gorny.ru

Shchuchinov L.V., Zarubin I.V. Rospotrebnadzor Administration in the Republic of Altai. 173, Kommunistichesky Avenue, Gorno-Altai, 649000, Russian Federation. E-mail: Rpn_RA@mail.gorny.ru

Semenova Zh.E., Madenova N.M., Dyusenbaev D.K. State-Financed Healthcare Institution of the Republic of Altai "Kosh-Agach District Hospital". 3, Meditsinskaya St., Kosh-Agach, Republic of Altai, 649780, Russian Federation. E-mail: koshagachcrb@mail.ru

Об авторах:

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

Мищенко А.И., Михайлов Е.П., Денисов А.В., Рождественский Е.Н., Базарова Г.Х. Алтайская противочумная станция. Российская Федерация, 649002, Горно-Алтайск, ул. Заводская, 2. E-mail: chuma@mail.gorny.ru

Щучинов Л.В., Зарубин И.В. Управление Роспотребнадзора по Республике Алтай. Российская Федерация, 649000, Горно-Алтайск, Коммунистический пр., 173. E-mail: Rpn_RA@mail.gorny.ru

Семёнова Ж.Е., Маденова Н.М., Дюсенбаев Д.К. БУЗ Республики Алтай «Кош-Агачская районная больница». Российская Федерация, 649780, Республика Алтай, с. Кош-Агач, Медицинская ул., 3. E-mail: koshagachcrb@mail.ru

Поступила 20.01.16.

Н.Н.Зайцева¹, О.В.Парфенова¹, О.Ю.Пекшева¹, Е.И.Ефимов¹, Л.П.Потемина², Т.Л.Абрамян²**ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА
В ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОМ РАССЛЕДОВАНИИ СЛУЧАЯ ЗАРАЖЕНИЯ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ**¹ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт имени академика И.Н.Блохиной», Нижний Новгород, Российская Федерация; ²ГУЗ «Центр-СПИД» Саратовской области, Саратов, Российская Федерация

Цель. Расследование криминального случая заражения ВИЧ-инфекцией с использованием молекулярно-генетического анализа образцов плазмы крови предполагаемого источника инфекции и реципиента для определения вероятности наличия эпидемиологической связи между ними. **Материалы и методы.** Проведены генотипирование и филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей вариантов ВИЧ-1, выделенных от пациентов исследуемой группы и группы сравнения с помощью современных молекулярно-генетических методов. Построение филогенетического дерева и расчет генетической дистанции проводились путем анализа 36 образцов. **Результаты и выводы.** Варианты вируса, выделенные в исследуемых образцах, относятся к субтипу А ВИЧ-1. Проведенный филогенетический анализ показал, что нуклеотидные последовательности исследуемых образцов достоверно группируются на филогенетическом дереве, образуя общий кластер, отличный от образцов группы сравнения. Расчет генетической дистанции свидетельствует, что генетическая близость между образцами исследуемой группы выше, чем между образцами исследуемой группы и группы сравнения. С помощью филогенетического анализа было показано, что штаммы, полученные от предполагаемого источника инфекции и реципиента, генетически более близки друг с другом, чем со штаммами из группы сравнения. В связи с этим можно с большой долей уверенности утверждать о вероятности наличия эпидемиологической связи между ними.

Ключевые слова: заражение ВИЧ-инфекцией, эпидемиологическое расследование, филогенетический анализ, генетическая дистанция, группа сравнения.

Корреспондирующий автор: Зайцева Наталья Николаевна, e-mail: prokaids@mail.ru

N.N.Zaitseva¹, O.V.Parfenova¹, O.Yu.Peksheva¹, E.I.Efimov¹, L.P.Potemina², T.L.Abramyan²**Experience in Utilization of Phylogenetic Analysis for Epidemiological Investigation of HIV Infection Case**¹Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology Named after I.N.Blokhina, Nizhny Novgorod, Russian Federation; ²State Healthcare Institution "Center-AIDS" of the Saratov Region, Saratov, Russian Federation

Objective of the study was to investigate a criminal case of infection with HIV, applying molecular-genetic analysis of blood plasma samples from an estimated source of an infection and the recipient for evaluation of probability of epidemiological connection between them. **Materials and methods.** The study involved genotyping and phylogenetic analysis of nucleotide sequences of HIV-1 variants, isolated from patients in the investigated group and the control one (19 nucleotide sequences of the HIV-1 from the patients living in the Saratov region, and 15 nucleotide sequences from GenBank). Genotyping was performed using the commercial ViroSeq HIV-1 Genotyping System. The sub-typing of HIV-1 strains was carried out on-line, through the COMET HIV-1/2 and HCV and REGA HIV-1 Sybtyping Tool programs. Phylogenetic analysis of nucleotide sequences was carried out by Mega software, version 5.2. Phylogenetic trees were constructed; nucleotide distances were calculated by Kimura method (bootstrap level 1000). **Results and conclusions.** Virus variants, isolated from the studied samples, were defined as HIV-1 A subtype. Performed phylogenetic analysis showed that nucleotide sequences of the studied samples authentically grouped on the phylogenetic tree, forming a common cluster, which mismatched that of control group. Calculation of the genetic distance testifies that the genetic relation between the samples within the investigated group is higher, than between the same samples and those of the control group. Thus, by means of phylogenetic analysis it is shown that the strains received from an estimated source of infection and the recipient are genetically closer to each other, than to the strains from the group of comparison. In this regard, it is possible to claim with a big share of confidence that probability of epidemiological connection between them exists.

Keywords: infection with HIV, epidemiological investigation, phylogenetic analysis, genetic distance, control group.

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

Corresponding author: Natal'ya N. Zaitseva, e-mail: prokaids@mail.ru

Citation: Zaitseva N.N., Parfenova O.V., Peksheva O.Yu., Efimov E.I., Potemina L.P., Abramyan T.L. Experience in Utilization of Phylogenetic Analysis for Epidemiological Investigation of HIV Infection Case. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; 1:61–63. (In Russ.). DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-61-63

Появление в последние годы сложных, с точки зрения установления источника инфекции, случаев заражения ВИЧ определяет актуальность и необходимость использования в практике работы специалистов службы профилактики ВИЧ-инфекции/СПИД современных молекулярно-генетических методов исследования, в том числе генотипирования

ВИЧ и филогенетического анализа. Исследование филогенетического родства нуклеотидных последовательностей вируса иммунодефицита человека, выделенных от инфицированных лиц из эпидемического очага, позволяет с достаточно высокой степенью достоверности определить или опровергнуть взаимосвязь между предполагаемым источником

инфекции и реципиентом.

В РФ применение филогенетического анализа в расследовании случаев заражения ВИЧ-инфекцией еще не вошло в рутинную практику, тем не менее имеются единичные сообщения об опыте его применения в эпидемиологических расследованиях инфицирования ВИЧ при оказании медицинской помощи [1, 2, 3].

Филогенетический анализ является одним из важных инструментов получения объективных данных о наличии/отсутствии эпидемиологической связи, в том числе и при расследовании криминальных случаев заражения ВИЧ-инфекцией.

Материалы и методы

Проводили молекулярно-генетический анализ двух исследуемых образцов плазмы крови (№ 859 – предполагаемый источник инфекции и № 860 – реципиент) и группы сравнения. Исследования включали в себя определение субтипа ВИЧ-1, проведение филогенетического анализа и расчет генетической дистанции.

В качестве группы сравнения из базы данных Приволжского окружного центра ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной были использованы 19 нуклеотидных последовательностей вариантов ВИЧ-1, полученных от пациентов, проживающих в Саратовской области, и 15 нуклеотидных последовательностей, дополнительно взятых в качестве референсных, из международной базы GenBank. Построение филогенетического дерева и расчет генетической дистанции проводили путем анализа 36 образцов.

Для получения нуклеотидных последовательностей ВИЧ-1 по участку гена протеазы (*pro*) и обратной транскриптазы (*rev*) с длиной 1302 п.н. использовался набор реагентов ViroSeq (Abbott, США). Исследования проводили методом прямого автоматического секвенирования с использованием генетического анализатора ABI Prism 3100 «Applied Biosystems», США. Обработку данных секвенирования и получение консенсусной последовательности для участка гена *pol* осуществляли с помощью программного обеспечения «ViroSeq HIV-1 Genotyping System Software» v.2.8 (Celera, США).

Для идентификации близкородственных штаммов ВИЧ-1 данные нуклеотидные последовательности анализировали в программе BLAST [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>]. Выравнивание последовательностей, филогенетический анализ и расчет генетических дистанций выполняли с помощью программы MEGA 5.2 с использованием статистического метода Maximum Likelihood, 2-параметрической модели Kimura (bootstrap level 1000). Субтипирование штаммов ВИЧ-1 проводили в on-line программах «COMETHIV-1/2 andHCV» и REGAHIV-1 Sybtyping Tool.

Результаты и обсуждение

В лаборатории молекулярно-генетических и серологических методов исследования Приволжского окружного центра по профилактике и борьбе со СПИД ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной генотипирование ВИЧ и филогенетический анализ проводили для оказания практической помощи органам здравоохранения и учреждениям Роспотребнадзора.

По данным эпидемиологического расследования и сведений, предоставленных специалистами ГУЗ «Центр-СПИД» Саратовской области (Центр) и следственным управлением Следственного комитета РФ по Саратовской области, ВИЧ-инфицированный мужчина, ранее состоящий на диспансерном учете в Центре, поставил под угрозу заражения ВИЧ-инфекцией (насильственный половой контакт) женщину, ранее не имеющую диагноза «ВИЧ-инфекция» и не состоявшую на диспансерном учете в Центре СПИД. Впоследствии у нее была обнаружена ВИЧ-инфекция и в рамках возбужденного уголовного дела следствием было сделано предположение о возможном заражении ВИЧ-инфекцией женщины № 860 от ВИЧ-позитивного мужчины № 859.

В результате проведенных исследований было установлено, что варианты вируса, выделенные из образцов пациентов № 859 и № 860, относятся к субтипу А ВИЧ-1.

Проведенный филогенетический анализ показал, что нуклеотидные последовательности исследуемых образцов № 859 и № 860 достоверно группируются на филогенетическом дереве, образуя общий кластер, отличный от образцов группы сравнения (рисунок). Это говорит о высокой генетической близости исследуемых образцов, не исключающей эпидемиологической связи между ними.

Генетическая дистанция, рассчитанная для нуклеотидных последовательностей образцов № 859 и № 860, составила 0,002. Дистанция, рассчитанная между нуклеотидными последовательностями исследуемых образцов и группы сравнения, составила от 0,016 до 0,054 (среднее – 0,035). Это свидетельствует о том, что генетическая близость между образцами исследуемой группы выше, чем между образцами исследуемой группы и группы сравнения.

Таким образом, с помощью филогенетического анализа было показано, что штаммы ВИЧ, полученные от инфицированных пациентов № 859 и № 860, генетически более близки друг с другом, чем со штаммами из группы сравнения. Это свидетельствует о вероятности наличия эпидемиологической связи между ними и не вступает в противоречие с результатами эпидемиологического расследования. Применение современных молекулярно-генетических методов исследования, таких как филогенетический анализ, вносит значимый вклад в систему совершенствования эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией. Результаты филогенетического анализа являются

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Нешумаев Д.А., Татьяна Е.А., Малышева М.А., Шевченко Н.М., Кокотюха Ю.А., Мейрманова Е.М., Виноградова М.Н., Уланова Т.И., Загрядская Ю.Е. Опыт совместного использования филогенетического анализа и определения давности инфицирования при исследовании внутрибольничного заражения ВИЧ-инфекцией. В кн.: Матер. VIII Всерос. конф. с междунар. участ. «Молекулярная диагностика – 2014». М.; 2014. Т. 1. С. 64–5.

2. Сандырева Т.П., Герасимова Н.А., Лопатухин А.Э., Киреев Д.Е., Куевда Д.А., Шипулин Г.А., Подымова А.С. Филогенетический анализ в эпидемиологических расследованиях случаев ВИЧ-инфекции. *Эпидемиол. и инф. бол.* 2014; 1:17–21.

3. Сандырева Т.П., Герасимова Н.А., Подымова А.С. Молекулярно-генетические методы в системе эпидемиологической диагностики ВИЧ-инфекции. В кн.: Матер. VIII Всерос. конф. с междунар. участ. «Молекулярная диагностика – 2014». М.; 2014. Т. 1. С. 41–2.

References

1. Neshumaev D.A., Tat'yana E.A., Malysheva M.A., Shevchenko N.M., Kokotyukha Yu.A., Meyrmanova E.M., Vinogradova M.N., Ulanova T.I., Zagryadskaya Yu.E. [Experience in shared use of phylogenetic analysis and infection prescription specification in the investigation of a hospital-acquired HIV infection]. In: [Proceedings of the VIII All-Russian Conference with International Participation "Molecular Diagnostics – 2014"]. M.; 2014. Vol. 1. P. 64–5.

2. Sandyreva T.P., Gerasimova N.A., Lopatukhin A.E., Kireev D.E., Kuevda D.A., Shipulin G.A., Podymova A.S. [Phylogenetic analysis in epidemiological investigations of HIV-infection cases]. *Epidemiol. Infek. Bol.* 2014; 1:17–21.

3. Sandyreva T.P., Gerasimova N.A., Podymova A.S. [Molecular-genetic methods within the system of epidemiological diagnostics of HIV-infection]. In: [Proceedings of the VIII All-Russian Conference with International Participation "Molecular Diagnostics – 2014"]. M.; 2014. Vol. 1. P. 41–2.

Authors:

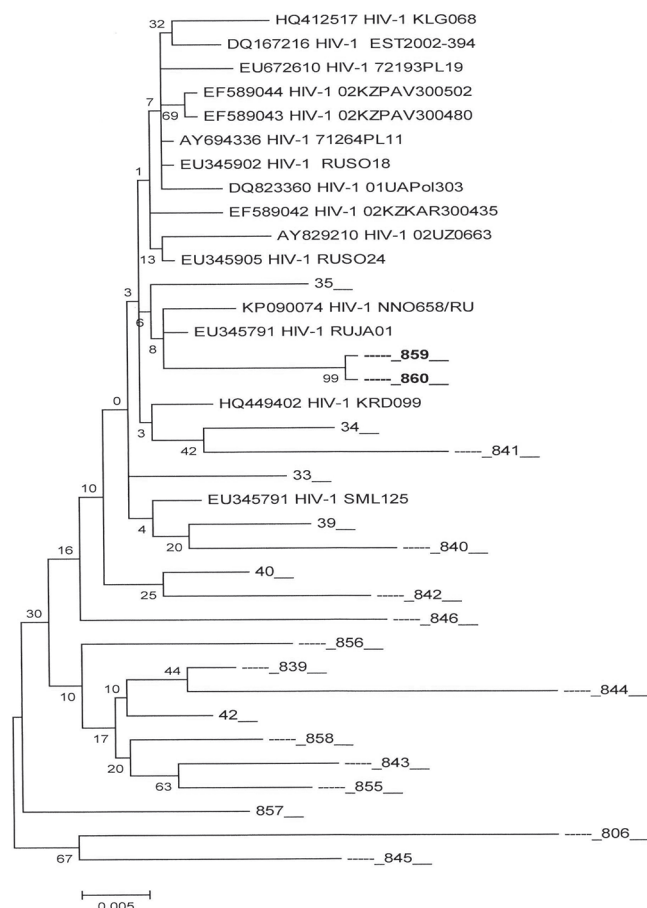
Zaitseva N.N., Parfenova O.V., Peksheva O.Yu., Efimov E.I. Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology Named after I.N. Blokhina. 71, Malaya Yamskaya St., Nizhny Novgorod, 603950, Russian Federation. E-mail: micro@sinn.ru

Potemina L.P., Abramyan T.L. State Healthcare Institution "Center-AIDS" of the Saratov Region. 69, Melnichnaya St., Saratov, 410009, Russian Federation. E-mail: centr_spid@overta.ru

Об авторах:

Зайцева Н.Н., Парфенова О.В., Пекшиева О.Ю., Ефимов Е.И. Нижегородский научно-исследовательский институт имени академика И.Н.Блохиной. Российская Федерация, 603950, Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71. E-mail: micro@sinn.ru

Потемина Л.П., Абрамян Т.Л. «Центр-СПИД» Саратовской области. Российская Федерация, 410009, Саратов, ул. Мельничная, 69. E-mail: centr_spid@overta.ru



Филогенетическое дерево образцов исследуемой группы (№ 859, 860) и группы сравнения, построенное на основании нуклеотидных последовательностей гена *pol* ВИЧ-1

важным дополнением и, зачастую, единственным объективным доказательством установления источника инфекции при проведении эпидемиологических исследований, позволяя сократить число нерасшифрованных очагов инфицирования ВИЧ, в том числе и при криминальном заражении.

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

Поступила 30.06.15.

Н.В.Колесников, Е.Н.Храмов, Д.Л.Поклонский

РАЗРАБОТКА СРЕДСТВ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ ПЕРСОНАЛА, РАБОТАЮЩЕГО В БОКСАХ, ОБОРУДОВАННЫХ ПНЕВМОЛИНИЕЙ

ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт биологического приборостроения», Москва, Российская Федерация

Цель данной работы состоит в том, чтобы проанализировать с точки зрения биологической безопасности возможность использования в работе медицинского персонала средств индивидуальной защиты, подключаемых к пневмолинии, показать технические и эксплуатационные характеристики специального костюма, его защитную эффективность в отношении органов дыхания и кожных покровов при различных скоростях подачи воздуха. **Материалы и методы.** В данной работе рассматривался специальный костюм комбинированного типа. Исследования проводились в аэрозольной камере при участии испытуемых-добровольцев, выполняющих дозированную физическую работу средней тяжести в течение 4 ч. В ходе исследований оценивались следующие физиологические параметры испытуемых: частота сердечных сокращений, частота дыхания, температура тела. Определение послойной загрязненности специального костюма (наружная и внутренняя поверхности), белья и кожных покровов испытуемых-добровольцев проводили методом смывов и тройных агаровых отпечатков. **Результаты и выводы.** Проведенные исследования разработанного костюма СКБ-4 показали, что его применение обеспечивает надежную защиту медицинского персонала от микробного аэрозоля, а соблюдение требуемой скорости воздухоподдачи в подкостюмное пространство, не ниже 250 л/мин, позволяет сохранить высокую работоспособность.

Ключевые слова: средства индивидуальной защиты, пневмокостюм, пневмолиния, мельцеровские боксы.

Корреспондирующий автор: Колесников Николай Викторович, e-mail: gosniibp@fmbamail.ru

N.V.Kolesnikov, E.N.Khramov, D.L.Poklonsky

Designing of Individual Protective Equipment for Personnel, Working in Safety Cabinets Instrumented with Pneumatic Line

State Research Institute of Biological Instrument Engineering, Moscow, Russian Federation

Objective of the study is to demonstrate technical and operational characteristics of the specialized suit, its protective efficacy in relation to respiratory organs and skin at different air-injection rates through analyzing the possibility to utilize individual protective equipment, connected to pneumatic line, from the viewpoint of biological safety. **Materials and methods.** Tested has been specialized suit of a combined type. Investigations have been conducted in an aerosol cabinet, involving volunteer researches, who performed controlled medium physical activities within 4 hours term. In the course of the studies analyzed have been the following physical parameters of the test operators: heart rate, respiratory rhythm, body temperature. Identification of layer-by-layer contamination of the specialized suit (external and internal surfaces), linen and skin of the volunteers has been carried out applying washing techniques and triple agar prints. **Results and conclusions.** Testing of the designed suit has revealed that its utilization provides for proper solid protection of healthcare personnel from microbial aerosol, and adherence to desired speed of air-injection into interlayer (under-suit) space, ≥ 250 l/min, allows for maintaining high working capacities.

Key words: individual protective equipment, pneumosuit, pneumatic line, Meltzer cabinet.

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

Funding: The study was carried out under Russia's Federal Medical-Biological Agency contract No 42.064.14.0.

Corresponding author: Nikolay V. Kolesnikov, e-mail: gosniibp@fmbamail.ru

Citation: Kolesnikov N.V., Khramov E.N., Poklonsky D.L. Designing of Individual Protective Equipment for Personnel, Working in Safety Cabinets Instrumented with Pneumatic Line. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; 1:64–67. (In Russ.). DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-64-67

В последние десятилетия во всем мире наблюдается дестабилизация эпидемической обстановки, вызванная ростом заболеваемости в природных очагах, случаями внутрибольничного и внутрилабораторного заражения, а также возрастанием угрозы биологического терроризма [3].

В Российской Федерации в рамках обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения осуществляется безопасное функционирование инфекционных стационаров, бактериологических и вирусологических лабораторий. Вместе с тем медико-техническое оснащение этих служб нужда-

ется в совершенствовании, что связано с постоянно сохраняющейся потенциальной опасностью заражения медицинского и технического персонала. Риск инфицирования возрастает, когда в инфекционные стационары поступают больные с высококонтагиозными инфекциями [4].

В этой связи целью проведенного исследования явилась разработка и проверка эксплуатационных характеристик защитного костюма СКБ-4, предназначенного для работы медицинского персонала в мельцеровских боксах.

Мельцеровские боксы представляют собой

сложное инженерно-техническое сооружение, расположенное на первом этаже инфекционного стационара. Больной поступает в мельцеровский бокс и покидает его со двора через отдельный вход/выход. Медицинский персонал для лечения и ухода за больным входит/выходит через двухдверный шлюз из коридора инфекционного стационара первого этажа [2].

В мельцеровских боксах обязательно существует вытяжная вентиляция, оборудованная высокоэффективными фильтрами высокой эффективности класса Н13, что исключает проникание бактерий или вирусов из внутреннего объема бокса с воздушными потоками.

Вместе с тем персонал, входящий в мельцеровский бокс к больному, также нуждается в защите, в связи чем усилия многих авторов направлены на создание высокоэффективной и эргономически удобной системы средств индивидуальной защиты, адаптированной к алгоритму работы в боксе.

Медицинский персонал (врачи, медсестры, санитары и т.д.) перед входом в мельцеровский бокс надевает пневмокостюм, проверяет его работоспособность и проходит к больному через двухдверный шлюз (с блокировкой дверей) для проведения медицинских процедур. По окончании работы персонал отсоединяется от пневмолинии внутри мельцеровского бокса, проходит в двухдверный шлюз и изолируется в нем с помощью дверей, подсоединяется к пневмолинии, устанавливает по расходомеру необходимый уровень подачи чистого воздуха. Затем включается компрессор и в течение установленного времени проводится предварительная дезинфекция с помощью генераторов аэрозоля (обычно это 3–6 % раствор перекиси водорода) наружной поверхности пневмокостюма. После выдувания вытяжной вентиляцией остатков аэрозоля дезинфектанта персонал выходит из двухдверного шлюза, снимает установленным порядком пневмокостюм и замачивает его для окончательной дезинфекции в емкости, установленной в коридоре инфекционного стационара [2].

Материалы и методы

Конструкция костюма СКБ-4 рассчитывалась специалистами ФГУП «ГосНИИБП» ФМБА России для достижения следующих показателей назначения:

- коэффициент проникания по органам дыхания должен составлять не менее $1 \cdot 10^{-5} \%$, а по области кожных покровов – $10^{-2} \%$;
- время непрерывной работы в специальном костюме должно быть не менее 4 ч.;
- специальный костюм должен быть удобен в эксплуатации и позволять проводить все медицинские манипуляции с больными;
- костюм должен выдерживать многократную дезинфекцию различными дезинфектантами;
- время надевания костюма не должно превышать 2 мин.

Требуемые значения коэффициента проникания

и защитной эффективности органов дыхания можно достигнуть, используя только изолирующее СИЗ, а защиту кожных покровов – посредством использования пылезащитного комбинезона. Таким образом, была разработана конструкция СИЗ в виде комбинированного пневмокостюма, который состоит из изолирующего воздухопроницаемого пневмошлема из прорезиненной ткани, соединенного с пылезащитным комбинезоном, при этом пневмошлем и комбинезон составляют единое целое. Такая конструкция обеспечивает быстрое надевание и снятие пневмокостюма.

Одновременно в конструкции специального костюма предусмотрена возможность автономного дыхания человека при отсоединении от пневмолинии и переходах из коридора в мельцеровский бокс и обратно.

Конструкция автономной системы воздухообеспечения для переходов внутри инфекционных стационаров состоит из загубника внутри шлема и фильтрующего-сорбирующего устройства (ФСУ), через которое можно очищать поступающий в подшлемное пространство воздух с расходом до 500 л/мин, при этом сопротивление дыханию ФСУ составляет 6,5 мм вод. ст. Коэффициент проскока ФСУ по масляному туману – не более $10^{-5} \%$.

Таким образом, костюм СКБ-4 представляет собой пылезащитный комбинезон (рисунок, поз. 1) изготовленный из фильтрующей вискозно-полиэфирной ткани с укрепленным в горловине комбинезона шлемом из прорезиненной ткани (поз. 4) со смотровым стеклом (поз. 5), воздуховодом (поз. 6), автономной системой воздухообеспечения (поз. 2, 3) и пuffs (поз. 8). Комбинезон имеет застежку «молния», закрываемую клапаном, который фиксируется лентой «велькро» (поз. 7). Через эту застежку персонал надевает пневмокостюм.



Специальный костюм СКБ-4:

1 – комбинезон; 2 – фильтр ФСУ; 3 – гофрированная трубка; 4 – шлем; 5 – смотровое окно; 6 – воздуховод шлема; 7 – застежка; 8 – puffa

Система воздухообеспечения для автономных переходов включает в себя загубник, клапанную коробку, трехходовой кран, фильтрующе-сорбирующее устройство (ФСУ).

Исследования защитной эффективности специального костюма СКБ-4 для персонала мельцеровских боксов проводились при участии испытуемых-добровольцев с расходом подаваемого воздуха в зону дыхания работающего 250 л/мин. При этом испытуемые выполняли дозированную физическую работу средней тяжести в течение 4 ч в динамической камере, где постоянно поддерживалась концентрация тестового микробного аэрозоля (*Serratia marcescens*) – 10^8 КОЕ/м³.

Определение послойной загрязненности микробным аэрозолем костюма СКБ-4 (наружная и внутренняя поверхности), белья и кожных покровов испытуемых-добровольцев проводили при выполнении ими работ средней тяжести. Послойную загрязненность проводили методом смывов и тройных агаровых отпечатков.

В ходе исследований оценивались следующие физиологические параметры испытуемых: частота сердечных сокращений, частота дыхания, температура тела.

Полученные результаты обрабатывались с помощью стандартных методов статистического анализа [4].

Результаты и обсуждение

По результатам анализа защитной эффективности коэффициент проникновения в области органов дыхания составил $2 \cdot 10^{-6}$ %, в области кожных покровов – $8 \cdot 10^{-3}$ %. Полученные значения превышают защитные показатели подобных изделий [1, 2]. Это связано с тем, что в подкостюмное пространство СКБ-4 поступает воздух, который создает подпор внутри костюма, что препятствует проникновению микробного аэрозоля.

Как показано в предыдущих исследованиях [1], защитная эффективность средств индивидуальной защиты с принудительной подачей воздуха (пневмокостюмы, пневмошлемы и др.) зависит от объемной скорости подаваемого в подкостюмное или подшлемное пространство воздуха – чем больше скорость, тем выше защитная эффективность СИЗ. Это подтвердили результаты оценки защитной эффективности костюма СКБ-4 при различных скоростях воздухоподдачи – 50, 100, 150, 200, 250 и 300 л/мин. При этом следует отметить, что во всех экспериментах со скоростью воздухоподдачи от 50 до 250 л/мин микробный аэрозоль обнаруживался в зоне дыхания испытуемых-добровольцев.

Так, при скорости воздухоподдачи 50 и 100 л/мин в зоне органов дыхания обнаруживалось от 100 до 300 колониеобразующих единиц, при объемной скорости воздухоподдачи 150 и 200 л/мин – десятки микробных колониеобразующих единиц, при 250 –

единичные микробы, и только при скорости воздухоподдачи 300 л/мин проникание микробного аэрозоля в зону дыхания подшлемного пространства костюма СКБ-4 ни в одном из экспериментов не обнаружено. Защитные свойства костюма СКБ-4, определяемые по области кожных покровов, также выше, чем у аналогичных комплектов [1, 2]. Это объясняется значительным подпором в подкостюмном пространстве за счет подаваемого чистого воздуха. Таким образом, оптимальная минимальная скорость воздухоподдачи, определяемая по показателям защитной эффективности, для костюма СКБ-4 составляет более 250 л/мин.

На следующем этапе оценочных исследований костюма СКБ-4 были проведены эксперименты по определению послойной загрязненности микробным аэрозолем самого костюма СКБ-4 (наружная и внутренняя поверхности), белья и кожных покровов испытуемых-добровольцев при выполнении ими работ. Послойное определение бактериальной загрязненности всех слоев одежды позволяет дать характеристику эффективности защиты кожных покровов.

Изучение послойной загрязненности проводили методом смывов и тройных агаровых отпечатков. Из полученных данных можно сделать вывод, что, несмотря на значительные концентрации микробного аэрозоля в экспериментальной камере (10^7 – 10^8 КОЕ/м³), на кожных покровах испытуемых-добровольцев микроорганизмы-имитаторы не обнаружены. Однако это положение справедливо только для экспериментальных исследований, при которых скорость воздухоподдачи в подкостюмное пространство СКБ-4 составляла не менее 250 л/мин. При скорости воздухоподдачи 200 л/мин и менее на кожных покровах испытуемых-добровольцев обнаруживались микроорганизмы-имитаторы.

Помимо высокой защитной эффективности, при работе в СКБ-4 у персонала сохраняется высокая работоспособность, т.е. пневмокостюм СКБ-4 оказывает минимальные дополнительные нагрузки на организм работающего, что также подтверждено результатами исследований. Для определения значений дополнительных нагрузок проводилась физиолого-гигиеническая оценка состояния испытуемых-добровольцев при выполнении работы в СКБ-1 при скорости воздухоподдачи 300 л/мин. Как показали исследования, функциональные сдвиги в организме испытуемых-добровольцев носят умеренный характер и характеризуют приемлемое тепловое состояние организма [1]. Частота сердечных сокращений к концу четвертого часа работы составляла в среднем 105 уд/мин, частота дыхания – 19 цикл/мин, а показатели работоспособности снизились на 10–12 %, в основном за счет снижения способности испытуемых-добровольцев к тонкой координации движений.

Известно, что основной путь увеличения теплоотдачи от работающего в пневмокостюме – увеличение скорости воздухоподдачи в подшлемное и подкостюмное пространство. Можно предположить, что

Таблица 1

Изменение физиологических параметров у испытуемых при работе в костюме СКБ-4 с различными скоростями воздухоподачи

Периоды эксперимента	Физиологические показатели и скорость воздухоподачи, л/мин											
	частота сердечных сокращений, уд/мин						частота дыхания, цикл/мин					
	50	100	150	200	250	300	50	100	150	200	250	300
До надевания спецкостюма	76±4	74±4	76±4	68±3	76±4	72±3	14±1	15±1	14±1	14±1	14±1	15±1
В конце 4-го часа работы средней тяжести	111±6	108±6	108±6	106±6	105±5	100±5	27±2	26±2	20±1	21±2	19±1	20±1
Через 20 мин после окончания работы	84±4	88±5	80±4	70±3	72±3	70±3	19±1	20±1	18±1	16±1	14±1	14±1

Таблица 2

Результаты оценки теплового состояния организма человека в костюме СКБ-4 при различных скоростях воздухоподачи (данные приведены к концу 4-го часа работы в костюме)

Показатели теплового состояния	Скорость воздухоподачи, л/мин					
	50	100	150	200	250	300
Температура тела (ректальная), °С	37,7–38,0	37,4–37,8	37,0–37,5	36,8–37,2	36,6–37,0	36,4–36,8
Средняя температура кожи, °С	35,2–36,1	33,2–34,8	32,0–33,5	31,4–33,0	30,8–32,0	30,2–31,0
Средняя температура тела, °С	36,7–37,5	36,4–36,9	35,7–36,5	35,2–36,0	34,9–35,6	34,7–35,3
Теплосодержание, ккал/кг	30,4–30,9	30,3–30,7	30,1–30,5	28,9–30,2	28,7–30,0	28,8–30,0

с увеличением воздухоподачи в СКБ-4 улучшаются и физиолого-гигиенические параметры, характеризующие состояние организма человека. Это подтверждают результаты, полученные в серии исследований по физиолого-гигиенической оценке влияния костюма СКБ-4 на организм человека в зависимости от скорости воздухоподачи (табл. 1 и 2).

Из результатов исследований видно, что скорости воздухоподачи 50, 100, 150 и 200 л/мин недостаточны для поддержания приемлемого физиологического состояния, так как при этих скоростях показатели теплового состояния не удерживаются на оптимальном уровне или соответствуют верхней допустимой границе. При скоростях воздухоподачи 250 л/мин и более сдвиги в функциональных системах организма испытуемых-добровольцев умеренные, близкие к оптимальному уровню.

Таким образом, проведенные исследования разработанного костюма СКБ-4 показали, что его применение обеспечивает надежную защиту медицинского персонала от микробного аэрозоля, а соблюдение требуемой скорости воздухоподачи позволяет сохранить высокую работоспособность и хорошее самочувствие работающих.

Финансирование. Работа выполнена по контракту с ФМБА России № 42.064.14.0.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Буянов В.В., Колесников Н.В. Современные средства индивидуальной защиты, применяемые для обеспечения биологической безопасности. М.: 2012. 224 с.
2. Буянов В.В., Супрун И.П. Средства индивидуальной защиты для работ в микробиологических и вирусологических лабораториях. М.: Черноголовка; 2001. 324 с.
3. Онищенко Г.Г., Пальцев М.А., Зверев В.В., Иванов А.А., Киселев В.И., Нетесов С.В., Северин С.Е., Семенов Б.Ф., Сергиев В.П., Шелкунов С.П. Биологическая безопасность. М.: Медицина; 2006. 304 с.
4. Покровский В.И., Пак С.Г., Брико Н.И., Данилкин Б.К. Инфекционные болезни и эпидемиология. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2007. 816 с.

References

1. Buyanov V.V., Kolesnikov N.V. [State-of-the-Art Individual Protective Equipment, Applied for Biological Safety Provision]. M.; 2012. 224 p.
2. Buyanov V.V., Suprun I.P. [Personal Protective Equipment for Works in Microbiological and Virological Laboratories]. M.: "Chernogolovka"; 2001. 324 p.
3. Onishchenko G.G., Pal'tsev M.A., Zverev V.V., Ivanov A.A., Kiselev V.I., Netesov S.V., Severin S.E., Semenov B.F., Sergiev V.P., Shchelkunov S.P. [Biological Safety]. M.: "Meditsina"; 2006. 304 p.
4. Pokrovsky V.I., Pak S.G., Briko N.I., Danilkin B.K. [Infectious Diseases and Epidemiology]. M.: "GEOTAR-Media"; 2007. 816 p.

Authors:

Kolesnikov N.V., Khramov E.N., Poklonsky D.L. State Research Institute of Biological Engineering. Building 1, 75, Moscow, Volokolamskoye Highway, 125424, Russian Federation. E-mail: gosniibp@fmbamail.ru

Об авторах:

Колесников Н.В., Храмов Е.Н., Поклонский Д.Л. Государственный научно-исследовательский институт биологического приборостроения. Российская Федерация, 125424, Москва, Волоколамское шоссе, 75, к. 1. E-mail: gosniibp@fmbamail.ru

Поступила 24.06.15.

Е.И.Еременко

СИДЕРОФОРЫ *BACILLUS ANTHRACIS*

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

Железо необходимо для роста и размножения бактерий. Один из способов приобретения железа *Bacillus anthracis* состоит в использовании высокоаффинных хелатирующих агентов ионов железа – сидерофоров бациллибактина и петробактина, извлекающих железо из трансферрина и ферритина клеток хозяина. Функции бациллибактина и петробактина реализуются на разных стадиях роста *B. anthracis in vivo*, при этом синтез петробактина необходим также и для проявления вирулентности микроба. Знание путей биосинтеза сидерофоров способствует разработке блокирующих эти пути новых терапевтических средств против сибирской язвы. В обзоре приведены сведения о структуре, генетике, функциях сидерофоров сибиреязвенного микроба.

Ключевые слова: сидерофоры, потребление железа, вирулентность *B. anthracis*.

Корреспондирующий автор: Еременко Евгений Иванович, e-mail: snipchi@mail.stv.ru

E.I.Eremenko

Bacillus anthracis Siderophores

Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Iron is an essential for growth and reproduction of bacteria element. One of the ways of its acquisition by *Bacillus anthracis* is utilization of high-affinity chelating agents of iron ions – bacillibactin and petrobactin siderophores, extracting the iron from transferrin and ferritin of a host cell. Bacillibactin and petrobactin functions are realized on different stages of *B. anthracis* growth *in vivo*, whereas petrobactin synthesis is also necessary for manifestation of microbe virulence. Awareness of siderophore biosynthesis pathways facilitates the development of medicines against anthrax, which can block them up. The review contains the data on the structure, genetics, and functions of *B. anthracis* siderophores.

Key words: siderophores, iron acquisition, *B. anthracis* virulence.

Conflict of interest: The author declares no conflict of interest.

Corresponding author: Evgeny I. Eremenko, e-mail: snipchi@mail.stv.ru

Citation: Eremenko E.I. *Bacillus anthracis* Siderophores. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2016; 1:68–74. (In Russ.). DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-68-74

Bacillus anthracis – возбудитель особо опасной зоонозной инфекции и признанный агент биологического оружия и терроризма. Лечение и экстренная профилактика тяжелых форм сибирской язвы, в частности, ингаляционной формы, требует длительного назначения антибиотиков в сочетании с серотерапией, что часто сопровождается побочными эффектами. В связи с этим разработка новых антибактериальных средств, нацеленных на блокирование факторов вирулентности сибиреязвенного микроба, является актуальной задачей и перспективным направлением исследований. С проявлением вирулентности у патогенных микроорганизмов ассоциируется функция приобретения железа, поскольку это необходимый для роста и размножения бактерий микроэлемент, который бактерии должны получать из окружающей среды [20]. Получение железа патогенными бактериями представляет сложную задачу, так как растворимое Fe^{3+} в водной содержащей кислород среде обычно существует в аттомолярных (10^{-18}) концентрациях [21]. Гомеостаз железа у млекопитающих хозяев также строго регулируется; практически в сыворотке не существует железа, которое не было бы связано с гемом, железосодержащими белками

(ферритин, трансферрин и т.п.) или в виде кофакторов разных ферментов.

Известно, что строгий контроль доступности железа у млекопитающих служит барьером против инфекций [3]. Эффективность, с которой получение железа достигается патогенными бактериями, соответствует, как правило, их вирулентности [20].

Один из способов получения железа бактериями состоит в использовании высокоаффинных хелатирующих агентов ионов железа, называемых сидерофорами [5, 32, 43].

Сидерофоры *B. anthracis*. Основной из сидерофоров, выделенных из штамма *B. anthracis* Sterne, выращенного в среде без железа, охарактеризован как петробактин (ПБ), катехолатное соединение, содержащее необычные субъединицы 3,4-дигидробензоата (ДГБ), прежде идентифицированного только в экстрактах *Marinobacter hydrocarbonoclasticus*. Структурный анализ второго сидерофора показал, что он соответствует бациллибактину (ББ) – сидерофору, присущему многим видам бацилл [26]. Оба рассматриваются как катехоловые сидерофоры, в том смысле, что металл связывается в голо-сидерофоре

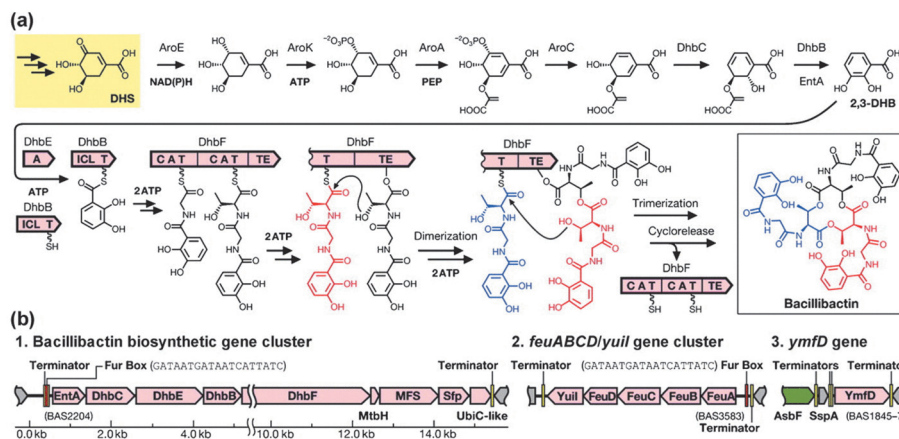


Рис. 1 Метаболический путь биосинтеза бациллибактина (в рамке) и организация кластеров генов, участвующих в биосинтезе, экспорте и поглощении бациллибактина:

(а) лиганд ДНВ образуется из DHS, который, в свою очередь, образуется из эндогенного пентозофосфатного пути (выделено желтым). (б) (1) ферменты, участвующие в сборке бациллибактина, кодируются генами кластера *entA-dhbBCF*; (2) гены, вовлеченные в поглощение бациллибактина, объединены в кластер *feuABCD/yuII*; (3) экспорт бациллибактина осуществляется транспортером MFS-типа, кодируемым геном *ymfD*. Гены и генетические кластеры аннотированы представленными номерами ORF, терминаторными сайтами (узкие желтые прямоугольники) и последовательностями предсказанных Fur-регуляторных сайтов (узкие красные прямоугольники). PEP – фосфоэнолпируват. Аббревиатуры ферментативных доменов (изображенные пятиугольниками): A – аденилирование; C – конденсация; ICL – изохоризматлаза; T – тиолирование; TE – тиюэстераза (из работы K.Hotta *et al.*, 2010) [24]

либо частично (ПБ), либо полностью (ББ) с единицами ДГБ (рис. 1, 2). Хотя обе молекулы химически способны связывать и переводить железо в растворимую форму, генетические, биохимические исследования и определение вирулентности показывают, что они выполняют явно разные биологические функции у бактерий [24].

Системная сибиреязвенная инфекция развивается в несколько стадий, начиная со стадии внутриклеточного развития *B. anthracis* в фагоцитах, за которой следует внеклеточная стадия, включающая массивную бактериемию, сепсис и гибель. Ранее идентифицированы два типа предполагаемых оперонов синтеза сидерофоров, получивших название *B. anthracis cathechol*, *bac* (антрабактин или ББ) и оперон биосинтеза сибиреязвенного сидерофора *anthrax siderophor biosynthesis*, *asb* (антрахелин или ПБ). Изучение мутантов штамма 34F2 Sterne с мутациями $\Delta asbA$ и $\Delta bacCEBF$ показало, что у них снижалась продукция сидерофоров при росте в условиях дефицита железа, но ослабление роста отмечалось только у $\Delta asbA$. Кроме того, у $\Delta asbA$ значительно ослаблен рост в макрофагах и существенно снижена вирулентность для мышей. В отличие от него штамм $\Delta bacCEBF$ фенотипически не

отличался от родительского штамма. Эти данные свидетельствуют в пользу необходимости антрахелина, но не антрабактина для ассимиляции железа во время внутриклеточной стадии сибирской язвы [10, 24].

Бациллибактин: структура, биохимия, генетика и железосвязывающие свойства. ББ – циклический тример, компонентами которого служат треонин, глицин и ДГБ. Для эффективного хелатирования железа ББ, как и большинство охарактеризованных катехолатных сидерофоров, имеет 2,3-ДГБ. Биосинтез бациллибактина идет с участием нерибосомальных пептид-синтетаз (NRPS), типичным для большинства макролактоновых сидерофоров путем [31].

Кластер генов биосинтеза ББ организован в отдельный оперон, охваченный Fur-регуляцией (рис. 1). Кластер содержит *mtbH*-подобный ген, функция которого остается неопределенной, но она часто ассоциируется с выполняемым с помощью NRPS биосинтезом арил-содержащих естественных продуктов [15]. Он также включает ген *sfp*, кодирующий

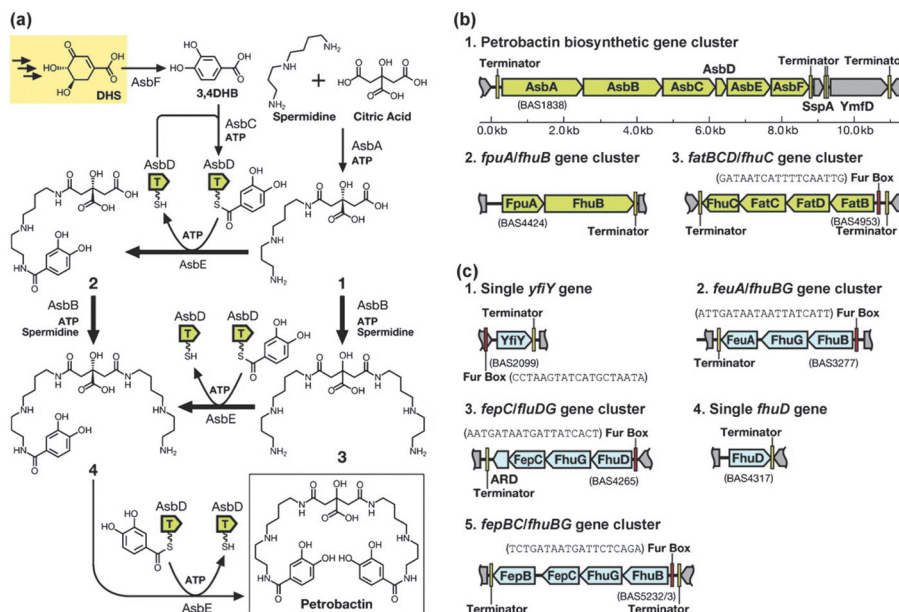


Рис. 2. Метаболический путь биосинтеза петробактина (в рамке) и организация генетических кластеров, вовлеченных в биосинтез и поглощение петробактина:

(а) лиганд ДНВ образуется из DHS, который, в свою очередь, образуется из эндогенного пентозофосфатного пути (выделено желтым). (б) (1) Ферменты, вовлеченные в сборку петробактина, кодируются кластером *asbABCDEF*; (2, 3) гены, вовлеченные в поглощение петробактина и 3,4-DHB, происходят из кластеров *fpuA/fhuB* и *fatBCD/fhuC*. (с) гены-гомологи транспортеров поглощения железосодержащих соединений с неизвестной субстратной специфичностью (из работы K.Hotta *et al.*, 2010) [24]

4'-фосфопантетеин-трансферазу, необходимую для правильного посттрансляционного переноса фосфопантетеина на ферментативные домены транспортера эффлюкса из суперсемейства транспортеров MFS-типа, и гомолога *ubiC*, который кодирует хоризматпируват-лиазу, хотя роль этого гена в биосинтезе ББ остается неясной [24].

ББ, как и родственные трис-катехолатные сидерофоры, связывает железо с аффинностью ($K_f=10^{47.6}$) [12], что явно выше, чем у переносящих железо белков млекопитающих трансферрина и ферритина [13, 14].

ББ синтезируют все исследованные штаммы *B. anthracis* [27]. Хотя синтез этой молекулы весьма консервативен среди штаммов бацилл, она не является необходимой для жизнеспособности всех штаммов [10].

Поглощению сидерофоров у грамположительных бактерий способствуют как ассоциированные с мембраной субстрат-связывающие белки, так и трансмембранные белки ABC-транспортеры. В поглощение ББ членами группы *Bacillus cereus*, вероятно, вовлечены FeuA, B и C [37], как и триактон-гидролаза YuiI (BesA) [33, 34]. Кодирующие их четыре гена и *feuD*, кодирующий АТФ-азный компонент составного транспортера железа ABC-типа, организованы в оперон с Fur-боксом у его 5'-конца. Система FeuABC вовлечена в поглощение ББ со связанным трехвалентным железом у *Bacillus subtilis*, а FeuA проявляет наномолярную связывающую аффинность для Fe³-сидерофора. С другой стороны, YuiI также гидролизует ББ и ББ со связанным трехвалентным железом, хотя катализирует гидролиз последнего в 25 раз эффективнее. Поэтому предположили, что YuiI отвечает за освобождение железа из его хелата с ББ в цитозоль. Все эти белки консервативны для штаммов в пределах группы *Bacillus cereus* и предположительно играют подобную роль у разных штаммов. Экспорт ББ этими штаммами происходит с использованием того же ферментного аппарата, что использует *B. subtilis*, а именно, транспортера MFS-типа YmfD и транскрипционного регулятора Mta [34].

Петробактин: структура, биохимия и свойства связывания железа. Хотя ПБ содержит катехолатные (в дополнение к α -гидроксикарбоксилату) железokoординирующие единицы, он отличается от бациллибактина (как и от других катехолатных сидерофоров) характером гидроксирования единиц ДГБ (рис. 2). ПБ относят также к сидерофорам смешанного типа – цитрат-катехолатным [32].

ПБ использует 3,4-ДГБ лиганды, тогда как подавляющее большинство катехолатных сидерофоров, идентифицированных к настоящему времени, использует 2,3-ДГБ-структурные изомеры. Сейчас ПБ и его сульфонируемые производные являются единственными известными сидерофорами, которые используют этот необычный лиганд (хотя свободный 3,4-ДГБ продуцируют некоторые штаммы *B. anthracis* и *Magnetospirillum magneticum*) [6, 18, 19, 22, 23]. Оказалось, что единицы 3,4-ДГБ не просто хими-

ческая аномалия в мире сидерофоров, они играют важную роль в развитии микроорганизма. ПБ – линейная молекула, состоящая из цитрата, спермидина и 3,4-ДГБ, ферменты его биосинтеза отличаются от ответственных за циклические сидерофоры и поэтому называются NRPS-независимыми сидерофорсинтазами (NIS-синтазами). Продукция сидерофоров NIS-синтазами у других бактерий достаточно распространена. Как в случае с ПБ, продуцируемые NIS-синтазой сидерофоры играют значительную роль в вирулентности их продуцентов.

В сборке трех молекулярных строительных блоков в молекулу ПБ участвуют шесть ферментов, кодируемых кластером генов *asbABCDEF* [10, 30]. Биосинтез ПБ необычен в том отношении, что в нем участвуют ферменты двух различных классов, NRPS и NIS-синтазы, функционирующие во взаимодействии для выработки конечного продукта.

NIS-синтаза типа A, AsbA, специфически катализирует стереоспецифическое присоединение спермидина к одному из прохиральных карбоксилатов цитрата с образованием (3S)-N⁸-цитрилспермидина [38]. С этой стадии путь биосинтеза ПБ разветвляется, и после нее действует либо белок NRPS-типа AsbE, переносящий 3,4-ДГБ с AsbD на (3S)-N⁸-цитрилспермидин с образованием N⁷-(3,4-дигидробензоил)-N⁸-цитрилспермидина, либо NIS-синтаза типа C AsbB, предоставляющая бис-амид. Интермедиаты N⁷-(3,4-дигидробензоил)-N⁸-цитрилспермидин и бис-амид собираются под действием соответственно AsbB и AsbE в следующий интермедиат, к которому под действием AsbE присоединяется вторая молекула 3,4-ДГБ, завершая синтез ПБ.

Кластер генов *asbABCDEF* *B. anthracis* ответственен за биосинтез ПБ, который выполняет функции, связанные как с приобретением железа, так и с вирулентностью для мышей. Получены мутации в каждом из генов *asbABCDEF*-локуса. Индивидуальные мутации привели к полному прекращению биосинтеза ПБ при выращивании штаммов в истощенной по железу среде. Однако анализ *in vitro* показал, что каждый *asb*-мутант давал весьма ограниченный вегетативный рост в железodefицитной среде. Напротив, ни один из *asb*-мутантов не был способен прорасти из спор в тех же условиях. Обеспечение экзогенным ПБ способно исправить дефект роста у каждого *asb*-мутанта. AsbA осуществляет предпоследнюю стадию в биосинтезе ПБ, включая конденсацию 3,4-дигидробензоил спермидина с цитратом с образованием 3,4-дигидробензоил спермидинил цитрата. На конечной стадии AsbA катализирует конденсацию второй молекулы 3,4-дигидробензоил спермидина с 3,4-дигидробензоил спермидинил цитратом, образуя зрелый сидерофор [30]. AsbC, 3,4-ДГБ-АМФ-лигаза, является ключевым компонентом биосинтеза дигидробензоат-спермидина (ДГБ-СП), первого выделяемого интермедиата в биосинтезе ПБ. AsbC катализирует аденилирование соответствующего АМФ-эфира необычного предшественника 3,4-ДГБ,

в дополнение к бензоатным субстратам, несущим доноры водородных связей в пара- и мета-позициях фенильного кольца. Второй реакцией AsbC катализирует перенос активированной начальной единицы на AsbD, белок арил-транспортёр, подобный ацил- и пептидил-транспортёрам, которые функционируют в биосинтезе жирных кислот, поликетидов и нерибосомальном биосинтезе пептидов. Третий белок, AsbE, ответственен за конденсацию 3,4-дигидробензоил-AsbD со спермидином, поставляя ДГБ-СП, который связывается с цитратом для сборки ПБ. На основе селективного субстратного профиля AsbC синтезирован негидролизруемый аналог 3,4-дигидробензоил-АМФ. Показано, что он эффективно ингибирует функцию AsbC *in vitro* [41].

В то время как функции ферментов AsbABCDE биосинтеза ПБ точно установлены в работах *in vivo* и *in vitro*, роль AsbF остается непонятной. Начальные представления о существовании основного метаболического пути 3,4-ДГБ получены в исследованиях с меченной углеродом ^{13}C глюкозой в питательной среде. Основываясь на изучении обогащения изотопом катехоловой единицы выделенного ПБ, были идентифицированы ранние стадии пути биосинтеза шикимата как первичного источника для продукции 3,4-ДГБ [28]. Вскоре после этого охарактеризовали AsbF как дегидрошикимат-дегидратазу, осуществляющую прямое превращение 3-дигидрошикимовой кислоты в 3,4-ДГБ [17, 40]. Действие NRPS-подобных ферментов AsbCD, в конечном счете, ответственно за активацию 3,4-ДГБ для переноса на структуру цитрил-спермидина и завершение сборки ПБ.

Хотя ББ проявляет значительно большую аффинность к ионам Fe^{+3} , чем ПБ ($K_f^{\text{bac}} = 10^{47,6}$ против $K_f^{\text{pet}} = 10^{23}$), оба имеют большую аффинность к Fe^{+3} , чем трансферрин ($K_f = 10^{21}$). Следовательно, трансферрин является первичным источником железа для патогенных видов *Bacillus* в процессе инфекции. Более того, ПБ извлекает железо из трансферрина с большей скоростью и большей эффективностью, чем энтеробактин или аэробактин [2]. Несомненно, способность ПБ быстро экстрагировать из этого белка и растворять железо, переводя его в доступную для микробов форму, играет значительную роль в инфекциозности микроба.

Комплекс Fe-ПБ декарбоксилируется при длительном воздействии света [4], и фотопродукт сам по себе имеет большую аффинность к Fe^{3+} ($K_f = 10^{24,4}$), чем ПБ [2]. Хотя предполагалось, что это играет роль в жизненном цикле продуцирующих ПБ морских бактерий, вероятно, этот факт не имеет значения для обитающих в почве штаммов *Bacillus*. Тем не менее, ПБ и его фотопродукт могут использоваться как ксеносидерофоры другими членами этого вида [2].

Продукция ПБ группой *Bacillus cereus* не является исключительной особенностью патогенных штаммов [27]. Однако все штаммы, способные вызывать потенциально летальную инфекцию у людей, продуцируют ПБ в качестве их основного сидерофо-

ра. Поэтому продукция ПБ, не являясь биомаркером вирулентности в этой группе, представляет собой свойство, которое необходимо для развития инфекции у млекопитающих [9].

Полагают, что поглощению ПБ способствуют мембранно-ассоциированные субстрат-связывающие белки и транспортёры. Субстрат-связывающие белки FpuA и FatB проявляют прочную связывающую аффинность к ПБ (или его фотопродукту) и Fe-ПБ (или его фотопродукту), причем последний также обнаруживает способность связывать 3,4-ДГБ и его аналог со связанным ионом железа [44].

Вышеупомянутые сидерофоры также прочно связываются YclQ, гомологом FatB у *B. subtilis*, ортологи этого белка найдены у представителей группы *B. cereus* [45]. Таким образом, обзор геномов представительной выборки штаммов группы *B. cereus* выявил присутствие ряда транспортёров соединений железа, субстратная специфичность и функция которых остается неясной. Несмотря на наличие множественных транспортёров, способных связывать ПБ, в опытах *in vivo* показано, что у *B. anthracis* Sterne FpuA играет более важную роль в потреблении ПБ, чем FatB [8]. Штамм с генетической делецией FpuA растет медленнее и накапливает ПБ в среде в большей степени, чем штамм дикого типа или дефицитный по FatB. Наиболее важно то, что споры FpuA мутанта обладают сниженной вирулентностью на модели мышей, хотя синтез ПБ у этого штамма не аттенуирован. LD₅₀ спор FpuA мутанта более чем на три порядка выше, чем штамма дикого типа, и в 10 раз выше, чем у штамма, дефектного по продукции ПБ. Исчерпывающий сравнительный анализ геномов группы *B. cereus* выявил, что, за немногими исключениями, большинство непатогенных штаммов не имеют *fpuA* или *fatB*. В то время как FpuA играет важную роль в вирулентности штамма, роль FatB менее понятна. Однако рост штамма с делецией *fpuA/fatB* в железодефицитной среде замедлен по сравнению со штаммом с делетированным *fpuA* [8]; FatB, возможно, играет вспомогательную роль в приобретении железа. Вероятно, основная роль FatB заключается в транспорте самого связанного с 3,4-ДГБ железа, это согласуется с тем, что K_d для субстрата $[\text{Fe}^{\text{III}}(3,4\text{-ДГБ}_2)]^{3-}$ примерно в 100 раз ниже, чем для $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{PB})]^{3-}$ [44]. Кроме того, в отличие от кластера генов *fat*, кластеры генов *asb* и *fpuA* не содержат регуляторного элемента Fur, что предполагает более близкую функциональную связь между биосинтезом ПБ и опосредуемым FpuA его потреблением. Эти исследования служат иллюстрацией важности потребления бактериальных сидерофоров в процессе инфекции. Они показывают, что аппарат транспорта сидерофоров представляет собой еще одну точку воздействия для потенциальных терапевтических средств [16].

Накопление ББ у *B. anthracis* Sterne 34F2 и у мутанта, не имеющего основной супероксиддисмутазы D (SodA1), почти полностью репрессировалось при добавлении 20 мМ железа. Напротив, синтез ПБ у обоих штаммов продолжался вплоть до 20 мМ же-

леза. Аккумуляция ПБ и ББ слегка увеличивалась при добавлении низких концентраций параквата, индуцирующего окислительный стресс у *B. anthracis* Sterne дикого типа. Выращивание культур при интенсивной аэрации приводило к относительно большому накоплению ПБ, чем при слабой аэрации, и задерживало репрессивное действие добавления железа. Напротив, рост культур в среде с низким содержанием железа и при слабой аэрации сопровождался увеличением уровня ББ. Не выявлено различий в общей супероксиддисмутазной активности или уровнях транскрипции генов *sodA1* и *sodA2* между культивированием в обедненной и обогащенной железом среде при интенсивной и слабой аэрации, что могло указывать на разделение регуляции супероксиддисмутазы и метаболизма железа у *B. anthracis*. Наиболее высокий уровень транскрипции гена *asbB*, части оперона биосинтеза ПБ, отмечался в условиях лимитирования железа и интенсивной аэрации, но транскрипция также заметна даже при избытке железа и слабой аэрации. Ген *dhbC*, член оперона биосинтеза ББ, транскрибировался только при истощении железа независимо от уровня аэрации. Эти данные позволяют прийти к заключению, что регуляция ББ высокочувствительна к концентрации железа. Хотя регуляция ПБ менее зависима от железа, он подвергается дополнительным уровням регуляции, что может способствовать вирулентности *B. anthracis* [29].

Микробиологическая роль бациллибактина и петробактина. Хотя ПБ и ББ секвестрируют железо и переводят его в растворимую форму, появляется все больше данных о том, что эти два сидерофора имеют различные биологические функции у производящих их бактерий. Продукция ПБ играет ключевую роль в развитии сибиреязвенной инфекции у млекопитающих, тогда как продукция ББ представляется значительно менее важной. Генетические делеции в кластере генов биосинтеза ББ штамма Sterne *B. anthracis* не влияют на рост в обедненной железом среде и вирулентность для мышей [10]. Частично это находит объяснение в наблюдениях об отличающемся по времени накоплении сидерофоров *B. anthracis* в среде культивирования [42]. ПБ накапливается в среде спустя 5 ч после прорастания спор, что составляет менее половины времени, требующегося для накопления ББ в аналогичных условиях. Эти исследования показывают, что ПБ используется бактерией на ранних стадиях роста – прорастании спор. Дефектный по синтезу ПБ штамм *B. anthracis* прорастает только в среде с добавкой экзогенного ПБ или других источников железа, что согласуется с вышеописанной гипотезой. Кроме того, продукция ББ бактерией, растущей при 37 °C в обогащенной CO₂ атмосфере, значительно снижена по сравнению с продукцией при росте в условиях окружающей среды. Вегетативный рост штамма Sterne *B. anthracis* при 37 °C без обогащения атмосферы CO₂ сопровождается двукратным снижением продукции ББ по сравнению с ростом при 23 °C (10 против 20 мМ

соответственно). ББ не накапливается в определяемых количествах в культурах, выращенных в среде с 0,4–0,8 % бикарбоната, что согласуется с другими анализами с добавлением CO₂ [42].

Повышенные температура и содержание CO₂ имитируют условия кровеносной системы млекопитающих, которые влияют на экспрессию ряда факторов вирулентности бактерий [7, 25, 36]. Супрессия продукции ББ может отражать попытки микроорганизма сохранить метаболические ресурсы, не растрачивая их на синтез молекулы, которая изолируется защитной системой хозяина и не обеспечивает биологических преимуществ в этих условиях. Как разобщение по времени продукции двух сидерофоров, так и супрессия продукции ББ факторами организма хозяина представляют собой интригующее свидетельство того, что эти сидерофоры играют разные роли в жизненном цикле *B. anthracis* и других близких бацилл. Тогда как ПБ, несомненно, сидерофор, который используется микробом в процессе прорастания спор и во время манифестации инфекции, предполагается, что ББ используется на поздних стадиях инфекции, когда изменяются концентрация CO₂ и температура, или при переходе вегетативных клеток в споры [42].

ПБ необходим для полной вирулентности *B. anthracis*. Оперон *asbABCDEF* кодирует аппарат биосинтеза этого вторичного метаболита. Функция пяти продуктов генов оперона *asb* необходима и достаточна для превращения эндогенных предшественников в ПБ. На этом биосинтетическом пути сидерофор-синтетаза AsbV катализирует образование амидных связей, критичных для сборки ПБ, используя интермедиаты биосинтеза, а не первичные метаболиты в качестве доноров карбоксилата. При исследовании кристаллической структуры белка AsbV, участвующего в биосинтезе сидерофора *B. anthracis*, открыта трехмерная модель NIS. Последующее исследование ферментативной активности NRPS-подобных полипептидов показало, что альтернативные продукты AsbV в дальнейшем превращаются в ПБ, подтверждая существование предполагаемых ранее конвергентных путей образования этого сидерофора [35].

Роль сидерокалина. Благодаря основополагающей работе S.Cendrowski *et al.* [10], стало известно, что штаммы *B. anthracis*, неспособные продуцировать ПБ, не патогенны. В то время как росту микроба способствует свойство ПБ экстрагировать железо из белков хозяина, дополнительное содействие росту оказывает уникальная возможность сидерофора «ускользнуть» от эндогенного сидерофор-секвестрирующего белка сидерокалина, компонента иммунной системы млекопитающих [11]. Сидерокалин имеет высокую аффинность к трис-катехолатным сидерофорам, включая ББ, но совершенно незначительную к ПБ [1]. Есть основания полагать, что 3,4-ДГБ группа ПБ сама имеет значение в преграждении доступа сидерофора к связывающей зоне сидерокалина [1, 2]. Неспособность сидерокалина связывать ПБ позволяет сидерофору сохраняться в кровяном русле и обеспечивать более благоприят-

ные условия для роста. Из-за его способности избегать действия сидерокалина, ПБ называли «невидимым сидерофором». Он является необходимым фактором, способствующим проявлению вирулентности в организме хозяина, так как прекращение его продукции патогенными штаммами делает их авирулентными.

У патогенных бактерий сами сидерофоры часто являются ключевыми медиаторами вирулентности. ББ и ПБ в совокупности представляют интересный пример того, как приобретение ионов железа не только опосредует вирулентность у семейства патогенных бактерий, но и оказывает влияние на развитие микроорганизмов на протяжении их жизненного цикла.

С приобретением железа у *B. anthracis*, кроме ББ и ПБ, связаны два иммуногенных белка, Dlp-1 и Dlp-2, гены которых гомологичны генам ДНК-связывающих белков. Изучение Dlpс *Escherichia coli* показало, что их кристаллическая структура имеет сфероподобную форму с внутренней полостью. Они действуют как ферритины (депонирующие железо глобулярные белковые комплексы) и участвуют в усвоении железа и регуляции этого процесса [39].

Таким образом, ферменты, участвующие в биосинтезе сидерофоров, являются новой привлекательной мишенью для разрабатываемых антибиотиков. Прицельные ингибиторы биосинтеза ПБ, сидерофора, ассоциируемого с вирулентностью и кодируемого локусом *asb* *B. anthracis*, могут стать потенциальным средством лечения сибирской язвы.

Конфликт интересов: Автор подтверждает отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

References / СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Abergel R.J., Wilson M.K., Arceneaux J.E., Hoette T.M., Strong R.K., Byers B.R., Raymond K.N. Anthrax pathogen evades the mammalian immune system through stealth siderophore production. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2006; 103:18499–503.
2. Abergel R.J., Zawadzka A.M., Raymond K.N. Petrobactin-mediated iron transport in pathogenic bacteria: coordination chemistry of an unusual 3,4-catecholate/citrate siderophore. *J. Am. Chem. Soc.* 2008; 130:2124–5.
3. Andrews S.C., Robinson A.K., Rodriguez-Quinones F. Bacterial iron homeostasis. *FEMS Microbiol. Rev.* 2003; 27:215–37.
4. Barbeau K., Zhang G., Live D.H., Butler A. Petrobactin, a photoreactive siderophore produced by the oil-degrading marine bacterium *Marinobacter hydrocarbonoclasticus*. *J. Am. Chem. Soc.* 2002; 124:378–9.
5. Boukhalfa H., Crumbliss A.L. Chemical aspects of siderophore mediated iron transport. *Biometals*. 2002; 15:325–39.
6. Calugay R.J., Takeyama H., Mukoyama D., Fukuda Y., Suzuki T., Kanoh K., Matsunaga T. Catechol siderophore excretion by bacterium *Magnetospirillum magneticum* AMB-1. *J. Biosci. Bioeng.* 2006; 101:445–7.
7. Caparon M.G., Geist R.T., Perez-Casal J., Scott J.R. Environmental regulation of virulence in group A streptococci: transcription of the gene encoding M protein is stimulated by carbon dioxide. *J. Bacteriol.* 1992; 174:5693–701.
8. Carlson P.E.Jr., Dixon S.D., Janes B.K., Carr K.A., Nusca T.D., Anderson E.C., Keene S.E., Sherman D.H., Hanna P.C. Genetic analysis of petrobactin transport in *Bacillus anthracis*. *Mol. Microbiol.* 2010; 75:900–9.
9. Casadevall A. Cards of virulence and the global virulome for humans. *Microbe*. 2006; 1:359–64.
10. Cendrowski S., MacArthur W., Hanna P. *Bacillus anthracis* requires siderophore biosynthesis for growth in macrophages and mouse virulence. *Mol. Microbiol.* 2004; 51:407–17.
11. Clifton M.C., Corrent C., Strong R.K. Siderocalins: siderophore-binding proteins of the innate immune system. *Biometals*. 2009; 22:557–64.
12. Dertz E.A., Xu J., Stintzi A., Raymond K.N. Bacillibactin mediated iron transport in *Bacillus subtilis*. *J. Am. Chem. Soc.* 2006; 128:22–3.
13. Dhungana S., Anderson D.S., Mietzner T.A., Crumbliss A.L. Kinetics of iron release from ferric binding protein (FbpA): mechanistic implications in bacterial periplasm-to-cytosol Fe³⁺ transport. *Biochemistry*. 2005; 44:9606–18.
14. Dhungana S., Taboy C.H., Zak O., Larvie M., Crumbliss A.L., Aisen P. Redox properties of human transferrin bound to its receptor. *Biochemistry*. 2004; 43:205–9.
15. Drake E.J., Cao J., Qu J., Shah M.B., Straubinger R.M., Gulick M. The 1.8 Å crystal structure of PA2412, an MbtH-like protein from the pyoverdine cluster of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Biol. Chem.* 2007; 282:20425–34.
16. Ferreras J.A., Ryu J.S., Di Lello F., Tan D.S., Quadri L.E.N. Small molecule inhibition of siderophore biosynthesis in *Mycobacterium tuberculosis* and *Yersinia pestis*. *Nat. Chem. Biol.* 2005; 1:29–32.
17. Fox D.T., Hotta K., Kim C.Y., Koppisch A.T. The missing link in petrobactin biosynthesis: *asbF* encodes a (–)-3-dehydroshikimate dehydratase. *Biochemistry*. 2008; 47:12251–3.
18. Gardner R.A., Kinkade R., Wang C., Phanstiel O. 4th. Total synthesis of petrobactin and its homologues as potential growth stimuli for *Marinobacter hydrocarbonoclasticus*, an oil-degrading bacterium. *J. Org. Chem.* 2004; 69:3530–7.
19. Garner B.L., Arceneaux J.E., Byers B.R. Temperature control of a 3,4-dihydroxybenzoate (protocatechuate)-based siderophore in *Bacillus anthracis*. *Curr. Microbiol.* 2004; 49:89–94.
20. Griffiths E. Iron in biological systems. In: Iron and Infection Molecular, Physiological and Clinical Aspect. Chichester, UK: John Wiley and Sons; 1999. P. 1–26.
21. Harris W.R. Iron chemistry. In: Molecular and Cellular Iron Transport. New York: Marcel Dekker; 2002. P. 1–40.
22. Hickford S.J., Kupper F.C., Zhang G., Carrano C.J., Blun J.W., Butler A. Petrobactin sulfonate, a new siderophore produced by the marine bacterium *Marinobacter hydrocarbonoclasticus*. *J. Nat. Prod.* 2004; 67:1897–9.
23. Homann V.V., Edwards K.J., Webb E.A., Butler A. Siderophores of *Marinobacter aquaeolei*: petrobactin and its sulfonated derivatives. *Biometals*. 2009; 22:565–71.
24. Hotta K., Kim C.-Y., Fox D.T., Koppisch A.T. Siderophore-mediated iron acquisition in *Bacillus anthracis* and related strains. *Microbiology*. 2010; 156:1918–25.
25. Koehler T.M., Dai Z., Kaufman-Yarbray M. Regulation of the *Bacillus anthracis* protective antigen gene: CO₂ and a trans-acting element activate transcription from one of two promoters. *J. Bacteriol.* 1994; 176:586–95.
26. Koppisch A.T., Browder C.C., Moe A.L., Shelley J.T., Kinkel B.A., Hersman L.E., Iyer S., Ruggiero C.E. Petrobactin is the primary siderophore synthesized by *Bacillus anthracis* str. Sterne under conditions of iron starvation. *Biometals*. 2005; 18:577–85.
27. Koppisch A.T., Dhungana S., Hill K.K., Boukhalfa H., Heine H.S., Colip L.A., Romero R.B., Shou Y., Ticknor L.O., Marrone B.L., Hersman L.E., Iyer S., Ruggiero C.E. Petrobactin is produced by both pathogenic and nonpathogenic isolates of the *Bacillus cereus* group of bacteria. *Biometals*. 2008; 21:581–9.
28. Koppisch A.T., Hotta K., Fox D.T., Ruggiero C.E., Kim C.Y., Sanchez T., Iyer S., Browder C.C., Unkefer P.J., Unkefer C.J. Biosynthesis of the 3,4-dihydroxybenzoate moieties of petrobactin by *Bacillus anthracis*. *J. Org. Chem.* 2008; 73:5759–65.
29. Lee J.Y., Passalacqua K.D., Hanna P.C., Sherman D.H. Regulation of Petrobactin and Bacillibactin Biosynthesis in *Bacillus anthracis* under Iron and Oxygen Variation. *PLoS ONE*. 2011; 6(6):e2077. doi:10.1371/journal.pone.0020777.
30. Lee J.Y., Janes B.K., Passalacqua K.D., Pfleger B.F., Bergman N.H., Liu H., Håkansson K., Somu R.V., Aldrich C.C., Cendrowski S., Hanna P.C., Sherman D.H. Biosynthetic Analysis of the Petrobactin Siderophore Pathway from *Bacillus anthracis*. *J. Bacteriol.* 2007; 189:1698–710.
31. May J.J., Wendrich T.M., Marahiel M.A. The *dhb* operon of *Bacillus subtilis* encodes the biosynthetic template for the catecholic siderophore 2, 3-dihydroxybenzoate-glycine-threonine trimeric ester bacillibactin. *J. Biol. Chem.* 2001; 276:7209–17.
32. Miethke M., Marahiel M.A. Siderophore-based iron acquisition and pathogen control. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2007; 71:413–51.
33. Miethke M., Klotz O., Linne U., May J.J., Beckering C.L., Marahiel M.A. Ferri-bacillibactin uptake and hydrolysis in *Bacillus subtilis*. *Mol. Microbiol.* 2006; 61:1413–27.
34. Miethke M., Schmidt S., Marahiel M.A. The major facilitator superfamily-type transporter YmfE and the multidrug efflux activator Mta mediate bacillibactin secretion in *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.* 2008; 190:5143–52.
35. Nusca T.D., Kim Y., Maltseva N., Lee J.Y., Eschenfeldt W., Stols L., Schofield M.M., Scaglione J.B., Dixon S.D., Oves-Costales D., Challis G.L., Hanna P.C., Pfleger B.F., Joachimiak A., Sherman

- D.H. Functional and structural analysis of the siderophore synthetase AsbB through reconstitution of the petrobactin biosynthetic pathway from *Bacillus anthracis*. *J. Biol. Chem.* 2012; 287:16058–72.
36. Okada N., Geist R.T., Caparon M.G. Positive transcriptional control of *mry* regulates virulence in the group A streptococcus. *Mol. Microbiol.* 1993; 7:893–903.
37. Ollinger J., Song K.B., Antelmann H., Hecker M., Helmann J.D. Role of the Fur regulon in iron transport in *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.* 2006; 188:3664–73.
38. Oves-Costales D., Song L., Challis G.L. Enantioselective desymmetrisation of citric acid catalyzed by the substrate-tolerant petrobactin biosynthetic enzyme AsbA. *Chem. Commun. (Camb)*, 2009; 11:1389–91.
39. Papinutto E., Dundon W.G., Pitulis N., Battistutta R., Montecucco C., Zanotti G. Structure of Two Iron-binding Proteins from *Bacillus anthracis*. *J. Biol. Chem.* 2002; 277:15093–8.
40. Pfeleger B.F., Kim Y., Nusca T.D., Maltseva N., Lee J., Rath C.M., Scaglione J.B., Janes B.K., Anderson E.C., Bergman N.H., Hanna P.C., Joachimiak A., Sherman D.H. Structural and functional analysis of AsbF: origin of the stealth 3,4-dihydroxybenzoic acid subunit for petrobactin biosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2008; 105:17133–8.
41. Pfeleger B.F., Lee J.Y., Somu R.V., Aldrich C.C., Hanna P.C., Sherman D.H. Characterization and analysis of early enzymes for petrobactin biosynthesis in *Bacillus anthracis*. *Biochemistry.* 2007; 46:4147–57.
42. Wilson M.K., Abergel R.J., Arceneaux J.E., Raymond K.N., Byers B.R. Temporal production of the two *Bacillus anthracis* siderophores, petrobactin and bacillibactin. *Biometals.* 2010; 23:129–34.
43. Winkelmann G. Microbial siderophore-mediated transport. *Biochem. Soc. Trans.* 2002; 30:691–6.
44. Zawadzka A.M., Abergel R.J., Nichiporuk R., Andersen U.N., Raymond K.N. Siderophore-mediated iron acquisitions systems in *Bacillus cereus*: identification of receptors for anthrax virulence-associated petrobactin. *Biochemistry.* 2009; 48:3645–57.
45. Zawadzka A.M., Kim Y., Maltseva N., Nichiporuk R., Fan Y., Joachimiak A., Raymond K.N. Characterization of a *Bacillus subtilis* transporter for petrobactin, an anthrax stealth siderophore. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2009; 106:21854–9.

Authors:

Eremenko E.I. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: snipchi@mail.stv.ru

Об авторах:

Еременко Е.И. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: snipchi@mail.stv.ru

Поступила 24.07.15.

А.С.Замедянская, Ал.А.Сергеев, К.А.Титова, А.С.Кабанов, Л.Е.Булычев, Ар.А.Сергеев, А.Е.Нестеров, О.В.Носарева, Д.О.Галахова, Л.Н.Шишкина, А.П.Агафонов, А.Н.Сергеев

ОЦЕНКА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЖИВОТНЫХ К ОСОБО ОПАСНЫМ ОРТОПОКСВИРУСАМ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПЕРВИЧНЫХ КУЛЬТУР КЛЕТОК ЛЕГКИХ

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

Целью работы явилось изучение чувствительности животных к высокопатогенным ортопоксвирусам с помощью метода, основанного на использовании первичных культур клеток легких, и оценка возможности дальнейшего применения этого метода. **Материалы и методы.** В работе использовали культуральные и вирусологические методы исследований. **Результаты и выводы.** Проведено изучение чувствительности аутбредной мыши, сурка и цыпленка к вирусам натуральной оспы и оспы обезьян, используя суспензии клеток легких этих животных. При заражении таких клеточных культур этими вирусами в дозе 0,00001 БОЕ/клетку (бляшкообразующие единицы/клетку) продемонстрирован факт их размножения во всех случаях с максимальными значениями концентраций (1,4–2,0 lg БОЕ/мл) в основном через 3 сут после заражения. Чувствительность к вирусу натуральной оспы мышей, сурков и цыплят (ID_{50} – 50 % инфицирующая доза) по данным, полученным на суспензиях их клеток легких, соответствовала следующим величинам: (0,0 ± 0,4) lg БОЕ для цыплят; (1,3 ± 0,5) lg БОЕ для мышей; (2,3 ± 0,5) lg БОЕ для сурков. При этих условиях величины данного показателя для вируса оспы обезьян были следующими: (1,7 ± 0,3) lg БОЕ для мышей и (0,5 ± 0,3) lg БОЕ для сурков. Значения ID_{50} , полученные для вируса натуральной оспы на суспензии клеток легких мышей и для вируса оспы обезьян на тех же клетках мышей и сурков, соответствовали таковым, оцененным в прямых экспериментах по интраназальному заражению этих животных данными вирусами с учетом 10 % их аппликации в легких при использовании этого метода заражения. Данное обстоятельство свидетельствует о возможности дальнейшего применения метода оценки чувствительности животных к высокопатогенным ортопоксвирусам по данным экспериментов *in vitro*.

Ключевые слова: вирус натуральной оспы, вирус оспы обезьян, мышь, сурок, цыпленок, первичные клетки легких, 50 % инфицирующая доза, вирусная продукция.

Корреспондирующий автор: Замедянская Алена Сергеевна, e-mail: zamedyanskaya_as@vector.nsc.ru

A.S.Zamedyanskaya, Al.A.Sergeev, K.A.Titova, A.S.Kabanov, L.E.Bulychev, Ar.A.Sergeev, A.E.Nesterov, O.V.Nosareva, D.O.Galakhova, L.N.Shishkina, A.P.Agaonov, A.N.Sergeev

Assessment of Animal Sensitivity to Particularly Dangerous Orthopoxviruses, Using Primary Cultures of Lung Cells

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

Objective of the study is to investigate the sensitivity of different animals to highly pathogenic Orthopoxviruses applying techniques, based on utilization of primary cultures of lung cells, and to assess the possibility of further deployment of this approach. **Materials and methods.** Cultural and virological research methods are used. **Results and conclusions.** Performed is the assessment of sensitivity of outbred mice, marmots and chickens to variola virus (VV) and monkeypox virus (MPV), using suspended primary cultures of lung cells (SPCLC) of these animals. Through inoculation of the mentioned above cell cultures with VV and MPV in a dose of 0.00001 PFU per a cell (plaque forming unit /cell) demonstrated has been virus replication with maximum concentration values in all cases (1,4 – 2,0 lg PFU/ml), mainly 3 days after infection. According to the data on SPCLC, sensitivity to VV in mice, marmots and chickens (ID_{50} – 50 % infective dose) amounts to (1,3 ± 0,5) lg PFU; (2,3 ± 0,5) lg PFU; and (0,0 ± 0,4) lg PFU respectively, taking into account unhindered interaction of the virus with permissive lung cells in the organism of the animals. As for MPV values for this indicator, they are: (1,7 ± 0,3) lg PFU for mice, and (0,5 ± 0,3) lg PFU – for marmots. Obtained ID_{50} values for VV using mice SPCLC and for MPV using mice and marmots SPCLC coincide with the ones, studied in direct experiments on intranasal infection with the viruses, with regard to 10 % of the viral application in lungs when deploying the latter method of infection. The fact testifies to the possibility of further deployment of this method for the assessment of animal sensitivity to highly pathogenic Orthopoxviruses based on the results of *in vitro* experiments.

Keywords: variola virus, monkeypox virus, mouse, marmot, chicken, primary lung cells, 50 % infective dose, viral production.

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

Funding: The study was financially supported by Ministry of Education and Science of the Russian Federation, under the State Contract No 14.518.11.7035.

Corresponding author: Alena S. Zamedyanskaya, e-mail: zamedyanskaya_as@vector.nsc.ru

Citation: Zamedyanskaya A.S., Sergeev Al.A., Titova K.A., Kabanov A.S., Bulychev L.E., Sergeev Ar.A., Nesterov A.E., Nosareva O.V., Galakhova D.O., Shishkina L.N., Agaonov A.P., Sergeev A.N. Assessment of Animal Sensitivity to Particularly Dangerous Orthopoxviruses, Using Primary Cultures of Lung Cells. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; 1:75–78. (In Russ.). DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-75-78

При осуществлении вирусологических исследований многие ученые проводят оценку чувствительности различных видов животных к тому или иному

вирусу патогену с определением 50 % инфицирующих доз (ID_{50}) или 50 % летальных доз (LD_{50}) в прямых экспериментах по заражению животных

способом, который, как правило, воспроизводит соответствующий основной механизм инфицирования людей во время реальных эпидемических вспышек болезни. Для такой оценки с учетом возможности проведения статистической обработки необходимо использовать не менее 16–20 животных одного вида. В то же время существует другой подход, который позволяет проводить определение этого показателя, используя результаты, полученные с вирусом на первичных культурах клеток животных, приготовленных из первичных органов мишеней [2]. Для таких исследований требуется, как правило, не более одного–трех животных.

Целью настоящих исследований явилось изучение чувствительности животных к высокопатогенным ортопоксвирусам с помощью метода, основанного на использовании первичных культур клеток легких, и оценка возможности дальнейшего применения этого метода.

Материалы и методы

Все эксперименты с вирусом натуральной оспы (ВНО) и вирусом оспы обезьян (ВОО) были проведены на базе ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» (Россия) в лаборатории с максимальным (первым по классификации РФ) уровнем биологической защиты (BSL-4 по зарубежной классификации) с использованием изолирующих пневмокостюмов.

В экспериментах использовали штаммы Ind-3a ВНО и V79-1-005 ВОО из Государственной коллекции вирусов и риккетсий ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», приготовленные при их культивировании на клетках Vero и имеющие биоконцентрации 6,7 и 7,1 lg БОЕ/мл (бляшкообразующие единицы в мл) соответственно.

В исследованиях использовали следующих животных: аутбредных разнополых 8–10-суточных мышей популяции ICR (массой 8–10 г), полученных из питомника ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»; 1–2-летних сурков породы Байбак (*Marmota bobak*) обоего пола (массой 3–4 кг), полученных из ФГУП «Русский соболь» Пушкинского питомника Московской обл.; 5–7-дневных разнополых цыплят генетической линии Родайлэнд и кросса Хайсекс вайт, полученных из филиала ЗАО «Ново-Барышевская птицефабрика» Новосибирской обл.

Все манипуляции на животных осуществляли с одобрения комитета по биоэтике ГНЦ ВБ Вектор № ГНЦ ВБ Вектор 1-01.2014 от 28 января 2014 года.

Суспензионную первичную культуру клеток легких (СПККЛ) получали из легочной ткани аутбредных мышей, сурков и цыплят. Перед этим используемые животные были исследованы с помощью реакции нейтрализации [7] на отсутствие противоспецифических антител. После проведения процедуры эвтаназии мышей и цыплят методом цервикальной дислокации, а сурков путем внутримышечного введения летальной дозы (200 мкг/гол.) ветеринарного раствора для анестезии, состоящего из смеси действующих веществ в соотношении 1:1 тилетамина гидрохлорида и золазепам гидрохлорида, осуществляли забор

у них легких, или их кусочков, которые отмывали от крови в среде RPMI-1640. Легочную ткань измельчали на мелкие кусочки размером 1 мм³ и помещали в раствор трипсина с ДНК-азой для последующей инкубации при температуре 36 °C в течение 35 мин с периодическим встряхиванием через каждые 5 мин. После чего суспензию измельченной легочной ткани с раствором трипсина фильтровали последовательно через нейлоновые фильтры сначала с диаметром пор 100 мкм, затем – 40 мкм. Прошедшую через фильтры клеточную суспензию центрифугировали 40 мин в бакет-роторе с ускорением 200 g (1500–1800 об./мин) при температуре 20 °C на градиенте плотности фиколл-верографина 1,077 г/мл. При этом клетки легкого собирали сверху над границей градиента, отмывали средой RPMI-1640 путем 2-кратного центрифугирования в том же режиме и содержали до заражения в пластиковых пробирках Эппендорф (по 0,9 мл) при 4 °C в поддерживающей питательной среде: среда RPMI-1640 с добавлением гентамицина (80 мкг/мл) и эмбриональной бычьей сыворотки (2 % по объему). При этом в каждой пробирке находилось в среднем $(5,0 \pm 1,0) \cdot 10^5$ клеток. По данным световой микроскопии, такая клеточная суспензия содержала различные типы живых клеток легких подопытных животных независимо от их вида: реснитчатые клетки (2–5 %), альвеолоциты 1-го типа (9–12 %), альвеолоциты 2-го типа (1–2 %), макрофаги (8–10 %) и другие, кроме нейтрофилов. Жизнеспособность СПККЛ мышей, сурков и цыплят в процессе инкубирования при 34,5 и 37,0 °C через 1 сут составила ~62 %, через 2 сут – ~26 % и через 3 сут – ~12 %.

В качестве отрицательного контроля, который должен показывать отсутствие накопления вирусов, использовали суспензию клеточного дебриса, приготовленного путем 3-кратного замораживания-оттаивания смеси, сделанной в равных пропорциях (по количеству клеток) из СПККЛ мыши, сурка и цыпленка или из СПККЛ мыши и сурка, с последующей проверкой на отсутствие жизнеспособных клеток с помощью световой микроскопии и путем посева на культуральный планшет.

В пробирки с СПККЛ вносили по 0,1 мл разведенного ВНО или ВОО. При изучении динамики накопления вирусов в СПККЛ их заражение осуществляли одной дозой ВНО или ВОО (0,00001 БОЕ/клетку). В каждой временной точке через 1, 48 и 72 ч после заражения (п.з.) делали объединенную пробу содержимого 4 пробирок после 3-кратной заморозки-оттайки для определения биологической концентрации вирусов. При оценке чувствительности этих клеток и урожайности вирусов в них инфицирование проводили дозами от 0,02 до 2000 БОЕ/млн клеток с 10-кратным шагом, используя для каждой дозы по 6 лунок. Параметры урожайности ВНО и ВОО оценивали в пересчете на 1 млн клеток, учитывая среднюю концентрацию клеток по 4 пробиркам и среднюю концентрацию вирусов по 6 пробиркам (после 3-кратной заморозки-оттайки), соответствующим минимальной дозе вирусов, вызывающей их накопление во всех 6 пробирках.

Таблица 1

Динамика накопления штамма Ind-3a вируса натуральной оспы (ВНО) в суспензионных первичных культурах клеток легких (СПККЛ) мыши популяции ICR, сурка и цыпленка линии Родайленд (доза инфицирования – 0,00001 БОЕ/клетку)

Вид клеточного материала	Концентрация ВНО (lg БОЕ/мл, $M \pm I_{95}$, n=4) в клеточных материалах через разные часы после заражения (п.з.)		
	1	48	72
СПККЛ мыши	0,7 ± 0,2	1,4 ± 0,3*	1,4 ± 0,1*
СПККЛ сурка	<0,7	1,9 ± 0,2*	2,0 ± 0,3*
СПККЛ цыпленка	0,7 ± 0,2	1,2 ± 0,2*	1,4 ± 0,1*
Дебрис СПККЛ мыши, сурка и цыпленка (контроль)	0,7 ± 0,2	<0,7	<0,7

Примечание: М – среднее значение; I_{95} – 95 % доверительный интервал; n – число повторов определения объединенных проб содержимого 4 лунок; <0,7 – величина ниже порога чувствительности (0,7 lg БОЕ/мл) использованного метода титрования; * – величина выше таковой через 1 ч п.з. клеточной культуры соответствующего животного, $p < 0,05$.

Определение концентрации жизнеспособных вирусов в биоматериалах проводили традиционным методом титрования в монослое клеток Vero [7].

Статистическую обработку результатов проводили стандартными методами [1] с помощью пакета компьютерных программ «Statistica 6.0» (StatSoft Inc. 1984-2001) с оценкой достоверности отличий ($p \leq 0,05$) для 95 % доверительного уровня (I_{95}). ИД₅₀ рассчитывали по формуле Спирмена-Кербера.

Результаты и обсуждение

На начальном этапе при изучении динамики накопления ВНО и ВОО в первичных культурах клеток, полученных из легких мыши, сурка и цыпленка, необходимо было оценить возможность размножения этих вирусов в СПККЛ. Результаты исследований представлены в табл. 1 и 2.

Данные, приведенные в этих таблицах, убедительно свидетельствовали о размножении ВНО и ВОО в СПККЛ всех подопытных животных, при этом наблюдали значимый прирост биологической концентрации этих вирусов уже через 2 и 3 сут п.з. Максимального уровня накопления в клеточных культурах, чаще всего, вирусы достигали через 3 сут п.з.

В дальнейшем с учетом полученных данных по динамике накопления ВНО и ВОО в СПККЛ были проведены эксперименты по изучению чувствительности этих клеток к вирусам, а также уровня вирусной продукции ими, рассчитанные с учетом фиксации данных через 3 сут п.з. о наличии в них вирусов или величины их концентрации. Результаты этих исследований представлены в табл. 3.

Из данных табл. 3 видно, что чувствительность к ВНО СПККЛ цыпленка была самой высокой по срав-

нению с таковой мыши и тем более сурка. Причем если чувствительность первичных культур клеток легких сурка была существенно выше (на 1,8 lg) к ВОО, чем к ВНО, то величины этого показателя для СПККЛ мыши достоверно не различались у данных вирусов. При этом не обнаружено достоверных отличий для обоих вирусов по продуктивной активности в СПККЛ всех трех видов животных.

Необходимость применения первичной культуры клеток легких животных для наших исследований была обусловлена тем, что основными первичными клетками-мишенями к ВНО и ВОО у человека, судя по данным, полученным с этими вирусами на различных видах модельных животных [5, 6, 8], являясь макрофаги и эпителиоциты респираторного тракта, с которых и берет свое начало соответствующий инфекционный процесс. Причем используемая нами клеточная культура, по данным световой микроскопии, имела в своем составе в жизнеспособном состоянии все основные типы клеток, из которых построен этот орган, включая легочные макрофаги и эпителиоциты.

Ранее в исследованиях *in vivo* по интраназальному заражению животных возбудителями особо опасных ортопоксвирусных инфекций были оценены величины ИД₅₀, полученные с учетом существующей аппликации вирусов в легких животных при использованном методе введения вирусосодержащего материала: (1,7 ± 0,4) lg БОЕ для мышей к ВНО [5]; (1,4 ± 0,6) lg БОЕ для мышей к ВОО; (1,2 ± 1,2) lg БОЕ для сурков к ВОО [3, 4]. Наши результаты, выполненные в этом направлении, но в экспериментах *in vitro* с использованием первичных культур клеток легких этих животных, достоверно не отличались от таковых, полученных *in vivo*, что свидетельствует об адекватности использованного

Таблица 2

Динамика накопления штамма V79-1-005 вируса оспы обезьян (ВОО) в суспензионных первичных культурах клеток легких (СПККЛ) мыши популяции ICR и сурка (доза инфицирования – 0,00001 БОЕ/клетку)

Вид клеточного материала	Концентрация ВОО (lg БОЕ/мл, $M \pm I_{95}$, n=4) в клеточных материалах через разные часы после заражения (п.з.):		
	1	48	72
СПККЛ сурка	<0,7	1,2 ± 0,2*	1,4 ± 0,3*
СПККЛ мыши	0,7 ± 0,2	1,4 ± 0,1*	1,7 ± 0,2*
Дебрис СПККЛ сурка и мыши	0,7 ± 0,1	<0,7	<0,7

Примечания: М – среднее значение; I_{95} – 95 % доверительный интервал; n – число повторов определения объединенных проб содержимого 4 лунок; <0,7 – величина ниже порога чувствительности (0,7 lg БОЕ/мл) использованного метода титрования; * – величина выше таковой через 1 ч п.з. клеточной культуры соответствующего животного, $p < 0,05$.

Чувствительность к штамму Ind-3a вируса натуральной оспы (ВНО) и штамму V79-1-005 вируса оспы обезьян (ВОО) и их продуктивность для суспензионных первичных культур клеток легких (СПККЛ) мыши популяции ICR, сурка и цыпленка линии Родайлэнд

Наименование показателя	Значение показателей инфекционности ВНО и ВОО для СПККЛ различных животных:		
	мышь	сурок	цыпленок
ИД ₅₀ ВНО (lg БОЕ, М ± I ₉₅)	1,3 ± 0,5	2,3 ± 0,5*	0,0 ± 0,4 [#]
Урожайность ВНО (lg БОЕ/млн кл., М ± I ₉₅ , n=6)	2,2 ± 0,4	1,8 ± 0,7	2,1 ± 0,2
ИД ₅₀ ВОО (lg БОЕ, М ± I ₉₅)	1,7 ± 0,3 [@]	0,5 ± 0,3	Н.о.
Урожайность ВОО (lg БОЕ/млн кл., М ± I ₉₅ , n=6)	1,7 ± 0,2	1,4 ± 0,3	Н.о.

Примечания: М – среднее значение; I₉₅ – 95 % доверительный интервал; ИД₅₀ – 50 % инфицирующая доза; n – число проб; * – величина достоверно выше, чем таковая у мыши и цыпленка, p<0,05; [#] – величина достоверно ниже, чем таковая у мыши и сурка, p<0,05; @ – величина достоверно выше, чем таковая у сурка, p<0,05; н.о. – величину не определяли.

нами метода оценки чувствительности животных и возможности его применения для возбудителей особо опасных ортопоксвирусных инфекций.

Таким образом, исследования, проведенные на СПККЛ аутобредной мыши, сурка и цыпленка с ВНО и ВОО в дозе 0,00001 БОЕ/клетку, продемонстрировали факт размножения вируса в первичных клетках легких всех этих животных с максимальными значениями концентраций (1,4–2,0 lg БОЕ/мл), в основном через 3 сут п.з. С использованием СПККЛ определены значения чувствительности мышей, сурков и цыплят к ВНО, а также мышей и сурков к ВОО. Причем значения ИД₅₀, полученные для ВНО на СПККЛ мышей и для ВОО на тех же клетках мышей и сурков, соответствовали таковым, оцененным в прямых экспериментах по интраназальному заражению этих животных данными вирусами, что говорит об адекватности использованного нами метода оценки чувствительности животных и возможности его дальнейшего применения. Не обнаружено достоверных отличий по вирус-продуктивной активности СПККЛ всех трех видов животных.

Финансирование. Данная научная работа проведена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках Государственного контракта № 14.518.11.7035.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Закс Л. Статистическое оценивание. М.: Statistics; 1976. 598 с.
2. Жуков В.А., Шишкина Л.Н., Сафатов А.С., Сергеев А.А., Пьянков О.В., Петрищенко В.А., Зайцев Б.Н., Топорков В.С., Сергеев А.Н., Несвижский Ю.В., Воробьев А.А. Валидация модифицированного алгоритма прогнозирования восприимчивости хозяина к вирусам с учетом параметров восприимчивости первичных культур клеток-мишеней и факторов врожденного иммунитета. *Вестник РАМН*. 2010; 5:24–9.
3. Сергеев А.А., Кабанов А.С., Булычев Л.Е., Пьянков О.В., Сергеев А.А., Таранов О.С., Боднев С.А., Туманов Ю.В., Шишкина Л.Н., Агафонов А.П., Сергеев А.Н. Использование мыши в качестве модельного животного для оценки эффективности лечебно-профилактического действия препаратов против оспы обезьян. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 2:60–5.
4. Сергеев А.А., Булычев Л.Е., Пьянков О.В., Сергеев А.А., Боднев С.А., Кабанов А.С., Туманов Ю.В., Юрганова И.А., Шишкина Л.Н., Агафонов А.П., Сергеев А.Н. Чувствительность различных видов животных к вирусу оспы обезьян. *Пробл. особо опасных инф.* 2012; 1:88–92.
5. Goff A.J., Chapman J., Foster C., Wlazlowski C., Shamblin J., Lin K., Kreiselmeier N., Mucker E., Paragas J., Lawler J., Hensley

L. A novel respiratory model of infection with monkeypox virus in cynomolgus macaques. *J. Virol.* 2011; 85(10):4898–909. DOI: 10.1128/JVI.02525-10.

6. Guarner J., Johnson B.J., Paddock C.D., Shieh W.J., Goldsmith C.S., Reynolds M.G., Damon I.K., Regnery R.L., Zaki S.R. Monkeypox transmission and pathogenesis in prairie dogs. *Emerg. Infect. Dis.* 2004; 10(3):426–31. DOI: 10.3201/eid1003.030878.

7. Leparc-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(1):47–52. DOI: 10.1016/j.jcv.2004.07.005.

8. Wahl-Jensen V., Cann J.A., Rubins K.H., Huggins J.W., Fisher R.W., Johnson A.J., de Kok-Mercado F., Larsen T., Raymond J.L., Hensley L.E., Jahrling P.B. Progression of pathogenic events in cynomolgus macaques infected with variola virus. *PLoS One*. 2011; 6(10):e24832. DOI: 10.1371/journal.pone.0024832.

References

1. Zaks L. [Statistical Assessment]. M.: Statistics; 1976. 598 p.
2. Zhukov V.A., Shishkina L.N., Safatov A.S., Sergeev A.A., P'yankov O.V., Petrishchenko V.A., Zaitsev B.N., Toporkov V.S., Sergeev A.N., Nesvizhsky Yu.V., Vorob'ev A.A. [Validation of the modified algorithm for forecasting host-susceptibility to viruses with regard to sensitivity indexes for primary cultures of target-cells and innate immunity factors]. *RAMS Bulletin*. 2010; (5):24–9.
3. Sergeev A.I.A., Kabanov A.S., Bulychiev L.E., P'yankov O.V., Sergeev Ar.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.
4. Sergeev A.I.A., Bulychiev L.E., P'yankov O.V., Sergeev Ar.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; 1:88–92.
5. Goff A.J., Chapman J., Foster C., Wlazlowski C., Shamblin J., Lin K., Kreiselmeier N., Mucker E., Paragas J., Lawler J., Hensley L. A novel respiratory model of infection with monkeypox virus in cynomolgus macaques. *J. Virol.* 2011; 85(10):4898–909. DOI: 10.1128/JVI.02525-10.
6. Guarner J., Johnson B.J., Paddock C.D., Shieh W.J., Goldsmith C.S., Reynolds M.G., Damon I.K., Regnery R.L., Zaki S.R. Monkeypox transmission and pathogenesis in prairie dogs. *Emerg. Infect. Dis.* 2004; 10(3):426–31. DOI: 10.3201/eid1003.030878.
7. Leparc-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(1):47–52. DOI: 10.1016/j.jcv.2004.07.005.
8. Wahl-Jensen V., Cann J.A., Rubins K.H., Huggins J.W., Fisher R.W., Johnson A.J., de Kok-Mercado F., Larsen T., Raymond J.L., Hensley L.E., Jahrling P.B. Progression of pathogenic events in cynomolgus macaques infected with variola virus. *PLoS One*. 2011; 6(10):e24832. DOI: 10.1371/journal.pone.0024832.

Authors:

Zamedyanskaya A.S., Sergeev A.I.A., Titova K.A., Kabanov A.S., Bulychiev L.E., Sergeev Ar.A., Nesterov A.E., Nosareva O.V., Galakhova D.O., 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:

Замедянская А.С., Сергеев А.А., Титова К.А., Кабанов А.С., Булычев Л.Е., Сергеев Ар.А., Нестеров А.Е., Носарева О.В., Галахова Д.О., 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 18.06.15.

А.В.Осин, Н.С.Червякова, С.А.Портенко, А.С.Абдрашитова, В.Е.Куклев

ПРИМЕНЕНИЕ АВТОМАТИЗИРОВАННЫХ СИСТЕМ ИДЕНТИФИКАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ ДЛЯ ВЕРИФИКАЦИИ ТАКСОНОМИЧЕСКОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ШТАММОВ ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ

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

Цель работы. Оптимизация алгоритма установления аутентичности штаммов патогенных бактерий и оценка его эффективности при проведении номенклатурной ревизии изолятов рода *Bacillus* из Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», аутентичность которых вызывала сомнения. **Материалы и методы.** В основу методического подхода заложено применение автоматизированных систем идентификации микроорганизмов: бактериологический анализатор Vitek 2, автоматическая станция риботипирования DuPont Qualicon RiboPrinter System и масс-спектрометр MicroFlex MALDI Biotyper с последующим проведением комплексного анализа полученных результатов в программе BioNumerics 7.1. **Результаты и выводы.** Установлено, что автоматизированные анализаторы достаточно точно идентифицировали изучаемые микроорганизмы по их видовой принадлежности. Наибольшую эффективность показал Vitek 2, который, в отличие от других анализаторов, оказался способен на основе ферментации альфа-маннозидазы выделить штамм *B. anthracis* СТИ-1 из группы бацилл вида *B. cereus*. Следует отметить, что штамм *B. megaterium* 5 идентифицирован до вида различными системами по-разному. Проведенный в программе BioNumerics 7.1 комплексный анализ результатов научных исследований, полученных с трех приборов, позволил с высокой степенью вероятности отнести штамм *B. megaterium* 5 к *B. licheniformis*. Таким образом, результаты исследования указывают на необходимость включения в алгоритм установления аутентичности и таксономической принадлежности коллекционных штаммов при проведении их номенклатурной ревизии нескольких подходов с последующим комплексным анализом полученных данных.

Ключевые слова: аутентичность коллекционных штаммов, бактериологический анализатор Vitek 2, система RiboPrinter, Maldi-Tof масс-спектрометрия, таксономическая принадлежность, кластерный анализ.

Корреспондирующий автор: Осин Александр Владимирович, e-mail: rusrapi@microbe.ru

A.V.Osin, N.S.Chervyakova, S.A.Portenko, A.S.Abrashitova, V.E.Kuklev

Application of Automated Microorganism Identification Systems for Verification of Taxonomic Appurtenance of the Collection Strains of Pathogenic Bacteria

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

Objective of the study is to optimize the algorithm for authenticity specification of pathogenic bacteria strains and to evaluate its efficacy for nomenclature examination of the isolates, *Bacillus* genus, from the State Collection of Pathogenic Bacteria functioning at the premises of RusRAPI "Microbe", the authenticity of which bore scrutiny. **Materials and methods.** Methodological approach is based on application of automated microorganism identification systems: bacteriological analyzer Vitek 2, automatic ribotyping station DuPont Qualicon RiboPrinter System, and mass-spectrometer MicroFlex MALDI Biotyper, followed by complex assessment of the results obtained, using BioNumerics 7.1 software product. **Results and conclusions.** It is established that automated analyzers perform reasonably accurate identification of the investigated microorganisms in reference to their specie appurtenance. Vitek 2 shows the best efficiency. Unlike other analyzers, it allows for differentiation of *B. anthracis* STI-1 strain from a group of bacilli, *B. cereus* specie. It is of note that different systems range *B. megaterium* 5 strain in different ways. Carried out complex analysis of the results, obtained from all the three automated devices, using BioNumerics 7.1 software, relegates *B. megaterium* 5 to *B. licheniformis* with a high degree probability. Thus, it is necessary to include in the algorithm several techniques with subsequent complex analysis of the data obtained to specify authenticity and taxonomic appurtenance of the collection strains under nomenclature examination.

Key words: authenticity of the collection strains, bacteriological analyzer Vitek 2, RiboPrinter system, MALDI-TOF mass-spectrometry, taxonomy appurtenance, cluster analysis.

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

Corresponding author: Aleksander V. Osin, e-mail: rusrapi@microbe.ru

Citation: Osin A.V., Chervyakova N.S., Portenko S.A., Abrashitova A.S., Kuklev V.E. Application of Automated Microorganism Identification Systems for Verification of Taxonomic Appurtenance of the Collection Strains of Pathogenic Bacteria. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2016; 1:79–83. (In Russ.). DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-79-83

К одному из важных направлений деятельности коллекций микроорганизмов относится установление таксономической принадлежности включаемых в коллекционный фонд штаммов, а также подтверждение их аутентичности в процессе воспроизводства с учетом требований современной систематики бактерий.

В крупных коллекциях патогенных микроор-

ганизмов, в частности Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», хранится большое количество штаммов, выделенных на различных территориях России и других стран с начала XX века. Таксономическое положение этих микроорганизмов, указанное в паспортах, определялось на момент их идентификации согласно нормам таксономии того времени. Современная си-

стематика бактерий окончательно сложилась лишь к 1980 г. и продолжает постоянно совершенствоваться [11]. Понятие вида в микробиологии не имеет столь четкого определения, как в случае с высшими растениями и животными, и основывается на большом количестве культурально-морфологических, биохимических, серологических и генетических признаков, что приводит к относительно частым уточнениям и исправлениям систематической номенклатуры и, как следствие, изменению таксономического положения микроорганизмов. В связи с этим существует необходимость в периодическом проведении номенклатурной ревизии коллекционных штаммов с целью уточнения их систематического положения на основании обновляющихся (или вновь вводимых) признаков, характеризующих видовую принадлежность микроорганизма.

Традиционные методы установления таксономической принадлежности микроорганизмов не всегда позволяют окончательно идентифицировать некоторые бактерии до вида, что является обязательным при включении их штаммов в коллекционный фонд. Кроме того, при воспроизводстве микроорганизмов важно проводить контроль их аутентичности – соответствие паспортным данным, что особенно важно при консервации референтных штаммов, используемых в производственной и диагностической деятельности [9]. Поэтому необходимо оптимизировать алгоритм установления систематического положения и аутентичности штаммов на основе подходов, позволяющих сократить продолжительность анализа, избежать субъективности при учете результатов, а также обеспечить возможность сохранения полученных данных в доступном формате и сравнения их между собой в процессе накопления материала.

Наиболее полно указанным критериям соответствуют автоматизированные системы биохимического и генетического анализа. В крупных биоресурсных центрах мира, в частности Американской коллекции типовых культур (ATCC), для установления аутентичности коллекционных штаммов используют комплексный подход, который включает в себя проведение биохимического анализа образцов на авто-

матическом микробиологическом анализаторе Vitek 2, риботипирование на станции RiboPrinter и масс-спектрометрический анализ с использованием технологии MALDI-TOF [10].

Целью нашего исследования являлась оптимизация алгоритма установления аутентичности коллекционных штаммов в Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» (ГКПБ) и оценка его эффективности при проведении номенклатурной ревизии ряда микроорганизмов рода *Bacillus*.

Материалы и методы

Бактериальные штаммы. В работе использовано 19 штаммов рода *Bacillus*, представленные на рис. 1. Штаммы *B. megaterium* ATCC 14581 и *B. subtilis* ATCC 6633, помеченные литерой (N), приобретены в компании Bio-Mérieux как тестовые культуры в 2014 г. Для изучения культуральных свойств исследуемых штаммов использовали жидкие – мясо-пептонный бульон и плотные – мясо-пептонный агар питательные среды [6].

Подтверждение видовой принадлежности изучаемых штаммов проводили стандартными методами с использованием методик, описанных в ГОСТ 10444.8-88 [5] и Справочнике Берджи (Bergey's manual) [7].

Идентификацию микроорганизмов с помощью автоматизированных систем осуществляли на микробиологическом анализаторе Vitek II (Bio-Mérieux, Франция) с применением тест-системы для идентификации аэробных спорообразующих палочек семейства *Bacillaceae*, а также с использованием DuPont Qualicon RiboPrinter® System с набором реагентов «EcoR I Riboprinter kit», основанных на биохимическом и молекулярно-генетическом принципах анализа соответственно [4, 10]. Параллельно все исследуемые штаммы проанализировали физико-химическим методом идентификации микроорганизмов по их белковым профилям с помощью масс-спектрометра по технологии MALDI-TOF [2, 12].

Обработку результатов осуществляли в про-

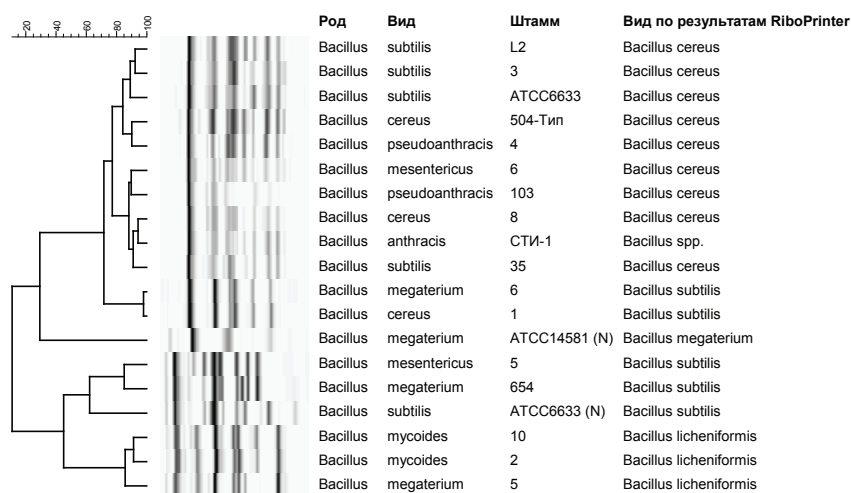


Рис. 1. Филогенетический анализ результатов риботипирования на автоматической станции RiboPrinter, проведенный в программе Bionumerix 7.1:

Род – родовая принадлежность микроорганизма по паспортным данным, *Вид* – видовая принадлежность микроорганизма по паспортным данным, *Штамм* – номер штамма по паспортным данным, *Вид по результатам RiboPrinter* – видовая принадлежность микроорганизма при автоматической идентификации его системой RiboPrinter

грамме BioNumerics v. 7.1 с помощью модулей «Character type», «Spectrum type» и «Fingerprint type». Коэффициенты подобия рассчитывались на основе корреляции Пирсона. Кластерный анализ проводили по методу невзвешенного попарного среднего – UPGMA.

Результаты и обсуждение

В качестве модели нами выбраны штаммы бактерий рода *Bacillus*, ауθενность которых вызывала сомнения. Эти микроорганизмы широко востребованы в различных направлениях медицины, биологии, сельском хозяйстве, где наиболее часто применяются в качестве контрольных, в частности, как гетерологичные, при разработке и проверке качества тест-систем, предназначенных для детекции возбудителя сибирской язвы.

Видовая дифференциация бактерий рода *Bacillus* затруднена, поскольку отсутствуют единые требования к определению их таксономической принадлежности [1]. Длительное время в ее основе лежал традиционный подход изучения фенотипических свойств с использованием схемы идентификации бацилл, предлагаемой в девятом издании Справочника Берджи по бактериологической систематике, а также ГОСТ 10444.8-88 «Продукты пищевые. Методы определения *B. cereus*», регламентирующий способ определения *B. cereus* и близких к нему видов [5, 7]. Эти общепринятые методики основаны на ферментации углеводов, входящих в состав ограниченного числа дифференциально-диагностических сред Гисса, – лактозы, глюкозы, сахарозы, маннита, арабинозы, мальтозы, маннозы и галактозы и не всегда способны точно идентифицировать видовую принадлежность бактерий. Результаты, полученные нами с помощью этих тестов, полностью соотносились с паспортными данными изучаемых штаммов, выписанными при их выделении или включении в коллекцию. Однако в связи с учетом постоянных изменений, вносимых в систематику прокариот, выявлением новых биологических признаков вида, встает необходимость в стандартизации подходов к определению таксономического положения коллекционных штаммов с учетом требований современной таксономии и применения более новых методик для обеспечения этого процесса.

Проведение таких исследований в последние годы стало возможно с помощью автоматического микробиологического анализатора Vitek 2, позволяющего группировать организмы на основании взаимного сходства с учетом 40–60 признаков и интерпретировать результаты в день получения чистой культуры в полностью автоматическом режиме [3]. В процессе идентификации исследуемых штаммов бацилл показано: из 19 штаммов лишь 5 соответствуют видовой принадлежности, указанной в паспортных данных. Это *B. cereus* 504-Тип и 8, вакцинный штамм *B. anthracis* СТИ-1, а также недавно приобре-

тенные ГКПБ *B. megaterium* ATCC14581 (N) и *B. subtilis* ATCC6633 (N). При проведении идентификации установлено, что *B. mycoides* 2 и 10 принадлежат к виду *B. licheniformis*. Также в ходе анализа выявлено, что некоторые штаммы, в частности *B. subtilis* ATCC6633, культура которого хранилась в ГКПБ с 1977 г., не является таковым и представляет собой бациллы вида *B. cereus*, что указывает на невозможность его использования в научно-практической деятельности. Особый интерес вызвал тот факт, что штаммы *B. pseudanthracis* 4, 103 и *B. mesentericus* 5 были определены как *B. cereus* и *B. subtilis*, что соответствует современному названию этих видов в систематике рода *Bacillus*, представленной в последнем издании Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (рис. 3) [8].

Полученные сведения включены в базу данных, построенную на основе программного биоинформационного пакета BioNumerics v. 7.1. Показано, что из 46 признаков, использующихся в идентификационных картах семейства *Bacillaceae* и обрабатываемых на анализаторе Vitek 2, в качестве видовых маркеров наиболее оптимально подходят 6 субстратов (Метил- α -D-глюкопиранозид, Альфа-маннозидаза, D-маннит, D-мелецитоза, пируват, D-тагатоza), на основе ферментации которых можно с наибольшей вероятностью разделить все тестируемые штаммы рода *Bacillus* на 5 видов: *B. subtilis*, *B. cereus*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. anthracis*.

Следующий этап нашей работы направлен на идентификацию исследуемых штаммов молекулярно-генетическим методом – риботипированием на автоматической станции RiboPrinter с набором, включающим фермент рестрикции *EcoRI*. В целом полученные результаты автоматической идентификации с помощью системы RiboPrinter оказались сопоставимы с таковой у Vitek 2, за исключением сведений по штамму *B. megaterium* 5, который идентифицирован по риботипу как *B. licheniformis*. Что касается штамма *B. anthracis* СТИ-1, использованного в качестве контрольного, то он идентифицирован системой RiboPrinter лишь до рода – *Bacillus spp*, поскольку во встроенной базе данных отсутствуют профили риботипов возбудителя сибирской язвы (рис. 1).

Проведенный с помощью программного пакета Bionumerix 7.1 анализ рибопринтов позволил разделить все изучаемые штаммы на 5 обособленных кластеров, самый большой из которых представлен видом *B. cereus*. Бациллы вида *B. subtilis* разделились на две группы. Рибопринты двух штаммов оказались более близкими к группе *B. cereus*, а три остальных – к *B. licheniformis*, которые также представлены отдельным кластером. Следует отметить обособленное расположение на филогенетическом дереве штамма вида *B. megaterium*. В то же время не удалось разделить рибопринты *B. anthracis* СТИ-1 и *B. cereus* (рис. 1).

На последнем этапе исследуемые штаммы проанализировали с помощью метода масс-спектрометрии

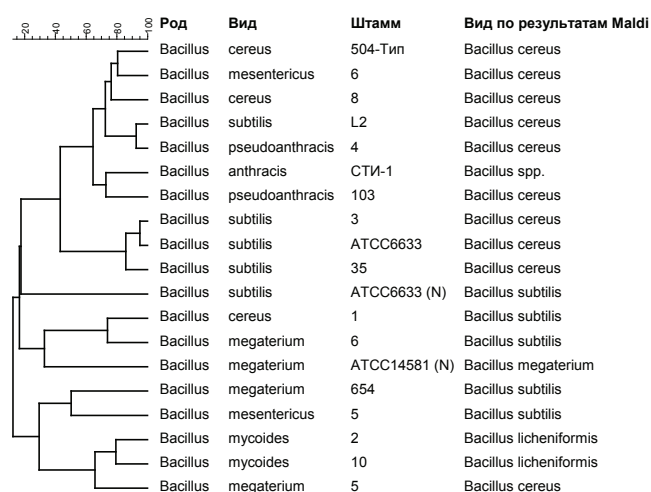


Рис. 2. Филогенетический анализ результатов масс-спектрометрии на MicroFlex MALDI Biotyper, проведенный в программе Bionumerix 7.1:

Род – родовая принадлежность микроорганизма по паспортным данным, *Вид* – видовая принадлежность микроорганизма по паспортным данным, *Штамм* – номер штамма по паспортным данным, *Вид по результатам MALDI* – видовая принадлежность микроорганизма при автоматической идентификации его системой MicroFlex MALDI Biotyper

по технологии MALDI-TOF. Результаты оказались практически идентичны полученным ранее данным, за исключением того, что штамм *B. megaterium* 5 был определен как *B. cereus*. Также был определен только до рода вакцинный штамм *B. anthracis* СТИ-1, что, как и в случае с системой RiboPrinter, связано с отсутствием сведений о спектрах сибиреязвенных бактерий во встроенной базе данных (рис. 2).

С применением модуля Spectrum type пакета Bionumerix 7.1 проведен кластерный анализ полученных масс-спектров (рис. 2). На основании этого анализа все исследуемые штаммы можно разделить на шесть неравнозначных групп, наибольшую из которых представляли штаммы *B. cereus*. Как и в случае с кластерным анализом паттернов рибопринтов, масс-спектры не позволили четко выделить из группы *B. cereus* штамм *B. anthracis* СТИ-1. Также следует отметить, что штаммы вида *B. subtilis* не сформировали единого кластера, а разделились на группы, которые были близки либо изолятам *B. licheniformis*, либо *B. megaterium*. Штамм *B. subtilis* ATCC 6633 (N) оказался выделен в отдельную ветвь (рис. 2). В то же время определенный базой данных масс-спектрометра как *B. cereus*, штамм *B. megaterium* 5 на основе сопоставления спектров оказался близок к штаммам вида *B. licheniformis*.

Все результаты, полученные в ходе трех использованных подходов, проанализированы программой Bionumerix 7.1 с применением инструмента «Composite data set», позволяющего проводить композиционный анализ данных различных видов исследований. Сочетанный кластерный анализ результатов микробиологического анализатора Vitek 2, системы RiboPrinter и масс-спектрометра MicroFlex MALDI Biotyper позволил разделить все изученные штаммы на 5 кластеров (рис. 3). В наиболее крупный

из них вошли все штаммы, идентифицируемые как *B. cereus*. Штамм *B. anthracis* СТИ-1, который по сочетанным результатам трех видов анализа был выделен в отдельную группу, располагается в непосредственной близости от первого кластера, указывая тем самым на филогенетическое родство между возбудителем сибирской язвы и штаммами вида *B. cereus*. На отдельную ветвь филогенетического дерева вынесен оказавшийся единственным использованным в работе штамм вида *B. megaterium* ATCC14581 (N). Культуры вида *B. licheniformis* помещены в отдельный кластер, при этом штамм, числящийся по паспортным данным как *B. megaterium* 5, а по результатам идентификации на Vitek 2, RiboPrinter и MALDI Biotyper отнесенный каждым из этих приборов к видам *B. subtilis*, *B. licheniformis* и *B. cereus* соответственно, также был включен в эту группу, что указывает на большую вероятность принадлежности этого изолята к виду *B. licheniformis*. К последнему филогенетическому кластеру отнесены штаммы вида *B. subtilis*.

Таким образом, проведена номенклатурная ревизия коллекционных штаммов рода *Bacillus*, аутентичность которых вызывала сомнения. По ее результатам штамм *B. subtilis* ATCC 6633, полученный в 1977 г., будет исключен из коллекционного фонда как не соответствующий своим свойствам и заменен на культуру свежеполученного штамма *B. subtilis* ATCC 6633 (N). Что касается остальных микроорганизмов, использованных в работе, то было подтверждено или уточнено их таксономическое положение с внесением соответствующих изменений в паспорта штаммов.

Установлено, что каждый из использованных анализаторов хорошо зарекомендовал себя при проведении номенклатурной ревизии коллекционных штаммов рода *Bacillus*. При этом можно выделить бактериологический анализатор Vitek 2, который смог идентифицировать штамм *B. anthracis* СТИ-1 на основе его специфического взаимодействия с субстратом Альфа-маннозидаза. Дальнейшее использование системы RiboPrinter также оправдано высокой точностью и полной автоматизацией проводимого анализа, при этом для исключения ошибок в идентификации близкородственных организмов, как в случае сибиреязвенного микроба и *B. cereus*, необходимы дополнительные исследования, направленные на подбор эндонуклеаз, позволяющих увеличить разрешающую способность этого метода. Также для проведения верификации таксономической принадлежности коллекционных штаммов весьма перспективным показал себя метод масс-спектрометрии по технологии MALDI-TOF.

Тем не менее, некоторые штаммы были идентифицированы различными методами по-разному, что указывает на необходимость включения в алгоритм установления аутентичности и таксономической принадлежности коллекционных штаммов при проведении их номенклатурной ревизии нескольких подходов с последующим комплексным анализом полученных данных.

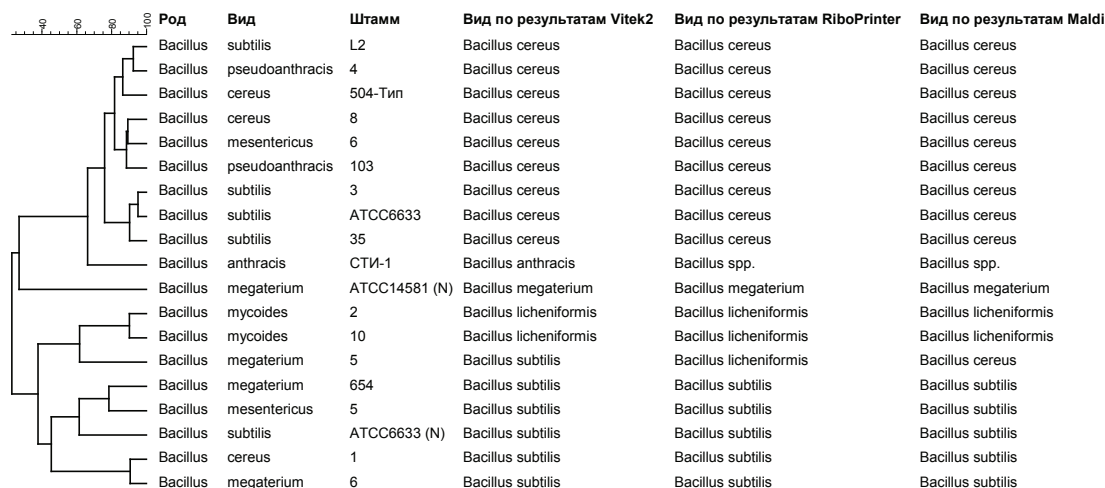


Рис. 3. Комплексный филогенетический анализ результатов фенотипического анализа на Vitek 2, риботипирования на автоматической станции RiboPrinter и масс-спектрометрии на MicroFlex MALDI Biotyper, проведенный в программе Bionumerix 7.1:

Род – родовая принадлежность микроорганизма по паспортным данным, Вид – видовая принадлежность микроорганизма по паспортным данным, Штамм – номер штамма по паспортным данным, Вид по результатам Vitek 2 – видовая принадлежность микроорганизма при автоматической идентификации его системой Vitek 2, Вид по результатам RiboPrinter – видовая принадлежность микроорганизма при автоматической идентификации его системой RiboPrinter, Вид по результатам Maldi – видовая принадлежность микроорганизма при автоматической идентификации его системой MicroFlex MALDI Biotyper

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Васильев Д.А., Калдыркаев А.И., Феоктистова Н.А., Адешкин А.В. Идентификация бактерий *Bacillus cereus* на основе их фенотипической характеристики. Ульяновск; 2013. 98 с.
- Демидов Е.А., Старостин К.В., Попик В.М., Пельтек С.Е. Применение МАЛДИ времяпролетной масс-спектрометрии для идентификации микроорганизмов. *Вавиловский журн. генетики и селекции*. 2013; 17(4-1):758–64.
- Идентификация микроорганизмов и определение их чувствительности к антибиотикам с применением автоматического микробиологического анализатора Vitek 2 Compact. МР 02.032-08. М.: 2008. 16 с.
- Компания Дюпон в России. URL: <http://www.dupont.ru> (дата обращения 09.06.2015 г.).
- Продукты пищевые. Метод определения *Bacillus cereus*. ГОСТ 10444.8-88. Стандартформ; 2010. С. 266–72.
- Сафронова Л.А., Зеленая Л.Б., Ключко В.В., Авдеева Л.В., Рева О.Н., Подгорский В.С. Гено- и фенотипическая характеристика штаммов бацилл – компонентов эндоспорины. *Микробиол. журн.* 2012; 74:55–65.
- Холт Дж., Криг Н., Снит П., Стейли Дж., Уилльямс С., редакторы. Определитель бактерий Берджи. Девятое издание. М.: Мир; 1997. Т. 2. 368 с.
- Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Volume 3: The Firmicutes. 2nd edition. Springer-Verlag New York; 2009. P. 19–128.
- Cherkaoui A., Hibbs J., Emonet S., Tangomo M., Girard M., Francois P., Schrenzel J. Comparison of two matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry methods with conventional phenotypic identification for routine identification of bacteria to the species level. *J. Clin. Microbiol.* 2010; 48(4):1169–75. DOI: 10.1128/JCM.01881-09.
- Smith D. Culture Collections. *Microbiology*. 2012; 79:73–118. DOI: 10.1016/B978-0-12-394318-7.00004-8.
- Skerman V.B.D., McGowan V., Sneath P.H.A. Approved Lists of Bacterial Names (Amended). Washington (DC); 1989. 420 p.
- van Veen S.Q., Claas E.C.J., Kuijper E.J. High-throughput identification of bacteria and yeast by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry in conventional medical microbiology laboratories. *J. Clin. Microbiol.* 2010; 48(3):900–7. DOI: 10.1128/JCM.02071-09.

References

- Vasil'ev D.A., Kaldyrkaev A.I., Feoktistova N.A., Adeshkin A.V. [Identification of Bacteria *Bacillus cereus* based on Phenotypic Characterization]. Ulyanovsk; 2013. 98 p.
- Demidov E.A., Starostin K.V., Popik V.M., Pel'tek S.E. [Application of MALDI-TOF mass-spectrometry for identification of microorganisms]. *Vavilovsky Zh. Genet. Selekt.* 2013; 17(4-1):758–64.
- [Identification of Microorganisms and Specification of their Sensitivity to Antibiotics. Using Automated Microbiological Analyzer Vitek 2 Compact]. МР 02.032-08. М.: 2008. 16 p.
- [E.I. du Pont de Nemours and Company in Russia]. (Cited 09 Jun 2015). Available from: <http://www.dupont.ru>
- [Food Stuffs. Method of *Bacillus cereus* Identification]. National Standard 10444.8-88. Standardform; 2010. P. 266–72.
- Safronova L.A., Zelenaya L.B., Klochko V.V., Avdeeva L.V., Reva O.N., Podgorsky V.S. [Geno- and Phenotypic characteristics of bacillus strains – endospore components]. *Mikrobiol. Zh.* 2012; 74:55–65.
- Holt J., Krieg N.R., Snit P., Staley J.T., Williams S., editors. [Bergey's Manual of Systematic Bacteriology]. 9th edition. M.: "Mir"; 1997. Vol. 2. 368 p.
- Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Volume 3: The Firmicutes. 2nd edition. Springer-Verlag New York; 2009. P. 19–128.
- Cherkaoui A., Hibbs J., Emonet S., Tangomo M., Girard M., Francois P., Schrenzel J. Comparison of two matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry methods with conventional phenotypic identification for routine identification of bacteria to the species level. *J. Clin. Microbiol.* 2010; 48(4):1169–75. DOI: 10.1128/JCM.01881-09.
- Smith D. Culture Collections. *Microbiology*. 2012; 79:73–118. DOI: 10.1016/B978-0-12-394318-7.00004-8.
- Skerman V.B.D., McGowan V., Sneath P.H.A. Approved Lists of Bacterial Names (Amended). Washington (DC); 1989. 420 p.
- van Veen S.Q., Claas E.C.J., Kuijper E.J. High-throughput identification of bacteria and yeast by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry in conventional medical microbiology laboratories. *J. Clin. Microbiol.* 2010; 48(3):900–7. DOI: 10.1128/JCM.02071-09.

Authors:

Osin A.V., Chervyakova N.S., Portenko S.A., Abdrashitova A.S., Kuklev V.E. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Об авторах:

Осин А.В., Червякова Н.С., Портенко С.А., Абдрашитова А.С., Куклев В.Е. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Поступила 23.06.15.

Д.О.Галахова¹, Ар.А.Сергеев¹, Е.В.Шевцова¹, Ал.А.Сергеев¹, А.С.Замедянская¹, К.А.Титова¹,
Л.Н.Шишкина¹, Л.Е.Булычев¹, С.В.Борисевич², В.Н.Подкуйко², А.П.Пирожков², А.В.Ковальчук²,
Я.В.Полянский², Е.Ю.Вахнов², В.В.Перекрест³, В.А.Шевцов³, А.П.Агафонов¹, А.Н.Сергеев¹

КУПИРОВАНИЕ ПОБОЧНОГО ДЕЙСТВИЯ ВИРУСА ВАКЦИНЫ У ОРАЛЬНО ПРИВИТЫХ МЫШЕЙ ПРОТИВ ОСПЫ

¹ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», п. Кольцово, Российская Федерация; ²ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны РФ, Сергиев Посад, Российская Федерация; ³ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения», Москва, Российская Федерация

Целью работы являлось моделирование побочного действия вируса вакцины при оральном оспопрививании мышей и оценка эффективности купирования этого побочного действия с помощью препаратов. **Материалы и методы.** В работе использовали вирусологические и иммунологические методы исследований. **Результаты и выводы.** Воспроизведено побочное действие вируса вакцины у орально иммунизированных мышей. Схемы перорального применения препаратов метисазон, ликопид и соединения НИОХ-14 подтвердили способность купировать побочное действие вируса вакцины и защищать от гибели животных, орально инфицированных вирусом вакцины, штамм Нейровакцина-92. Все исследованные схемы применения препаратов, показавшие купирование побочного действия вируса вакцины, не влияли на показатели противооспенного иммунного ответа при их совместном использовании с ТЭОВак и могут быть использованы для разработки схем безопасного первичного оспопрививания таблетированными вакцинами. Рибомунил и Иммудон могут быть использованы как средства усиления противооспенного иммунного ответа.

Ключевые слова: ортопоксвирус, вирус вакцины, первичное оспопрививание, вирус натуральной оспы, таблетированная оспенная вакцина, поствакцинальные осложнения.

Корреспондирующий автор: Галахова Дарья Олеговна, e-mail: gorbatoyskaya_do@vector.nsc.ru

D.O.Galakhova¹, Ar.A.Sergeev¹, E.V.Shevtsova¹, Al.A.Sergeev¹, A.S.Zamedyanskaya¹, K.A.Titova¹,
L.N.Shishkina¹, L.E.Bulychev¹, S.V.Borisevich², V.N.Podkuiko², A.P.Pirozhkov², A.V.Koval'chuk²,
Ya.V.Polyansky², E.Yu.Vakhnov², V.V.Perekrest³, V.A.Shevtsov³, A.P.Agaonov¹, A.N.Sergeev¹

Approaches to Reduce Adverse Effect of Vaccinia Virus in Orally Immunized Mice

¹State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector", Kol'tovo, Russian Federation; ²The 48th Central Research Institute of RF Ministry of Defense, Sergiev Possad, Russian Federation; ³Scientific Center for Medicines and Healthcare Products Expertise, Moscow, Russian Federation

Objective of the investigation was to model the adverse action of vaccinia virus (VV), caused by oral immunization of mice and to evaluate efficacy of its reduction, using therapeutic and prophylactic drugs. **Materials and methods.** Virological and immunological research methods were used. **Results and conclusions.** Reproduced was pathological action of VV in the orally infected mice. The ability to reduce the side effect and protect mice from lethal infection was demonstrated by such preparations as Metisazon, Likopid, and NIOCH-14 orally administered in the investigated schemes. Moreover preliminary single oral immunization with TEOVak smallpox vaccine before oral infection with Neurovaccine-92 strain of VV also lowered pathogenic effect and protected mice against death. All the investigated schemes of drug administration did not affect the immune response if used alongside with TEOVak smallpox vaccine and can be deployed to develop safe schemes of primary oral vaccination against smallpox. In addition, such drugs as Ribomunil, Immodon, Ingavirin can be used as means to enhance the immune response to smallpox vaccines.

Keywords: orthopoxvirus, vaccinia virus, primary vaccination, variola virus, oral smallpox vaccine, adverse vaccine reactions.

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

Funding: The study was financially supported by the Ministry of Defense of the Russian Federation, under the State Contract No N/3/7/133f-11-DGOZ

Corresponding author: Daria O. Galakhova e-mail: gorbatoyskaya_do@vector.nsc.ru

Citation: Galakhova D.O., Sergeev Ar.A., Shevtsova E.V., Sergeev Al.A., Zamedyanskaya A.S., Titova K.A., Shishkina L.N., Bulychev L.E., Borisevich S.V., Podkuiko V.N., Pirozhkov A.P., Koval'chuk A.V., Polyansky Ya.V., Vakhnov E.Yu., Perekrest V.V., Shevtsov V.A., Agaonov A.P., Sergeev A.N. Approaches to Reduce Adverse Effect of Vaccinia Virus in Orally Immunized Mice. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2016; 1:84–89. (In Russ.). DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-84-89

Несмотря на ликвидацию натуральной оспы во всем мире, риск возникновения заболевания сохраняется до сих пор, благодаря возможности сохранения возбудителя в зоне вечной мерзлоты, либо вследствие появления нового патогенного для человека

ортопоксвирусного заболевания [6]. В пользу этого свидетельствует возрастание количества случаев других ортопоксвирусных инфекций [1]. Важно отметить, что в связи с отменой обязательного оспопрививания более 50 % населения планеты не имеет

иммунитета.

Вакцинация против натуральной оспы – единственный исторически проверенный и эффективный способ борьбы с этим заболеванием [1, 2]. Однако существующие лицензированные живые оспенные вакцины для парентерального применения обладают рядом существенных недостатков, связанных с высоким риском развития поствакцинальных осложнений, особенно среди лиц с заболеваниями кожи и иммунодефицитными состояниями, риском инфицирования другими патогенами, неконтролируемой передачей вируса вакцины не привитым [2, 13]. Таким образом, крайне важно разработать такие способы купирования побочного действия штаммов вируса вакцины (ВВ), которые позволят при их массовом использовании обеспечить безопасную вакцинацию населения.

Целью работы было моделирование побочного действия вируса вакцины при оральном оспопрививании белых мышей и оценка его эффективного купирования лечебно-профилактическими препаратами.

Материалы и методы

В работе использовали штамм Нейровакцина-92 ВВ, Биологическая активность образцов ВВ составила $(8,0 \pm 0,2)$ lg бляшкообразующих единиц (БОЕ)/мл. Для экспериментов использовали мышей обоего пола аутбредной популяции ICR 12–13, 18–19, 24–25 и 30–35-суточного возраста. Животные содержались на стандартном рационе в соответствии с требованиями по гуманному содержанию и использованию животных в экспериментальных исследованиях. В работе использовали культуру клеток Vero из коллекции ГНЦ ВБ «Вектор».

В исследовании использовали таблетированную эмбриональную оспенную вакцину (ТЭОВак) производства ФГБУ «48 ЦНИИИ» МО РФ (Россия), а также зарегистрированные в РФ препараты: арбидол (ОАО «Фармстандарт-Лексредства», Россия), амиксин (ОАО «Фармстандарт-Томскхимфарм», Россия), Реаферон-ЕС-липид (ЗАО «Вектор-Медика», Россия), рибомунил (Пьер Фабр Медикамент Продакшн, Франция), ликолипид (ЗАО «Пептек», Россия), иммунал (ЗАО «Сандоз», Россия), имудон (Солвей Фармасьютикалс, Франция). Кроме того, исследовали химическое соединение НИОХ-14 (7-[N'-(4-трифторметилбензоил)-гидразинокарбонил]-трицикло[3.2.2.0^{2,4}]нон-8-ен-6-карбоновая кислота), синтезированное в Новосибирском институте органической химии им. Н.Н.Ворожцова СО РАН, а также метисазон, который в начале 90-х годов производился ОАО «Химико-фармацевтический комбинат «Акрихин». Препараты вводили мышам перорально в объеме 100–200 мкл. [4]. Изучали следующие дозы и схемы применения лекарственных средств: арбидол, доза 10 мг/кг, амиксин, доза 125 мг/кг, реаферон-ЕС-липид, доза 4000 МЕ, метисазон, доза 60 мг/кг

вводили за сутки до заражения (д.з.) далее в день заражения и каждые 24 ч в течение 8 сут после инфицирования (п.з.); рибомунил, доза 12 мг/кг, имудон, доза 0,36 мг/кг, иммунал, доза 4 мг/кг, ликолипид, доза 400 мг/кг вводили за сутки д.з., в день заражения и каждые 24 ч в течение 5 сут п.з.; соединение НИОХ-14, доза 50 мкг/г, вводили в день инфицирования и через 1, 2 сут п.з.; ТЭОВак вводили в дозе 6,0 lg БОЕ за 2 сут д.з. (схема 2), за 4 сут д.з. (схема 4), за 8 сут д.з. (схема 8) и за 16 сут д.з. (схема 16).

Мышей заражали интраназально, вводя вирус-содержащую жидкость (ВСЖ) в объеме 30 мкл/гол. суммарно в обе ноздри, предварительно наркотизировав животных. Оральную вакцинацию мышей проводили без наркоза, для этого в область их зева ротовой полости на 1–2 мин помещали поролоновую губку размером 0,5 см³, смоченную ВСЖ в объеме 100 мкл. Побочное действие ВВ, штамм Нейровакцина-92, для мышей оценивали путем определения величины ЛД₅₀ вируса при интраназальном и пероральном способах заражения [2].

Эффективность купирования патогенных свойств ВВ у животных при использовании препаратов оценивали с помощью определения коэффициента защиты (КЗ) [2]. Влияние препаратов на иммуногенность ТЭОВак оценивали в реакции нейтрализации [11]. Сероконверсию в группах определяли как процент сывороток животных с содержанием противооспепных антител $\geq 1:50$. Определение и сравнение показателей ЛД₅₀ проводили с помощью метода Спирмена-Кербера. Значимость защитного действия схем препаратов оценивали точным тестом Фишера так же, как и значимость сероконверсии в группах животных, получавших препараты. Значимость отличий подтверждали на 95 % уровне надежности [3].

Результаты и обсуждение

Для доклинической оценки свойств противовирусных и иммуномодулирующих препаратов, предупреждающих развитие возможных поствакцинальных осложнений таблетированными вакцинами, необходима модель, которая учитывает особенности течения вакцинального процесса, способ иммунизации, а также степень побочного действия ВВ. Известно, что мыши обладают чувствительностью к различным способам заражения ВВ [9, 10]. При этом вакцинальный процесс, вызванный вирусом в их организме, протекает так же, как у человека [7]. Мыши в качестве модельных животных предпочтительны в связи с простотой содержания, удобством и безопасностью работы с ними, а также возможностью включения в исследование достаточного числа животных для получения точных результатов. При моделировании побочного действия ВВ у мышей использовали штамм Нейровакцина-92 ВВ, так как известно, что этот штамм вызывает патогенное (летальное) побочное действие у кроликов, мышей, хлопковых крыс при интрацеребральном способе введения.

Таблица 1

Результаты оценки чувствительности мышей разных возрастов, инфицированных вирусом вакцины, штамм Нейровакцина-92 ($M \pm S_M$)

Возраст, сут	Масса, г	Величина ЛД ₅₀ при ... способе инфицирования (lg БОЕ)	
		интраназальном	оральном
12–13	9,0 ± 1,0	4,5 ± 0,3	5,3 ± 0,3*
18–19	13,0 ± 1,0	5,4 ± 0,2*	н.д.
24–25	19,0 ± 1,0	6,2 ± 0,2**	н.д.

* Значение ЛД₅₀ достоверно отличается от значения для интраназально зараженных мышей в возрасте 12–13 сут ($p < 0,05$); ** Значение ЛД₅₀ достоверно отличается от значения для двух групп мышей в возрастах 12–13 и 18–19 сут ($p < 0,05$).

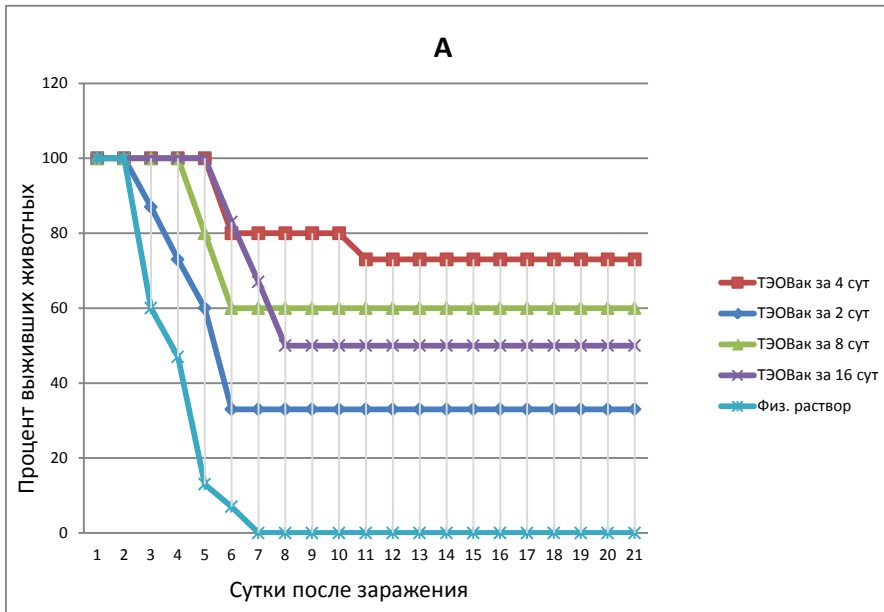
На первом этапе изучали патогенные свойства штамма Нейровакцина-92 ВВ у мышей в возрасте 12–13 сут при интраназальном и оральном способах их инфицирования. Данные представлены в табл. 1. ЛД₅₀ у мышей, интраназально инфицированных штаммом Нейровакцина-92 ВВ, была ниже на 0,8 lg в сравнении с ЛД₅₀ для мышей, инфицированных оральным способом. Судя по всему, в органах дыхательной системы у мышей содержится большее количество чувствительных клеток-мишеней для ВВ по сравнению со слизистой ротовой полости, поэтому мыши более чувствительны к ВВ при респираторном инфицировании. Тем не менее при оральном и интраназальном способах инфицирования штаммом Нейровакцина-92 ВВ у мышей развивалось сходное по клинической картине заболевание. Гибель животных наступала в среднем через 2–7 сут как после интраназального, так и после орального введения 10–100 ЛД₅₀ штамма Нейровакцина-92 ВВ. Вероятнее всего поствакцинальный инфекционный процесс, вызванный штаммом Нейровакцина-92 ВВ в организме интраназально и орально инфицированных мышей, протекает по сходной схеме, в которую вовлечены одни и те же органы-мишени. Гибель животных, вызываемая штаммом Нейровакцина-92 ВВ, можно рассматривать как крайнюю степень побочного действия ВВ. Выявление способности препарата снижать вероятность гибели мышей, инфицированных орально или интраназально штаммом Нейровакцина-92 ВВ, будет свидетельствовать о способности штамма купировать побочное действие вируса. Для оценки эффективности профилактических схем применения препаратов с использованием мышей также сравнительно изучена чувствительность животных разных возрастов к респираторному инфицированию штаммом Нейровакцина-92 ВВ. Результаты исследования, представленные в табл. 1, свидетельствуют о том, что мыши в возрасте 13 сут более чувствительны к штамму Нейровакцина-92 ВВ по сравнению с животными в возрасте 19 и 25 сут ($p < 0,05$). При этом меньшей чувствительностью к штамму Нейровакцина-92 ВВ ($p < 0,05$) обладали интраназально инфицированные мыши в возрасте 25 сут. Мыши в возрасте 13 сут относятся к катего-

рии молодых мышей – «отъемышей», которые имеют незрелую иммунную систему по сравнению с взрослыми особями. По всей видимости, незрелость иммунной системы влияет на чувствительность мышей к инфекции, вызванной штаммом Нейровакцина-92 ВВ. В то же время применительно к разрабатываемой модели побочного действия вируса вакцины использование мышей – «отъемышей» наиболее оправдано. Эффективность купирования побочного действия ВВ препаратами свидетельствует о их способности обеспечивать безопасное оспопрививание людей с иммунопатологическими процессами.

На втором этапе оценивали эффективность препаратов по купированию гибели зараженных мышей, инфицированных орально штаммом Нейровакцина-92 ВВ. Результаты исследований, представленные на рисунке, свидетельствуют о том, что схемы перорального применения препаратов ликолипид и экспериментального соединения НИОХ-14 значимо ($p < 0,05$) защищали мышей от гибели. Коэффициент защиты (КЗ) составил 31 % для схемы применения препарата ликолипид и 100 % для соединения НИОХ-14. Полученные результаты по способности схемы применения соединения НИОХ-14 защищать мышей от гибели, инфицированных патогенным штаммом ВВ, согласуются с данными исследований, проведенных ранее на других моделях ортопоксвирусных инфекций [4, 5]. Схема применения метисазона, используемого при глобальной иммунизации населения и доказавшего противооспенное действие, также достоверно подтвердила способность защищать мышей от летальной инфекции (КЗ = 85 %). Способность снижать гибель мышей, инфицированных орально штаммом Нейровакцина-92 ВВ, также была отмечена при оральном введении ТЭОВак за 2, 4, 8, 16 сут до инфицирования. Так, КЗ составил 33, 73, 60 и 50 % соответственно.

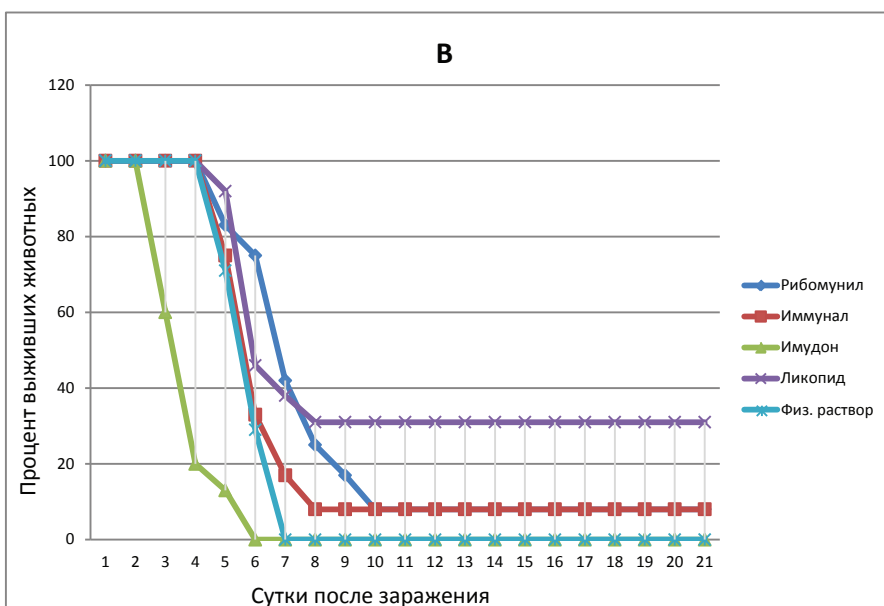
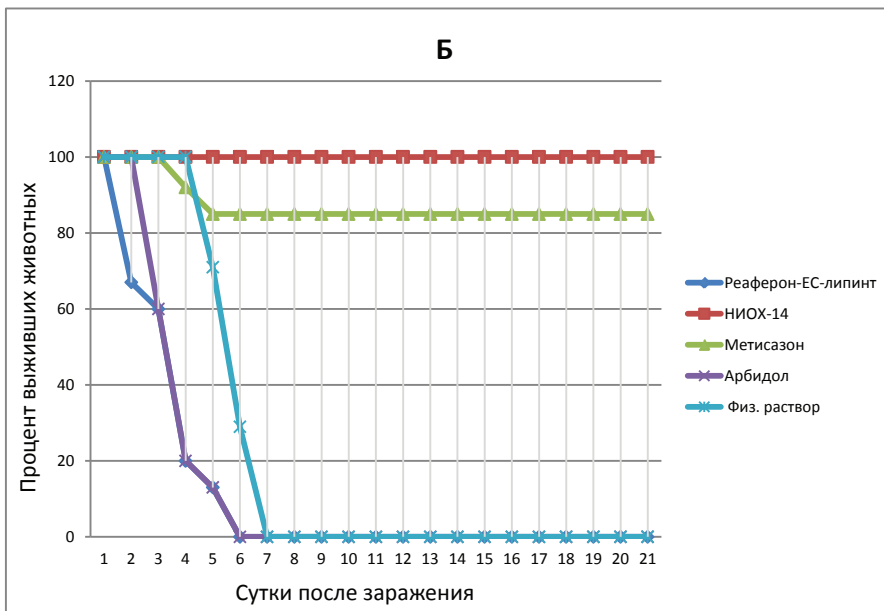
На следующем этапе изучали возможное влияние схем применения препаратов у мышей, орально иммунизированных ТЭОВак, на уровень накопления противооспенных антител и сероконверсию в группах. Результаты, представленные в табл. 2, свидетельствуют о том, что все исследуемые схемы применения препаратов не снижали иммуногенность ТЭОВак. При этом иммуномодулирующие препараты, такие как рибомунил и имудон в схемах их применения значимо ($p < 0,05$) повышали в 2 раза процент сероконверсии в группах иммунизированных мышей в сравнении с группой контроля (табл. 2).

Таким образом, в результате проведенных исследований воспроизведено побочное действие ВВ для мышей в возрасте 13 сут, инфицированных интраназально или орально штаммом Нейровакцина-92 ВВ. Препараты метисазон, ликолипид и соединение НИОХ-14 в использованных схемах применения защищали мышей от гибели. Однократная оральная иммунизация ТЭОВак, начиная от 2 до 16 сут до орального введения штамма Нейровакцина-92 ВВ, защищает мышей от гибели. В то же время данные препараты



Результаты оценки защитной эффективности различных препаратов на белых мышах, интраназально инфицированных вирусом вакцины, штамм Нейровакцина-92 в дозе 10 ЛД₅₀:

А – динамика защитной эффективности в группах, предварительно иммунизированных ТЭОВак в разные сроки до заражения; Б – динамика защитной эффективности противовирусных препаратов; В – динамика защитной эффективности иммуномодулирующих препаратов



Результаты оценки антителиобразования ТЭОВак у белых мышей при однократном оральном оспопрививании после применения противовирусных и иммуномодулирующих препаратов

Наименование препарата	Количество животных в группе, шт.	Показатели гуморального противооспенного иммунного ответа у мышей после однократной оральной иммунизации ТЭОВак в дозе 6,5 Ig БОЕ		
		Сероконверсия #, %	Уровень надежности отличий, p	СГТ (I ₉₅ min-max)
Контроль (раствор Хенкса)	10	50		250 (12–615)
Рибомунил	10	100*	0,016	213 (47–968)
Ликопид	10	60	0,500	473 (7–735)
Имудон	10	100*	0,016	512 (61–1398)
Реаферон	10	100*	0,016	125 (72–2390)
Амиксин	10	50	0,671	560 (2–20475)
Спарфлоксацин	8	37,5	0,479	178 (18–348)
Иммунал	8	50	0,681	125 (23–290)
Арбидол	10	50	0,671	125 (7–289)
НИОХ-14	9	66	0,395	214 (16–511)

Примечания: белые мыши в группах имели массу тела ($25,0 \pm 3,0$) г; СГТ – обратная величина среднего геометрического титра противооспенных антител (ПОА) в группе животных, получавших препараты по схеме; * – достоверное отличие сероконверсии ($p < 0,05$) в сравнении с контролем при использовании точного теста Фишера; # – сероконверсию оценивали при определении доли мышей в группе с титром ПОА $\geq 1:50$.

не влияют на показатели противооспенного иммунного ответа, что указывает на перспективность их использования для разработки схем безопасного первичного оспопрививания таблетированными вакцинами. Кроме того, рибомунил и имудон могут быть использованы как средства усиления противооспенного иммунного ответа, что позволит снизить дозы таблетированных вакцин и повысить безопасность первичного оспопрививания.

Финансирование. Данная научная работа проведена при финансовой поддержке Министерства обороны Российской Федерации в рамках Государственного контракта № Н/3/7/133ф-11-ДГОЗ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Борисевич С.В., Маренникова С.С., Махлай А.А., Терентьев А.И., Логинова С.Я., Перекрест В.В., Краснянский В.П., Бондарев В.П. Оспа обезьян: особенности распространения после отмены обязательного оспопрививания. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* 2012; 2:69–73.
2. Воробьев А.А., Подкуйко В.Н., Максимов В.А. Пероральная вакцинация против оспы (к вопросу о возврате оспопрививания). *Вестник РАМН.* 2003; 1:5–10.
3. Закс Л. Статистическое оценивание. М.: Статистика; 1976. 598 с.
4. Кабанов А.С., Сергеев Ал.А., Шишкина Л.Н., Булычев Л.Е., Скарнович М.О., Сергеев Ар.А., Бормотов Н.И., Пьянков О.В., Серова О.А., Боднев С.А., Селиванов Б.А., Тихонов А.Я., Агафонов А.П., Сергеев А.Н. Сравнительное изучение противовирусной активности химических соединений в отношении ортопоксвирусов в экспериментах *in vivo*. *Вопр. вирусол.* 2013; (4):39–43.
5. Логинова С.Я., Борисевич С.В., Максимов В.А., Бондарев В.П., Перекрест В.В., Шустер А.М. Купирование поствакцинальных осложнений после оспопрививания индукторами интерферона. Химиотерапия и антибиототики. 2010; 1–2:6–11.
6. Онищенко Г.Г., Сандахчиев Л.С., Нетесов С.В., Мартынюк Р.А. Биотерроризм: национальная и глобальная угроза. *Вестник РАН.* 2003; 73(3):195–204.
7. Berhanu A., King D.S., Mosier S., Jordan R., Jones K.F., Hruby D.E., Grosenbach D.W. ST-246 inhibits in vivo poxvirus dissemination, virus shedding, and systemic disease manifestation. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009; 53(12):4999–5009. DOI: 10.1128/AAC.00678-09.
8. Elsendoorn A., Agius G., Le Moal G., Aajaji F., Favier A-L., Wierzbicka-Hainault E., Béraud G., Flusin O., Crance J-M., Roblot F. Severe ear chondritis due to cowpox virus transmitted by a pet rat. *J. Infect.* 2011; 63(5):391–3. DOI: 10.1016/j.jinf.2011.06.004.
9. Fisher R.W., Reed J.L., Snoy P.J., Mikolajczyk, Bray M., Scott D.E., Kennedy M.C. Postexposure prevention of progressive vaccinia in SCID mice treated with vaccinia immune globulin. *Clin. Vaccine Immunol.* 2011; 18(1):67–74. DOI: 10.1128/CVI.00280-10.
10. Goulding J., Bouge R., Tahiliani V., Croft M., Salek-Ardakani S. CD8 T cells are essential for recovery from a respiratory vaccinia virus infection. *J. Immunol.* 2012; 189(5):2432–40. DOI: 10.4049/jimmunol.1200799.
11. Green S., Ennis F.A., Mathew A. Long term recall of memory CD8 T cells in mice to first and third generation smallpox vaccines. *Vaccine.* 2011; 29(8):1666–76. DOI: 10.1016/j.vaccine.2010.12.036.
12. Reed K.D., Melski J.W., Graham M.B., Regnery R.L., Sotir M.J., Wegner M.V., Kazmierczak J.J., Stratman E.J., Li Y., Fairley J.A., 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(4):342–50. DOI: 10.1056/NEJMoa032299.
13. Vellozzi C., Averhoff F., Lane J.M., Wen X., Moore A.C., Santibanez S., Kroger A., Hasbrouck L.M., Kennedy A., Casey C.G. Superinfection following smallpox vaccination (Vaccinia). United States: surveillance January 2003 through January 2004. *Clin. Infect. Dis.* 2004; 39(11):1660–6. DOI: 10.1086/425617.

References

1. Borisevich S.V., Marennikova S.S., Makhlay A.A., Terent'ev A.I., Loginova S.Ya., Perekrst V.V., Krasnyansky V.P., Bondarev V.P. [Monkeypox: peculiarities of dissemination after cancellation of the obligatory smallpox vaccination]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2012; 2:69–73.
2. Vorob'ev A.A., Podkuiko V.N., Maksimov V.A. [Oral vaccine against smallpox (concerning the return of smallpox vaccination)]. *RAMS Bulletin.* 2003; 1:5–10.
3. Zaks L. [Statistical Evaluation]. M.: "Statistika"; 1976. 598 p.
4. Kabanov A.S., Sergeev Ar.A., Shishkina L.N., Bulychiev L.E., Skarnovich M.O., Sergeev Ar.A., Bormotov N.I., P'yankov O.V., Serova O.A., Bodnev S.A., Selivanov B.A., Tikhonov A.Ya., Agafonov A.P., Sergeev A.N. [Comparative analysis of anti-viral activity of chemical compositions towards Orthopoxviruses experimentally *in vivo*]. *Vopr. Virusol.* 2013; (4):39–43.
5. Loginova S.Ya., Borisevich S.V., Maksimov V.A., Bondarev V.P., Perekrst V.V., Shuster A.M. [Relief of post-vaccinal complications after smallpox immunization with interferon inducers]. *Khimioterapiya i Antibiotiki.* 2010; 1–2:6–11.
6. Onishchenko G.G., Sandakhchiev L.S., Netesov S.V., Martynyuk R.A. [Biотerrorism: national and global threat]. *RAS Bulletin.* 2003; 73(3):195–204.
7. Berhanu A., King D.S., Mosier S., Jordan R., Jones K.F., Hruby D.E., Grosenbach D.W. ST-246 inhibits in vivo poxvirus dissemination, virus shedding, and systemic disease manifestation. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009; 53(12):4999–5009. DOI: 10.1128/AAC.00678-09.
8. Elsendoorn A., Agius G., Le Moal G., Aajaji F., Favier A-L., Wierzbicka-Hainault E., Béraud G., Flusin O., Crance J-M., Roblot F. Severe ear chondritis due to cowpox virus transmitted by a pet rat. *J. Infect.* 2011; 63(5):391–3. DOI: 10.1016/j.jinf.2011.06.004.

9. Fisher R.W., Reed J.L., Snoy P.J., Mikolajczyk, Bray M., Scott D.E., Kennedy M.C. Postexposure prevention of progressive vaccinia in SCID mice treated with vaccinia immune globulin. *Clin. Vaccine Immunol.* 2011; 18(1):67–74. DOI: 10.1128/CI.00280-10.
10. Goulding J., Bouge R., Tahiliani V., Croft M., Salek-Ardakani S. CD8 T cells are essential for recovery from a respiratory vaccinia virus infection. *J. Immunol.* 2012; 189(5):2432–40. DOI: 10.4049/jimmunol.1200799.
11. Green S., Ennis F.A., Mathew A. Long term recall of memory CD8 T cells in mice to first and third generation smallpox vaccines. *Vaccine.* 2011; 29(8):1666–76. DOI: 10.1016/j.vaccine.2010.12.036.
12. Reed K.D., Melski J.W., Graham M.B., Regnery R.L., Sotir M.J., Wegner M.V., Kazmierczak J.J., Stratman E.J., Li Y., Fairley J.A., 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(4):342–50. DOI: 10.1056/NEJMoa032299.
13. Vellozzi C., Averhoff F., Lane J.M., Wen X., Moore A.C., Santibanez S., Kroger A., Hasbrouck L.M., Kennedy A., Casey C.G. Superinfection following smallpox vaccination (Vaccinia), United States: surveillance January 2003 through January 2004. *Clin. Infect. Dis.* 2004; 39(11):1660–6. DOI: 10.1086/425617.

Authors:

Galakhova D.O., Sergeev Ar.A., Shevtsova E.V., Sergeev Al.A., Zamedyanskaya A.S., Titova K.A., Shishkina L.N., Bulychev L.E., 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

Borisevich S.V., Podkuiko V.N., Pirozhkov A.P., Koval’chuk A.V., Polyansky Ya.V., Vakhnov E.Yu. The 48th Central Research Institute of the RF Ministry of Defense. Sergiev Possad, Russian Federation.

Perekrest V.V., Shevtsov V.A. Scientific Center for Expertise of Medical Products. 8, Petrovsky Bulvar, Moscow, 127051, Russian Federation. E-mail: perekrest@expmed.ru

Об авторах:

Галахова Д.О., Сергеев Ар.А., Шевцова Е.В., Сергеев Ал.А., Замедьянская А.С., Титова К.А., Шишкина Л.Н., Булычев Л.Е., 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

Борисевич С.В., Подкуйко В.Н., Пирожков А.П., Ковальчук А.В., Полянский Я.В., Вахнов Е.Ю. 48 Центральный научно-исследовательский институт Министерства обороны Российской Федерации. Российская Федерация, Сергиев Посад.

Перекрест В.В., Шевцов В.А. Научный центр экспертизы средств медицинского применения. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, 8. E-mail: perekrest@expmed.ru

Поступила 24.06.15.

А.В.Комиссаров, Н.Н.Кочкалова, Н.В.Синицына, С.А.Бадарин, Н.И.Костылева, О.А.Волох,
О.Д.Клокова, А.К.Никифоров

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА СУБЛИМАЦИОННОГО ВЫСУШИВАНИЯ ИММУНОГЕНОВ ХОЛЕРНОЙ ХИМИЧЕСКОЙ ВАКЦИНЫ

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

Цель работы – экспериментальное обоснование возможности повышения эффективности производства холерной химической вакцины за счет применения новых технологических решений процесса сублимационного высушивания иммуногенов вакцины. **Материалы и методы.** В качестве специфических иммуногенных компонентов вакцины использовали холероген-анатоксин и О-антигены Инаба и Огава. В ходе проведения исследований определены значения температуры эвтектики О-антигенов Инаба и Огава (примерно минус 35 °C). Холероген-анатоксин при достижении его температуры минус 55 °C замерзает не полностью. Полное отвердевание препарата достигнуто за счет его «отжига». Выявлено отсутствие влияния примененных режимов замораживания антигенных компонентов холерной химической вакцины на их свойства. Опытным путем установлены необходимые значения технологических параметров процессов первичного высушивания и десорбции. Проведенное изучение активности лиофилизатов иммуногенов холерной химической вакцины свидетельствовало о соответствии нормируемым требованиям. **Результаты и выводы.** Результаты исследований позволили существенно сократить время технологического процесса и получать качественные препараты.

Ключевые слова: сублимационное высушивание, протективные антигены, вакцина холерная.

Корреспондирующий автор: Комиссаров Александр Владимирович, e-mail: rusrapi@microbe.ru

A.V.Komissarov, N.N.Kochkalova, N.V.Sinitsyna, S.A.Badarin, N.I.Kostyleva, O.A.Volokh, O.D.Kloкова,
A.K.Nikiforov

Studies of Freeze-Drying of Cholera Chemical Vaccine Immunogens

Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation

Objective of the study was to substantiate experimentally the possibility to enhance efficiency of manufacturing process through application of novel engineering solutions in the course of freeze-drying of vaccine immunogens. **Materials and methods.** Cholera-anatoxin and O-antigens, Inaba and Ogawa, served as specific immunogenic components of the vaccine. Identified were temperature values for O-antigen eutectics (approx. -35°C). At reaching -55°C cholera-anatoxin froze incompletely (fractionally). Full solidification of the preparation was achieved by means of the “annealing”. Revealed was non-effect of the tested freeze modes on the properties of antigen components of chemical cholera vaccine. Desired values of technological parameters for primary drying and desorption were specified by trial. Investigations of activity of chemical cholera vaccine immunogen lyophilizates testified to the compliance with the rated critical requirements. **Results and conclusions.** Results of the study provided for significant time expenditure reduction and obtainment of high-quality preparations at once.

Key words: freeze-drying, protective antigens, cholera vaccine.

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

Corresponding author: Aleksander V. Komissarov, e-mail: rusrapi@microbe.ru

Citation: Komissarov A.V., Kochkalova N.N., Sinitsyna N.V., Badarin S.A., Kostyleva N.I., Volokh O.A., Kloкова O.D., Nikiforov A.K. Studies of Freeze-Drying of Cholera Chemical Vaccine Immunogens. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2016; 1:90–93. (In Russ.). DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-90-93

В соответствии с распоряжением Правительства Российской Федерации № 1426-р от 02.10.2009 г. в ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» произведена реконструкция аппаратно-технологической линии производства вакцины холерной бивалентной химической таблетированной. На технологическом участке сублимационного высушивания взамен старых лиофилизационных установок, полностью исчерпавших свой эксплуатационный ресурс, введены в технологический процесс новые, современные. Применение технологических приемов сушки, описанных в нормативной документации производства вакцины для имевшихся ранее лиофилизаторов, давало, в ряде случаев, существенное ухудшение сублимационно высушенных иммуногенов холерной химической вакцины.

Лиофилизация состоит из трех основных этапов:

замораживание, первичная сублимация и десорбция (досушивание) [2]. Замораживание является первой и важнейшей стадией лиофилизации, при которой формируется окончательная структура продукта, влияющая на качество лиофилизированного материала. Скорость замораживания и температура определяются конкретно для каждого препарата с целью подбора условий, обеспечивающих максимальную сохранность структурной целостности продукта [8]. При замораживании необходимо учитывать значение эвтектической температуры подлежащего высушиванию препарата. Температурой эвтектики считается температура полного отвердевания (кристаллизации) замораживаемого объекта [5].

Второй этап лиофилизации – первичная сублимация или первичное обезвоживание, в процессе которого происходит удаление из высушиваемого объ-

Результаты и обсуждение

екта основной массы воды. Данный этап является наиболее продолжительным в процессе лиофильного высушивания. Оптимизация условий первичной лиофилизации является обязательной для разработки экономичных режимов сушки. Для оптимизации лиофилизации биоматериалов необходимо учитывать критические температурные зоны для высушиваемого препарата. К ним относится температура коллапса, выше которой препарат, подвергнутый лиофилизации, теряет макроскопическую структуру и разрушается при высушивании. Если нагревание материала происходит при температуре, превышающей эвтектическую, существует риск вспенивания продукта из-за образования микрозон переохлажденной жидкости, что ведет к снижению качества сухого продукта; температура первичной лиофилизации препарата должна быть всегда на несколько градусов ниже эвтектической [1, 2].

Основными параметрами этапа десорбции, определяющими физико-химические и биологические характеристики сухих препаратов, являются температура материала и длительность процесса досушивания. При выборе оптимальных значений данных параметров должны быть учтены биологические особенности лиофилизируемого препарата в связи с тем, что именно на этой стадии могут произойти повреждения в биоструктуре молекулы препарата [4].

К сожалению, нам не удалось найти данные по влиянию вышеназванных факторов, присущих процессам лиофилизации, на свойства иммуногенов холерной химической вакцины. Это вызвало необходимость исследования процесса сушки антигенных компонентов вакцины с целью выявления ее оптимальных технологических режимов.

Материалы и методы

В работе использовали выделенные из безмикробных центрифугатов антигенные компоненты, полученные при производственном выращивании штаммов *V. cholerae* М-41 Огава и 569В Инаба. Сублиминационное высушивание осуществляли на установке Martin Christ Epsilon 2-6D (Германия). Остаточную влажность сухих антигенов определяли с использованием влагомера Sartorius MA 150 (Германия).

Активность О-антигенных компонентов холерной вакцины определяли в реакции иммунодиффузии в геле (РИД) по Оухтерлони и реакции непрямой агглютинации (РНГА) с О1 сывороткой. Активность холерогена-анатоксина устанавливали в РИД с антихолерогенной сывороткой (АХС) и по единицам связывания анатоксина (ЕС), определенным при подкожном введении препарата кроликам массой $(2,7 \pm 0,25)$ кг.

Эвтектические температуры определяли методом измерения удельного электрического сопротивления, разработанным L.Rey [6]. Установка Martin Christ Epsilon 2-6D позволяет проводить эту операцию в режиме реального времени.

На первоначальном этапе работы устанавливали значения точки эвтектики каждого из трех компонентов холерной вакцины. Значение эвтектической температуры каждого образца получали, проецируя начало прямолинейного отрезка кривой зеленого цвета на ось температур, в установке Martin Christ Epsilon 2-6D этот фиксируемый показатель называется LyoRx. По данным литературы известно, что эвтектическая температура 27 % раствора натрия хлористого равна минус 21 °С [3]. Проведенные измерения этого вещества выявили, что вышеназванная температура достигается при значении LyoRx равного 96–97 %.

Проведение исследований дало следующие значения температуры эвтектики О-антигенов Инаба и Огава – примерно минус 35 °С (рис. 1). Достичь полного промораживания холерогена-анатоксина при создании минимально возможной при использовании установки Martin Christ Epsilon 2-6D температуры продукта, равной минус 55 °С, не удалось. Величина параметра LyoRx не превышала 85 %. По результатам этого этапа работы можно сделать заключение, что замораживание холерогена-анатоксина, как изложено в нормативной документации производства, до температуры в интервалах от минус 40 до минус 50 °С не является оптимальным. Применение данной области температур для О-антигенов Инаба и Огава обеспечивает полное замораживание материала.

Что касается неполного отвердевания холерогена-анатоксина, то нами применен технологический прием, описанный в литературе [7] и заключающийся

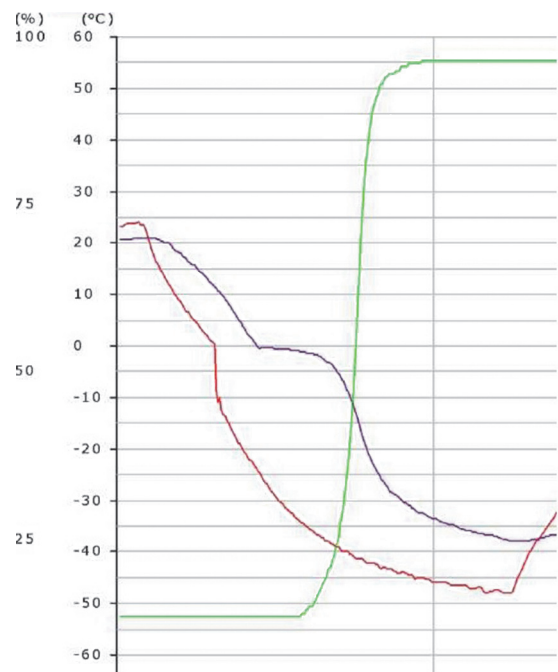


Рис. 1. Фрагмент диаграммы, протоколируемой установкой Martin Christ Epsilon 2-6D и отражающей ход протекания процесса определения точки эвтектики О-антигена Инаба и Огава:

кривая красного цвета – температура полки установки, на которую подается теплоноситель; кривая фиолетового цвета – температура продукта

ся в следующем: замороженный до минус 50–55 °С препарат нагревают на полках лиофилизационной установки до минус 20 °С, выдерживая при данной температуре в течение часа. Далее опять охлаждают до минимально возможной температуры, одновременно начиная процесс сублимации. Данный технологический прием использован американскими учеными при изучении процесса замораживания 10 % сахарозы. Ими установлено, что такая «термическая обработка», еще ее называют «отжиг», приводит к увеличению кристаллов льда и полному затвердеванию всего вещества [7]. Использование этого технологического приема позволило добиться полного замораживания холерогена-анатоксина.

Следующим шагом работы стало исследование продолжительности замораживания на качество лиофилизатов антигенных компонентов холерной вакцины. В процессе изучения влияния скорости замораживания на свойства препаратов, их разливали по 5 мл во флаконы вместимостью 10 мл и замораживали от температуры хранения (6 ± 2) °С до температуры эвтектики (для холерогена анатоксина до минус 50–55 °С), применяя следующие режимы замораживания: 1 (быстрый) – со скоростью замораживания 0,5 °С/мин, 2 (медленный) – со скоростью замораживания 0,045 °С/мин.

После этого замороженные растворы антигенов, полученные этими способами, сублимационно высушивали по технологическим режимам, описанным в производственном регламенте. Оценку влияния способа замораживания на качество лиофилизатов проводили по следующим показателям: внешний вид препарата, остаточная влажность, растворимость, рН, активность иммуногенов в РИД.

По внешнему виду лиофилизаты, полученные как путем быстрого, так и медленного замораживания, представляли собой сухую порошкообразную массу коричневатого-белого цвета. Остаточная влажность для препаратов была практически одинаковой и составляла от 0,5 до 0,7 %. Значение рН растворов, полученных после растворения лиофилизатов, было от 6,9 до 7,1. Полученные лиофилизаты легко растворялись в 5 мл воды в течение 1–2 мин. Эти результаты соответствовали нормируемым требованиям. Активность О-антигенов Инаба и Огава в РИД составляла 1024 (это значение было у препаратов как до замораживания, так и после лиофилизации). У холерогена-анатоксина активность в РИД снизилась в 4 раза. До замораживания величина была равна 256, после лиофилизации – 64. Можно сделать вывод, что примененные режимы замораживания оказывают одинаковое воздействие на основные показатели лиофилизатов иммуногенов.

Следующим этапом работы стала оптимизация условий первичной лиофилизации, заключающаяся в подборе оптимальной температуры продукта, которая должна быть на несколько градусов ниже эвтектической температуры. Это возможно обеспечить поддержанием параметра $LyoRx$ в пределах 96–97 % во время первичной лиофилизации. Необходимо

отметить, что остаточное давление и температура конденсатора-вымораживателя на протяжении всего процесса было постоянным и составляло 0,02 мбар и минус 70 °С соответственно. В качестве примера на рис. 2 представлена диаграмма, протоколируемая установкой Martin Christ Epsilon 2-6D и отражающая ход протекания процесса лиофилизации холерогена-анатоксина.

Анализируя данные рис. 2, можно сделать вывод о том, что постепенный подъем температуры полки сублиматора от минус 50 до 25 °С в течение 3 ч обеспечивает плавный нагрев высушиваемого продукта и поддержание параметра $LyoRx$ в пределах 96–97 % во время лиофилизации.

Наше внимание привлек довольно длительный окончательный этап десорбции, изложенный в производственном регламенте, протекающий при температуре 25 °С в течение 14 ч. Поэтому на заключительном этапе работы изучали влияние температурно-временных интервалов этого процесса на свойства лиофилизатов иммуногенов холерной химической вакцины. В результате проведения исследований выявлено, что сокращение этой процедуры с 14 до 5 часов не оказывает влияния на нормируемые характеристики препаратов.

Необходимо отметить, что полученные с применением усовершенствованных технологических приемов процесса сублимационного высушивания иммуногены холерной химической вакцины имели требуемый уровень активности по регламентным показателям. Так, активность холерогена-анатоксина составляла 6000 ЕС (при минимальном уровне этого показателя 2000 ЕС), а О-антигенов Инаба и Огава, по данным РНГА с О1 сывороткой, – 256 и 180 единиц соответственно (при норме для обоих О-антигенов не менее 100 единиц).

На основании проведенных исследований можно рекомендовать следующие технологические параметры процесса сублимационного высушивания иммуногенов холерной химической вакцины. Для холерогена-анатоксина: замораживание до 50–55 °С со скоростью понижения температуры от 0,045 до 0,5 °С/мин; повышение температуры препарата до минус 20 °С; выдержка при данной температуре в течение 1–2 ч; первичная сублимация при остаточном давлении 0,02 мбар, температуре конденсатора-вымораживателя 70 °С, постепенном подъеме температуры полки сублиматора от минус 40 до 25 °С в течение 3 ч и сохранение этой температуры до достижения препаратом 25 °С; десорбция при 25 °С в течение 5 ч. Для О-антигенов Инаба и Огава: замораживание до 40 °С со скоростью понижения температуры от 0,045 до 0,5 °С/мин; выдержка при данной температуре в течение 1–2 ч; первичная сублимация при остаточном давлении 0,02 мбар, температуре конденсатора-вымораживателя 70 °С, постепенном подъеме температуры полки сублиматора от минус 40 до 25 °С в течение 3 ч и сохранение этой температуры до достижения препаратом 25 °С; десорбция при 25 °С в течение 5 ч.

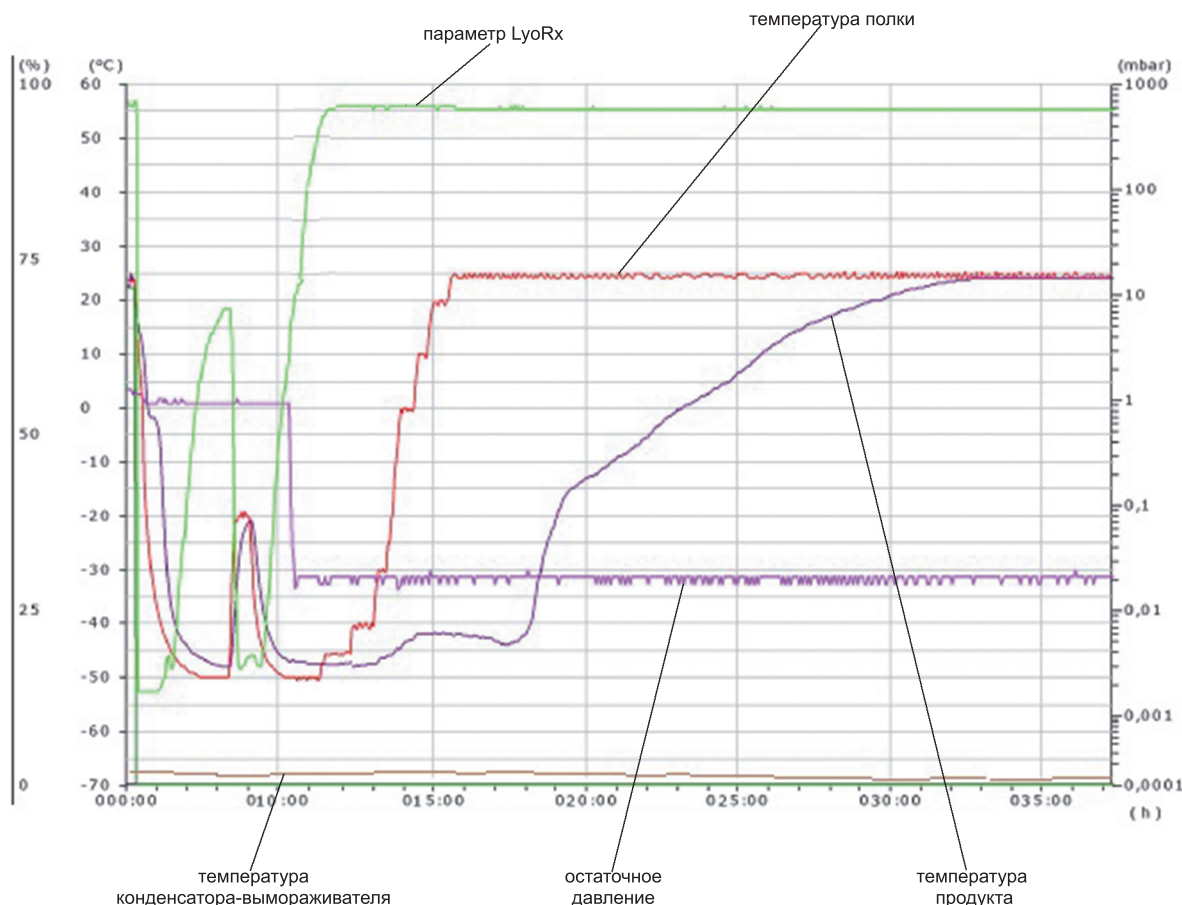


Рис. 2. Диаграмма, регистрируемая установкой Martin Christ Epsilon 2-6D и отражающая ход протекания процесса лиофилизации холерогена-анатоксина

Таким образом, в результате проведенных исследований усовершенствована технология лиофилизации антигенных компонентов вакцины, что позволило существенно сократить время технологического процесса и получать качественные препараты.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гусаров Д.А. Лиофилизация биофармацевтических белков (миниобзор). *Биофармацевтический журн.* 2010; 2(5):3–7.
2. Нежута А.А., Сервис Е.С. Разработка научно-обоснованных режимов сублимационной сушки биопрепаратов. *Биотехнология.* 2001; 6:59–67.
3. Новикова Л.С., Шевченко Ю.Е., Чернов Н.Е. Эвтектические температуры некоторых растворов термолабильных препаратов. *Хим. фарм. журн.* 1977; 11:100–2.
4. Тутова Э.Г., Куц Э.И. Сушка продуктов микробиологического производства. М.: Агропромиздат; 1987. 155 с.
5. Abdul-Fattah A.M., Truong-Le V., Yee L., Nguyen L., Kalonia D.S., Cicerone M.T., Pikal M.J. Drying-induced variations in physico-chemical properties of amorphous pharmaceuticals and their impact on stability (I): stability of a monoclonal antibody. *J. Pharm. Sci.* 2007; 96(8):1983–2008.
6. Rey L.R. *Traité de lyophilisation.* Paris; 1960. 411 p.
7. Searles J.A., Carpenter J.F., Randolph T.W. Annealing to optimize the primary drying rate, reduce freezing-induced drying rate heterogeneity, and determine T(g) in pharmaceutical lyophilization. *J. Pharm. Sci.* 2001; 90(7):872–87.
8. Tsinontides S.C., Rajniak P., Pham D., Hunke W.A., Placek J., Reynolds S.D. Freeze drying-principles and practice for successful scale-up to manufacturing. *Int. J. Pharm.* 2004; 280(1–2):1–16.

References

1. Gusarov D.A. [Lyophilization of biological pharmaceutical proteins (Brief review)]. *Biofarmatsevtich. Zh.* 2010; 2(5):3–7.
2. Nezhuta A.A., Serbis E.S. [Development of scientifically-substantiated modes for freeze-drying of biological preparations]. *Biotechnologiya.* 2001; 6:59–67.
3. Novikova L.S., Shevchenko Yu.E., Chernov N.E. [Eutectic temperatures of certain solutions of heat-labile preparations]. *Khim. Farm. Zh.* 1977; 11:100–2.
4. Tutova E.G., Kuts E.I. [Drying of microbiological manufacturing products]. М.: "Агропромиздат"; 1987. 155 p.
5. Abdul-Fattah A.M., Truong-Le V., Yee L., Nguyen L., Kalonia D.S., Cicerone M.T., Pikal M.J. Drying-induced variations in physico-chemical properties of amorphous pharmaceuticals and their impact on stability (I): stability of a monoclonal antibody. *J. Pharm. Sci.* 2007; 96(8):1983–2008.
6. Rey L.R. *Traité de lyophilisation.* Paris; 1960. 411 p.
7. Searles J.A., Carpenter J.F., Randolph T.W. Annealing to optimize the primary drying rate, reduce freezing-induced drying rate heterogeneity, and determine T(g) in pharmaceutical lyophilization. *J. Pharm. Sci.* 2001; 90(7):872–87.
8. Tsinontides S.C., Rajniak P., Pham D., Hunke W.A., Placek J., Reynolds S.D. Freeze drying-principles and practice for successful scale-up to manufacturing. *Int. J. Pharm.* 2004; 280(1–2):1–16.

Authors:

Komissarov A.V., Kochkalova N.N., Sinitsyna N.V., Badarin S.A., Kostyleva N.I., Volokh O.A., Kloko O.D., 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., Кочкалова Н.Н., Синицына Н.В., Бадарин С.А., Костылева Н.И., Волох О.А., Клокова О.Д., Никифоров А.К. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Поступила 08.07.15.

А.В.Комиссаров, А.Ю.Ульянов, О.А.Волох, И.В.Шульгина, О.А.Лобовикова, О.Д.Клокова,
А.К.Никифоров

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА ГОТОВОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ВАКЦИНЫ ХОЛЕРНОЙ БИВАЛЕНТНОЙ ХИМИЧЕСКОЙ ТАБЛЕТИРОВАННОЙ

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

Цель работы: экспериментальное обоснование возможности повышения эффективности производства за счет уменьшения массы таблетки вакцины холерной бивалентной химической таблетированной с 300 до 100 мг. **Материалы и методы.** В качестве специфических иммуногенных компонентов вакцины использовали лиофилизат О-антигена Инаба. **Результаты и выводы.** В ходе проведения исследований выявлено, что целесообразно изготавливать таблетки диаметром 6 мм. Обосновано количественное содержание вспомогательных веществ (лактозы моногидрата, микрокристаллической целлюлозы и поливинилпироллидона). Установлены необходимые значения технологических параметров процессов гранулирования таблеточной смеси в псевдоожиженном слое с подачей связующего вещества сверху, прессования таблеток и нанесения кишечнорастворимого покрытия Acryl-eze на готовую лекарственную форму. Произведена модельная экспериментальная серия вакцины и исследованы ее нормируемые характеристики. Проверенные показатели качества вакцины свидетельствовали о соответствии требованиям фармакопейной статьи предприятия на препарат. Проведенные исследования выявили принципиальную возможность повышения эффективности производства за счет уменьшения количества вспомогательных веществ, а следовательно, и массы таблетки вакцины холерной бивалентной химической таблетированной с 300 до 100 мг.

Ключевые слова: вакцина холерная, масса таблетки, технология.

Корреспондирующий автор: Комиссаров Александр Владимирович, e-mail: rusrapi@microbe.ru

A.V.Komissarov, A.Yu.Ul'yanov, O.A.Volokh, I.V.Shul'gina, O.A.Lobovikova, O.D.Klokov, A.K.Nikiforov

Enhancement of Manufacturing Technology for Finished Dosage Form of Bivalent Chemical Tableted Cholera Vaccine

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

Objective of the study is to experimentally substantiate the possibility to improve manufacturing efficiency by means of mass reduction of a vaccine tablet from 300 to 100 mg. **Materials and methods.** Inaba O-antigen lyophilizate serves as the specific immunogenic component of the vaccine. **Results and conclusions.** It is identified that it is expedient to produce tablets of 6 mm in diameter. Justified is the quantitative content of additive substances (lactose monohydrate, micro-crystal cellulose, and polyvinylpyrrolidone). Moreover, the studies have specified target values for technological parameters of such processes as fluid bed granulation of the formula with overfeed of the binder, tablet compression and enteric-coating (Acryl-eze) application to finished dosage form. Using Inaba O-antigen lyophilizate manufactured has been model experimental series of the vaccine. Investigated have been its characteristics. Verified vaccine quality indicators testify to the compliance of the product with the requirements of manufacturer's pharmacopoeial monograph. The studies exercised showed the possibility in principle to enhance manufacturing efficacy through the decrement of additives amounts, and thus the mass of a vaccine tablet from 300 up to 100 mg.

Key words: cholera vaccine, mass of a tablet, technology.

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

Corresponding author: Aleksander V. Komissarov, e-mail: rusrapi@microbe.ru

Citation: Komissarov A.V., Ul'yanov A.Yu., Volokh O.A., Shul'gina I.V., Lobovikova O.A., Klokov O.D., Nikiforov A.K. Enhancement of Manufacturing Technology for Finished Dosage Form of Bivalent Chemical Tableted Cholera Vaccine. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2016; 1:94–96. (In Russ.). DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-94-96

Преимущество гранулирования в псевдоожиженном слое для получения таблеток лекарственных препаратов, в сравнении с обычным влажным гранулированием и прямым прессованием, показано в ряде исследований [1, 5].

Нашими предыдущими исследованиями [2, 3, 4] показана возможность получения холерной химической вакцины в форме таблеток массой 300 мг, содержащих лиофилизированные холероген-анатоксин и О-антигены, полученные из инактивированных формалином бульонных культур холерных вибрионов О1 серогруппы – *Vibrio cholerae* 569В классического биовара серовара Инаба и *V. cholerae* М-41 классического биовара серовара Огава (6–19 мас.%), и в качестве вспомогательных веществ следующие компоненты при их соотношении, мас. %: лактоза

моногидрат – 44,3–36,3; целлюлоза микрокристаллическая – 44,3–36,3; поливинилпироллидон – 0,4–0,8; кишечнорастворимое покрытие Acryl-eze – 5–8.

Предложенная композиция в совокупности с экспериментально обоснованными технологическими решениями гранулирования в псевдоожиженном слое, прессования и нанесения покрытия на таблетку позволяет сократить потери препарата при таблетировании с 30 до 1 % и улучшить внешний вид [2, 3].

Следующим шагом исследований являлось повышение эффективности производства за счет уменьшения количества технологических циклов гранулирования таблеточной смеси и нанесения покрытия на таблетку. Достичь данного эффекта представлялось возможным за счет уменьшения массы таблеток вакцины, при сохранении в ней того коли-

чества холерогена-анатоксина и О-антигенов, которое определено фармакопейной статьей предприятия на препарат.

Материалы и методы

Гранулирование осуществляли на аппарате, работающем по принципу «псевдооживленного слоя» GPCG 2 фирмы Glatt (Германия). Последующее таблетирование смеси проводили на таблеточном прессе MiniTabT фирмы Luxner (Германия). Взвешивание таблеток проводили на весах Ohaus Pioner PA-213 (США) с точностью до 0,001 г. Нанесение покрытия на таблетку выполняли в машине барабанного типа (коутере) GMPC I Mini (Glatt, Германия). Твердость таблеток определяли с использованием тестера ТВН 125 TD (Erweka, Германия), используя режим работы перемещения измерительного молотка «постоянная скорость» при величине ньютона-фактора равного 19,0. Количество таблеток составляло не менее 10.

Для определения сыпучести в сухую воронку, выходное отверстие которой закрыто заслонкой, помещали без уплотнения навеску испытуемого вещества массой 50 г, взвешенную с точностью до 0,01 г. Включали виброустройство и через 20 с открывали заслонку. Определяли время, необходимое для полного истечения испытуемого вещества из воронки. Проводили три параллельных измерения. Сыпучесть рассчитывали по формуле:

$$\text{Сыпучесть} = \frac{m}{t - 20}, \quad (1)$$

где m – масса навески испытуемого вещества, г;
 t – время истечения испытуемого вещества, с.

Определение насыпной плотности порошков и гранулятов проводили на приборе SVM-10 (Erweka, Германия) в соответствии с методикой, описанной в Европейской Фармакопее (European Pharmacopoeia 7.0, 2010). Для этого навеску образца с заранее измеренной массой помещали в проградуированный цилиндр вместимостью 100 мл. Отношение массы навески к заполненному объему (V_0) цилиндра являлось насыпной плотностью до утряски. После проведения утряски, при количестве встряхиваний последовательно 500, 750 и 1250, измеряли заполненный объем цилиндра (V_k) и определяли насыпную плотность после утряски.

Коэффициент сжимаемости рассчитывали по формуле:

$$\text{Коэффициент сжимаемости} = \frac{V_k - V_0}{V_k} \cdot 100 \%. \quad (2)$$

Коэффициент Хауснера рассчитывали по формуле:

$$\text{Коэффициент Хауснера} = \frac{V}{V_0}. \quad (3)$$

Угол естественного откоса определяли при насыпке материала горкой в виде конуса. Определение

распадаемости и растворимости проводили по методике, описанной в фармакопейной статье предприятия на холерную химическую вакцину (ФСП 42-0020-0020-08). Таблетки в количестве 3 штук помещали во флакон вместимостью 100 мл с 25 мл децимолярного раствора соляной кислоты и выдерживали при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 3 ч при периодическом встряхивании (3–4 раза через каждые 10 мин). Затем кислоту удаляли, оставляя препарат на дне флакона. Каждая таблетка вакцины должна сохранять форму и оболочку. На следующем этапе эти же таблетки заливали 25 мл децимолярного раствора натрия гидроксида и выдерживали при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 1 ч при периодическом встряхивании (3–4 раза через каждые 10 мин). Если таблетки распадались до рыхлой массы, без сохранения оболочки, то тест на распадаемость считался пройденным.

Результаты и обсуждение

На получение качественных гранул и таблеток влияют такие технологические характеристики порошков, как форма и размер частиц, распределение размера частиц, насыпная плотность, сыпучесть (текучесть), остаточная влажность, коэффициенты сжимаемости и Хауснера, угол естественного откоса.

Наши предыдущие исследования показали, что численные значения этих технологических характеристик для лиофилизатов холерогена-анатоксина, О-антигена Огава и О-антигена Инаба имеют близкие значения [4]. Это дало нам основание использовать в экспериментах лиофилизат О-антигена Инаба, который к началу проведения экспериментов был в избыточном, для производства холерной вакцины, количестве.

Согласно ОСТ 64-072-89 «Средства лекарственные. Таблетки. Типы и размеры» двояковыпуклые таблетки с покрытием выпускаются 6 типоразмеров – от 5,0 до 10,0 мм. Имеющийся в нашем распоряжении таблеточный пресс позволяет получать таблетки с минимальным диаметром – 6 мм. Прессование «плацебо» (таблеточная смесь, полученная гранулированием в псевдооживленном слое и содержащая по 50 массовых процентов лактозы моногидрат и целлюлозы микрокристаллической) показало, что возможно получать таблетки массой от 80 до 150 мг. В дальнейших исследованиях по получению таблеток в качестве специфических фракций использовался лиофилизат О-антигена Инаба. Нами предложена следующая композиция холерной химической вакцины в форме таблеток массой 100 мг, содержащей лиофилизат О-антигена Инаба (18–57 мас. %), и в качестве вспомогательных веществ следующие компоненты при их соотношении, мас. %: лактоза моногидрат – 21,1–40,8; целлюлоза микрокристаллическая – 21,1–40,8; поливинилпироллидон – 0,4–0,8.

Следующим этапом исследований была отработка режимов гранулирования таблеточной смеси

предложенного состава. Апробированы технологические режимы процесса гранулирования, обоснованные при проведении исследований по получению таблетки вакцины 300 мг [2]. Оказалось, что для адекватного проведения процесса необходимо увеличение расхода воздуха на псевдоожижение до 120 м³/ч. Исследование технологических характеристик гранулятов (табл. 1) показало их близкие численные значения.

Основным параметром, определяющим свойства таблеток-ядер после их таблетирования, является давление прессования. От его правильного выбора зависят такие свойства, как время растворения таблетки в тесте «распадаемость» – эта характеристика является нормируемой в готовой лекарственной форме вакцины; механическая прочность на сжатие таблеток-ядер, которая, в свою очередь, определяет режимы нанесения покрытия на таблетку, а в ряде случаев, и возможность его нанесения. Результаты исследований по влиянию давления прессования на свойства таблеток-ядер изложены в табл. 2.

Анализируя данные табл. 2, можно сделать следующие выводы. При давлениях прессования, равных и превышающих 10 кН, таблетки-ядра не проходят тест на «распадаемость». Оптимальным диапазоном давления прессования является от 3 до 5 кН.

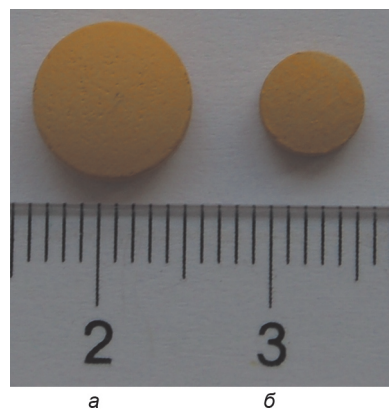
При нанесении покрытия на ядра таблеток использовали параметры процесса, определенные ранее для таблеток вакцины 300 мг: давление сжатого воздуха, подаваемого на форсунку для распыления и атомизации, – 1,0 и 1,4 бар соответственно; расход подаваемого раствора Acryl-EZE – 8,2–8,4 мл/мин; число оборотов барабана – 10–12 об/мин; расход и температура воздуха, подаваемого на сушку, – 50–55 м³/ч и 40–45 °С соответственно [2], которые, как показали результаты испытания таблетки 100 мг, подходили для них.

Нанесенное покрытие давало прибавку массы до 8 %, средняя масса таблетки составила (105,2±0,4) мг. Гладкое и равномерное желтое пленочное покрытие закрывало все кромки таблеток (рисунок).

В результате определения распадаемости выявлено: при выдерживании в децимолярном растворе соляной кислоты в течение 3 ч каждая таблетка вакцины сохраняла форму и оболочку; при воздействии децимолярного раствора натрия гидроксида в течение (30,5±0,5) мин таблетки распадались до рыхлой массы, без сохранения оболочки. Полученные результаты соответствовали требованиям фармакопейной статьи на препарат.

Таким образом, показана принципиальная возможность повышения эффективности производства за счет уменьшения количества вспомогательных веществ, а следовательно, и массы таблетки вакцины холерной бивалентной химической таблетированной с 300 до 100 мг.

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



Внешний вид вакцины

а – таблетка 300 мг; б – таблетка 100 мг

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зуев А.П., Емшанова С.В., Садчикова Н.П., Тюляев И.И., Веселова Н.И., Лашева О.Ю. Оптимизация состава и технологии таблеток-ядер пентоксифиллина. *Химико-фармацевтический журнал*. 2003; 37(10):27–30.
2. Комиссаров А.В., Еремин С.А., Задохин С.Н., Шульгина И.В., Лобовикова О.А., Васин Ю.Г., Клокова О.Д., Ливанова Л.Ф., Никифоров А.К. Экспериментальное обоснование внедрения пленочного покрытия на водной основе для готовой лекарственной формы холерной химической вакцины. *Современные проблемы науки и образования*: электрон. научн. журн. 2013; 6. <http://www.science-education.ru/113-11114>.
3. Комиссаров А.В., Еремин С.А., Задохин С.Н., Шульгина И.В., Лобовикова О.А., Васин Ю.Г., Клокова О.Д., Ливанова Л.Ф., Никифоров А.К. Гранулирование компонентов холерной химической вакцины. *Современные проблемы науки и образования*: электрон. научн. журн. 2014; 3. <http://www.science-education.ru/117-13326>.
4. Комиссаров А.В., Еремин С.А., Задохин С.Н., Шульгина И.В., Лобовикова О.А., Ливанова Л.Ф., Никифоров А.К. Новые подходы в технологии получения таблетки вакцины холерной бивалентной химической. *Биофармацевтический журнал*. 2015; 7(1):30–9.
5. Rajendran N.N., Natarajan R., Ronak P. A study on the effect of superdisintegrants and processing methods on the physicochemical and in-vitro release characteristics of immediate release tablets of olopatadine hydrochloride. *Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci.* 2011; 2(4):305–13. Available from: [http://www.rjpbcs.com/pdf/2011_2\(4\)/\[30\].pdf](http://www.rjpbcs.com/pdf/2011_2(4)/[30].pdf)

References

1. Zuev A.P., Emshanova S.V., Sadchikova N.P., Tyulyaev I.I., Veselova N.I., Lashcheva O.Yu. [Optimization of the composition and technology for tablets-cores of pentoxifylline]. *Khimiko-Farmatsevt. Zh.* 2003; 37(10): 27–30.
2. Komissarov A.V., Eremin S.A., Zadokhin S.N., Shul'gina I.V., Lobovikova O.A., Vasin Yu.G., Klokova O.D., Livanova L.F., Nikiforov A.K. [Experimental substantiation of water-based film coating application for finished dosage form of chemical cholera vaccine]. *Sovrem. Probl. Nauki i Obraz.* [Internet]. 2013; 6. Available from: <http://www.science-education.ru/113-11114>.
3. Komissarov A.V., Eremin S.A., Zadokhin S.N., Shul'gina I.V., Lobovikova O.A., Vasin Yu.G., Klokova O.D., Livanova L.F., Nikiforov A.K. [Granulation of chemical cholera vaccine components]. *Sovrem. Probl. Nauki i Obraz.* [Internet]. 2014; 3. Available from: <http://www.science-education.ru/117-13326>.
4. Komissarov A.V., Eremin S.A., Zadokhin S.N., Shul'gina I.V., Lobovikova O.A., Livanova L.F., Nikiforov A.K. [New approaches in the manufacturing technology for tableted bivalent chemical cholera vaccine]. *Biofarmatsevtich. Zh.* 2015; 7(1):30–9.
5. Rajendran N.N., Natarajan R., Ronak P. A study on the effect of superdisintegrants and processing methods on the physicochemical and in-vitro release characteristics of immediate release tablets of olopatadine hydrochloride. *Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci.* 2011; 2(4):305–13. Available from: [http://www.rjpbcs.com/pdf/2011_2\(4\)/\[30\].pdf](http://www.rjpbcs.com/pdf/2011_2(4)/[30].pdf)

Authors:

Komissarov A.V., Ul'yanov A.Yu., Volokh O.A., Shul'gina I.V., Lobovikova O.A., Klokova O.D., 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., Ульянов А.Ю., Волох О.А., Шульгина И.В., Лобовикова О.А., Клокова О.Д., Никифоров А.К. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Поступила 23.04.15.

Т.А.Полунина, Ю.С.Варшавская, С.П.Заднова, Я.М.Краснов

ПРИМЕНЕНИЕ 2D-ЭЛЕКТРОФОРЕЗА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ «БЕЛКОВЫХ ПОРТРЕТОВ» ЛИЗАТОВ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КУЛЬТУР ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОСОБО ОПАСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

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

Цель работы: применение 2D-электрофореза для получения «белковых портретов» лизатов бактериальных культур возбудителей особо опасных инфекций. **Материалы и методы.** «Белковые портреты» получали на модели нетоксигенного штамма *V. cholerae* биовара Эль Тор М-888 и штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ, выращенного при 28 и 37 °С. В качестве препарата сравнения использовали коммерческий образец лизата штамма *E. coli*. SDS-PAGE-электрофорез проводили классическим методом Laemmli, в основу постановки 2D-электрофореза положены метод O'Farrell и рекомендации производителя. Для визуализации белков электрофореграммы окрашивали Кумасси синим G-250 или нитратом серебра. Концентрацию белка измеряли методом Бредфорда. Образцы клеточных лизатов очищали от небелковых примесей с помощью набора ReadyPrep 2-D Cleanup Kit. **Результаты и выводы.** Описан высокоэффективный комплексный метод разделения смеси белков, включающий этап приготовления образцов бактериальных культур в результате разрушения клеток ультразвуком в лизирующем буфере, их очистку и дальнейший анализ в одном направлении по заряду в градиенте pH, в другом направлении – по молекулярной массе методом SDS-PAGE-электрофореза. После окрашивания 2D-гели анализировали с помощью программного обеспечения Dymension мультифункциональной системы гель-документирования Syngene. Использование для ИЭФ стрипов с иммобилизованным градиентом pH заданного диапазона, коммерческих наборов реактивов и полиакриламидных гелей больших размеров позволило оптимизировать условия проведения 2D-электрофореза, сократить время, увеличить точность и воспроизводимость анализа. На модели лизатов нетоксигенного штамма *V. cholerae* биовара Эль Тор М-888 и штамма *Y. pestis* EV, выращенного при 28 и 37 °С, с помощью 2D-электрофореза получены «белковые портреты» изучаемых штаммов, показана высокая эффективность метода и возможность его использования для изучения динамики экспрессии генов возбудителей особо опасных инфекций.

Ключевые слова: 2D-электрофорез, *Vibrio cholerae*, *Yersinia pestis*.

Корреспондирующий автор: Полунина Татьяна Алексеевна, e-mail: rusrapi@microbe.ru

Т.А. Polunina, Yu.S. Varshavskaya, S.P. Zadnova, Ya.M. Krasnov

Application of 2-D Electrophoresis for the Construction of “Protein Profiles” of Bacterial Cultures Lysates of Particularly Dangerous Infections Agents

Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation

Objective of the study is to deploy 2-D electrophoresis for the construction of lysate “protein profiles” of bacterial cultures of particularly dangerous infections. **Materials and methods.** “Protein profiles” are obtained on the model of non-toxigenic *V. cholerae* biovar El Tor M-888 strain and *Y. pestis* EV NIEG strain, cultivated at 28 and 37 °C. Commercial sample of *E. coli* strain lysate serves as comparator (reference) product. SDS-PAGE-electrophoresis is carried out following classical Laemmli approach. 2D-electrophoresis is based on O'Farrell technique and manufacturer's recommendations. For protein visualization, staining of electrophoregrams with coomassie blue G-250 and silver nitrate is used. Protein concentration (load) is evaluated with the help of Bradford protein assay. Cell lysate samples are purged of non-protein impurities applying Ready Prep 2-D Cleanup Kit. **Results and conclusions.** Described is a highly effective complex method of protein mixture separation, which assumes preparation of bacterial culture probes where cells are fractured under ultrasonic exposure in the lysing buffer, then purified and analyzed either in reference to the charge in pH gradient, or – to molecular mass in SDS-PAGE-electrophoresis. After the staining 2-D gels are assayed by means of “Dymension” software product, installed on the platform of multi-functional gel documentation system “Syngene”. Utilization of stripes with immobilized pH gradient of a preset range, commercial reagent kits, and large-sized polyacrylamide gels has allowed for optimization of the conditions for performing 2D-electrophoresis, reduction of the time elapsed, and improvement of accuracy and reproducibility. On the model of non-toxigenic *V. cholerae* biovar El Tor M-888 strain and *Y. pestis* EV NIEG strain, cultivated at 28 and 37 °C, applying 2D-electrophoresis, obtained are the protein “profiles” of the investigated strains, demonstrated is high efficacy of the method and possibility of its deployment for studies of gene expression dynamics as regards agents of particularly dangerous infections.

Key words: 2D-electrophoresis, *Vibrio cholerae*, *Yersinia pestis*.

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

Corresponding author: Tatiana A. Polunina, e-mail: rusrapi@microbe.ru

Citation: Polunina T.A., Varshavskaya Yu.S., Zadnova S.P., Krasnov Ya.M. Application of 2-D Electrophoresis for the Construction of “Protein Profiles” of Bacterial Cultures Lysates of Particularly Dangerous Infections Agents. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; 1:97–101. (In Russ.). DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-97-101

Развитие протеомики обусловлено использованием основных протеомных технологий, таких как SDS-PAGE (sodium dodecyl sulphate – polyacrylamide

gel electrophoresis) и двумерный (2D – two dimensional) гель-электрофорез, лазерная захватывающая микро-диссекция, комбинация методов 2D-электрофореза и

времяпролетной масс-спектрометрии (фингерпринтинг), хромато-масс-спектрометрия, а также микрочиповые и биосенсорные технологии.

Объектами протеомных исследований часто являются культуры клеток или ткани, которые представляют собой сложные смеси белков. Одномерный электрофорез не способен фракционировать смеси, содержащие более 100 белков, поэтому он не пригоден для полноценного анализа клеточных лизатов или других биологических жидкостей. Для решения этой проблемы используют 2D-электрофорез, который представляет собой высокоэффективный комплексный метод разделения смеси белков в одном направлении по заряду в соответствии с градиентом pH, – изоэлектрофокусирование (ИЭФ), в другом направлении – согласно их молекулярной массе с помощью SDS-PAGE электрофореза. В результате компьютерного анализа 2D-гелей с помощью системы гель-документирования осуществляют сопоставление, поиск одинаковых белковых зон, калибровку, подсчет и сравнение белковых пятен по интенсивности, молекулярной массе (MW) и изоточке (pI – isoelectric point). Это первый шаг к получению объективного изображения распределения общего количества фракционированных белков – «белкового портрета» изучаемого объекта. Полученные данные обрабатываются и передаются в автоматические системы для дальнейшего анализа пятен. Для построения протеомных карт исследуемое пятно вырезают, подвергают ферментативному гидролизу и идентифицируют с помощью масс-спектрометрического анализа.

В настоящее время в РосНИПЧИ «Микроб» ведутся интенсивные молекулярно-генетические исследования механизмов изменения патогенных и адаптивных свойств возбудителей чумы и холеры. Большой интерес представляет возможность получения протеомных карт исследуемых штаммов, позволяющих анализировать на белковом уровне изменения функциональной активности различных генов в результате воздействия факторов окружающей среды.

Целью работы является применение 2D-электрофореза для получения «белковых портретов» лизатов бактериальных культур возбудителей особо опасных инфекций.

Материалы и методы

Для получения двумерных гелей в работе использовали лизаты нетоксигенного штамма *V. cholerae* биовара Эль Тор M-888 и штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ, выращенного при 28 и 37 °C, в качестве препарата сравнения – коммерческий препарат лизата штамма *E. coli* с концентрацией белка 1,35 мг/мл из набора для изофокусирования «2-D Starter Kit» (Bio-Rad, US).

SDS-PAGE электрофорез проводили классическим методом Laemmli [7], в основу постановки 2DE

положен метод O'Farrel, а также рекомендации фирмы производителя [3, 8, 9]. Для визуализации белков электрофореграммы окрашивали Кумасси синим G-250 [2] или нитратом серебра [10].

Образцы клеточных лизатов возбудителей чумы и холеры получали из бактериальных культур, засеянных в пробирки с элективной питательной средой и инкубированных в оптимальном режиме для данного вида. Лизирующий буфер (7 M Urea, 2 M Thiourea, 2 % CHAPS, 0,5 % Triton X-100, 20 mM Tris-base, 2 mM MgCl₂, 65 mM DTT, 1 mM Na₂EDTA или 5 mM PMSF) добавляли к осадкам клеток в соотношении 1 мл на 100 мг мокрого осадка клеток. После добавления буфера клетки ресуспендировали и обрабатывали на ультразвуковом гомогенизаторе Bioruptor UCD-200 (Diagenode, США) циклом озвучивания 30 с ON, 30 с OFF в течение 10 мин при частоте 60 кГц в ледяной бане (рекомендации производителя). После обработки ультразвуком образцы оставляли в лизирующем буфере на 2 ч при комнатной температуре, периодически взбалтывая на вортексе. Затем образцы центрифугировали (Mini Spin Eppendorf, Германия) при 13 тыс. об/мин в течение 10 мин, супернатант собирали в чистые микропробирки и контролировали на специфическую стерильность согласно инструкции [1].

Концентрацию белка в пробах измеряли методом Бредфорда [4] в пластиковых прозрачных УФ-куветах с длиной оптического пути 10 мм и объемом 800 мкл на сканирующем спектрофотометре Biowave II (Biochrom, UK) при длине волны 595 нм.

Образцы клеточных лизатов очищали от небелковых примесей с помощью набора ReadyPrep 2-D Cleanup Kit (Bio-Rad, US).

2D-электрофореграммы анализировали с помощью ПО Dymension мультифункциональной системы гель-документирования Syngene (G:BOX Chemi XT4, UK).

Результаты и обсуждение

До настоящего времени 2D-электрофорез остается одним из основных методов пробоподготовки в протеомике, позволяющим одновременно разделять и анализировать значительное количество белков исследуемого образца. Метод широко используется в исследованиях зарубежными авторами, однако в отечественной литературе применение метода для изучения белкового состава штаммов возбудителей особо опасных инфекций представлено недостаточно.

Условия проведения 2D-электрофореза отрабатывали на коммерческом образце лизата штамма *E. coli*. Первым этапом проведения 2D-электрофореза является ИЭФ-разделение белков в градиенте pH за счет их различий в pI, зависящей от аминокислотного состава белка. Градиент pH создается специальными амфотерными веществами – амфолитами, обладающими хорошей электропроводимостью и бу-

ферной емкостью. Вначале для ИЭФ мы использовали стеклянные трубочки, заполненные гелем. Однако метод имеет существенные недостатки, связанные с длительностью и трудоемкостью этапа получения цилиндрических гелей. Кроме того, амфолиты в стеклянных трубочках находятся в свободном состоянии, поэтому создаваемый ими в электрическом поле градиент pH был нестабилен. Это значительно снижало точность и воспроизводимость анализа. Эту проблему удалось решить при использовании для ИЭФ коммерческих IPG (immobilized pH gradient) стрипов (BioRad, US) с иммобилизованным градиентом pH, при котором группы с кислотными и щелочными свойствами закреплены на геле.

Нанесение образцов на стрипы проводили одновременно с регидратацией в буфере (8 M Urea, 2 % CHAPS, 50 mM DTT, 0,2 % Ampholytes pH 3–10, 0,001 % Bromphenol blue) на платформе Protean IEF Cell при 20 °C и 50 мкА в течение 12 ч. Во время регидратации стрипы заливали парафиновым маслом для предотвращения высыхания геля, кристаллизации мочевины и окисления белков кислородом воздуха.

ИЭФ стрипов проводили в режиме: 20 °C, 250 V – 30 мин, 10000 V – 2 ч (линейное изменение напряжения), 10000 V (быстрое изменение напряжения) – до набора 43000 вольт-часов (Vh), затем стрипы оставляли при 1000 V.

Для проведения второго направления разделения белков по молекулярной массе стрипы уравнивали по 10 мин в буфере I (6 M Urea, 2 % SDS, 0,375 M Tris-HCl (pH 8,8), 20 % glycerol, 2 % DTT) и буфере II (6 M Urea, 2 % SDS, 0,375 M Tris-HCl (pH 8,8), 20 % glycerol, 2,5 % iodoacetamide). В результате под действием анионного детергента SDS белки приобретали отрицательный заряд. Затем стрип помещали на пластину полиакриламидного геля и фиксировали расплавленной агарозой. SDS-PAGE электрофорез проводили в режиме: 100 V – 1,5 ч, 300 V – до конца прохождения красителя.

Для проявления белковых пятен применяют техники окрашивания раствором Кумасси синего, нитратом серебра или флуоресцентными красителями. Однако Кумасси выявляет белки только в достаточно большой концентрации, так при окрашивании Кумасси R-250 пятно должно содержать не < 10 мкг белка. На порядок более высокой чувствительностью обладает краситель Кумасси G-250. Окрашивание нитратом серебра позволяет выявлять содержание белка в пятне менее 1 нг. Недостатком метода является его чувствительность к температуре, что приводит к низкой воспроизводимости результатов по сравнению с другими методами [2]. При необходимости для повышения точности анализа белки можно окрашивать не одним красителем, например, Кумасси и нитратом серебра, или использовать флуоресцентные красители.

После окрашивания 2D-электрофореграмм лизата штамма *E. coli* раствором Кумасси синего

G-250 или нитратом серебра их анализировали с помощью программного обеспечения системы геледокументирования Syngene. Для получения калибровочных 2D-гелей был проведен 2D-электрофорез маркеров молекулярной массы белков 14,4–116,0 кДа (PageRuler™ Fermentas) и стандартных маркеров белков для 2D-электрофореза с молекулярной массой 17,5–76,0 кДа и pI 4,5–8,5 (Bio-Rad, US) на стрипах длиной 17 см с линейным градиентом pH 3–10 и 4–7, относительно которых автоматически проводили дальнейший подсчет MW и pI всех полученных гелей.

Результаты компьютерного анализа лизата штамма *E. coli* представлены в виде отчета, который содержит название образца, изображение геля и таблицу результатов, включающую информацию об общем количестве выявленных пятен (361), их порядковый номер, а также характеристику каждого пятна по MW и pI.

Таким образом, на модели лизата штамма *E. coli* отработаны оптимальные условия проведения 2D-электрофореза и получен «белковый портрет» фракционирования общего количества белков кишечной палочки в зоне градиента pH 4–7.

На следующем этапе 2D-электрофорез был применен для получения «белковых портретов» лизатов нетоксигенного штамма *V. cholerae* биовара Эль Тор M-888 и штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ, выращенного при 28 и 37 °C. Следует отметить, что для успешного проведения 2D-электрофореза очень важным является этап пробоподготовки. Здесь необходимо стремиться к максимальной экстракции белков из образцов и поддержанию их в растворенном состоянии. Этим требованиям отвечают лизаты бактериальных культур, для приготовления которых клетки разрушают механически, применяя процедуру «замораживание-оттаивание», обрабатывают ультразвуком или продавливают через френч-пресс, а также подвергают солюбилизации лизирующими растворами. В качестве солюбилизирующих химических агентов чаще всего используют мочевины и тиомочевину, детергенты CHAPS 3-[(3-cholamidopropyl)-dimethylammonio]-1-propanesulfonate), NP-40 (nonidet P-40), Тритон X-100, которые разрушают водородные и гидрофобные связи в белках и способствуют разворачиванию белковой глобулы с сохранением индивидуальной для каждого белка последовательности аминокислотных остатков. Возможные нежелательные окислительные модификации белков устраняются добавлением к образцам восстанавливающих агентов, таких как дитиотреитол (ДТТ) или дитиозритрол (ДТЕ). Восстановители разрывают дисульфидные связи белков, предотвращая образование пептидных олигомеров и межбелковых взаимодействий. Использование в составе солюбилизирующих растворов ингибиторов протеаз, например PMSF (phenylmethylsulfonylfluoride), необходимо для предотвращения протеолитической деградации белков, которая приводит к появлению дополнительных полос на геле и снижению количества белка в основном

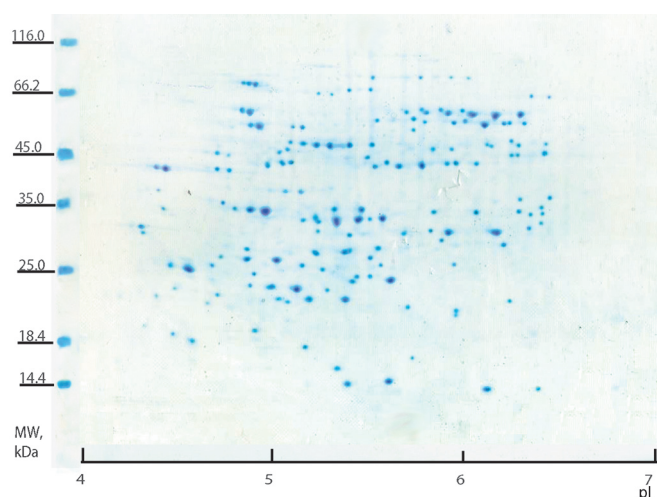


Рис. 1. 2D-гель лизата штамма *V. cholerae* биовара Эль Тор 888 Ctx⁻, ИЭФ на стрипе 17 см с диапазоном pH 4–7 и белковой нагрузкой ~ 400 мкг, окраска Кумасси синим G-250

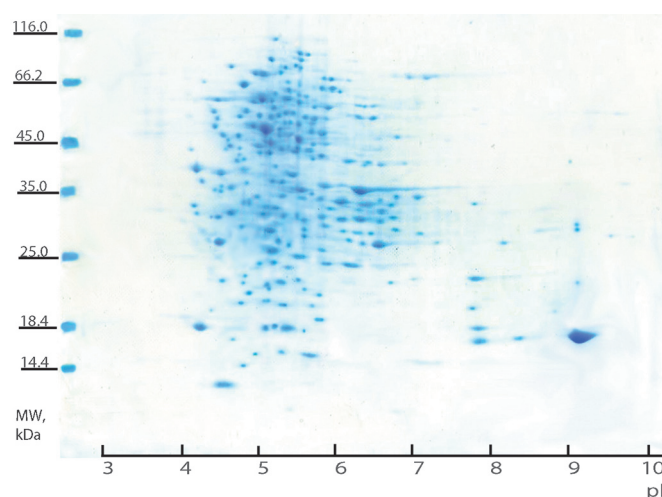


Рис. 2. 2D-гель лизата штамма *Y. pestis* EV, выращенного при 37 °С, ИЭФ на стрипе 17 см с диапазоном pH 3–10 и белковой нагрузкой ~ 400 мкг, окраска Кумасси синим G-250

пятне. Кроме того, клеточные экстракты белков могут содержать примеси солей, фосфолипидов и полисахаридов, которые могут модифицировать белки, а также нуклеиновые кислоты, способные связываться с белками и увеличивать вязкость исследуемых растворов. Протокол получения клеточных лизатов возбудителей чумы и холеры приведен выше.

При анализе 2D-гелей возбудителей чумы и холеры было показано, что белки лизатов штамма *V. cholerae* биовара Эль Тор фракционируются в пределах градиента pH 4–7 (рис. 1), а штамма *Y. pestis* EV распределяются в пределах градиента pH 3–10 неоднородно, образуя скопление пятен в зоне pH 4–7 (рис. 2), что соответствует литературным данным [5, 6]. Такие условия проведения 2D-электрофореза штаммов N16961 (Бангладеш) и C3294 (Бразилия) использованы при получении референс карты белков *V. cholerae* биовара Эль Тор на стрипах длиной 18 см в диапазоне pH 4–7 [6], а при изучении различий в экспрессии генов протеома *Y. pestis* штамма KIMS D27 при выращивании его в различных температурных условиях и концентрации Ca^{2+} в культуральной среде 2D-электрофорез проводили на стрипах 24 см с нелинейным градиентом pH 3–10 [5]. Поэтому для достижения наибольшего разрешения белковых пятен ИЭФ лизатов штаммов *E. coli* и *V. cholerae* биовара Эль Тор проводили на стрипах длиной 17 см с диапазоном pH 4–7, а лизатов штамма *Y. pestis* EV, выращенного при 28 и 37 °С – на стрипах этого размера с диапазоном pH 3–10 и 4–7. Кроме того, для определения зоны фракционирования белков предварительно ИЭФ всех образцов проводили на стрипах длиной 7 см с градиентом pH 3–10.

При компьютерном анализе 2D-гелей лизатов нетоксигенного штамма *V. cholerae* биовара Эль Тор выявлено 286 белковых пятен, штамма *Y. pestis* EV (28 и 37 °С) – 206 и 269 соответственно, а при исследовании лизатов этих культур одномерным электрофорезом детектировано не более 40 белковых полос. При сравнении 2D-гелей лизатов штамма *Y. pestis*

EV, выращенного при различных температурных режимах, отчет представлен изображением наложения двух гелей, где главный образец (лизат 37 °С культуры) показан пурпурным цветом, наложенный образец (лизат 28 °С культуры) – зеленым, а перекрывающиеся пятна – серым. Кроме того, контуры совпадающих пятен обозначены синим цветом, несовпадающих – голубым, а центры соответствующих пятен соединены красными линиями. Таблица результатов включает названия образцов, количество совпадающих пятен, порядковый номер строки, порядковый номер пятна, относительную интенсивность совпадающих пятен по сравнению с главным образцом (рис. 3).

Таким образом, в результате исследования отработаны условия проведения 2D-электрофореза, показано, что использование для ИЭФ стрипов с иммобилизованным градиентом pH заданного диапазона (вместо стеклянных трубочек с гелем), коммерческих наборов реактивов и полиакриламидных гелей больших размеров (16×18 см) позволило оптимизировать условия проведения 2D-электрофореза, сократить время, увеличить точность и воспроизводимость анализа. На модели лизатов нетоксигенного штамма *V. cholerae* биовара Эль Тор M-888 и штамма *Y. pestis* EV, выращенного при 28 и 37 °С с помощью 2D-электрофореза получены «белковые портреты» изучаемых штаммов. Подтверждена высокая эффективность метода и возможность его использования для изучения динамики экспрессии генов возбудителей особо опасных инфекций.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Остерман Л.А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: Электрофорез и ультрацентрифугирование. М.: Наука; 1981. 288 с.
2. Bradford M.M. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 1976; 72:248–54.
3. Chromy B.A., Choi M.W., Murphy G.A., Gonzales A.D.,

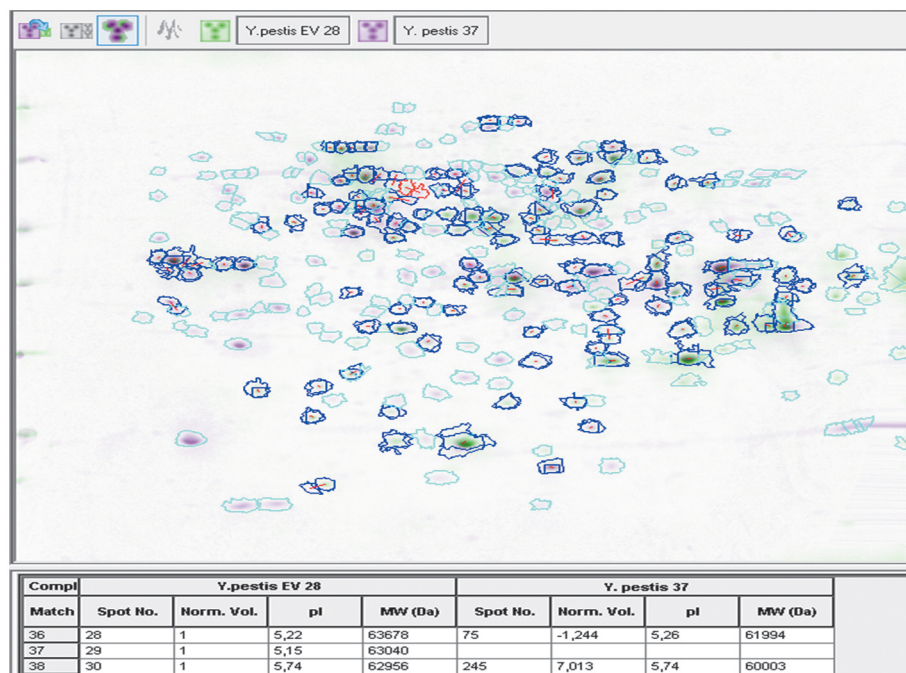


Рис. 3. Отчет компьютерного анализа сравнения 2D-гелей лизатов штамма *Y. pestis* EV, выращенного при различных температурных режимах

Corzett C.H., Chang B.C., Fitch J.P., McCutchen-Maloney S.L. Proteomic characterization of *Yersinia pestis* virulence. *J. Bacteriol.* 2005; 187(23):8172–80. DOI: 10.1128/JB.187.23.8172-8180.2005.

4. Coelho A., Santos E.O., Faria M.L., Carvalho D.P., Soares M.R., Kruger W.M., Bisch P.M. A proteome reference map for *Vibrio cholerae* El Tor. *Proteomics*. 2004; 4:1491–504. DOI: 10.1002/pmic.200300685.

5. Laemmli W.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T 4. *Nature*. 1970; 227(5259):680–5. DOI: 10.1038/227680a0.

6. O'Farrell P. H. High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *J. Biol. Chem.* 1975; 250(10):4007–21.

7. Swain M., Ross N.W. A silver stain protocol for proteins yielding high resolution and transparent background in sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gels. *Electrophoresis*. 1995; 16:948–51. DOI: 10.1002/elps.11501601159.

References

- Osterman L.A. [Methods of Protein and Nucleic Acid Assaying: Electrophoresis and Ultra-Centrifugation]. M.: Nauka; 1981. 288 p.
- Bradford M.M. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 1976; 72:248–54.
- Chromy B.A., Choi M.W., Murphy G.A., Gonzales A.D., Corzett C.H., Chang B.C., Fitch J.P., McCutchen-Maloney S.L. Proteomic characterization of *Yersinia pestis* virulence. *J. Bacteriol.* 2005; 187(23):8172–80.

DOI: 10.1128/JB.187.23.8172-8180.2005.

4. Coelho A., Santos E.O., Faria M.L., Carvalho D.P., Soares M.R., Kruger W.M., Bisch P.M. A proteome reference map for *Vibrio cholerae* El Tor. *Proteomics*. 2004; 4:1491–504. DOI: 10.1002/pmic.200300685.

5. Laemmli W.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T 4. *Nature*. 1970; 227(5259):680–5. DOI: 10.1038/227680a0.

6. O'Farrell P. H. High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *J. Biol. Chem.* 1975; 250(10):4007–21.

7. Swain M., Ross N.W. A silver stain protocol for proteins yielding high resolution and transparent background in sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gels. *Electrophoresis*. 1995; 16:948–51. DOI: 10.1002/elps.11501601159.

Authors:

Polunina T.A., Varshavskaya Yu.S., Zadnova S.P., Krasnov Ya.M. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Об авторах:

Полунина Т.А., Варшавская Ю.С., Заднова С.П., Краснов Я.М. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Поступила 17.06.16.

А.С.Туманов¹, В.В.Тетерин¹, А.А.Лещенко¹, А.В.Ежов¹, В.В.Бирюков¹, С.В.Багин¹, Д.А.Мохов¹,
С.В.Логвинов¹, А.Г.Лазыкин¹, Д.С.Белобородов¹, В.Н.Бредихин², И.В.Поздняков²

ПУТИ СНИЖЕНИЯ КОНТАМИНАЦИИ ТАБЛЕТИРОВАННОЙ ЧУМНОЙ ЖИВОЙ ВАКЦИНЫ НА ЭТАПАХ ЕЕ ПРОИЗВОДСТВА

¹Филиал ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны РФ, Киров, Российская Федерация; ²ФКУЗ «Противочумный центр», Москва, Российская Федерация

Проблема контаминации посторонней микрофлорой таблетированных форм лекарственных средств находится, на сегодняшний день, в центре внимания исследователей, поскольку удельный вес данных медицинских препаратов на мировом рынке составляет более 60 % и имеет тенденцию к увеличению. **Целью** данной работы являлось изучение степени контаминации основного и вспомогательного сырья на этапах приготовления вакцины чумной живой, таблеток для рассасывания, и пути ее снижения. **Материалы и методы.** В работе использовали лиофилизированную живую культуру *Yersinia pestis* вакцинного штамма EV линии НИИЭГ, а также вакцину чумную живую, таблетки для рассасывания. Проведены исследования по оценке «микробиологической чистоты» на технологических стадиях изготовления таблетированной чумной живой вакцины: измельчения, смешения, гранулирования, сушки, таблетирования. **Результаты и выводы.** Установлена динамика изменения количественного состава микрофлоры вышеуказанного препарата. Выявлено изменение уровня микробной загрязненности на отдельных технологических стадиях производства. Определена технологическая стадия с наиболее выраженной контаминацией. Анализ факторов, обуславливающих контаминацию вакцины, показал, что повышение качества готовой формы препарата невозможно без входного контроля основных и вспомогательных материалов, а также совершенствования процесса до уровня, соответствующего современному фармацевтическому производству. Экспериментально показано, что серии таблетированной чумной живой вакцины, полученные с использованием модернизированного технологического оборудования, позволили снизить контаминацию препарата в 3 раза.

Ключевые слова: вакцина, контаминация, микробиологическая чистота, сырье, таблетка, технология.

Корреспондирующий автор: Лещенко Андрей Анатольевич, e-mail: leshchenko58@mail.ru

A.S.Tumanov¹, V.V.Teterin¹, A.A.Leshchenko¹, A.V.Ezhov¹, V.V.Biryukov¹, S.V.Bagin¹, D.A.Mokhov¹,
S.V.Logvinov¹, A.G.Lazykin¹, D.S.Beloborodov¹, V.N.Bredikhin², I.V.Pozdnyakov²

Strategies for Abatement of Contamination of Tableted Live Plague Vaccine at Different Stages of Manufacturing

¹Affiliated Branch of the 48th Central Research Institute of RF Ministry of Defense, Kirov, Russian Federation; ²Plague Control Center, Moscow, Russian Federation

Nowadays, problem of tableted drug form contamination with extraneous micro-flora is in the spotlight of scientists, as the specific share of these medical preparations in the world market amounts to more than 60 % and has a tendency to increase. Thus, **objective** of the study is to investigate the degree of contamination of the basic and auxiliary raw materials at different stages of live plague vaccine manufacturing, rapid dissolving tablets, and the ways to reduce it. **Materials and methods.** Utilized has been lyophilized *Y. pestis* live culture of the vaccine strain EV NIEG, and the live plague vaccine, rapid dissolving tablets. Carried out has been assessment of “microbiological purity” at different stages of tableted live plague vaccine manufacturing: grinding, mixing, granulation, sublimation, and palletizing. **Results and conclusions.** Identified is the dynamic pattern of quantitative micro-flora composition of the mentioned above drug. Established is the alteration of microbial impurity at separate technological manufacturing steps. Specified is the technological stage with the most expressed contamination. Analysis of factors, which affect vaccine impurity, has revealed that finished dosage-form quality improvement is impossible without incoming control of stock and auxiliary materials, as well as enhancement of manufacturing procedure up to the level, complying with applicable pharmaceutical production standards. It is experimentally proved that series of tableted live plague vaccine, obtained using modernized technological equipment, provide for 3-fold reduction of contamination.

Key words: vaccine, contamination, microbiological purity, raw materials, tablet, technology.

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

Corresponding author: Andrey A. Leshchenko, e-mail: leshchenko58@mail.ru

Citation: Tumanov A.S., Teterin V.V., Leshchenko A.A., Ezhov A.V., Biryukov V.V., Bagin S.V., Mokhov D.A., Logvinov S.V., Lazykin A.G., Beloborodov D.S., Bredikhin V.N., Pozdnyakov I.V. Strategies for Abatement of Contamination of Tableted Live Plague Vaccine at Different Stages of Manufacturing. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; 1:102–105. (In Russ.). DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-102-105

Проблема контаминации посторонней микрофлорой таблетированных форм лекарственных средств находится на сегодняшний день в центре внимания исследователей, поскольку удельный вес этих медицинских препаратов на мировом рынке составляет более 60 % и имеет тенденцию к увеличению [12]. Кроме того, анализ данных литературы [5,

10] показал, что до 25 % ежегодно выпускаемых в РФ лекарственных средств, в форме таблеток, не соответствуют требованиям качества, предъявляемым к ним по показателю «Микробиологическая чистота».

Контроль микробиологической чистоты нестерильных лекарственных средств, впервые введенный в Государственной фармакопее (ГФ) XI издания 1992 г.,

дополненный с учетом требований к их качеству в 2002 г. [2] и включенный в ГФ XII издания [3], является фактором, обеспечивающим безвредность медицинских препаратов, и заключается в количественном определении жизнеспособных бактерий и грибов, а также выявлении определенных видов микроорганизмов, наличие которых в препарате недопустимо.

К числу препаратов, контаминируемых посторонними микроорганизмами в процессе производства, можно отнести и таблетированные вакцинные препараты, в том числе вакцину чумную живую в виде таблеток для рассасывания, так как условия их получения в большинстве случаев не гарантируют микробиологическую чистоту последних. Микроорганизмы, наличие которых недопустимо в таких препаратах, могут вноситься с сырьем, технологическим воздухом и водой на этапах изготовления и хранения гранулята, а также в процессе таблетирования, во время фасовки и упаковки готовой вакцины [4].

Целью данной работы явилась оценка степени контаминации основного и вспомогательного сырья на этапах приготовления вакцины чумной живой, таблеток для рассасывания, и пути ее снижения.

Материалы и методы

В работе использовали лиофилизированную живую культуру *Yersinia pestis* вакцинного штамма EV линии НИИЭГ (сухую вакцину) ФСП 42-8198-06, а также вакцину чумную живую, таблетки для рассасывания.

Вспомогательным сырьем (наполнитель вакцины) служили: крахмал картофельный (ГОСТ Р 53876-10); глюкоза (ГФ X, ст. 311); сахарин (ГФ IX, ст. 424, ФСП 42-8198-06); ванилин (ГОСТ 16599-71); ментол (ГФ X, ст. 387); какао порошок (ГОСТ 108-76); кальция стеарат (ТУ 6-09-4233-76).

Оценку микробиологической чистоты готовой формы вакцины и вспомогательного сырья проводили в соответствии с методами, изложенными в разделе «Микробиологическая чистота» (ОФС 42-0067-07) ГФ XII издания [3], и согласно ФСП 42-8198-06 «Вакцина чумная живая, таблетки для рассасывания».

Статистическую обработку результатов экспериментальных данных производили в соответствии с рекомендациями [6].

Результаты и обсуждение

Процесс получения таблетированных форм препаратов, в том числе вакцины чумной живой в виде таблеток для рассасывания, включает значительное количество последовательных операций (рисунок), начиная с обработки исходного лекарственного вещества (биокомпонента) или его смесей, вспомогательных материалов, и состоит из нескольких последовательных стадий: измельчения, смешения, гранулирования, сушки, таблетирования, фасовки и упаковки [1, 11].

Поэтому для оценки степени контаминации основного (биокомпонента) и вспомогательного сы-



Технологическая схема получения таблетированной формы биопрепарата

рья на этапах приготовления вакцины чумной живой, таблеток для рассасывания проводились исследования микробиологической чистоты на каждой технологической стадии. Результаты экспериментального изучения представлены в табл. 1.

Анализ экспериментальных данных, представленных в табл. 1, показывает, что в большей степени контаминации подвержен гранулят таблеточной смеси, в состав которого входит сырье растительного происхождения: картофельный крахмал, какао порошок, глюкоза и сахарин. Резкому снижению содержания микроорганизмов в грануляте способствует стерилизация этих компонентов и использование в качестве увлажнителя дистиллированной воды. Кроме того, снижению микробной контаминации в картофельном крахмале способствует высокая (90–100 °С) температура при приготовлении крахмального клейстера, необходимого для получения влажного гранулята.

В другой группе вспомогательных веществ – ванилине и ментоле – не выявлено контаминирующей микрофлоры. Ее отсутствие, вероятно, связано с природой этих веществ, представляющих собой антисептические средства.

Необходимо отметить, что лиофильно высушенная культура *Y. pestis* штамма EV не содержит посторонней микрофлоры, что объясняется тщательным выполнением подготовительных работ и соблюдением асептики на всех стадиях ее приготовления [9]. В то же время осуществление последующих технологических стадий изготовления вакцины, как следует из табл. 2, приводит к неизбежной контаминации го-

Таблица 1

Количество микроорганизмов в образцах основного и вспомогательного сырья (n=5)

Наименование основного и вспомогательного сырья	Количество микроорганизмов, КОЕ в грамме	
	Аэробные бактерии	Грибы
Лиофильно высушенная культура <i>Y. pestis</i> штамма EV	0	0
Крахмал картофельный	800 ± 126	121 ± 9
Глюкоза	Менее 10	0
Сахарин	Менее 10	0
Ванилин	0	0
Ментол	0	0
Какао порошок	1016 ± 119	213 ± 17
Кальция стеарат	0	0

Таблица 2

Характеристика вакцины чумной живой, таблеток для рассасывания, по показателю «микробиологическая чистота» (n=9)

Наименование показателя	Требования нормативной документации [3]	Результаты оценки вакцины
Микробиологическая чистота	Таблетка может содержать: не более $1 \cdot 10^3$ м.к. непатогенных микроорганизмов	167 ± 12
	Таблетка может содержать: не более $1 \cdot 10^2$ грибов	27 ± 4

тового биопрепарата.

В ходе проведения дальнейших постадийных исследований технологического процесса получения вакцины чумной живой сухой в виде таблеток для рассасывания установлена динамика изменения количественного состава микрофлоры вышеуказанного препарата. Отмечено изменение уровня микробной загрязненности на отдельных этапах производства. В частности, наиболее выраженная контаминация аэробными бактериями наблюдалась на стадии измельчения гранулята и таблеточной массы в помольной камере струйной мельницы с последующим ее снижением на стадии прессования. Последнее соответствует данным литературы [7], согласно которым на этапе таблетирования происходит уменьшение числа спорных бактерий – от 5 до 10 %; вегетативных клеток – от 10 до 30 %; грибов – от 20 до 55 %. Кроме того, стеарат кальция, вводимый в таблеточную смесь на стадии прессования как скользящее вещество, имеет меньшую микробную обсемененность по сравнению с компонентами гранулята, что является дополнительным фактором снижения уровня контаминации готового препарата. На этапе фасовки препарата микробная контаминация минимальна, так как фасовка вакцины осуществляется в стерильную тару с соблюдением требований асептики в боксах с ламинарным потоком стерильного воздуха. Следовательно, единственным этапом технологического процесса, который принято считать фактором риска, является этап измельчения гранулята и таблеточной массы в помольной камере струйной мельницы, где повышение уровня контаминации связано с подачей нестерильного технического воздуха.

Снижение микробной контаминации на данной технологической стадии достигается путем модернизации – установкой дополнительных фильтров тонкой очистки в системе подачи сжатого воздуха к соплам и эжектору помольной камеры струйной мельницы.

Экспериментальные серии гранулята и таблеточной массы, полученные с использованием модернизированной струйной мельницы, позволили снизить контаминацию вакцины аэробными бактериями и грибами в 3 раза.

Анализ факторов, обуславливающих контаминацию таблетированной чумной вакцины в процессе ее производства, показал, что повышение качества готовой формы препарата невозможно без входного контроля основных и вспомогательных материалов, а

также совершенствования технологического процесса до уровня, соответствующего современному фармацевтическому производству [8]. Иными словами, необходим комплексный подход к решению вопроса снижения путей микробиологической загрязненности таблетированной чумной живой вакцины и аналогичных таблетированных вакцинных препаратов.

Таким образом, для повышения качества готовой таблетированной чумной живой вакцины по показателю «микробиологическая чистота» необходимо проведение ряда мероприятий. Они связаны с улучшением санитарно-гигиенической культуры производства, подготовкой технологического оборудования, разработкой и внедрением современных средств и методов микробной деkontаминации лекарственных препаратов, сырья и вспомогательных материалов. Следует подчеркнуть, что проблемы микробиологического контроля и защиты таблетированных вакцин от контаминации необходимо решать в комплексе с разработкой технологических схем получения препаратов и проектирования вакцинных производств.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бирюков В.В. Основы промышленной биотехнологии. М.: КолосС; 2004. 296 с.
2. Государственная фармакопея СССР. XI изд., вып. 2. М.: 1990. 400 с.
3. Государственная фармакопея РФ. XII изд., ч. 1. М.: Изд. НЦ ЭСМП; 2008. 704 с.
4. Загоскина Н.В., Назаренко Л.В., Калашникова Е.А., Живухина Е.А. Биотехнология: теория и практика. М.: Оникс; 2009. 496 с.
5. Каламова Н.И., Каграманова К.А., Багирова В.Л., Ковалева Е.Л., Стародумова М.В. Методы микробиологического контроля лекарственных средств (изменение № 2 к общей статье государственной фармакопеи XI издания). *Химико-фармацевт. журн.* 2001; 12:34–5.
6. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа; 1990. 351 с.
7. Лещенко А.А., Тетерин В.В., Ежов А.В., Лазыкин А.Г., Мохов Д.А., Бирюков В.В., Багин С.В., Логвинов С.В. Экспериментальное обоснование возможности получения концентрата микробных клеток *Y. pestis* штамма EV методом микрофилтрации. *Биопрепараты*. 2014; 1:31–6.
8. Правила производства и контроля качества лекарственных средств. ГОСТ Р 52249-2009. М.: Стандартинформ; 2009. 139 с.
9. Тетерин В.В., Ежов А.В., Бирюков В.В., Мохов Д.А., Багин С.В., Хонин А.З., Логвинов С.В. Способ получения чумных вакцин. Патент РФ 2510825, опубл. 10.04.2014. Бюл. № 10.
10. Хабриев Р.У., Ягудина Р.И. Анализ состояния качества отечественных лекарственных средств. *Химико-фармацевт. журн.* 2003; 8:41–3.
11. Швецов С.А., Черкасов Н.А., Ежов А.В., Багин С.В., Тетерин В.В., Мохов Д.А. Математическое моделирование процесса приготовления таблетированной формы чумной живой вакцины. *Биомедицина*. 2011; 1:64–71.
12. Шуб Т.А., Каграманова К.А., Кивман Г.Я., Бухарцева Е.В., Гунар О.В., Николаенко Н.С. Пути контаминации нестерильных лекарственных средств. *Химико-фармацевт. журн.* 1991; 12:55–6.

References

1. Biryukov V.V. [Fundamental Principles of Industrial Biotechnology]. M.: "Koloss"; 2004. 296 p.
2. USSR State Pharmacopoeia. XI Edition, Issue 2. M.; 1990.
3. RF State Pharmacopoeia. XII Edition, Part 1. M.; 2008.
4. Zagoskina N.V., Nazarenko L.V., Kalashnikova E.A., Zhivukhina E.A. [Biotechnology: Theory and Practice]. M.: "Oniks"; 2009. 496 p.
5. Kalamova N.I., Kagramanova K.A., Bagirova V.L., Kovaleva E.L., Starodumova M.V. [Methods of microbiological pharmaceutical product control (Amendment 2 to State Pharmacopoeia Article, XI Edition)]. *Khim.*

Pharmats. Zh. 2001; 12:34–5.

6. Lakin G.F. [Biometry]. M.: 1990. 315 p.

7. Leshchenko A.A., Teterin V.V., Ezhov A.V., Lazykin A.G., Mokhov D.A., Biryukov V.V., Bagin S.V., Logvinov S.V. [Experimental substantiation of the feasibility to produce *Y. pestis* microbe cells (EV strain) concentrate using microfiltration]. *Biopreparaty*. 2014; 1:32–8.

8. [Drug Manufacturing Process Management and Quality Control Rules. Good Manufacturing Practices. Russian National Standard 52249-2009]. M.: Standartinform; 2009. 139 p.

9. Teterin V.V., Ezhov A.V., Biryukov V.V., Mokhov D.A., Bagin S.V., Khonin A.Z., Logvinov S.V. [Method for the production of plague vaccines]. RF Patent 2510825, 10.09.2013.

10. Khabriev R.U., Yagudina R.I. [Evaluation of the quality assurance status of domestic pharmaceutical products]. *Khim. Farmatsevt. Zh.* 2003; 8:41–3.

11. Shvetsov S.A., Cherkasov N.A., Ezhov A.V., Bagin S.V., Teterin V.V., Mokhov D.A. [Mathematical modeling of manufacturing process for the production of tableted live plague vaccine]. *Biomeditsina*. 2011; 1:64–71.

12. Shub T.A., Kagramanova K.A., Kivman G.Ya., Bukhartseva E.V., Gunar O.V., Nikolaenko N.S. [Ways of contamination of non-sterile pharmaceutical products]. *Khim. Farmatsevt. Zh.* 1991; 12:55–6.

V.V., Bagin S.V., Mokhov D.A., Logvinov S.V., Lazykin A.G., Beloborodov D.S. Affiliated Branch of the 48th Central Research Institute of the Ministry of Defense. 119, Oktyabrsky Avenue, Kirov, 610000, Russian Federation.

Bredikhin V.N., Pozdnyakov I.V. Plague Control Center. 4, Musorgskogo St., Moscow, 127490, Russian Federation. E-mail: protivochym@nln.ru

Об авторах:

Туманов А.С., Тетерин В.В., Лещенко А.А., Ежов А.В., Бирюков В.В., Багин С.В., Мохов Д.А., Логвинов С.В., Лазыкин А.Г., Белобородов Д.С. Филиал ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны. Российская Федерация, 610000, Киров, Октябрьский пр-т, 119.

Бредихин В.Н., Поздняков И.В. Противочумный центр. Российская Федерация, 127490, Москва, ул. Мусоргского, 4. E-mail: protivochym@nln.ru

Поступила 22.08.14.

Authors:

Tumanov A.S., Teterin V.V., Leshchenko A.A., Ezhov A.V., Biryukov

*Редакционная коллегия и редакционный совет научно-практического журнала
«Проблемы особо опасных инфекций» поздравляют с юбилеем*

***Смирнову Нину Ивановну – доктора биологических наук, профессора,
заведующую отделом микробиологии РосНИПЧИ «Микроб»,***

***Слудского Александра Аркадьевича – доктора биологических наук,
ведущего научного сотрудника РосНИПЧИ «Микроб»,***

***Тихомирову Людмилу Александровну – кандидата биологических наук,
старшего научного сотрудника РосНИПЧИ «Микроб»***

*и желают им крепкого здоровья, долгой плодотворной творческой жизни,
счастья и благополучия, успеха во всех начинаниях*